

ABSTRACT

A cyclodextrin glycosyltransferase (CGTase) synthesizes cyclic malto-oligosaccharides called cyclodextrin from starch. Cyclodextrin is a very useful compound for food, pharmaceutical, cosmetic, and agricultural industries. In this study, CGTase producing bacteria was isolated from soil sample and identified as *Bacillus* sp. C26. The maximum production of CGTase was observed after 48 h of cultivation time. The effect of nutritional requirements on CGTase production was investigated. The highest CGTase production of *Bacillus* sp. C26 was achieved using sago starch and yeast extract as carbon source and nitrogen source, respectively. The optimal concentrations of sago starch and yeast extract were the same at 1% (w/v). The optimal conditions for CGTase production was at initial pH 10 and temperature 37°C. Under these optimal conditions, the maximum yield obtained was 25.7 U/mL achieved at 48 h. The specific growth rate and GCTase production rate of *Bacillus* sp. C26 were 0.193 h⁻¹ and 5.94 U/mg-protein/h, respectively. Characterization of CGTase exhibited 2 optimum pH at 6.0 and 8.5 and at temperature 60°C. The enzyme was stable from pH 7.0 to 9.0 and retained its high activity up to 50°C. The optimum conditions for cyclodextrin production were: 6% (w/v) tapioca starch heated at 65°C for 1 h, 48 U/g-substrate of enzyme concentration, pH 8.5 and 50°C. Under these conditions, up to 66% conversion of starch to β-cyclodextrin was obtained. The enzyme produced α-, β- and γ-cyclodextrin in the ratio of 0.35:0.65:0 after 12 h.

บทคัดย่อ

เอนไซม์ Cyclodextrin Glycosyltransferase (CGTase) ผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินซึ่งเป็นสารประกอบประเภทโพลิไกลิโคแซคคาไรด์จากการย่อยแป้ง ปัจจุบันมีการใช้ประโยชน์ไซโคลเด็กซ์ทรินอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร, การผลิตยา, เครื่องสำอางและผลิตภัณฑ์เกษตร การศึกษาในครั้งนี้ได้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียจากดินซึ่งเป็นเชื้อ *Bacillus* sp. C26 ที่สามารถผลิตเอนไซม์ CGTase ได้ และให้ผลผลิตเอนไซม์ CGTase สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 48 ชั่วโมง การศึกษาผลของแหล่งอาหารที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์ CGTase พบว่าเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ CGTase ได้สูงเมื่อใช้แป้งสาคูและยีสต์สกัดเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน ตามลำดับ ความเข้มข้นที่เหมาะสมของแป้งสาคูและยีสต์สกัด คือ ความเข้มข้นร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งสภาวะที่เหมาะสมในการผลิต คือ พีเอชอาหารเริ่มต้น 10 และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส สามารถผลิตเอนไซม์ CGTase ได้สูงสุด 25.7 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ระยะเวลา 48 ชั่วโมง มีอัตราการเจริญจำเพาะและอัตราการผลิตเอนไซม์จำเพาะเท่ากับ 0.193 ต่อชั่วโมง และ 5.94 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อนำเอนไซม์ CGTase มาศึกษาคุณสมบัติ พบว่าเอนไซม์ CGTase มีกิจกรรมสูงสุดที่ 2 พีเอช คือ 6.0 และ 8.5 และที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เอนไซม์มีความคงตัวสูงที่พีเอช 7.0-9.0 และทนต่ออุณหภูมิได้สูงถึง 50 องศาเซลเซียส สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไซโคลเด็กซ์ทรินโดยเอนไซม์ CGTase คือ แป้งมันสำปะหลังความเข้มข้นร้อยละ 6 ผ่านการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง และความเข้มข้นเอนไซม์ CGTase 48 ยูนิตต่อกรัมแป้งที่พีเอช 8.5 และอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ภายใต้สภาวะนี้สามารถผลิตเบต้าไซโคลเด็กซ์ทรินได้ร้อยละ 66 ของสัปดาห์เริ่มต้น โดยเอนไซม์ CGTase มีสัดส่วนการผลิตแอลฟา, เบต้า และแกมมาไซโคลเด็กซ์ทรินเท่ากับ 0.35:0.65:0 ตามลำดับ ในเวลา 12 ชั่วโมง