ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์ การแยกและการคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตไคติเนส

ชื่อผู้เขียน นางสาว สุดาพร ตงศิริ

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

ผู้ช่วยศาสตราจารย์ อภิญญา ผลิโกมล ประธานกรรมการ
รองศาสตราจารย์ ดร.พูนศุข ศรีโยธา กรรมการ
อาจารย์ดร.ดารารัตน์ ทองขาว กรรมการ

บทคัดย่อ

การแยกและคัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตไคติเนสจากตัวอย่างดินบริเวณต่าง ๆ แยกแบคทีเรียที่เจริญบนอาหารที่มีไคตินเป็นแหล่งคาร์บอนได้ 70 ไอโซเลท เมื่อนำมาทดสอบความสามารถในการผลิตไคติเนส โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว enzyme production medium (EPM) เขย่าที่ 200 รอบ/นาที เป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่า ไอโซเลท D_5 ที่แยกจากดินแปลงปลูกพืชภาควิชาพืชไร่ คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ สามารถผลิตไคติเนสได้สูงสุด โดยให้ค่าการทำงานเท่ากับ 14.667 munit/ml enzyme และ specific activity เท่ากับ 46.312 munit/mg protein จากการตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีบางประการของไอโซเลท D_5 พบว่า เป็น *Chromobacterium violaceum.* เชื้อนี้เจริญได้ดีบน nutrient agar pH 7.0 ที่อุณหภูมิห้อง (25°±2°C) เป็นโคโลนีสีม่วง

สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไคติเนสของ *Chromobacterium violaceum.* ใช้อาหาร EMP ที่ปรับปรุงแล้ว ประกอบด้วย colloidal chitin 1%, urea 1.5%, $MgSO_4.7H_2O$ 0.03%, $CaCl_2.6H_2O$ 0.03 และ trace element 0.1% pH เริ่มต้นของอาหารเท่ากับ 7.0 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 วัน สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ คือบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50°C pH 5.0 ระยะเวลาบ่มเอนไซม์ 45 นาที ให้ค่าการทำงานของเอนไซม์ เท่ากับ 46.925 munit/ml enzyme และ specific activity เท่ากับ 130.259 munit/mg protein เอนไซม์จะเสถียรที่อุณหภูมิ 30° และ 40°C pH 6.0-8.0 วิธีเก็บรักษาเอนไซม์ที่ดีที่สุด คือเก็บโดยการแช่แข็ง สามารถเก็บได้นานกว่า 3 เดือน

Thesis Title Isolation and Selection of Chitinase Producing Bacteria

Author Ms. Sudaporn Tongsiri

M.S. Biology

Examining Committee Assistant Professsor Abhinya Plikomol Chairman
Associate Professor Dr. Poonsook Shiyotha Member
Instructure Dr. Dararat Tongkao Member

Abstract

Isolation and selection of chitinase producing bacteria from different soil samples were done. Severity isolates of bacteria capable of growing on agar medium containing chitin as carbon source were isolated. Each isolate was tested for chitinase production by culturing in the enzyme production medium (EPM) for 5 days with shaking at 200 rpm. Isolate D_5 from soil at the experimented plots, Department of Agronomy, Faculty of Agriculture, Chiang Mai University wass selected for further studies. This isolate showed the highest chitinase production giving an enzyme activity of 14.667 munit/ml enzyme and spectific activity 46.312 munit/mg protein. Morphological and biochemical examinations revealed that isolate D_5 was *Chromobacterium violaceum*. This species grew well on nutrient agar pH 7.0 at room temperature (25°± 2°C), giving purple colonies.

The optimum conditions for chitinase production by *Chromobacterium violaceum* were modified EPM containing 1% colloidal chitin, 1.5% urea, 0.03% $MgSo_4.7H_2O$, 0.03% $CaCl_2.6H_2O$ and 0.1% trace element, pH 7.0 incubating for 2 days at room temperature. The optimum conditions for enzyme activity were incubation of enzyme at 50°C, pH 5.0 for 45 minutes. The highest chitinase was 46.925 munit/ml enzyme and specific activity was 130.259 munit/mg protein. The enzyme stabilized at 30°C and 40°C, pH 6.8. The best method for preserving the enzyme was freezing which could be kept over 3 months.