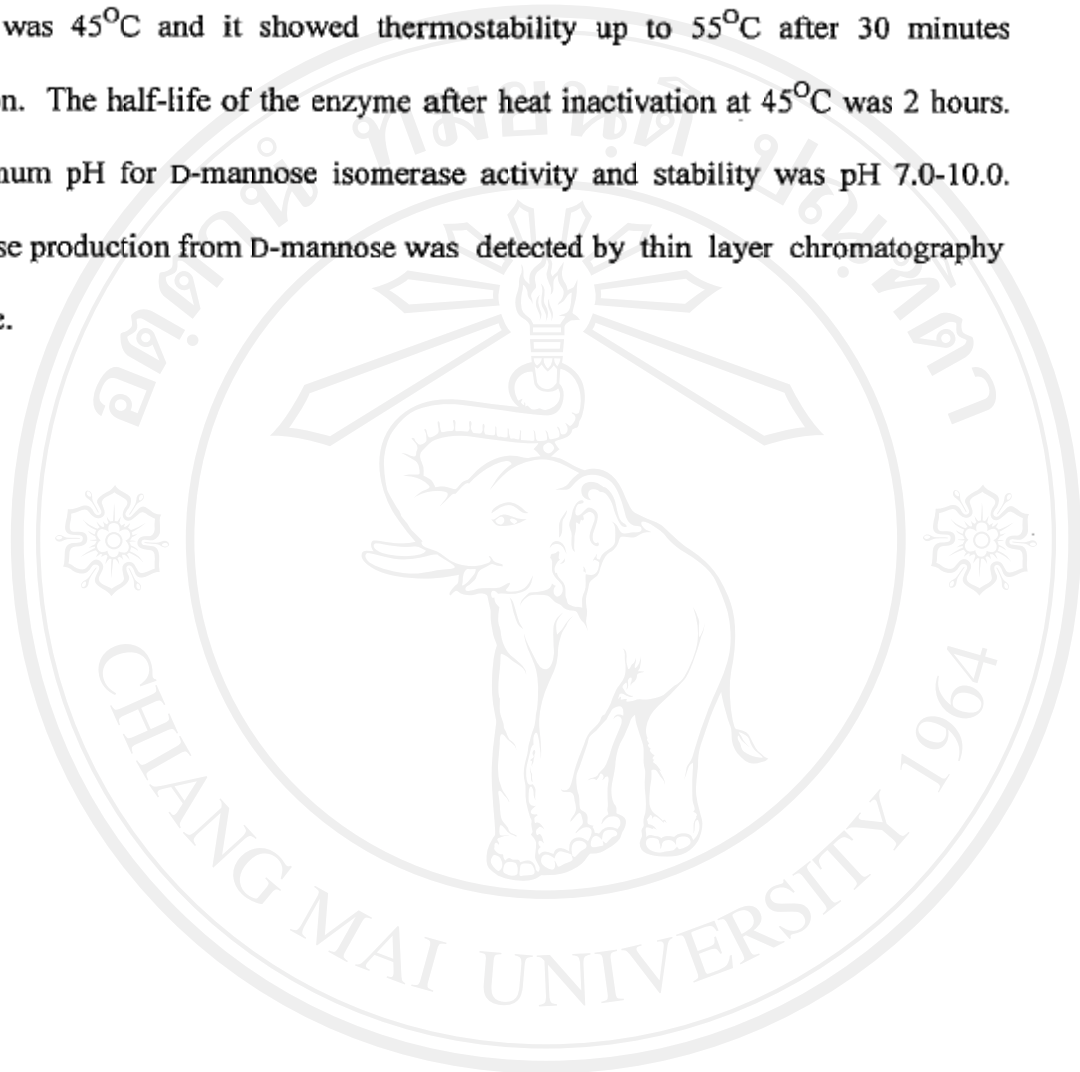


<b>Thesis Title</b>	Selection of Thermotolerant Actinomycetes Capable of Producing Mannose Isomerase
<b>Author</b>	Miss Anchalee Tangjaiatitharn
<b>Degree</b>	Master of Science (Biology)
<b>Thesis Advisor</b>	Assoc.Prof.Dr. Saisamorn Lumyong

### ABSTRACT

Two hundred and nineteen thermotolerant actinomycete strains were isolated from soil samples in Chiang Mai, Phayao and SamutSongkhram provinces. All ketoses were detected from four isolates (CMUb10, CMUb40, CMUg91 and CMUg92) by cysteine carbazole reaction. They can convert D-mannose to D-fructose when cultured by liquid state fermentation using 1.0% (w/v) D-mannose as a substrate. Morphological and chemical characteristic properties (whole-cell hydrolysates by paper chromatography) revealed that strain CMUb10 was a *Streptomyces* sp.. The optimal conditions for D-mannose isomerase production by this strain were investigated. The highest D-mannose isomerase activity of 0.9197 U/ml and specific activity of 0.0758 U/mg protein were achieved after cultivation

at 45°C for 3 days in a medium containing (w/v); 0.5% yeast extract, 0.5% NaCl and 1.0% D-mannose, with an initial pH of 5.0. The optimum temperature for the enzyme reaction was 45°C and it showed thermostability up to 55°C after 30 minutes incubation. The half-life of the enzyme after heat inactivation at 45°C was 2 hours. An optimum pH for D-mannose isomerase activity and stability was pH 7.0-10.0. D-Fructose production from D-mannose was detected by thin layer chromatography technique.



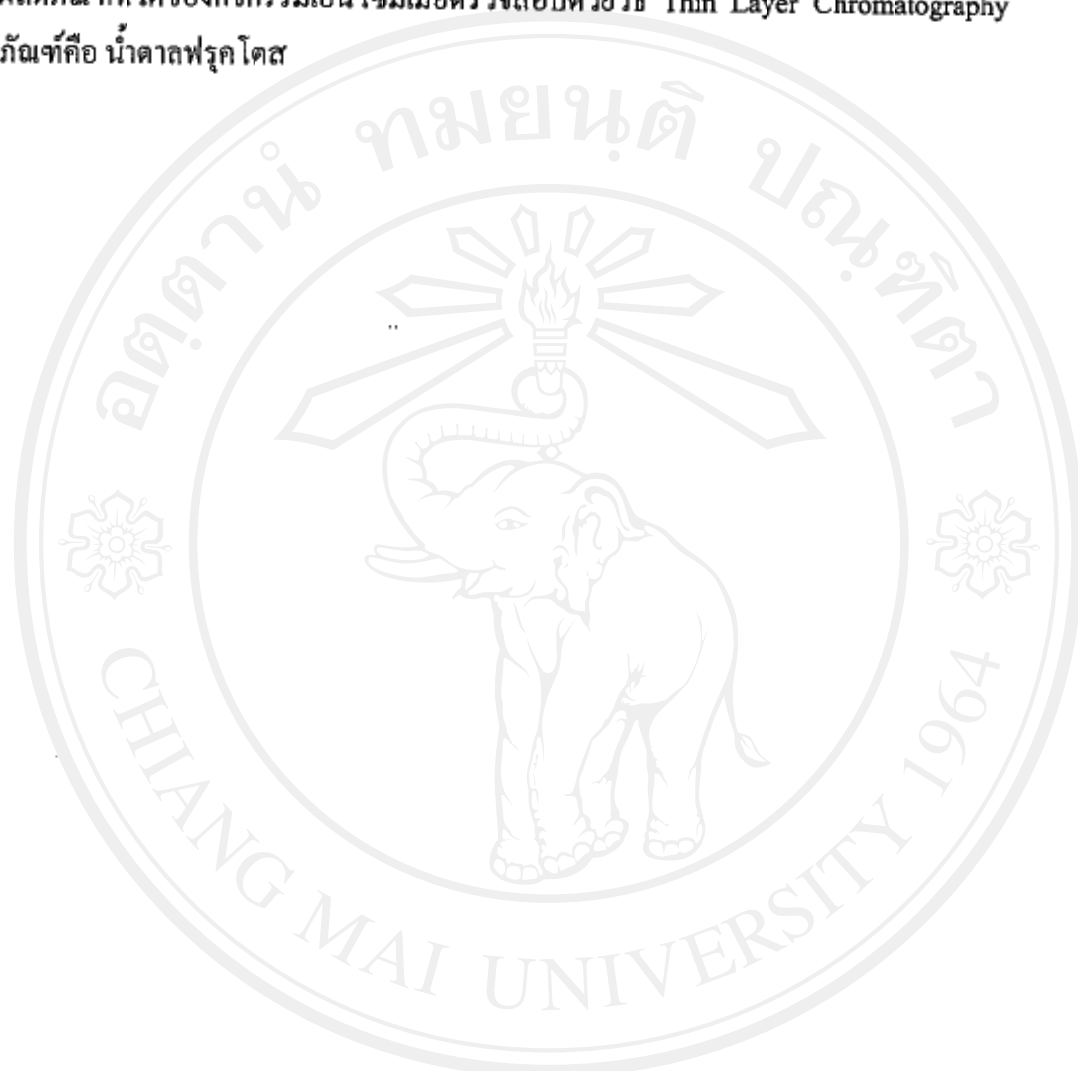
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved

---

ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์	การคัดเลือกแอคติโนมัยซิสทนอุณหภูมิสูงที่ผลิตเอนไซม์ แมนโนสไอโซเมอเรส
ผู้เขียน	นางสาวอัญชลี ตั้งใจอิฐฐาน
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รศ.ดร.สายสมร ถ้ายอง  บทคัดย่อ

จากการแยกแอคติโนมัยซิสทนอุณหภูมิสูงจากดินในจังหวัดเชียงใหม่, พะเยา และสมุทรสงคราม ทั้งหมด 219 ไอโซเลท พบว่า แอคติโนมัยซิสจำนวน 4 ไอโซเลท คือ สายพันธุ์ CMUb10, CMUb40, CMUg91 และ CMUg92 มีความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลแมนโนสเป็นน้ำตาลในกลุ่มคีโตสได้ เมื่อเลี้ยงโดยวิธีการหมักในสภาพอาหารเหลวที่ประกอบด้วย (น้ำหนักต่อปริมาตร); น้ำตาลแมนโนส 1.0% เป็นแหล่งคาร์บอน แล้วนำน้ำเลี้ยงมาทดสอบการผลิตน้ำตาลในกลุ่มคีโตสด้วยวิธี cysteine carbazole และนำเซลล์มาทำการสกัดเอนไซม์ด้วยวิธี sonicate พบว่า แอคติโนมัยซิสทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ CMUb10 สามารถผลิตเอนไซม์แมนโนสไอโซเมอเรสสูงสุด จากการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและองค์ประกอบของผนังเซลล์ของแอคติโนมัยซิสทนอุณหภูมิสูงสายพันธุ์ CMUb10 พบว่าเป็น *Streptomyces* sp. สภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตแมนโนสไอโซเมอเรสของ *Streptomyces* sp. CMUb10 คืออาหารเหลวที่ประกอบด้วย (น้ำหนักต่อปริมาตร); ยีสต์แอกแทรก 0.5%, โซเดียมคลอไรด์ 0.5% และ น้ำตาลแมนโนส 1.0% ที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่างของอาหารหมักเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3 วัน โดยให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แมนโนสไอโซเมอเรสสูงสุด เท่ากับ 0.9197 ยูนิตต่อมิลลิกรัม และ specific activity เท่ากับ 0.0758 ยูนิตต่อมิลลิกรัม โปรตีน คุณสมบัติของเอนไซม์พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานคือ 45 องศาเซลเซียส เอนไซม์มีความเสถียรที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส

เป็นเวลา 30 นาที และมีค่าครึ่งชีวิตของการเสียสภาพที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียสเมื่อเวลาผ่านไป 2 ชั่วโมง ค่าความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานและความเสถียรของเอนไซม์คือ 7.0-10.0 ผลิตภัณฑ์ที่ได้ของกิจกรรมเอนไซม์เมื่อตรวจสอบด้วยวิธี Thin Layer Chromatography พบว่าผลิตภัณฑ์คือน้ำตาลฟรุคโตส



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่  
Copyright© by Chiang Mai University  
All rights reserved