การสกัดสารเบต้ากลูแคนจากยีสต์และการประยุกต์ใช้ในกุ้งกุลาดำ

Extraction of Beta-glucan from Yeast and Its Application in Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*)

มลฤดี สิทธิพันธุ์

Monrudee Sitthipun

วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์

Master of Science Thesis in Biotechnology

Prince of Songkla University

2541

Order Key 17323

BIB Key 151520

เลขหมู่ QP609.B44 ส111 2541

เลขทะเบียน - 1 S.A. 2541

ชื่อวิทยานิพนธ์ การสกัดสารเบต้ากลูแคนจากยีสต์และการประยุกต์ใช้ในกุ้งกุลาดำ

ผู้เขียน นางสาวมลฤดี สิทธิพันธุ์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2541

บทคัดย่อ

ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5088 ที่เลี้ยงในอาหาร YEPD เป็นระยะเวลา 36 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้องได้น้ำหนักเซลล์แห้ง 9.00 กรัมต่อลิตร เมื่อทำให้เซลล์แตกและแยกผนังเซลล์จะได้เท่ากับ 13.65 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักแห้ง จากนั้นสกัดสารเบต้ากลูแคนจากผนังเซลล์ยีสต์โดยวิธีการสกัด 2 วิธีคือ วิธีที่ 1 สกัดผนังเซลล์กับสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ พีเอช 8.0 และวิธีที่ 2 สกัดผนังเซลล์กับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.75 โมลาร์ อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส พบว่า วิธีการสกัดที่ 1 ให้สารเบต้ากลูแคน 20.00 เปอร์เซ็นต์ของผนังเซลล์และมีน้ำตาลรวมเท่ากับ 129.00 มิลลิกรัมต่อกรัม ส่วนวิธีการสกัดที่ 2 ให้สารเบต้ากลูแคน 30.00 เปอร์เซ็นต์ของผนังเซลล์และมีน้ำตาลรวมเท่ากับ 82.20 มิลลิกรัมต่อกรัม เมื่อนำสารที่สกัดได้จากวิธีที่ 1 มาละลายน้ำให้มีความเข้มข้น 0.02 กรัมต่อมิลลิลิตร ไปทำให้บริสุทธิ์โดยผ่านคอลัมน์ขนาด 110x1.0 เซ็นติเมตร ที่บรรจุ Sephadex G-100 พบว่า สารละลายในแฟรคชั่นที่ 18-29 มีปริมาณน้ำตาลรวมสูงสุดเท่ากับ 2.85 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ซึ่งได้นำไปทดสอบความบริสุทธิ์ โดยใช้ทินเลเยอร์โครมาโตกราฟี พบว่า สารที่สกัดได้มี Rf เท่ากับสารเบต้ากลูแคนมาตรฐาน

หลังจากสกัดสารเบต้ากลูแคนจากยีสต์ได้แล้วได้นำไปทดสอบเลี้ยงกุ้งกุลาดำ เป็นเวลา 45 วัน โดยผสมในอาหารให้มีสารเบต้ากลูแคนอยู่ 0.10 เปอร์เซ็นต์ของอาหาร โดยมีอาหาร 4 สูตรดังนี้คือ อาหารชุดควบคุม อาหารที่ผสมผนังเซลล์ยีสต์ 8.40 กรัมในอาหาร 1 กิโลกรัม อาหารที่ผสมสารเบต้ากลูแคนก่อนทำให้บริสุทธิ์ 1.70 กรัมในอาหาร 1 กิโลกรัม และอาหารที่ผสมสารเบต้ากลูแคนที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ 1.00 กรัมในอาหาร 1 กิโลกรัม พบว่า กุ้งกุลาดำที่เลี้ยงด้วยอาหารผสมสารเบต้ากลูแคนที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ ให้ผลการ

ทดลองดีที่สุด โดยมีค่าปริมาณเม็ดเลือดรวมเท่ากับ 9.89×10^7 เซลล์ต่อมิลลิลิตร ค่าความสามารถในการกำจัดเชื้อแบคทีเรียในน้ำเลือดเท่ากับ 0.60×10^4 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และความต้านทานเชื้อ *Vibrio harveyi* โดยคิดเป็นอัตราการรอดตายเท่ากับ 90.00 เปอร์เซ็นต์

Thesis Title	Extraction of Beta-glucan from Yeast and Its Application in Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*)
Author	Miss Monrudee Sitthipun
Major Program	Biotechnology
Academic Year	1998

Abstract

Saccharomyces cerevisiae TISTR 5088 cultivated at room temperature on the shaker (200 rpm) for 36 hours in YEPD medium had 9.00 g/l cell dry weight. After cell homogenization and extraction the yield from the cell wall was 13.65 % of the cell dry weight. The beta-glucan was extracted from the cell wall by 2 methods : (1) extraction with 50 mM phosphate buffer (pH 8.0) provided crude beta-glucan 20.00% of cell wall with total sugar 129.00 mg/g and (2) extraction with 0.75 M sodium hydroxide at 75°C provided crude beta-glucan 30.00% of cell wall with total sugar 82.20 mg/g. Purification of the 0.02 g/l beta-glucan solution by Sephadex G-100 column (110x1.0 cm.) showed that fraction numbers 18-29 had 2.85 mg/ml total sugar. Separation by thin layer chromatography showed that samples had the same Rf as the standard beta-glucan.

After beta-glucan separation this beta-glucan was added to the feed formula to grow Black Tiger Prawn (*Penaeus monodon*) for 45 days with 0.10% pure beta-glucan in the feed formula. Four formulators were tested. They were 8.40 g of cell wall/1 kg. feed, crude beta-glucan 1.70 g/1 kg feed , 1.00 g of pure beta-glucan/1 kg feed and control feed. The prawns that consumed feed with pure beta-glucan showed the best results with total haemocyte count of 9.89×10^{7} cells/ml, bacteria clearance from haemolymph of 0.60×10^{4} cfu/ml, and disease resistance against *Vibrio harveyi* 90.00%.