

บทคัดย่อ

244871

Thermoanaerobacterium sp. สายพันธุ์ NOI-19 เป็นแบคทีเรียที่คัดแยกได้จากตัวอย่างดินในประเทศไทย เมื่อเพาะเลี้ยง *Thermoanaerobacterium* sp. สายพันธุ์ NOI-19 ใน basal medium ที่พีเอช 7 อุณหภูมิสูง 60°C ภายใต้สภาวะปราศจากออกซิเจน โดยใช้อะโวเซลเป็นแหล่งคาร์บอน) ผลการตรวจสอบคุณลักษณะทางสัณฐานวิทยาแสดงให้เห็นว่า มีลักษณะเป็นแท่ง สร้างสปอร์ และเป็นแกรมบวก การจำแนกเชื้อในระดับสปีชีส์ด้วย 16s rRNA พบว่าแบคทีเรียสายพันธุ์ NOI-19 ใกล้เคียงกับ 97% แบคทีเรียในจีโนม *Thermoanaerobacterium* sp. แต่น่าจะเป็นสายพันธุ์ใหม่เนื่องจากเจริญเติบโตได้ในแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างจากแบคทีเรียชนิดอื่นในกลุ่ม *Thermoanaerobacterium*

สามารถตรวจพบไซคลาโนไลติกและเซลลูโลสไลติกเอนไซม์ทั้งในส่วนของน้ำเลี้ยงและกากตะกอน ในระยะแรกของการเจริญเติบโตสามารถตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์อะโวเซลเลส เซลลูเลสและไซคลานอสในกากตะกอนเซลล์มากกว่าในน้ำเลี้ยงหลังจากนั้น 5 วัน ตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูโลสไลติกและไซคลาโนไลติกหลายชนิดในน้ำเลี้ยงและกากตะกอน โดยเอนไซม์ส่วนใหญ่พบในน้ำเลี้ยงมีมากกว่าในกากตะกอน ยกเว้นเอ็นโดเซลลูเลส (อะโวซิเลส และคาร์บอกซิเมทิลเซลลูเลส) ซึ่งพบในกากตะกอนมากกว่าในน้ำเลี้ยง แบคทีเรียสายพันธุ์ NOI-19 สามารถผลิตโปรตีน 19 ชนิด เมื่อทดสอบด้วย SDS-PAGE ซึ่งประกอบด้วยเอนไซม์เซลลูเลสอย่างน้อย 7 ชนิด ขนาด 65 ถึง 150 kDa และไซคลานอสอย่างน้อย 5 ชนิด ขนาด 70 ถึง 200 kDa เมื่อทดสอบด้วย active-PAGE เอนไซม์จากกากตะกอนสามารถย่อยเซลลูโลสและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรได้มากกว่าเอนไซม์จากน้ำเลี้ยง แต่ในทางกลับกันเอนไซม์จากน้ำเลี้ยงย่อยไซคลานได้ดีกว่าเอนไซม์จากกากตะกอน จากการศึกษาการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรได้แก่ เปลือกข้าวโพด ฟางข้าว ชานอ้อย และแกลบด้วยเอนไซม์จากกากตะกอน พบว่าเปลือกข้าวโพดถูกย่อยได้ดีที่สุดและให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด (227 มิลลิกรัมต่อลิตร) โดยกลูโคสและเซลลูโลสไบโอโอสเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรทุกชนิด

Thermoanaerobacterium sp. สายพันธุ์ NOI-19 สามารถหมักเซลลูโลสในรูปแบบที่เป็นผลึก (อะโวเซล) และเศษวัสดุทางการเกษตร (เปลือกข้าวโพด) เป็นเอทานอลในขั้นตอนเดียว โดยย่อยสลายได้ถึงร้อยละ 90 และ 50 ตามลำดับ

Abstract

244871

Thermoanaerobacterium sp. strain NOI-19 isolated from a soil sample in Thailand was grown in basal medium containing Avicel as a carbon source at pH 7 and 60°C under anaerobic condition. On the basis of its morphological characteristics, obligately anaerobic, thermophilic, substrate of cell growth, cellulolytic enzyme production, and levels of 16S rRNA sequence homology, the strain NOI-19 which shares 97% similarity to the genus *Thermoanaerobacterium* sp. should be proposed as a new species.

Xylanolytic-cellulolytic enzyme was found both in the supernatant and in the pellet-bound proteins. At the beginning of growth enzyme adhered to cell pellet then after 5 days growth, most enzymes were secreted to culture supernatant. After cultivation for 5 days, many kind of xylanolytic-cellulolytic enzyme were found in culture supernatant and cell pellet. Majority of enzyme located at culture supernatant more than cell pellet. Except, exocellulases (β -glucosidase and cellobiohydrolase) were mostly found in supernatant. The isolated strain NOI-19 produced 19 types protein by SDS-PAGE with 7 types of CMCase in the molecular mass range at 65 to 150 kDa and 5 types of xylanase in the molecular mass range at 70 to 200 kDa on active-PAGE. The hydrolysis of cellulose and agricultural residues by the pellet-bound enzyme was higher than that of the extracellular enzyme. In contrast, the extracellular enzyme hydrolyzed xylan better than the pellet-bound enzyme. The hydrolysis of agricultural residues such as corn hull, rice straw, corn cob, sugarcane bagasse and rice husk by the pellet-bound enzyme was studied. The result showed that the highest amount of reducing sugar (227 mg/l) was released from corn hull. The enzymatic products from all agricultural residues were glucose and cellobiose.

Thermoanaerobacterium sp. strain NOI-19 can be converted microcrystalline cellulose (Avicel) and agricultural residues (corn hull) to ethanol and acids in a single step and that degraded Avicel and corn hull more than 90% and 50% respectively in the cultivation.