ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตและการทำงานของไซลาเนสจากเชื้อราที่ทนอุณหภูมิสูง *Thermoascus aurantiacus* SL 16 W
ผู้เขียน	นาง พัชรินทร์ จันทรานิมิตร
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต(ชีววิทยา)
คณะกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร. สายสมร ลำยอง ประธานกรรมการ ผศ. วีรศักดิ์ สหชัยเสรี กรรมการ

บทคัดย่อ

การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิต และการทำงานของไซลาเนสที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ จาก *Thermoascus aurantiacus* SL 16 W ที่ทนอุณหภูมิสูง โดยหาสภาวะที่เชื้อสามารถสร้างเอนไซม์ได้สูงสุดโดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวและอาหารแข็งที่มีแหล่งคาร์บอนต่างๆ พบว่า เชื้อสามารถผลิตไซลาเนสสูงสุดใน solid state medium ที่มีซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่อุณหภูมิ 45 °C เป็นเวลา 6 วัน มีความเข้มข้นของเอนไซม์และแอคติวิตี้จำเพาะเท่ากับ 3025 U/g.substrate และ 102.2 U/mg.protein ตามลำดับ เอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต DEAE-Sepharose fast flow ion exchange chromatography และ Sephadex G-100 gel filtration จากการทำ Ion exchange chromatography สามารถแยกไอโซไซม์ของไซลาเนสออกได้สองส่วน คือ G1 และ G2 เมื่อทำการแยกบริสุทธิ์ G1 และ G2 ด้วย gel filtration พบว่า เอนไซม์ส่วน G1 มีความบริสุทธิ์ เมื่อวิเคราะห์ด้วย SDS-PAGE พบแถบโปรตีนเดียว จึงนำส่วน G1 ไปศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ พบว่าความเข้มข้นของเอนไซม์และแอคติวิตี้จำเพาะเท่ากับ 281 U/ml และ 9227 U/mg protein ตามลำดับ เอนไซม์มีความบริสุทธิ์ 23 เท่าที่ผลผลิต 1.68% มีมวลโมเลกุลประมาณ 35.5 kDa จากการทำ SDS – PAGE เอนไซม์ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิและ pH เท่ากับ 70°C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

และ 5 ตามลำดับ มีความเสถียรที่ pH 7 เป็นเวลา 30 นาที และมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 70°C เป็นเวลา 30 นาที เอนไซม์สามารถใช้ไซแลน 2% (w/v) เป็นสับสเตรทแล้วให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงสุด มีค่า K_m เท่ากับ 2.6% และผลการทดสอบไอออนโลหะชนิดต่างๆ พบว่า 10 mM Mn^{2+} มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์มากที่สุด ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายเมื่อทดสอบโดย Thin layer chromatography เมื่อบ่มเอนไซม์กับไซแลนจะพบ Xylose และ Xylobiose

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Factors Affecting the Production and the Activity of Purified Xylanase from Thermotolerant Fungus *Thermoascus aurantiacus* SL 16 W
Author	Mrs. Patcharin Juntranimit
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisory Committee	Assoc. Prof. Dr. Saisamorn Lumyong Chairperson Asst. Prof. Veerasuk Sahachaisaree Member

Abstract

The purpose of this work was to study factors affecting the production and activity of purified xylanase from the thermotolerant fungus *Thermoascus aurantiacus* strain SL 16 W. The fungus was cultivated in liquid and solid state media containing various carbon sources. High xylanase concentration and specific activity were 3025 U/g.substrate and 102.2 U/mg protein, respectively, in solid state medium containing corncobs as carbon source. The crude enzyme was purified by ammonium sulfate precipitation, DEAE – Sepharose fast flow ion exchange chromatography and sephadex G – 100 gel filtration. Ion exchange chromatography separated the isozymes into two fraction (G1 and G2). After gel filtration chromatography the fraction G1 was found to be a single protein when analyzed by SDS-PAGE. The fraction G1 was futher characterized and the concentration and specific activity of purified enzyme were 281 U/ml and 9227 U/mg protein, respectively. The enzyme was purified 23 fold with a 1.68% yield. It was found to be enzyme with molecular weight (MW) of 35.5 kDa by SDS – PAGE. The optimal pH and temperature of purified enzyme were 5 and 70°C, respectively. Thermal stability was 70°C

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

for 30 minutes and pH stability was 7.0 after incubated at 60°C for 30 minutes. The purified enzyme was able to act only on xylan as substrate and highest activity with 2% xylan. K_m of enzyme was 2.6%. At 10 mM concentration metal ion Mn^{2+} inhibited enzyme activity. The products observed on TLC after hydrolysis of the enzyme on xylan were xylose and xylobiose.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved