บทคัดย่อ

T 146619

การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสในอาหารเลี้ยงที่เป็นด่างโดยใช้ฟางข้าวเป็นแหล่งคาร์บอน จากการคัดแยกได้แบคทีเรียสายพันธุ์ UM-122 ซึ่งคัดแยกจากดินบริเวณสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (วว.) มีกิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนสสูงสุด จากลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาพบว่าแบคทีเรียอยู่ในจีนัส *Cellulomonas* จากการเปรียบเทียบลำดับเบสบนดีเอ็นเอระหว่างสายพันธุ์ UM-122 และ *Cellulomonas variformis* พบว่ามีความคล้ายคลึงกันถึงร้อยละ 95 จึงพิสูจน์เอกลักษณ์ทางสายพันธุ์เป็น *Cellulomonas variformis*

สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส โดยแบคทีเรีย *C. variformis* UM-122 ประกอบด้วย ฟางข้าว 10 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต 1 กรัมต่อลิตร สารสกัดจากยีสต์ 1 กรัมต่อลิตร ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 0.2 กรัมต่อลิตร ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงให้เท่ากับ 10 โดยการเติมโซเดียมคาร์บอนเนต 10 กรัมต่อลิตร สำหรับการผลิตเอนไซม์ในฟลาสก์แบบเขย่าให้กิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนสสูงสุดเท่ากับ 1.4 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 7 ของการเพาะเลี้ยง บนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์พบว่าเอนไซม์ไซแลนเนสมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 1.63 เท่า ภายหลังการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตที่ร้อยละความอิ่มตัวเท่ากับ 60 และผ่านการไดอะไลซีส โดยมีกิจกรรมจำเพาะ 5.15 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน สำหรับพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อ กิจกรรมของเอนไซม์คือ 7.0 และ 60 องศาเซลเซียสตามลำดับ เอนไซม์มีความคงตัวที่ช่วงพีเอช 7.0-11.0 และที่อุณหภูมิต่ำกว่า 55 องศาเซลเซียส ผลผลิตสุดท้ายจากการย่อยฟางข้าวด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสพบว่าส่วนใหญ่จะเป็นไซโลไบโอสซึ่ง ค่า K_m และ V_{max} ของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการใช้ฟางข้าวเป็นสับสเทรต คือ 164.47 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ 591.26 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อนาที ตามลำดับ

ABSTRACT

TE 146619

Screening of xylanase-producing bacteria was carried out using rice straw as a sole carbon source on an alkaline medium. Among the isolated bacteria the strain UM122 from soil at Thailand Institute of Scientific and Technological Research (TISTR) showed the highest xylanase production. The bacterium is belonged to genus *Cellulomonas,* based on morphological and physiological characteristics,. According to the comparative analysis of DNA sequences, the DNA-DNA similarity between the strain UM-122 and *Cellulomonas variformis* was 95%, so it was identified as *Cellulomonas variformis.*

An optimized medium for xylanase production of *C. variformis* UM122 was 10 g/l rice straws, 1 g/l $(NH_4)_2SO_4$, 1 g/l yeast extract, 1 g/l K_2HPO_4, and 0.2 g/l $MgSO_4 \bullet 7H_2O$. An initial pH of the medium was adjusted to 10.0 by 10 g/l Na_2CO_3. In shake flask culture, the maximum activity of 1.4 U/ml was obtained on day 7 with the shaking speed of 200 rpm at 30°C. Some properties of the crude enzyme were studied. The xylanase was purified 1.63 times after precipitation with ammonium sulfate at saturation of 60% and dialysed with a specific activity of 5.15 U/mg protein. The optimal pH and temperature for xylanase activity were 7.0 and 60 °C, respectively. The enzyme was stable at pH range between 7.0 and 11.0 and at temperature belowed 55°C. The end products from rice straw hydrolysis by xylanase were mainly xylobiose. The K_m and V_{max} values of xylanase with rice straw as substrate were 164.47 mg/ml and 591.26 μg/ml/min, respectively.