

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การแยกและการคัดกรองแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ เซลลูเลสเพื่อการย่อยสลายไบโอดี
ผู้เขียน	นางสาวศศิธร ไกรฤทธิชัย
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. นฤมล ทองไว
	บทคัดย่อ

แบคทีเรีย 142 ไอโซเลท แยกจากตัวอย่างดิน มูลสัตว์ ขอนไม้ผุ และปุ๋ยหมัก ภายในภาคเหนือตอนบน จำนวน 40 ตัวอย่าง โดยการเพาะเลี้ยงบนอาหาร carboxymethylcellulose (CMC) agar บ่มที่อุณหภูมิ 45, 50 และ 55°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อทดสอบด้วยวิธี congo red พบว่ามี 68 ไอโซเลท ที่ทำให้เกิดบริเวณไฮรอลรอยเจอร์นของเชื้อ ซึ่งเมื่อทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยเพาะเลี้ยงใน CMC broth พบว่าไอโซเลท CM12 ให้ค่า enzyme activity และ specific activity สูงที่สุด โดยมีสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส อุณหภูมิ 45°C ในอาหารที่มี pH 6.5 มี CMC 1% เป็นแหล่งคาร์บอน และ yeast extract 3% เป็นแหล่งไนโตรเจน บ่มเป็นเวลา 48 ชั่วโมง วัดค่า enzyme activity และค่า specific activity ได้เท่ากับ 194.80 ± 2.05 U/ml และ 0.11 ± 0.01 U/ μ g protein ตามลำดับ จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและชีวเคมีเบื้องต้นพบว่าไอโซเลท CM12 จัดอยู่ในจีนัส *Bacillus* สภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของ crude enzyme ของ *Bacillus* sp. CM12 คือ 50°C และ pH 4.5 โดย crude enzyme นี้สามารถทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น sucrose, starch, chitin และ inulin ได้ เมื่อเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. CM12 ในอาหารพื้นฐานที่มีไบโอดีเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าไบสัค และไบฮุกวางถูกย่อยได้ดีกว่าไบพิกล และไบลำไย เมื่อทำการย่อยไบสัคที่มีความเข้มข้น 9% บ่มเป็นเวลา 3 วัน และไบฮุกวางที่มีความเข้มข้น 7% บ่มเป็นเวลา 9 วัน ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และ enzyme activity สูงสุด คือ

$270.59 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$, $258.44 \pm 0.1 \text{ U/ml}$, $139.90 \pm 1.1 \mu\text{g/ml}$ และ $103.52 \pm 0.8 \text{ U/ml}$ ตามลำดับ
เมื่อเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. CM12 ในอาหารพื้นฐานที่มีโบฮูกวางเป็นแหล่งคาร์บอนนาน 9 วัน
ก่อนเติม *Zymomonas mobilis* TISTR551 พบว่าสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุด 3%
เมื่อเพาะเลี้ยงนาน 48 ชั่วโมง



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

Thesis Title	Isolation and Screening of Bacteria Producing Cellulase for Leave Decomposition
Author	Miss Sasithon Krairitthichai
Degree	Master of Science (Biology)
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Narumol Thongwai

Abstract

One hundred and forty-two isolates of cellulase producing bacteria were isolated from forty samples of soils, livestock manure, decomposing logs and composts collected from the Northern part of Thailand. The isolated bacteria were grown on carboxymethylcellulose (CMC) agar at 45, 50 or 55°C for 24 hours prior to examine their cellulase production by using a Congo red test. It was found that sixty-eight isolates showed positive results with clear zone around the cultures. All isolates were evaluated their cellulase activity by growing in CMC broth. It was found that isolated CM12 displayed the highest enzyme activity. According to the morphological and biochemical studies, the isolate CM12 was primarily identified as the genus *Bacillus*. The optimal conditions for cellulase production were at 45°C in a medium pH 6.5 containing 1% CMC as carbon source and 3% yeast extract as nitrogen source and 48 hours of incubation time. The highest enzyme and specific activities were 194.80 ± 2.05 U/ml and 0.11 ± 0.01 U/ μ g protein, respectively. The functional optimum temperature and pH of crude enzyme from isolate CM12 was at 50°C and pH 4.5, respectively. Cellulase from *Bacillus* sp. CM12 reacted with various substrates including sucrose, starch, chitin and inulin. When grown *Bacillus* sp. CM12 in basal medium having leave as a carbon source it was found that leaves of Teak

(*Tectona grandis* Linn.) and Bengal almond (*Terminalia catappa* Linn.) were better hydrolyzed than that of bullet wood (*Mimusops elengi* Linn.) and Longan (*Dimocarpus longan* Lour.). The leave hydrolysis of Teak and Bengal almond were 9% after 3 days of incubation and 7% after 9 days of incubation. The highest amount of reducing sugars and enzyme activities were $270.59 \pm 0.1 \mu\text{g/ml}$ and $258.44 \pm 0.1 \text{ U/ml}$ and $139.90 \pm 1.1 \mu\text{g/ml}$ and $103.52 \pm 0.8 \text{ U/ml}$, respectively. When grow *Bacillus* sp. CM12 in a basal medium containing leave of Bengal almond for 9 days before addition of *Zymomonas mobilis* TISTR551 the highest alcohol production was 3% after 48 hours of incubation.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved