การคัดกรองและคัดแยกจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส อะไมเลส และเพคติเนส จากกากมันสำปะหลังสด

Screening and Isolation of Cellulase Amylase and Pectinase Producing Microorganism from Fresh Cassava Pulp

เพชรลดา ปั้นหยา * และกำไล เลาหพัฒนาเลิศ

สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต ถนนพหลโยธิน ตำบลหลักหก อำเภอเมือง จังหวัดปทุมธานี 12000

E-mail: jangvui-cartoon@hotmail.com

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส อะไมเลส และเพคติเนส โดยคัดแยกจากกากมันสำปะหลังสดที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลัง จาก 4โรงงานในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง จากการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ขั้นต้นด้วยวิธี dilution plating และ streak plate บนอาหารแข็ง PDA NA และMRS บ่มที่อุณหภูมิ 30°C พบว่ามีจำนวนยีสต์รา แบคทีเรีย และแบคทีเรียกรดแลคติกเท่ากับ $1.6x10^5$, $1.3x10^5$และ $3.6x10^4$cfu/g ตามลำดับ จากนั้นนำเชื้อราที่คัดแยกตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ต่างกันจำนวน 17 ไอโซเลท นำมาทดสอบประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์บนอาหารแข็งโดยพิจารณาความสามารถในการย่อยสลายจากความกว้างของวงใสรอบโคโลนี พบว่า ไอโซเลท CASP-RSU M01 มีความสามารถในการย่อยเซลลูโลสบน cellulose agar และย่อยแป้งบน starch agar ได้ดีที่สุด และไอโซเลท UN-RSU M03 มีความสามารถในการย่อยเพคตินบน modified Czapek-Dox agar

คำสำคัญ: *กากมันสำปะหลังสด เชื้อรา เอนไซม์*

Abstract

The aim of this study was to isolate cellulase, amylase and pectinase producing fungi from fresh cassava pulps. These pulps were solid wastes taken from starch processing plants in the northeast and central regions. Microorganisms were isolated by dilution plating and streak plate techniques and grown on potato dextrose agar (PDA), nutrient agar (NA) and de Man, Rogosa, and Sharpe agar (MRS) media and incubated at 30°C. The total yeast-mold, bacteria, and lactic acid bacteria counts were $1.6x10^5$cfu/g, $1.3x10^5$cfu/g and $3.6x10^4$cfu/g, respectively. 17 isolates were further investigated for the capability of producing amylase, pectinase and cellulase by using selective medium agar and the clear-zone around the colony was then measured. The hydrolysis capacity (HC

value) was performed as the clearing zone and the colony diameter ratio. The result showed that CASP-RSU M01strain had the highest potential for cellulose hydrolysis on cellulose agar (CMC) and starch hydrolysis on starch agar and UN-RSU M03 strain had the highest potential for pectin hydrolysis on modified Czapek-Dox agar.

Keywords: *fresh cassava pulp, fungal, enzyme*

1. บทนำ

อุตสาหกรรมการผลิตแป้งมันสำปะหลังถือเป็นอุตสาหกรรมที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจของไทย ประเทศไทยเป็นผู้ผลิตมันสำปะหลังเป็นอันดับ 1 ของโลก โดยมีผลผลิตต่อปีประมาณ 30.1 ล้านตัน (คณะสำรวจภาวะการผลิตและการค้ามันสำปะหลังฤดูการผลิตปี 2552/53, 2552) จึงทำให้มีปริมาณของเหลือทิ้งที่เป็นของแข็งจากกระบวนการผลิตที่เรียกว่า กากมันสำปะหลัง (Cassava pulp) ในปริมาณมาก โดยลักษณะทั่วไปของกากมันสำปะหลังจะละเอียด สีขาว และมีความชื้นสูงถึงร้อยละ 75 องค์ประกอบทางเคมีของกากมันสำปะหลังสดประกอบด้วย แป้งร้อยละ 50-60 ซึ่งจะอยู่ในลิกโนเซลลูโลส และเส้นใยอยู่ร้อยละ 10-15 โปรตีนร้อยละ 1.5-5 และไขมันร้อยละ 0.1-4 โดยน้ำหนัก (Penuliar, 1940) จากกระบวนการสกัดแป้งจะมีความชื้นและแป้งอยู่สูงจึงเกิดการเน่าเสียได้ง่าย ก่อให้เกิดปัญหากับสิ่งแวดล้อมเป็นอย่างมาก

ในกากมันสำปะหลังมีโพลีแซคคาไรด์ จำพวกแป้ง เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และเพคติน รวมไปถึงลิกนิน ที่เป็นโพลีเมอร์ของสารอะโรมาติกเป็นองค์ประกอบ ซึ่งจัดเป็นองค์ประกอบหลักในผนังเซลล์พืชดังนั้นจึงต้องทำการปรับสภาพของลิกโนเซลลูโลสโดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส อะไมเลส และเพคติเนส มาย่อยสลายโครงสร้างเพื่อผลผลิตน้ำตาลกลูโคสซึ่งวิธีทางชีวภาพเป็นวิธีที่ไม่ก่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม ช่วยลดต้นทุนในการผลิต โดยอาศัยการทำงานของจุลินทรีย์จำพวกรา และ แบคทีเรีย (Singh et al., 2008)

2. วัตถุประสงค์

1. เพื่อคัดแยกจุลินทรีย์บริสุทธิ์จากกากมันสำปะหลังสด
2. เพื่อคัดแยกเชื้อราที่มีความสามารถในการสร้างเอนไซม์สำหรับย่อยสลายโครงสร้างลิกโนเซลลูโลสและแป้งในกากมันสำปะหลังสด เพื่อผลได้ของน้ำตาลกลูโคส

3. อุปกรณ์และวิธีการ

3.1. การคัดแยกและทำให้เชื้อบริสุทธิ์

เตรียมกากมันสำปะหลังสดที่จะนำมาคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์โดยการบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นชั่งตัวอย่างกากมันสำปะหลังสด 1 กรัม ลงในฟลาสก์ เติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 9 มล. จากนั้นทำการเจือจางสารละลายด้วยวิธี 10 serial dilution method ตามวิธีของ Benson (2002) ปิเปตสารละลาย 0.1 มล. แล้วทำการ spread plate บนอาหาร Potato dextrose agar (PDA) Nutrient agar (NA) และ De Man - Rogosa-Sharoe agar (MRS) บ่มจานเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3-5 วัน สังเกตลักษณะโคโลนีที่เจริญบนอาหารแข็ง คัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ตามสัณฐานวิทยา โดยพิจารณาจากลักษณะการเจริญเติบโต รูปร่าง และสีที่แตกต่างกัน (Barnett and Hunter, 1972) จากนั้นทำให้

เชื้อบริสุทธิ์ด้วยวิธี streak plate ทำการเก็บรักษาเชื้อจุลินทรีย์ที่แยกได้ในหลอดอาหารแข็งเอียงที่อุณหภูมิ 4°c

3.2 การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์

การทดสอบเชิงคุณภาพ (Qualitative enzymatic assay) ด้านการผลิตเอนไซม์ในการย่อยสลายได้แก่ เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase) อะไมเลส (amylase) และเพคติเนส(pectinase) เพื่อทดสอบความสามารถและประสิทธิภาพของเชื้อราที่แยกได้ทั้งหมด17 ไอโซเลท โดยวิธีทดสอบดังนี้

นำเชื้อราบริสุทธิ์มาเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ที่อุณหภูมิ 30°c เป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่มีการเจริญของเส้นใยเต็มจานเพาะเชื้อ ใช้ cork borer เส้นผ่าศูนย์กลาง 0.8 ซม. เจาะเส้นใยของเชื้อรา ใช้เข็มเขี่ยเชื้อตักชิ้นวุ้นที่มีเส้นใยรา มาวางจุดกลางของจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารจำเพาะทั้ง 3 ชนิด บ่มที่อุณหภูมิ 30°c เป็นเวลา 72 ชั่วโมง นำไปทดสอบเอนไซม์

3.2.1 การทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสโดยนำเชื้อราที่เพาะบนอาหารแข็งมาทดสอบบนอาหาร Carboxyl methyl cellulose (CMC agar) ตามวิธีของ Mandel and Weber (1969) ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มาทำการ flood plate ด้วย 1% congo red ให้ท่วมผิวหน้าอาหารและโคโลนีเชื้อรา เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทออก ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และflood plate อีกครั้งด้วย 1MNaCl เป็นเวลา 15 นาที วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใส (clear zone) ในหน่วยเซนติเมตร(cm)

3.2.2 การทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์อะไมเลส โดยนำเชื้อราที่เพาะบนอาหารแข็งมาทดสอบบนอาหาร starch agar ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มาทำการ flood plate ด้วย 3% iodine(w/v) ให้ท่วมผิวหน้าอาหารและโคโลนีเชื้อรา เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทออก ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ และ flood plate อีกครั้งด้วย 1MNaCl เป็นเวลา 15 นาที วัดเส้นผ่านศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใสในหน่วยเซนติเมตร

3.2.3 การทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์เพคติเนส โดยนำเชื้อราที่เพาะบนอาหารแข็งมาทดสอบบนอาหาร modified Czapek-Dox agar ตามวิธีของ Phutela, et al. (2005) ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 72 ชั่วโมง มาทำการ flood plate ด้วย iodine-potassium iodide solution (1.0 กรัม iodine 5.0 กรัม potassium iodide ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 330 มล.) ให้ท่วมผิวหน้าอาหารและโคโลนีเชื้อรา เป็นเวลา 15 นาที แล้วเทออก ล้างด้วยน้ำกลั่นปลอดเชื้อ วัดเส้นผ่าศูนย์กลางของการเกิดบริเวณใสในหน่วยเซนติเมตร

3.3 การประเมินผลการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา

ทำการประเมินระดับการผลิตเอนไซม์แต่ละชนิดของเชื้อราที่แยกได้จากกากมันสำปะหลังบนอาหารแข็ง โดยคำนวณจากอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) และโคโลนี (Xu and Yang, 2010; Taechapoempol et al., 2010) ซึ่งจัดเป็นระดับต่างๆ คือ

* = < 1.00

** = 1.01-2.00

*** = 2.01-3.00

**** = > 3.00

4. ผลการวิจัยและข้อวิจารณ์

4.1 ผลการคัดแยกและทำให้เชื้อบริสุทธิ์

จากการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ขั้นต้นจากกากมันสำปะหลังสดโดยความอนุเคราะห์จากโรงงานแป้งมันสำปะหลังในเขตภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง จำนวน 4 โรงงานด้วยวิธี dilution plating และ streak plate บนอาหารแข็ง PDA NA และ MRS พบว่ามีจำนวนยีสต์ แบคทีเรีย และแบคทีเรียกรดแลคติก

เท่ากับ $1.6x10^5$, $1.3x10^5$ และ $3.6x10^4$cfu/g. ตามลำดับ เมื่อคัดแยกเชื้อราเพียงอย่างเดียวตามลักษณะทางสัณฐานวิทยาที่ต่างกัน พบเชื้อราจำนวน 17 ไอโซเลท (ตารางที่ 1)

4.2 การทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ในเชิงคุณภาพ

เมื่อเพาะเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็งโดยนำเชื้อราบริสุทธิ์ที่แยกได้จำนวน 17 ไอโซเลทมาทดสอบ พบว่า

4.2.1 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสพบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่มี Carboxy methyl cellulose (CMC) เป็นแหล่งคาร์บอน และมีการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส โดยสังเกตได้จากวงใสรอบโคโลนีเมื่อทดสอบด้วย 1% congo red เนื่องจากเมื่อเชื้อราสร้างเอนไซม์มาย่อย CMC บริเวณรอบโคโลนีจะไม่ติดสีย้อม congo red ดังนั้นเชื้อราที่ให้ผลการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนี โดยคำนวณจากอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและโคโลนีมากที่สุด 3 อันดับคือไอโซเลท CASP-RSU M01, CASP-RSU M02 และUN-RSU M04 ตามลำดับ

4.2.2 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์อะไมเลส พบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่มี starch เป็นแหล่งคาร์บอน และมีการสร้างเอนไซม์อะไมเลส โดยสังเกตได้จากวงใสรอบโคโลนีเมื่อทดสอบด้วย 3% iodine (w/v) (รูปที่ 1) เนื่องจากเมื่อเชื้อราสร้างเอนไซม์มาย่อยแป้ง บริเวณรอบโคโลนีจะไม่ติดสีย้อมของ iodine ดังนั้นเชื้อราที่ให้ผลการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนี โดยคำนวณจากอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสและโคโลนี มากที่สุด 3 อันดับคือไอโซเลท CASP-RSU M01, CASP-RSU M02 และST-RSU M03 ตามลำดับ

4.2.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์เพคติเนส พบว่าเชื้อราสามารถเจริญได้ในอาหารที่มีเพคติน เป็นแหล่งคาร์บอน และมีการสร้างเอนไซม์เพคติเนส โดยสังเกตได้จากวงใสรอบโคโลนีเมื่อทดสอบด้วย iodine-potassium, iodide solution เนื่องจากเมื่อเชื้อราสร้างเอนไซม์มาย่อยเพคติน บริเวณรอบโคโลนีจะไม่ติดสีย้อมของiodine-potassium iodide solution ดังนั้นเชื้อราที่ให้ผลการเกิดบริเวณใสรอบโคโลนีของเชื้อจากการคำนวณจากอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (clear zone) และโคโลนีมากที่สุด 3 อันดับคือไอโซเลท UN-RSU M03, UN-RSU M04 และ ST-RSU M03 ตามลำดับ

ตารางที่ 1 ลักษณะปรากฏทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา

ไอโซเลท	ลักษณะปรากฏ
CASP-RSU M01	เส้นใยสีขาวสปอร์สีขาว ฟูเจริญเป็นวงกว้าง
CASP-RSU M02	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียว โคโลนีเจริญเป็นวงกว้าง
CASP-RSU M03	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทาพองฟู
CASP-RSU M04	เส้นใยสีขาว สปอร์สีขาว เล็กๆคล้ายหนามกระจาย
CASP-RSU M05	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียว ลักษณะโคโลนีเป็นรูปร่างกลม ผิวนูนมาก
CASP-RSU M06	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียว
ST-RSU M01	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทาเข้ม ละเอียด
ST-RSU M02	เส้นใยสีขาวปนเหลือง สปอร์สีเทาเข้ม
ST-RSU M03	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียวเข้ม ฟูคล้ายสำลี
ST-RSU M04	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเทาขาว คล้ายกำมะหยี่
ST-RSU M05	เส้นใยสีขาว สปอร์สีดำ ฟูคล้ายสำลี
UN-RSU M01	เส้นใยสีขาวปนเทา สปอร์สีดำ
UN-RSU M02	เส้นใยสีครีม สปอร์สีน้ำตาลปนเทา
UN-RSU M03	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียวปนเทาละเอียด
UN-RSU M04	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียวอ่อน
UN-RSU M05	เส้นใยสีขาว สปอร์สีเขียวเข้ม
UN-RSU M06	เส้นใยสีขาวปนเหลือง สปอร์สีดำ

4.3 ผลการประเมินการผลิตเอนไซม์ของเชื้อรา

ทำการประเมินระดับการผลิตเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด โดยคำนวณจากอัตราส่วนระหว่างเส้นผ่าน

ศูนย์กลางของวงใส (clear zone) และโคโลนี (Xu and Yang, 2010; Taechapoempol et al. 2010)(ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 แสดงการผลิตเอนไซม์ cellulase amylase และ pectinaseบนอาหารแข็ง

ไอโซเลท	การเปลี่ยนแปลงของปฏิกิริยาบนอาหารแข็ง		
	Cellulose agar	Starch agar	modified Czapek-Dox agar
CASP-RSU M01	****	****	-
CASP-RSU M02	****	****	-
CASP-RSU M03	****	****	-
CASP-RSU M04	****	-	*
CASP-RSU M05	****	****	-
CASP-RSU M06	****	****	-
ST-RSU M01	****	****	-
ST-RSU M02	****	****	-
ST-RSU M03	****	****	*
ST-RSU M04	***	***	-
ST-RSU M05	****	****	-
UN-RSU M01	****	****	-
UN-RSU M02	****	****	-
UN-RSU M03	****	****	**
UN-RSU M04	****	****	**
UN-RSU M05	****	****	-
UN-RSU M06	****	-	-

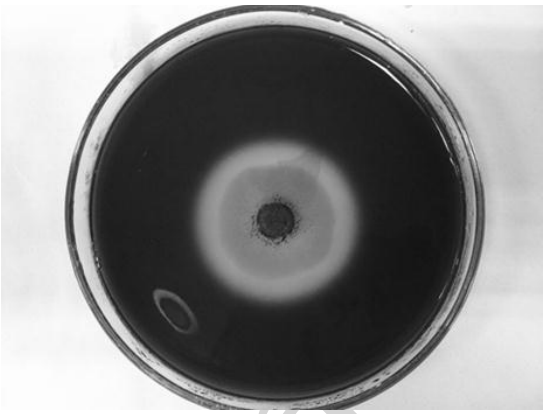
หมายเหตุ อัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางของวงใสรอบโคโลนีต่ออัตราส่วนเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (HC value)

* = < 1.00

** = 1.01-2.00

*** = 2.01-3.00

**** = > 3.00



รูปที่ 1 การทดสอบการสร้างเอนไซม์อะไมเลสของเชื้อราบนอาหาร starch agar ด้วย iodine

5. การอภิปรายผล

จากการศึกษานี้พบว่าเชื้อราจำนวน 17 ไอโซเลทที่คัดแยกได้จากกากมันสำปะหลังสดที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตแป้งมันสำปะหลังจำนวน 4 โรงงานในเขตพื้นที่ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ และภาคกลาง สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส อะไมเลส และเพคติเนสให้ประสิทธิภาพสูง

ในการทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราบนอาหารแข็ง พบว่าไอโซเลท CASP-RSU M01 และ CASP-RSU M02 ให้ประสิทธิภาพในการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส และ อะไมเลส ได้ดีทั้ง 2 ชนิดโดยพิจารณาจาก HC value และเมื่อทำการเปรียบเทียบกับงานวิจัยอื่นๆพบว่าจุลินทรีย์ที่คัดเลือกนี้มีคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์สูงกว่า Trichoderma spp. จากการศึกษาของ Gochev และ Krastanov (2007) ที่พบว่ามีความสามารถผลิตเอนไซม์cellulase และ laccase (HC value) อยู่ระหว่าง 2.00 - 2.50

6. บทสรุป

จากการวิจัยพบว่าไอโซเลทที่มีความสามารถในการย่อยสลายซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้

มหาวิทยาลัยรังสิต

สูงสุดคือไอโซเลท CASP-RSU M01, CASP-RSU M02 และ UN-RSU M04 ตามลำดับส่วนเอนไซม์อะไมเลสคือไอโซเลท CASP-RSU M01, CASP-RSU M02 และ ST-RSU M03 ตามลำดับ และเอนไซม์เพคติเนส คือ ไอโซเลท UN-RSU M03, UN-RSU M04 และST-RSU M03 ตามลำดับ ซึ่งสามารถนำไปวิจัยต่อในการผลิตน้ำตาลรีดิวซ์โดยการทำงานร่วมกันของเชื้อรามากกว่า 2 ชนิด

7. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณมหาวิทยาลัยรังสิตในการสนับสนุนงบประมาณภายใต้โครงการวิจัย การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากกากมันสำปะหลังสดโดยเชื้อราผสมและคณะเทคโนโลยีชีวภาพสำหรับเครื่องมือ อุปกรณ์ในห้องปฏิบัติการสำหรับการวิจัยและอาจารย์ที่ปรึกษาที่ให้คำแนะนำระหว่างการศึกษาวิจัย

8. เอกสารอ้างอิง

สมาคมการค้ามันสำปะหลังไทย.(2552). การสำรวจภาวะการผลิตและการค้ามันสำปะหลังฤดูการผลิตปี 2552/53(ออนไลน์).สืบค้นจาก http://www.tttatapioca.org/web2/news_03.php (13 ธันวาคม 2555)

Barnett, H.L. and B.B. Hunter. (1972). Illustrated Genera of Imperfect fungi. 3 Edn . Burgess Publishing Co.,Rd Minneapolis, 244pp.

Benson, H. J. Microbiological Applications 8 Th Edition. New York: McGraw Hill. (2002). Fig. 21-1.Pg. 87. Bacterial Population Counts. ICBN#0-07-231889-9.

Gochev, V. K., &Krastanov, A. I. (2007). Isolation of Laccase Producing Trichoderma spp., Bulgarian Journal of Agricultural Science, 13:171-176.

Mandel, M. and J. Weber. (1969).Exoglucanaseactivity by microorganisms. Adv. Chem., 95: 391-414.

Penuliar S P. (1940). A comparative study of cassava refuse meal and rice bran as feeds for growing and fattening pigs Philippine Agriculture 29:611

Phutela U, Dhuna V, Sandhu S, Chadha BS (2005). Pectinase and polygalacturonase production by a thermophilicAspergillusfumigatus isolated from decomposting orange peels. Braz. J. Microbiol., 36: 63-69.

Singh, P., Suman, A., Tiwari, P.,Arya, N., Gaur, A., and Shrivastava, A.K. (2008). “Biological pretreatment of sugarcane trash for its conversion to fermentable sugars,” World J. Microbiol. Biotechnol. 24: 667-673

Taechapoempol, K., Sreethawong, T., Rangsunvigit, P., Namprohm, W., Thamprajamchit, B., Rengpipat, S., et al. (2010). Cellulase - Producing Bacteria from Thai Higher Termites, Microcerotermes; sp.: Enzymatic Activities and Ionic Liquid Tolerance. Applied Biochemistry and Biotechnology, 1-16, 10.1007/s12010-010-9128-4.

Xu, J., and Yang, Q. (2010).Isolation and characterization of rice straw degrading Streptomyces griseorubens C5. Biodegradation,21(1),107-116, 10.1007/s10532-009-9285-8.