

ข้อมูลท้องถิ่น



รายงานฉบับสมบูรณ์

การผลิตเอนไซม์ฟอกสีเมลานินโดยเชื้อราและการนำไปประยุกต์ใช้  
ในการฟอกย้อมสีผม (ส่วนที่ 1)

Production of melanin-bleaching enzyme by microorganism and  
its application in human hair melanin decolorization (part-I)

โดย  
รศ. ดร. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล

207888

โครงการวิจัยนี้ได้รับทุนอุดหนุนจากสำนักงานงบประมาณแผ่นดิน  
ประจำปีงบประมาณ 2559  
(ความเห็นของรายงานนี้เป็นของผู้วิจัย ม.อบ.ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป)

## บทสรุปผู้บริหาร

โครงการวิจัยเรื่อง การผลิตเอนไซม์ฟอกสีเมลานินโดยเชื้อราและการนำไปประยุกต์ใช้ในการฟอกย้อมสีผม (ส่วนที่ 1) Production of melanin-bleaching enzyme by microorganism and its application in human hair melanin decolorization (part-I) ได้รับอนุมัติเงินงบประมาณปีพ.ศ. 2559 เป็นเงิน 300,000 บาท โดยแบ่งเป็นงบดำเนินการสำหรับนักวิจัยเป็นเงิน 272,800 บาท งบสาธารณูปโภคสำหรับมหาวิทยาลัยเป็นเงิน 13,600 บาท งบสาธารณูปโภคสำหรับคณะวิทยาศาสตร์เป็นเงิน 13,600 บาท โครงการวิจัยนี้ดำเนินแล้วเสร็จภายในปีงบประมาณและสำเร็จลุล่วงตามวัตถุประสงค์ ทั้งนี้ได้ส่งผลงานวิจัยเพื่อการตีพิมพ์เผยแพร่ระดับชาติในวารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์ที่ให้การสนับสนุนอุปกรณ์เครื่องมือและสถานที่ในการทำงานวิจัย และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยอุบลราชธานีที่ให้การสนับสนุนงบประมาณการทำวิจัยในครั้งนี้เป็นอย่างสูง

รศ. ดร. ปราณี พัฒนพิพิธไพศาล  
หัวหน้าโครงการวิจัย

ขท/๒๙

เลขหมาย	QP๐๐๑ ๒๔๔๕ก ๒๕๕๙
เลขทะเบียน	ขท ๖๙๙๙
วัน/เดือน/ปี	๑-๖-๕๕.๕.๒๕๖๑

## บทคัดย่อ

การแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมการฟอกสีเมลานินจากตัวอย่างดิน อากาศ น้ำเสีย และเส้นผม รวมทั้งหมด 13 ตัวอย่าง บนอาหารเลี้ยงเชื้อ melanin agar medium บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7-30 วัน สามารถคัดแยกเชื้อที่สามารถฟอกสีเมลานินโดยให้บริเวณใสรอบๆ โคลนีนีจำนวน 7 ไอโซเลท เป็นเชื้อแบคทีเรียจำนวน 4 ไอโซเลทคือ ไอโซเลท MA3, MS1, MS2, และ MH1 และเชื้อราจำนวน 3 ไอโซเลทคือ ไอโซเลท MA1, MA2, และ MA4 เมื่อทำการคัดเลือกพบว่าไอโซเลท MA4 มีค่า enzyme activity ratios สูงสุดเท่ากับ 2.04 นำเชื้อราไอโซเลท MA4 มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา 18S rRNA sequencing และวิเคราะห์เปรียบเทียบลำดับเบสที่เหมือนกันที่สุดโดยใช้ BLAST search สามารถจัดจำแนกเชื้อราไอโซเลท MA4 เป็น *Aspergillus flavus* MA4

เมื่อศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์ฟอกสีเมลานินด้วยกระบวนการหมักแบบอาหารแข็งและกระบวนการหมักแบบอาหารเหลวพบว่าเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง (35.29 units/ml) มีกิจกรรมสูงกว่าเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการหมักแบบอาหารเหลว (1.08 units/ml) สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์คือ ปริมาณขี้เลื่อยและกาวอีคอลที่เหมาะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ sawdust medium คือ 11 กรัม และ 3.0 มิลลิกรัมตามลำดับ พีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 6.0 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน ภายใต้สภาวะการผลิตที่เหมาะสมเชื้อราผลิตเอนไซม์ที่มีกิจกรรมเอนไซม์ฟอกสีเมลานินเท่ากับ 41.54 units/ml ผลการทดลองที่ได้สามารถใช้เป็นข้อมูลในการขยายขนาดการผลิตเพื่อนำเอนไซม์ฟอกสีเมลานินนำไปใช้ประโยชน์ในการฟอกย้อมสีผมต่อไป

**คำสำคัญ** เมลานิน เอนไซม์ฟอกสีเมลานิน เชื้อราที่สร้างเอนไซม์ฟอกสีเมลานิน

## Abstract

A total of 13 samples of soil, air, wastewater and human hair were collected and isolated for microbial activity to decolorize melanin. The samples were plated on melanin agar medium, incubated 37 °C for 7-30 days. It was found that only four of bacteria (MA3, MS1, MS2, and MH1) and three of fungi (MA1, MA2, and MA4) had ability to decolorize the pigment showing clear zone around the colony. After screening, isolate MA4 was the most promising of fungi that provide highest enzyme activity ratio at 2.04. Under morphology study, 18S rRNA sequencing and alignment of DNA using BLAST search, isolate MA4 was identified as *Aspergillus flavus* MA4

Comparison study between production of enzyme-bleaching enzyme using solid state fermentation and submerge fermentation, results showed that the enzyme which produced by this strain using solid state fermentation process provided higher activity than from submerged fermentation process. It was found that the optimum concentration of sawdust and guaicol in sawdust medium for enzyme production were 11 gram and 3.0 milligram, respectively. The initial pH of the medium was 6.0. The culture medium was incubated at 30°C for 3 days. Under optimum condition, the fungus could produce melanin-bleaching enzyme with greatest activity at 41.54 units/ml. Results suggest the possibility of enlarge scale for enzyme production and industrial application

**Key words** Melanin, melanin-bleaching enzyme, melanin- bleaching enzyme producing fungi