

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสที่สามารถผลิตเอนไซม์แมนนาเนส
ชื่อผู้เขียน	นางสาวนลิน วงศ์ขัตติยะ
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต	สาขาวิชาชีววิทยา
คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดร. สายสมร ลำยอง ประธานกรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุมาลี พุกษากร กรรมการ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ มรกต สุกโชติรัตน์ กรรมการ

## บทคัดย่อ

ได้ทำการทดลองเพื่อคัดเลือกเชื้อแอคติโนมัยซีสจากรากพืช ดิน และเชื้อบริสุทธิ์จากภาควิชาชีววิทยา จำนวน 249 ไอโซเลทพบว่ามีแอคติโนมัยซีสจำนวน 38 ไอโซเลทที่สามารถผลิต mannanase ได้เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวที่ประกอบด้วย locust bean gum 1%(w/v) แล้วทดสอบด้วยวิธี gel diffusion assay ที่ประกอบด้วย Phyta gel 0.7%(w/v) และ locust bean gum 0.1%(w/v) พบว่าสายพันธุ์ E2/22 ซึ่งบ่งบอกชนิดว่าเป็น *Streptomyces* sp. สามารถผลิต mannanase ได้สูงที่สุดเมื่อเพาะกล้าเชื้อ 3.85 % ในอาหารเหลวที่ประกอบด้วย locust bean gum 2.5%, peptone 0.5%,  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  0.05% และ  $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  0.05% (w/v) pH 5.0 บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 96 ชั่วโมง จะมี mannanase activity 149.92 U/ml ให้ specific activity 675.62 U/mg และมี  $\beta$ -mannosidase activity 0.7 U/ml specific activity 3.47 U/mg ส่วน galactanase จะผลิตได้มากที่สุดเมื่อเวลา 24 ชั่วโมงเท่ากับ 2.25 U/ml specific activity 14.43 U/mg สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของ mannanase คือที่ pH 6.5 อุณหภูมิ 60°C เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เอนไซม์มีการทำงานสูงสุดหลังจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมแล้วเท่ากับ 521.68 U/ml และมี specific activity เท่ากับ 2230.35 U/mg เมื่อตรวจสอบผลิตภัณฑ์หลังการบ่ม crude enzyme กับ locust bean gum และ gum arabic แล้วพบ mannooligosaccharide มาก

Thesis Title	Selection of Actinomycetes Capable of Producing Mannanase	
Author	Miss Nalin Wongkattiya	
M.S.	Biology	
Examining Committee :	Associate Prof. Dr. Saisamorn Lumyong	Chairperson
	Assistant Prof. Dr. Sumalee Pruksakorn	Member
	Assistant Prof. Morakot Sukchotiratana	Member

#### Abstract

Isolates of 249 actinomycetes from roots, soil samples and pure stock cultures were screened for production of mannanase when grown in 1%(w/v) locust bean gum containing liquid media. Mannanase activity was detected from 38 isolates of Actinomycetes by using gel diffusion assay with a substrate containing 0.7%(w/v) Phyta gel and 0.1%(w/v) locust bean gum as the sole carbon source. Actinomycetes isolate No.E2/22, identified as *Streptomyces* sp. E2/22, produced the highest mannanase activity in the medium containing %(w/v) 2.5 locust bean gum, 0.5 peptone, 0.05 KH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> and 0.05 MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O at pH 5.0. The culture was prepared by inoculation with 3.85% of 48 hr. seed culture and incubated at 30°C with shaking at 200 rpm. It produced mannanase and  $\beta$ -mannosidase with the activity of 149.92 U/ml and 0.7 U/ml, respectively. The highest galactanase was produced after 24 h of incubation at the level of 2.25 U/ml. The optimum conditions for the mannanase activity were at pH 6.5, 60°C and 2 h of incubation. The maximum mannanase activity and specific activity were 521.68 U/ml and 2230.35 U/mg. Mannooligosaccharide production from hydrolysis of locust bean gum and arabic gum was detected by thin layer chromatography analysis.