T164267

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อบาซิลลัส 24 สายพันธุ์ ในอาหารที่มีไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอนในสภาวะเป็นด่าง พบว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BK มีกิจกรรมจำเพาะของไซลาเนสสูงที่สุดคือ 1.23 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน โดย *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BK ผลิตโปรตีนหลัก 9 ชนิดที่มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 82 62 57 50 44 41 38 29 และ 24 kDa ตามลำดับ โดยโปรตีน 2 ชนิดที่มีขนาด 41 และ 38 kDa มีกิจกรรมของไซลาเนส จากการตรวจสอบชนิดและปริมาณของ xylanolytic enzyme พบว่า *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BK ผลิต extracellular xylanolytic enzymes 4 ชนิดคือ ไซลาเนส อะราบิโนฟูราโนซิเดส อะเซทิลเอสเทอเรส และ เบตาไซโลซิเดส โดยมีกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เท่ากับ 1.23 0.11 0.06 และ 0.04 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ การศึกษาการผลิตไซลาเนสที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่าสัมพันธ์กับการเจริญของ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BK การตรวจสอบความสามารถในการยึดเกาะระหว่าง crude xylanase กับโพลีแซคคาไรด์ พบว่าสามารถยึดเกาะกับไซแลน (oat spelt) ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ เปลือกข้าวโพด ไคติน อัลฟาเซลลูโลส และอะไวเซล ตามลำดับ แต่ไม่ยึดเกาะกับแป้ง crude xylanolytic enzyme สามารถย่อยไซแลนในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆ โดยย่อยเปลือกข้าวโพดได้ดีที่สุด รองลงมาคือ ชานอ้อย ฟางข้าว ซังข้าวโพด แกลบ และรำข้าว ตามลำดับ การเปรียบเทียบ crude enzyme จาก *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BK *Bacillus halodurans* C-1 และ *Bacillus circulans* B6 ต่อการย่อยไซแลนที่ไม่ละลายน้ำจาก oat spelt และเปลือกข้าวโพด พบว่า crude enzyme จาก *Bacillus* sp. สายพันธุ์ BK ย่อยไซแลนที่ไม่ละลายน้ำจาก oat spelt ได้ใกล้เคียงกับสายพันธุ์ B6 แต่ดีกว่าสายพันธุ์ C-1 ขณะที่ crude enzyme จากสายพันธุ์ BK ย่อยเปลือกข้าวโพดได้ดีกว่าสายพันธุ์ C-1 แต่น้อยกว่าของสายพันธุ์ B6

Bacillus sp. สายพันธุ์ BK ผลิตไซลาเนส 2 ชนิด ที่มีขนาด 41 kDa (ไซลาเนส I) และ 38 kDa (ไซลาเนส II) ไซลาเนส II ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต และ fast performance liquid chromatography system ที่ใช้คอลัมน์ DEAE-HiPrep FF 16/10 จากการตรวจสอบความบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค SDS-PAGE และ active-PAGE พบว่าไซลาเนส II มีขนาดโมเลกุลเท่ากับ 38 kDa การศึกษาผลของไซลาเนสบริสุทธิ์ต่อการย่อยไซแลนชนิดต่างๆ ที่ไม่ละลายน้ำ พบว่าไซลาเนส II ย่อย oat spelt xylan ได้ดีกว่า larch wood xylan แต่ไซลาเนส II ไม่สามารถย่อยเปลือกข้าวโพดซึ่งเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร การตรวจสอบความสามารถในการยึดเกาะระหว่างไซลาเนส II กับโพลีแซคคาไรด์ พบว่าสามารถยึดเกาะกับไซแลน (oat spelt) ได้ดีที่สุด รองลงมาคือ อัลฟาเซลลูโลส เปลือกข้าวโพด ไคติน และอะไวเซล แต่ไม่สามารถยึดเกาะกับแป้ง ผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการย่อยไซแลนคือ อนุกรมของไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดสั้นๆ แสดงว่าไซลาเนส II เป็น endoxylanase

TE 164267

Twenty four strains of *Bacillus* species were cultured in an alkaline xylan media for selection. *Bacillus* sp. strain BK produced the highest specific xylanase activity of 1.23 unit per mg of protein. The SDS-PAGE showed nine major proteins with the molecular weights of 82 62 57 50 44 41 38 29 and 24 kDa. Two proteins with molecular weight at 41 and 38 kDa were xylanase. In addition, *Bacillus* sp. strain BK also produced extracellular xylanolytic enzymes consisted of xylanase, arabinofuranosidase, acetyl esterase and β-xylosidase which were 1.23, 0.11, 0.06 and 0.04 unit per mg of protein, respectively. The xylanase produced by this strain was found to increase along with the cell growth. The crude xylanase was able to bind to oat spelt xylan better than those of corn hull, chitin, α-cellulose and avicel but it could not bind to starch. Moreover, the crude xylanolytic enzyme was able to hydrolyze xylan in agricultural wastes such as corn hull, sugarcane bagasse, rice straw, corn cob, rice husk, and rice bran. The comparison between the insoluble xylan and corn hull hydrolysis by the crude enzymes of *Bacillus* sp. strain BK, *Bacillus halodurans* C-1 and *Bacillus circulans* B6 were studied. The crude enzyme of *Bacillus* sp. strain BK hydrolyzed insoluble oat spelt xylan as well as crude enzyme from *B. circulans* B6, but better than that by crude enzyme of *B. halodurans* C-1. The hydrolysis of corn hull by the crude enzyme of *Bacillus* sp. strain BK was better than that by the crude enzyme of *B. halodurans* C-1, but less than that of *B. circulans* B6.

***Bacillus* sp. strain BK produce two xylanases with molecular weight at 41 kDa (xylanase I) and 38 kDa (xylanase II). Xylanase II was purified to homogeneity, as demonstrated by SDS-PAGE and active-PAGE by mean of ammonium sulfate precipitation and fast performance liquid chromatography with DEAE-HiPrep FF 16/10 column. The molecular weight of the purified xylanase was estimated to be about 38 kDa. The hydrolysis rate of insoluble oat spelt xylan by the purified enzyme was higher than that of insoluble larch wood xylan but it could not hydrolyse agricultural wastes such as corn hull. Xylanase II was able to bind to insoluble polysaccharides such as xylan (oat spelt), α-cellulose, corn hull, chitin and avicel, respectively but it could not bind to starch. The enzymatic hydrolysis products of xylan were a series of short-chain xylooligosaccharides, indicating that the enzyme was an endoxylanase.**