ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การหาลักษณะเฉพาะบางประการของไซลาเนสจากเอนโดไฟติกฟังไจ และการทำให้บริสุทธิ์
ชื่อผู้เขียน	นายนคร หน่อแก้ว
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รศ. ดร. สายสมร ลำยอง	ประธานกรรมการ
	อ. วีระศักดิ์ สหชัยเสรี	กรรมการ
	ดร. อุราภรณ์ สอาดสุด	กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาลักษณะเฉพาะบางประการและการทำให้บริสุทธิ์ของไซลาเนสจากเอนโดไฟติกฟังไจจากพืชสมุนไพร โดยแยกเชื้อราเอนโดไฟท์จากพืชสมุนไพร 7 ชนิด คือ กระเจี๊ยบแดง (*Hibiscus sabdariffa* Linn.) เสลดพังพอน (*Barleria luputina* Lindi.)ทองพันชั่ง (*Rhinacanthus nasutus* (Linn) Kurz) คนทีสอ (*Vitex trifolia* Linn.) ควินิน (*Cinchona succirubra* P&K) สาบเสือ (*Eupatorium odaradum* Linn.) และน้ำนมราชสีห์ (*Euphorbia thymifolia* Linn.) สามารถแยกเชื้อราได้ 189 ไอโซเลต เชื้อราที่แยกได้นำมาทดสอบการสร้างไซลาเนส โดย Congo red gel diffusion assay และคัดเลือกเชื้อที่ให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสมากกว่า 1.0 เซนติเมตร ได้จำนวน 4 ไอโซเลต และทำการหากิจกรรมของเอนไซม์ไซลาเนสพบว่าเชื้อ sterile mycelium D01 ให้ค่ากิจกรรมของ xylanase สูงที่สุดคือเท่ากับ 3.1 U/ml เมื่อนำไปเลี้ยงในอาหารที่มี 1% birchwood xylan เป็นสับสเตรท โดยอุณหภูมิ และ พีเอช เริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เท่ากับ 30 ^{o}C และ 5 ตามลำดับ โดยให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 23.4 U/ml.และค่า แอคติวิตี้จำเพาะ เท่ากับ 14.2 U/mg.protein เอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ โดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต ion exchange chromatography และ gel filtration chromatography พบว่าให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่า

กับ 12.5 U/ml. ค่า specific activity เท่ากับ 54.1 U/mg.protein เอนไซม์ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิและ pH เท่ากับ 50 °C และ 5 ตามลำดับ และมีความคงตัวที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และมีความคงตัวที่ค่า pH เท่ากับ 5 หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ผลจากการทำ SDS-PAGE พบแถบโปรตีน 2 แถบ โดยมีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 16.7 และ 29.5 kDa ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายเมื่อทดสอบโดย Thin-layer chromatograph หลังจากการบ่มเอนไซม์กับ birchwood xylan จะพบ xylooligosaccharide และเอนไซม์ที่ได้มีความจำเพาะต่อการย่อยสลายต่อไซแลน

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University

Thesis Title	Purification and Partial Characterization of Xylanase from Endophytic Fungi
Author	Mr. Nakhon Norkeaw
M.S.	Biology

Examining Committee	Assoc. Prof. Dr. Saisamorn Lumyong	Chairperson
	Dr. Veerasuk Sahachaisaree	Member
	Dr. Uraporn Sardsud	Member

Abstract

The purpose of this study was to purify and partially characterize of xylanase endophytic fungi. One hundred and eighty-nine isolates of endophytic fungi were isolated from 7 species of medicinal plants (*Hibiscus sabdariffa* Linn., *Barleria luputina* Lindi. *Rhinacanthus nasutus* (Linn) Kurz), *Vitex trifolia* Linn, *Cinchona succirubra* P&K., *Eupatorium odaradum* Linn., *Euphorbia thymifolia* Linn.) and xylanase activity was detected by gel diffusion assay. There are four isolates which produced a clear zone more than 1 cm. Sterile mycelium D01 had the higest xylanase activity (3.1 U/ml.) when grown on 1% birchwood xylan for 5 days. The initial pH and temperature for enzyme production were 5.0 and 30 $^{\circ}$C, respectively. The xylanase activity was 23.4 U/ml and specific activity was 14.2 U/mg.protein. The crude enzyme was purified by ammonium sulfate precipitation, ion exchange chromatography and gel filtration chromatography. The activity of purified enzyme was 12.5 U/ml. and specific activity was 54.1 U/mg.protein. The optimal pH and temperature of purified enzyme were 5 and 50 $^{\circ}$C, respectively. Thermal stability was 30 $^{\circ}$C for 2 hours and pH stability was 5.0 after incubated at 4 $^{\circ}$C for 24 hours. There are

two band of xylanase and molecular mass of xylanases were 16.7 and 29.5 kDa The products observed on TLC after hydrolysis of the enzyme on birchwood xylan were xylooligosaccharides. The purified enzyme was able to act only on xylan as substrate.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ Chiang Mai University