

จากการเพาะเลี้ยง *Bacillus halodurans* C-1 และ *Bacillus firmus* K-1 ในสูตรอาหารเหลวที่ผ่านและไม่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อด้วยความร้อน โดยใช้เปลือกข้าวโพด 1% เป็นแหล่งคาร์บอน และยูเรีย 0.4% เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่า ไม่เกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นในสารอาหารทั้งสองสภาวะ และเมื่อทดสอบความสามารถในการย่อยไซแลนในเยื่อกระดาษคราฟท์ ได้แก่ เยื่อคาลิปต์ส เยื่อซานอ้อย และเยื่อสน พบว่าที่สัดส่วนของ crude xylanase ที่ได้จาก *Bacillus halodurans* C-1 : *Bacillus firmus* K-1 เท่ากับ 1:9 มีความเหมาะสมในการย่อยไซแลนในเยื่อคาลิปต์สและเยื่อซานอ้อย และสัดส่วน 3:7 สำหรับเยื่อสน นอกจากนี้เอนไซม์ที่สัดส่วนดังกล่าวสามารถปลดปล่อยสาร chromophores (λ_{280}) ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ซึ่งปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ปลดปล่อยออกมาแปรผันตามปริมาณ chromophores โดยเอนไซม์มีความสามารถในการย่อยไซแลนและปลดปล่อยสาร chromophores ออกจากเยื่อคาลิปต์สได้ดีที่สุด การเพาะเลี้ยง *Bacillus firmus* K-1 ในโลคัสบีนกัม 0.5% เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์แมนนาเนสโดยมีกิจกรรมของไซแลเนสรวมด้วย การศึกษาการนำเอนไซม์แมนนาเนสมาย่อยสารประกอบแมนแนนในเยื่อแต่ละชนิด โดยให้ทำงานร่วมกับไซแลเนสจาก *Bacillus firmus* K-1 และ *Bacillus halodurans* C-1 พบว่า การเติมแมนนาเนสรวมด้วย ช่วยให้การปลดปล่อย chromophores และน้ำตาลรีดิวซ์จากเยื่อกระดาษต่างๆ เพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ดังนั้นจึงไม่นำแมนนาเนสไปใช้ในการทดลองต่อไป จากการเปรียบเทียบความเข้มข้นของ crude xylanase ที่ได้จาก *Bacillus firmus* K-1 ที่ความเข้มข้น 5 และ 10 U/g pulp ในการย่อยไซแลนในเยื่อคาลิปต์สคราฟท์ พบว่า เอนไซม์ที่ความเข้มข้นดังกล่าว สามารถเพิ่ม brightness ได้ 1.93% และ 2.23% ISO ตามลำดับ ซึ่งค่าแตกต่างกันเล็กน้อย จากการศึกษาถึงผลของการใช้เอนไซม์ต่อการลดปริมาณการใช้คลอรีน พบว่า หลังจากการ บำบัด เยื่อคาลิปต์สด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 5 U/g pulp สามารถลดปริมาณคลอรีนได้ 19.05% และ brightness มีค่าสูงกว่าเยื่อที่ไม่ได้ผ่านการ บำบัด ด้วยเอนไซม์ นอกจากนี้ยังสามารถลดระยะเวลาในการย่อยลงได้ 50% (จาก 3 ชั่วโมง เหลือเพียง 1.5 ชั่วโมง) ซึ่งผลต่างๆ ที่เกิดขึ้นอาจจะมีสาเหตุเนื่องจากไซแลเนสมีความสามารถในการย่อยไซแลนในเยื่อคาลิปต์ส จึงมีโอกาสนำเอนไซม์ไปใช้ลดปริมาณการใช้คลอรีนได้มากขึ้น ยิ่งไปกว่านั้นพบว่าการบำบัด เยื่อกระดาษด้วยเอนไซม์ไซแลเนสไม่ส่งผลกระทบต่อคุณสมบัติด้านความแข็งแรงของเยื่อกระดาษ

When *Bacillus halodurans* C-1 and *Bacillus firmus* K-1 were grown in the sterile and non sterile medium containing 1% corn hull as a sole source of carbon and 0.4% urea as a sole source of nitrogen, xylanases were produced and no contamination was found in both culture conditions. The optimization of the combination of these crude enzymes for hydrolysis of xylan in kraft pulps such as eucalyptus pulp, bagasse pulp and pine pulp was conducted. It was found that the best crude xylanase ratio of *Bacillus halodurans* C-1 and *Bacillus firmus* K-1 was 1:9 for the hydrolysis of xylan in eucalyptus and bagasse pulps and 3:7 for pine pulp. The result also showed that this ratio was the best combination of crude enzymes from both bacteria for release chromophores (λ_{280}) from pulps which related to the release of reducing sugars. The hydrolysis of xylan and release of chromophores by the enzyme was found to be the best in eucalyptus pulp. *Bacillus firmus* K-1 could produce mannanase and growth-associated xylanase when was grown in the medium containing 0.5% locust bean gum as a carbon source. The addition of mannanase to the combination of crude xylanases from *Bacillus firmus* K-1 and *Bacillus halodurans* C-1 could release only slight increase of chromophores and reducing sugars. Thus, mannanase was not added in the next study. When compared the use of xylanase from *Bacillus firmus* K-1 concentration at 5 and 10 U/g pulp for hydrolysis of xylan in eucalyptus pulp in the prebleaching of pulp process, it was found that these concentrations could increase brightness 1.93% and 2.23% ISO, respectively. The effect of using enzyme on decreasing of chlorine consumption was also studied. It was found that after eucalyptus pulps were treated with the enzyme at 5 U/g pulp, Cl_2 used for bleaching could be reduced to 19.05%, and bleaching time could be reduced to 50% (from three hours to one and a half hour) and increase brightness when compared with the bleaching of untreated pulps. These results may be due to the efficiency of xylanase to hydrolyze xylan in eucalyptus pulp to release more of lignin. In addition, it was found that the treatment of pulp with xylanase enzyme had no effect to the physical properties of paper.