บทคัดย่อ

232965

เมื่อเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. สายพันธุ์ TW-1ในอาหารที่มีเปลือกข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนภายใต้สภาวะที่มีออกซิเจน พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์เชิงซ้อน (multienzyme complex) ในกลุ่มของไซลาโนไลติกและเซลลูโลไลติกเอนไซม์ได้ ซึ่งเอนไซม์เชิงซ้อนที่ยึดเกาะกับผิวเซลล์ ทำให้เซลล์สามารถยึดเกาะกับพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำ เอนไซม์เชิงซ้อนถูกทำให้บริสุทธิ์ได้โดยการชะตะกอนเซลล์ (pellet) สองขั้นตอนด้วย sucrose ร้อยละ 0.25 และ triethylamine (TEA) ร้อยละ 1 ตามลำดับ เมื่อตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์ในเอนไซม์เชิงซ้อนบริสุทธิ์พบว่าประกอบด้วยไซลาเนส อะราบิโนฟูราโนซิเดส คาร์บอกซีเมททิลเซลลูเลส อะไวซิเลส และเซลโลไบโอไฮโดรเลส จากการศึกษารูปแบบโปรตีนของเอนไซม์เชิงซ้อนบริสุทธิ์ด้วยเทคนิค native-PAGE พบว่าประกอบด้วยกลุ่มโปรตีนขนาดใหญ่เพียงกลุ่มเดียว ประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 12 ชนิดเมื่อตรวจสอบด้วย SDS-PAGE และประกอบด้วยไซลาเนสอย่างน้อย 15 ชนิด และคาร์บอกซีเมททิลเซลลูเลสอย่างน้อย 8 ชนิด เมื่อตรวจสอบด้วย zymograms เอนไซม์เชิงซ้อนบริสุทธิ์สามารถย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรได้มากกว่าเอนไซม์ในส่วนของ crude enzyme โดยสามารถย่อยเปลือกข้าวโพดได้ดีที่สุด รองลงมาเป็น ซังข้าวโพด ชานอ้อย ฟางข้าว และแกลบ ผลิตภัณฑ์หลักที่ได้จากการย่อยเปลือกข้าวโพดด้วยเอนไซม์เชิงซ้อนบริสุทธิ์ ได้แก่ ไซโลโอลิโกแซ็กคาไรด์สายสั้นๆ ที่มีขนาด 2–5 มอนอเมอร์ ขณะที่ crude enzyme ย่อยเปลือกข้าวโพดได้ผลิตภัณฑ์หลักเป็น ไซโลส และผลิตภัณฑ์รองเป็นกลูโคส

ขณะที่การเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. สายพันธุ์ TW-1 ภายใต้สภาวะปราศจากออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปลือกข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ต่างๆในกลุ่มไซลาโนไลติกและเซลลูโลไลติก เซลล์ของ *Bacillus* sp. สายพันธุ์ TW-1 มีความสามารถในการยึดเกาะพอลิแซ็กคาไรด์ที่ไม่ละลายน้ำได้โดยสามารถยึดเกาะกับไซแลนที่ไม่ละลายน้ำได้ดีกว่า เปลือกข้าวโพด ซังข้าวโพด และ อะไวเซล เมื่อนำเอนไซม์เชิงซ้อนบริสุทธิ์ที่ชะจากตะกอนเซลล์ (pellet) ด้วย TEA ร้อยละ 1 มาตรวจสอบกิจกรรมของเอนไซม์พบว่าประกอบด้วยไซลาเนส เบต้าไซโลซิเดส อะราบิโนฟูราโนซิเดส อะไวซิเลส คาร์บอกซีเมททิลเซลลูเลส เบต้ากลูโคซิเดส และเอนไซม์แมนนาเนส เมื่อตรวจสอบรูปแบบของเอนไซม์ในกลุ่มไซลาโนไลติกและเซลลูโลไลติกในส่วนที่ชะจากตะกอนเซลล์โดยใช้สารละลายTEA ร้อยละ 1 พบกลุ่มโปรตีนขนาดใหญ่เพียงกลุ่มเดียวเมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค native-PAGE สำหรับ SDS-PAGE นั้นรูปแบบโปรตีนที่ชะด้วย TEA (ร้อยละ 1) แสดงแถบโปรตีนอย่างน้อย 6 ชนิด และเมื่อตรวจสอบด้วยเทคนิค zymogram พบว่าประกอบด้วยไซลาเนสอย่างน้อย3 ชนิด และคาร์บอกซีเมททิลเซลลูเลสอย่างน้อย 1 ชนิด เมื่อเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. สายพันธุ์ TW-1 ในอาหารที่มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอน ภายใต้สภาวะปราศจากออกซิเจนพบว่าเปลือกข้าวโพดเป็นวัสดุเหลือทิ้งทาง

232965

การเกษตรที่ไซลาโนไลติกและเซลลูโลไลติกเอนไซม์จาก *Bacillus* sp. สายพันธุ์ TW-1 สามารถย่อยได้ดีและตรวจวัดปริมาณน้ำตาลใน culture supernatant ได้มากที่สุด รองลงมาคือ ซังข้าวโพดและฟางข้าว ตามลำดับ ส่วนชานอ้อย และแกลบ ถูกย่อยได้น้อยมาก โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Bacillus* sp. สายพันธุ์ TW-1 ในเปลือกข้าวโพดภายใต้สภาวะปราศจากออกซิเจนได้แก่ ไซโลส ไซโลไบโอส และโอลิโกแซ็กคาไรด์ต่างๆ นอกจากนี้ยังสามารถตรวจพบเอทานอล และกรดแอซีติกในน้ำหมักด้วย

When *Bacillus* sp. strain TW-1 was grown in the medium containing corn hull as a sole source of carbon under aerobic conditions, the bacterium produced multienzyme complex, containing xylanolytic and cellulolytic enzymes. Due to the presence of multienzyme complex on the cell surface, the cells enabled to adhere to insoluble polysaccharides. Multienzyme complex was purified by elution from pellet by two stepwise of 0.25% sucrose and 1% triethylamine (TEA). The purified multienzyme complex contained xylanase, arabinofuranosidase, carboxymethyl cellulase (CMCase), avicelase and cellobiohydrolase. Analysis of the purified multienzyme complex by SDS-PAGE revealed at least 12 protein bands but showed only one band on native-PAGE and showed at least 15 xylanases and 8 carboxymethyl cellulases on zymograms. The purified multienzyme complex could hydrolyze agricultural residues better than the crude enzyme. Corn hull had the highest rate of hydrolysis, followed by corn cop, sugarcane bagasse, rice straw and rice husk. The hydrolysis products of corn hull by the purified multienzyme complex from *Bacillus* sp. TW-1 were found to be short chain xylooligosaccharides including 2-5 monomers but the products of corn hull hydrolysis by the crude enzyme was xylose as major product and glucose as minor product.

Bacillus sp. strain TW-1 produced xylanolytic and cellulolytic enzymes when grown on corn hull as a carbon source under anaerobic conditions. It produced xylanolytic-cellulolytic enzymes. *Bacillus* sp. strain TW-1 cells could adhere to insoluble xylan better than corn hull, corn cob, and avicel. Multienzyme complex, eluted from pellet by 1% TEA contained xylanase, β-xylosidase, arabinofuranosidase, avicelase, CMCase, β-glucosidase and mannanase. Native-PAGE analysis indicated that the eluted multienzyme complex contained only one band of large protein and SDS-PAGE of the eluted multienzyme complex exhibited at least 6 proteins, and zymograms indicated that the large protein contained at least 3 types of xylanase and 1 type of CMCase. When *Bacillus* sp. strain TW-1 was grown on agricultural wastes under anaerobic conditions, corn hull was efficiently hydrolyzed better than corn cob and rice straw. However, sugarcane bagasse, and rice husk were difficult to hydrolyze by the enzymes. The hydrolysis products of corn hull in culture supernatant were xylose, xylobiose, and other oligosaccharides. Moreover, ethanol and acetic acid were found in the culture medium of *Bacillus* sp. strain TW-1 during growth on corn hull as a sole carbon source under anaerobic conditions.