

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การแยกและการคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียภายในพืชสมุนไพรบางชนิด
ที่สามารถผลิตแอล-แอสพาราจินเนส

ชื่อผู้เขียน นางสาวยุพรศ พวงมะลิ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

| | | |
|---------------------------|---------|---------------|
| รองศาสตราจารย์ ดร. สายสมร | ถ้ายอง | ประธานกรรมการ |
| อาจารย์ พิกพ | ถ้ายอง | กรรมการ |
| อาจารย์ ดร. เนาวรัตน์ | ชีพรรณม | กรรมการ |

บทคัดย่อ

ได้ทำการทดลองคัดเลือกแบคทีเรียจากพืชสมุนไพรจำนวน 657 ไอโซเลทโดยวิธี plate assay พบว่าแบคทีเรียจำนวน 220 ไอโซเลท สามารถผลิต L-asparaginase ได้นำแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. CMU-HB-631 สามารถผลิต L-asparaginase ได้สูงสุด โดยเมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่ประกอบด้วย L-asparagine 0.75% (w/v), CMC 0.6% (w/v), Na_2HPO_4 0.6% (w/v), KH_2PO_4 0.3% (w/v), NaCl 0.05% (w/v), 1 M $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.2% (v/v) และ 0.1 M $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.1% (v/v) pH 7.0 บ่มที่อุณหภูมิ 45°C เขย่าด้วยความเร็ว 175 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง มีค่า L-asparaginase activity 50.24 mU/ml ให้ specific activity 202.58 mU/mg เมื่อนำแบคทีเรียทุกไอโซเลทที่สามารถผลิต L-asparaginase ได้ไปทดสอบความสามารถในการผลิต cellulase และ amylase โดยวิธี plate assay พบว่าแบคทีเรียจำนวน 145 และ 162 ไอโซเลทสามารถผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดได้ตามลำดับ โดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus* sp. CMU-HB-494 สามารถผลิต cellulase สูงสุดคือให้เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส 20 มิลลิเมตร และแบคทีเรียสายพันธุ์

Bacillus sp.CMU-HB-604 สามารถผลิต amylase สูงสุดคือให้เส้นผ่านศูนย์กลางวงใส 22 มิลลิเมตร

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University

Thesis Title Isolation and Selection of Some Herbal Endophytic Bacteria Capable of Producing L-Asparaginase

Author Miss Yuparet Puangmali

M.S. Biology

Examining Committee

| | | |
|----------------------------|-----------|----------|
| Assoc. Prof. Dr. Saisamorn | Lumyong | Chairman |
| Mr. Pipop | Lumyong | Member |
| Dr. Naowarat | Cheeptham | Member |

Abstract

Six hundred and fifty-seven bacterial isolates from herbal plants were screened for production of L-asparaginase. L-Asparaginase activity was detected from 220 bacterial isolates by using plate assay method. Bacterial isolate No. CMU-HB-631, identified as *Bacillus* sp. CMU-HB-631, produced the highest L-asparaginase activity in the medium containing L-asparaginase 0.75% (w/v), CMC 0.6% (w/v), Na₂HPO₄ 0.6% (w/v), KH₂PO₄ 0.3% (w/v), NaCl 0.05 % (w/v), 1 M MgSO₄.7H₂O 0.2 % (v/v) and 0.1 M CaCl₂.2H₂O 0.1% (v/v) at pH 7.0, using 0.2% (v/v) seed culture. The culture was incubated at 45°C with shaking at 175 rpm 48 hrs. It produced L-asparaginase activity of 50.24 mU/ml and the specific activity was 202.58 mU/mg. In addition 220 isolates capable of producing L-asparaginase were monitored cellulase and amylase activities. It was found that 145 and 162 isolates produced cellulase and amylase, respectively.

Bacillus sp. CMU-HB-494 produced the highest cellulase, 20 mm of clear zone diameter, and *Bacillus* sp. CMU-HB-604 produced the highest amylase, 22 mm of clear zone diameter.

มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Chiang Mai University