บทที่ 1

บทนำ

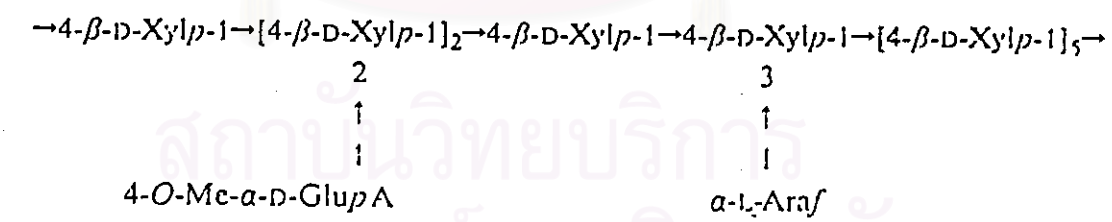
ประวัติความเป็นมา

เซลล์พืชเป็นแหล่งคาร์บอนใหญ่ในธรรมชาติ ประกอบด้วยพอลิเมอร์ที่เป็นองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด คือ เซลลูโลส (cellulose) เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และ ลิกนิน (lignin)เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ บีตา-1,4-ไกลโคซิดิก (β-1,4-glycosidic) ที่เป็นสายโซ่ตรง (Linear polymer) มีสูตรทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ พบในปริมาณ 30-50 % ของน้ำหนักแห้ง เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส และ/หรือน้ำตาลเฮกโซส (Robinson, 1977) ได้แก่ กลูแคน (glucan) แมนแนน (mannan) และ ไซแลน (xylan) โดยที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก ส่วนลิกนินเป็นสารประกอบเชิงซ้อนประเภท พอลิฟีโนลิก (polyphenolic) เกาะกันเป็นกลุ่มใหญ่ มักหุ้มชั้นเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสเอาไว้ (Wong *et al.*, 1988)

ไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลสในเซลล์พืช โดยยึดเกาะกับพอลิแซคคาร์-ไรด์ชนิดอื่นด้วยพันธะนัน-โควาเลนท์ (non covalent) และยึดเกาะด้วยพันธะไฮโดรเจนกับส่วนของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส พบตามธรรมชาติทั้งในไม้เนื้ออ่อนไม้เนื้อแข็ง พืชล้มลุก ในผนังเซลล์ชั้นแรกของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว รวมทั้งในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น กากเมล็ด-ฝ้าย รำข้าว ฟางข้าว ซังข้าวโพด เปลือกเมล็ดทานตะวัน (Magee and Kosaric,1985) และในเปลือกเมล็ดธัญพืช ต่างๆ เป็นต้น (Parisi, 1989 ; Ericksson *et al.*, 1990) นอกจากนั้นยังสามารถพบได้ในวัสดุเหลือทิ้งจากกระบวนการลอกเนื้อไม้ เพื่อทำเยื่อกระดาษ (pulping) (Biely,1985) ปริมาณและโครงสร้างจะแตกต่างกันไปตามแหล่งที่มา เช่น ในไม้เนื้อแข็งพบว่ามีปริมาณไซแลนมากกว่า 30 % ของน้ำหนักแห้ง (Weinstein and Albersheim,1979) ในไม้เนื้ออ่อนจะมีไซแลนประมาณ 8 % ของน้ำหนักแห้ง ในไม้ล้มลุกและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรจะมี ไซแลนเหลืออยู่ประมาณ 20-40 % ของน้ำหนักแห้ง (Saddler *et al.*,1983)

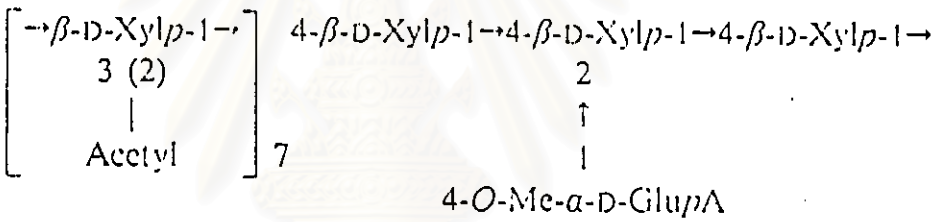
ลักษณะโครงสร้างของไซแลน

ไซแลนเป็นพอลิแซคคาไรด์ของน้ำตาลดี-ไซโลส (D-xylose) ที่เชื่อมกันด้วยพันธะบีตา-1,4-ไซโลสิดิก (β-1,4-xylosidic) เป็นสายหลัก (backbone) และมีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดอื่น หรือโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆมาเชื่อมเป็นสายโซ่กิ่ง ยกเว้นไซแลนในพืชบางชนิดเช่น หญ้าเอสพาโต (esparto grass)(Chanda, *et al.*,1950) หรือลำต้นใบยาสูบ (tobacco stalk)(Eda *et al.*,1976) จะมีโครงสร้างเป็นไซแลนชนิดที่ไม่มีสายโซ่กิ่ง ซึ่งสายโซ่กิ่งของไซแลนอาจประกอบด้วย หมู่อะราบิโนซิล (arabinosyl) กลูคูโรนิล (glucuronyl) หรือ อะซิทิล (acetyl) ไซแลนที่พบในส่วนเฮมิเซลลูโลสของไม้เนื้ออ่อนส่วนใหญ่จะเป็นอะราบิโนกลูคูโรโนไซแลน (arabinoglucuronoxylan) ซึ่งมีสายหลักเป็นบีตา-1,4-ดี-ไซโลไพราโนซิล (β-1,4-D-xylopyranosyl) ที่มี 4-โอ-เมทธิล-แอลฟา-ดี-กลูคูโรนิคแอซิด (4-O-methyl-α-D-glucuronic) เชื่อมต่อที่ตำแหน่ง โอ-2 และ มีแอลฟา-แอล-อะราบิโนฟิวราโนส (α-L-arabinofuranose)เชื่อมต่อที่ตำแหน่ง โอ-3 ดังแสดงในรูปที่ 1 จำนวนหน่วยไซโลสที่มาเชื่อมต่อกัน (degree of polymerization) อยู่ในช่วง 70-130 หน่วย (Eriksson *et al.*,1990)



รูปที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของไซแลนในไม้เนื้ออ่อน (Ericksson *et al.*, 1990)

ไซแลนที่พบในส่วนเฮมิเซลลูโลสของไม้เนื้อแข็งส่วนใหญ่มักเป็น กลูคูโรโนไซแลน (glucuronoxylan) มีสายหลักที่ประกอบด้วย บีตา-ดี-ไซโลไพราโนส (β-D-xylopyranose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะบีตา-1-4-ไซโลสิดิกและจะมีหมู่อะเซติล (acetyl) เป็นสายโซ่กิ่งทุก ๆ 7-10 หน่วยของสายหลักที่ตำแหน่ง โอ-2 หรือ โอ-3 ส่วน 4-โอ-เมทธิล-แอลฟา-ดี-กลูคูโรนิคแอซิด (4-O-methyl-α-D-glucuronic) เชื่อมต่อด้วยพันธะบีตา-1,2 ประมาณทุกๆ 10 หน่วยของไซแลน (Timell, 1967) ดังแสดงในรูปที่ 2 จำนวนหน่วยที่มาต่อกันอยู่ในช่วง150-200 หน่วย (Ericksson,*et al.*, 1990)



รูปที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของไซแลนในไม้เนื้อแข็ง (Ericksson *et al.*, 1990)

เนื่องจากองค์ประกอบหลักของไซแลนคือน้ำตาลดี-ไซโลส (D-xylose) เป็นสารให้รสหวาน สามารถเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า wood sugar ที่มีสูตรเคมี $C_5H_{10}O_5$ มีมวลโมเลกุลเท่ากับ 150.13 มักไม่ค่อยพบในรูป monomer มีจุดหลอมเหลว 144-145 องศาเซลเซียส น้ำตาลชนิดนี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้หลายประการเช่น ผลิตโปรตีนเซลล์เดียว (single cell protein), single cell oil ผลิตเชื้อเพลิง เช่น เอธานอล บิวธานอล ผลิตไซลิทอล เป็นต้น (Biely,1985 ; Magee and Kosaric,1985; Deshpande *et al.*,1986 and Gilbert and Hazlewood,1993)

<u>การย่อยสลายไซแลน</u>

การย่อยสลายไซแลนให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สามารถย่อยสลายโดยการใช้สารเคมี (chemical hydrolysis) และ การย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (enzyme hydrolysis) หรือการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน (Tsao and Chiang, 1983)

1 การย่อยสลายไซแลนด้วยสารเคมี

สามารถทำได้ 2 วิธีคือ

1.1 การย่อยสลายไซแลนด้วยกรด

การย่อยไซแลนด้วยกรดเพื่อผลิตน้ำตาลไซโลสเป็นวิธีที่ง่าย รวดเร็ว แต่ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นจะรุนแรงและไม่จำเพาะเจาะจง ทำให้ผลผลิตที่ได้ไม่บริสุทธิ์ เกิดผลิตภัณฑ์ที่เป็นสาร-พิษ เช่น เฟอฟูรัล ซึ่งมีผลต่อการนำไปเลี้ยงจุลินทรีย์ (Paturan, 1989) และยังต้องใช้วัสดุอุปกรณ์ที่ทนต่อความเป็นกรดและอุณหภูมิสูงได้ (Woodward, 1987 ; Parisi, 1989)

1.2 การย่อยสลายไซแลนด้วยด่าง

การย่อยสลายไซแลนด้วยด่าง มักนำไปใช้ในอุตสาหกรรมการทำกระดาษ ในขั้นตอน (Kraft cooking) ซึ่งจะนำชิ้นของเปลือกไม้มาต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น เพื่อให้เปลือกไม้ยุ่ยและกำจัดลิกนินที่อยู่ในชั้นของลิกโนเซลลูโลสออกบางส่วน หลังจากนั้นจะนำไปผ่านกระบวนการฟอกสีเยื่อกระดาษ โดยใช้สารเคมีที่มีคลอไรด์เป็นองค์ประกอบ เช่น คลอรีนไดอ๊อกไซด์ (chlorinedioxide) ,ก๊าซคลอรีน (Cl_2) เป็นต้น ที่อุณหภูมิสูงไม่ต่ำกว่า 100 เซลเซียสและความเป็นกรดด่างไม่ต่ำกว่า 10 แต่ทำให้เกิดสารพิษพวกไดอ๊อกซิน (dioxin) และสารประกอบคลอไรด์ที่เป็นพิษชนิดอื่นๆ ด้วย (Visser *et al.*, 1992)

2 การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์

การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์ เป็นปฏิกิริยาที่จำเพาะกว่าการใช้สารเคมีในการย่อยสลายเนื่องจากภาวะที่ใช้ขณะทำงานเป็นกลาง นอกจากนี้ยังไม่ทำให้เกิดสารประกอบเป็นพิษและสารเคมีตกค้าง ทำให้สามารถนำน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปใช้ผลิตสารอื่นๆต่อไป เอนไซม์ในกลุ่มนี้สามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายประการ คือ ใช้ในกระบวนการฟอกสีเยื่อกระดาษ (Visser *et al.*, 1992 and Jurasek and Paice,1992) ลดความหนืดของอาหารสัตว์ และอุตสาหกรรมอาหาร (Wong and Saddler,1992 ; Gilbert and Hazlewood,1993 and Onysko,1993) ซึ่งเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะบีตา-1,4 ของสายหลักให้ได้น้ำตาลไซโลสมีอยู่ 2 ชนิดใหญ่ ๆ คือ

1 เอนโดไซแลเนส (endo-xylanase) หรือ 1,4-บีตา-ดี-ไซแลน-ไซลาโนไฮโดรเลส (1,4-β-D-xylan-xylanohydrolase, EC 3.2.1.8) เอนไซม์นี้จะย่อยสลายพันธะ 1,4-บีตา-ดี-ไซโลซิดิกแบบสุ่ม เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่ากลไกแบบเอนโด (endo-mechanism) ได้ไซโลสและโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Gilbert, *et al.*, 1993)

2 บีตาไซโลสิเดส (β-xylosidase) หรือ 1,4-บีตา-ดี-ไซแลน-ไซโลไฮโดรเลส (1,4-β-D-xylan-xylohydrolase, EC 3.2.1.37) เอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยสลายพันธะ 1,4-บีตา-ดี-ไซโลไพราโนไซด์ทีละ 1 หน่วยจากปลายสายด้านนอนรีดิวซ์ (non-reducing end) เรียกกระบวนการที่เกิดขึ้นนี้ว่านี้ว่า กลไกแบบเอคโซ (exo-mechanism) ได้ไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Dekker and Richards, 1976)

นอกจากนี้การย่อยไซแลนให้สมบรูณ์จะต้องอาศัยเอนไซม์ชนิดอื่นๆด้วย เช่น

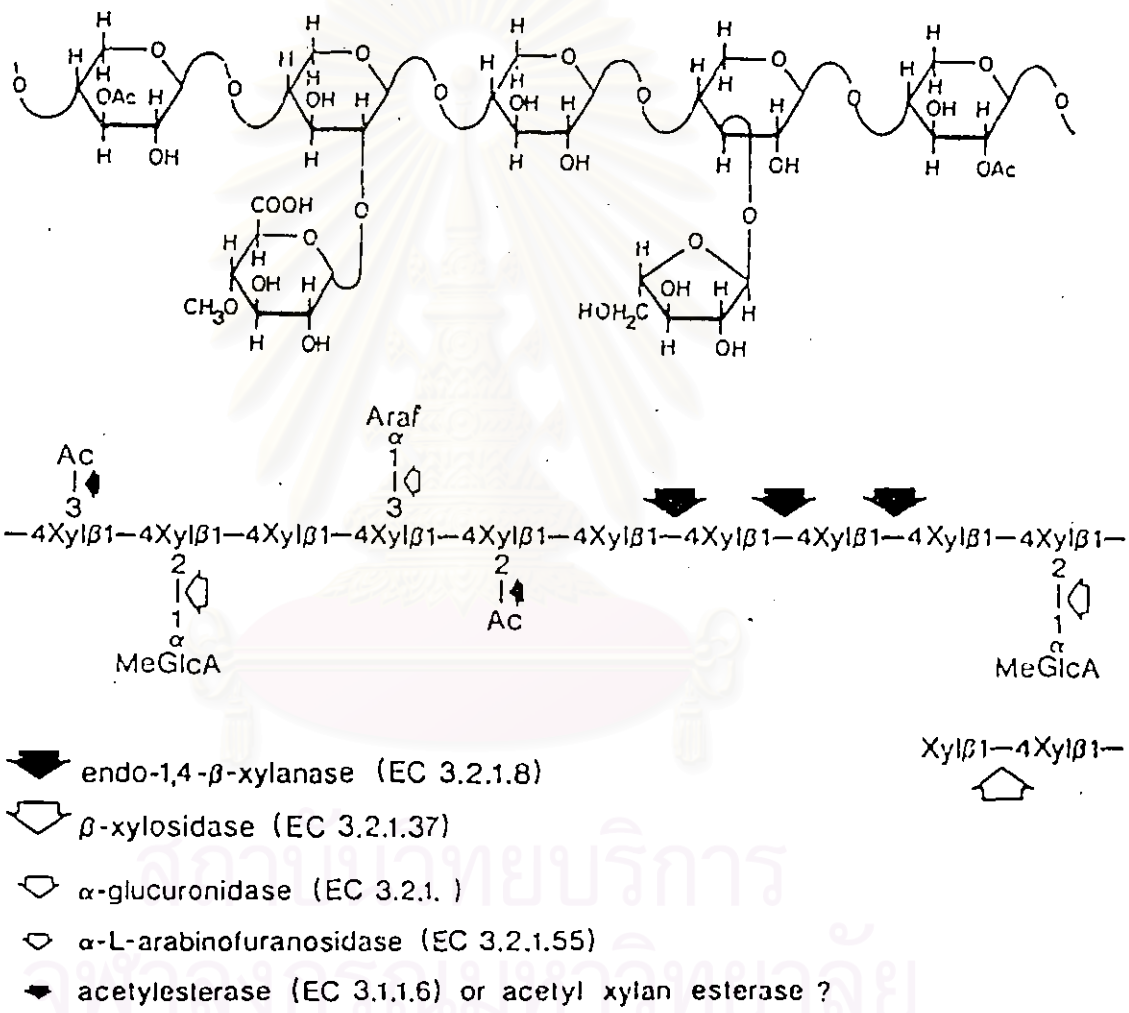
: เอนไซม์ แอลฟา-แอล-อะราบิโนสิเดส (α-L-arabinosidase ; EC 3.2.1.55) จะย่อยสลายหมู่นอน-รีดิวซ์-แอลฟา-แอล-อะราบิโนฟิวราโนซิล ของแอลฟา-แอล-อะราบิฟิวราโนไซด์ อะราบิแนน และอะราบิโนกาแลคแทน ได้น้ำตาลไซโลสและน้ำตาลที่เป็นพันธะกิ่งเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (International Union Biochemistry, 1984)

: เอนไซม์ แอลฟา-ดี-กลูคูโรโนสิเดส (α-D-glucuronosidase ; EC 3.2.1.) จะย่อยสลายพันธะแอลฟา-1,2 ใน 4-โอ-เมทธิล-ดี-กลูคูโรนิคแอซิด (Whistler, 1970)

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

: เอนไซม์ อะเซติล(ไซแลน)เอสเทอเรส (acetyl(xylan)esterase ; EC 3.1.1.6)จะย่อยสลายพันธะบีตา-1,2 และ บีตา-1,3 ที่เชื่อมหมู่อะเซติลกับสายหลัก ให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดอะซิติก (Reese, Lola and Parrish, 1969)

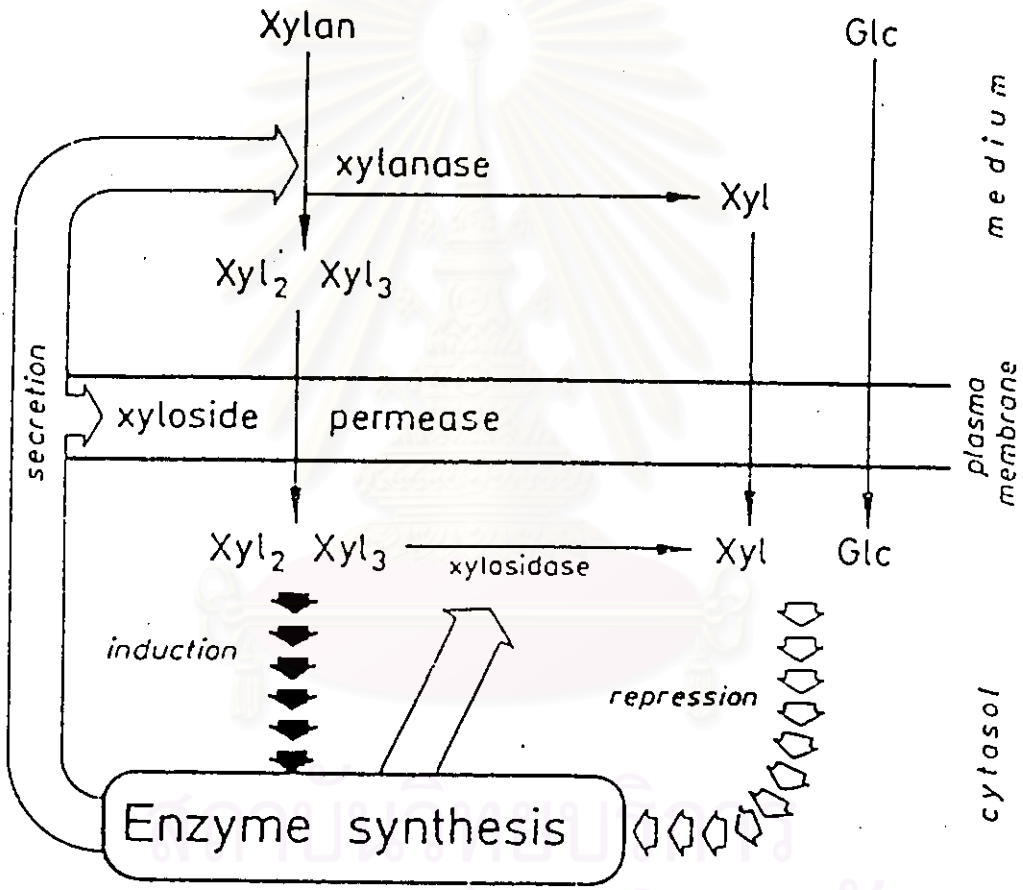
จากเอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายไซแลนทั้งหมดที่กล่าวมาแล้ว สามารถแสดงแผนภาพรวมการทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มนี้เพื่อย่อยสลายโครงสร้างของไซแลนได้ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายไซแลน (Biely, 1985)

Ac	แทน	หมู่อะเซติล
Araf	แทน	แอล-อะราบิโนฟิวราโนส
MeGlcA	แทน	4-โอ-เมธิล-ดี-กลูเคียวโรนิคแอซิด
Xyl	แทน	ดี-ไซโลส

Biely และ Petrakova (1985) ศึกษารูปแบบการย่อยสลายไซแลนด้วยไซแลเนสและบีตา-ไซโลสิเดสของยีสต์ *Cryptococcus albidus* พบว่าเชื้อจะปลดปล่อยไซแลเนสออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยไซแลนให้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆ จากนั้นนำเอาไซโลโอลิโกแซคคาไรด์เข้าสู่เซลล์ด้วยระบบ แอคทีฟ ทรานสปอร์ต (active transport) ต่อจากนั้นบีตาไซโลสิเดสภายในเซลล์จึงทำงานต่อเพื่อย่อยให้เกิดน้ำตาลไซโลส ซึ่งจุลินทรีย์จะนำไปใช้ในการเจริญเติบโตต่อไป ดังแสดงในรูปที่ 4



รูปที่ 4 ลักษณะการย่อยสลายไซแลนของ *Cryptococcus albidus* (Biely, 1985)

Glc	แทน	ดี-กลูโคส
Xyl	แทน	ดี-ไซโลส
Xyl_2	แทน	ไซโลไบโอส
Xyl_3	แทน	ไซโลไตรโอส

<u>แหล่งของเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายไซแลน</u>

ไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดส พบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น แบคทีเรีย รา ยีสต์ แอคติโนมัยสีท โปรโตซัว พืช แมลงและสัตว์ทะเลบางชนิด เช่น หอยกาบคู่ (*charonoa lampas*) (Fukuda,Muramatsu and Egami, 1969 ; Pou-Llinas and Driguez, 1987 ; Ball and McCarthy, 1989 ; O'Neill,Albersheini and Parvill, 1989 ; Ronen *et al.*, 1991 and Shao and Wiegel, 1992) เอนไซม์ในกลุ่มนี้ที่นิยมศึกษามักมาจากจุลินทรีย์ เนื่องจากเจริญได้รวดเร็วเพาะเลี้ยงได้ง่าย จุลินทรีย์บางสายพันธุ์จะสร้างและปล่อยเอนไซม์ออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) แต่บางสายพันธุ์จะสร้างและเก็บไว้ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) ตัวอย่างสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายไซแลนดังแสดงในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายไซแลน

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus awamori	Tenkanen *et al.*, 1993.
Aspergillus awamori AANTG 19	Smith and Wood, 1991a.
Aspergillus foetidus	Biely and Poutanen, 1989.
Aspergillus fumigatus	Lindner *et al.*, 1994.
Aspergillus fumigatus Fresenius	Kitpreechavanich *et al.*, 1992
Aspergillus niger	John *et al.*, 1979.
Aspergillus niger NCIM 1207	Gokhale *et al.*, 1986.
Aspergillus niger 15	Rodionova *et al.*, 1983
Aspergillus ochraceus	Biswas *et al.*, 1987.
Aspergillus oryzae	Tenkanen *et al.*, 1993
Aspergillus terreus	Biely and Poutanen, 1989.
Aureobasidium pullulans	Tenkanen *et al.*, 1993.
Bacillus circulan	Ratto *et al*, 1992.
Bacillus stearothermophilus	Nanmori *et al.*, 1990.
Bacillus subtilis	Lindner *et al.*, 1994.

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Bacteroides xylanoticus	Schyns and Stams, 1992
Butyrivibrio fibrisolvens	Utt *et al.*, 1991
Cellulomonas uda	Rapp and Wagner, 1986.
Chaetomium trilaterale	Uziie *et al.*, 1985
Clostridium acetobutyricum ATCC 824	Lee and Forsberg, 1987
Clostridium stercorarium	Wolfgang *et al.*, 1990
Cryptococcus albidus	Biely *et al.*, 1980
Dictyoglomus sp.	Ratto *et al.*, 1994.
Emericella nidulans	Matsuo and Yasui, 1984b
Fibrobacter succinogenes	Smith and Forsberg, 1991
Humicola lanuginosa	Kitpreechavanich *et al.*, 1984.
Neocallimastix frontalis	Hebraud and Fevre, 1990.
Neurospora crassa	Deshpande *et al.*, 1985.
Penicillium funiculosum	Misha *et al.*, 1985.
Penicillium wortmanni	Win *et al*, 1987
Penicillium wortmanni IFO 7237	Matsuo *et al.*, 1987.
Phanerochaete chrysosporium	Copa-Patino *et al.*, 1993.
Pullularia pullulans	Pou-Llinas and Driguez, 1987
Rhodobacter marinus	Dahlberg *et al.*, 1993.
Sclerotinia sclerotiorum	Riou *et al.*, 1991
Shizophyllum commune	Tenkanen *et al.*, 1993.
Streptomyces lividans 1326	Kluepfel *et al.*, 1986.
Streptomyces olivochromogenes	Tenkanen *et al.*, 1993.
Streptomyces sp.	Nakanishi *et al.*, 1987
Streptomyces sp. EC 1	Godden *et al.*, 1989
Talaromyces byssochlamydoides	Yoshioka *et al.*, 1981

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Thermoanaerobacter ethanolicus	Shao and Wiegel, 1992
Thermoanaerobacterium saccharolyticum	Lee *et al.*, 1993
Thermoascus aurantiacus	Gomes *et al.*, 1994.
Thermomonospora fusca	McCarthy and Bachmann, 1992.
Thermomonospora strain LL	Ristroph and Humphreyt, 1985.
Thermomyces lanuginosa	Gomes *et al.*, 1993a
Trichoderma lignorum	Defaye *et al.*, 1985
Trichoderma reesei	Tenkanen *et al.*, 1993.
Trichoderma viride	Matsuo and Yasui, 1984a

ปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ

1 แหล่งคาร์บอนที่สามารถชักนำให้เกิดการสร้างเอนไซม์

ไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสเป็น inducible enzyme แต่บางครั้งอาจพบว่าบีตาไซโลสิเดสเป็นทั้ง inducible และ constitutive enzyme ดังมีรายงานที่มีผู้ศึกษาเกี่ยวกับแหล่งคาร์บอน เช่น

Okazaki และคณะ (1984) ได้ศึกษาการสร้างไซแลเนสโดย *Bacillus* spp. 4 สายพันธุ์ คือ W1,W2, W3และW4 โดยเลี้ยง *Bacillus* spp. ทั้ง 4 สายพันธุ์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนหลายชนิด คือไซแลน ไซโลส และ รำข้าวสาลี พบว่า ทั้ง 4 สายพันธุ์ สามารถสร้างไซแลเนสสูงสุดในช่วง 34.00-111.80 หน่วยต่อมล. เมื่อมีไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอน สำหรับW1และW2 จะผลิตไซแลนลดลงมากเหลือเพียง 1.50-3.00 หน่วยต่อมล.(เมื่อใช้ไซโลสและกลูโคส เป็นแหล่งคาร์บอน) แต่ W3และW4 สามารถใช้ไซโลสในการชักนำการสร้างเอนไซม์ได้ดีพอๆกับไซแลน นอกจากนี้ Lindner และคณะ (1994) พบว่า *Bacillus subtilis* สามารถใช้ไซโลสชักนำการสร้างเอนไซม์บีตาไซโลสิเดสได้ดีกว่าการใช้ไซแลนถึง 60 % และใช้ระยะเวลาที่เพาะเลี้ยงสั้นกว่า

Rapp และ Wagner (1986) พบว่า *Cellulomonas uda* สามารถสร้างบีตาไซโลสิเดสภายในเซลล์ เมื่อจุลินทรีย์เจริญในแหล่งคาร์บอนที่เป็น กลูโคส กาแลคโตส แมนโนส ไซโลส อะราบิโนส เซลโลไบโอส มอลโตส หรือ แป้ง ได้แอคติวิตีในช่วง 0.03-0.08 หน่วยต่อมก. โปรตีน แต่จะสร้างเอนไซม์ได้ปริมาณมากกว่าเดิม 6-7 เท่า คือ 0.21 หน่วยต่อมก.โปรตีน ในอาหารที่มีไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอน

Sewell และคณะ (1988) ศึกษาการสร้างไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสโดย *Butyrivibrio fibrisolvens* พบว่า จุลินทรีย์จะสร้างและปลดปล่อยไซแลเนสออกมานอกเซลล์ แต่จะสร้างบีตาไซโลสิเดสภายในเซลล์เท่านั้น เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน แต่เมื่อทำการเลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนทดแทนการใช้ไซแลน ปรากฏว่าการสร้างบีตาไซโลสิเดสภายในเซลล์จะลดลงมาก และไม่พบการสร้างไซแลเนสเลย

นอกจากนี้ได้มีผู้ทำการศึกษาการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการชักนำการสร้างไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดส

Gokhale และคณะ (1986) พบว่า รำข้าวสาลีสามารถชักนำการสร้างบีตาไซโลสิเดสโดย *Aspergillus niger* NCIM1207 ซึ่งการใช้รำข้าวสาลี 4 % เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพาะเลี้ยงให้แอคติวิตีของบีตาไซโลสิเดสมากกว่าการใช้ไซแลน 4 % เป็นแหล่งคาร์บอน คือเมื่อใช้แหล่งคาร์บอนดังกล่าวจะให้แอคติวิตี 6.80 หน่วยต่อมก.โปรตีน และ 4.20 หน่วยต่อมก.โปรตีน ตามลำดับ

Godden และคณะ (1989) ทำการแยก *Streptomyces* sp. จากดินที่มีการทับถมของพวกวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Ball milled straw เป็นแหล่งคาร์บอน สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์ บีตาไซแลเนส และ บีตาไซโลสิเดสได้ และพบว่าไซแลน สามารถชักนำการสร้างบีตาไซแลเนส และ บีตาไซโลสิเดสเท่านั้น รวมทั้งพบว่าการผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดของ *Streptomyces* sp. ขึ้นกับกระบวนการ catabolite repression ทั้งสิ้น เช่นเดียวกับ *Thermoanaerobacterium saccharoliticum* (Lee *et al.*, 1993) นอกจากนี้ Linder และคณะ (1989) พบว่า ยีนที่เป็นรหัสของการสร้างเอนไซม์ในกลุ่มที่ย่อยสลายไซแลนใน *Bacillus subtilis* เป็นส่วนเดียวกับส่วนของ carbon repression regulation กลูโคสจึงมีผลกดการสร้างเอนไซม์

Smith และ Wood (1991a) พบว่า ฟางข้าวโอ๊ตบด (ball-milled oat straw) สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการชักนำ *Aspergillus awamori* AANTG 43 สร้างบีตาไซโลสิเดสได้ถึง 3.00 หน่วยต่อมก.โปรตีน นอกจากนี้ *Trichoderma reesi* QM 9414 สามารถใช้ขานอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและชักนำการสร้างบีตาไซโลสิเดสได้เท่ากับ 2.10 หน่วยต่อมก.โปรตีน (Dekker, 1993)

Streptomyces cyaneus สามารถใช้ ball-milled straw ในการชักนำการสร้างไซแลเนสได้มากกว่าไซแลนถึง 2 เท่า (Wang,Mason and Broda, 1993)

การนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บางครั้งต้องนำมาปรับสภาพเสียก่อน เช่น การใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์กำจัดลิกนินออกจากวัสดุเหล่านั้นเสียก่อน ซึ่งสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์สามารถทำลายลิกนินได้ดี และทำให้ลิกโนเซลลูโลสพองตัว และ จุลินทรีย์สามารถใช้ในการเจริญได้ดี (Manonmoni and Sreekantiah, 1987) แต่จากการศึกษาของ Biswas และคณะ (1987) พบว่า เมื่อใช้ฟางข้าวสาลีที่กำจัดลิกนินโดยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นแหล่งคาร์บอนในการชักนำ *Aspergillus orchraceus*สร้างบีตาไซโลสิเดส จะได้แอคติวิตีของเอนไซม์น้อยกว่าการใช้ฟางข้าวสาลีธรรมดาถึง 50 % เพราะว่าสารละลายด่างทำให้ฟางข้างสาลีพองตัวถูกย่อยสลายได้ง่าย ดังนั้นจุลินทรีย์ใช้อาหารได้ง่ายและรวดเร็ว จึงไม่จำเป็นต้องผลิตบีตาไซโลสิเดสในปริมาณมากเหมือนการใช้ฟางข้าวสาลีธรรมดา ทำให้เกิด product inhibition ขึ้น

2 ผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการสร้างเอนไซม์

จากรายงานการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ เพื่อสร้างเอนไซม์ไซแลเนส และบีตาไซโลสิเดส Smith และ Wood (1991b) พบว่า การเพาะเลี้ยง *Aspergillus awamori* CMI 142712 โดยใช้คอร์นสตีพ ลิเคอร์ ทดแทนการใช้สารสกัดจากยีสต์ ร่วมกับโปรตีโอสเพปโตน ให้บีตาไซโลสิเดสสูงสุดโดยเพิ่มขึ้นจาก 0.004 หน่วยต่อมก.โปรตีนเป็น 0.03 หน่วยต่อมก.โปรตีน

Ratto และคณะ (1992) นำ คอร์นสตีพ ลิเคอร์ และ distiller's spent grain มาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการเพาะเลี้ยง *Bacillus circulans* VTT-E-87305 ทดแทนการใช้เพปโตนร่วมกับสารสกัดจากยีสต์ พบว่า การใช้ คอร์นสตีพ ลิเคอร์ สามารถเพิ่มปริมาณการสร้างบีตา-

ไซโลสิเดสจากเดิม 5.00 หน่วยต่อมล.เป็น 5.10 หน่วยต่อมล. แต่การใช้ distiller'sspent grain ทำให้แอคติวิตีลดลงเหลือเพียง 3.60 หน่วยต่อมล.

3 ภาวะในการเลี้ยงเชื้อ

3.1 ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเป็นกรดด่างแตกต่างกันคือ จุลินทรีย์พวกรามักจะเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อต่ำ เช่น *Aspergillus* AANTG 19 และ *Thermoascus aurantiacus* เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 4.0 (Smith and Wood, 1991b ; Gomes *et al.*,1994) แอคติโนมัยสีทจะเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงความเป็นกลาง เช่น *Streptomyces* T 7 เจริญได้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 7.0 (Ross *et al.*,1993) , *Thermomonospora fusca* สามารถผลิตไซแลเนสได้ดีเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 9.0 (Bachmann and McCarthy, 1989) แบคทีเรียอื่นๆ จะเจริญได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดด่างเริ่มต้นค่อนข้างสูง เช่น *Bacillus circulan* สามารถเจริญและผลิตบีตาไซโลสิเดสได้ดีเมื่อเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 8.0-8.5

3.2 อุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ

อุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อสร้างไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดส ส่วนใหญ่จะอยู่ในช่วง 30-35 องศาเซลเซียส เช่น *Aspergillus niger* และ *Bacillus circulan* สามารถเจริญและผลิตบีตาไซโลสิเดสได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (John *et al.*,1979 and Ratto *et al.*,1992) ส่วน *Cellulomonas uda* สามารถเจริญและผลิตไซแลเนสได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Rapp and Wagner, 1986) แต่ก็มีจุลินทรีย์บางกลุ่ม เช่น รา แอคติโนมัยสีท หรือ แบคทีเรีย ที่สามารถเจริญในที่อุณหภูมิสูง และ สามารถสร้างไซแลเนส หรือบีตาไซโลสิเดสจะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 40-60 องศาเซลเซียส เช่น *Dictyoglomus* sp. B1 และ *Rhodothermus marinus* สามารถเจริญและผลิตไซแลเนสได้ดีที่อุณหภูมิ 68 และ 65 องศาเซลเซียสตามลำดับ (Dahlberg

et al., 1993 ; Ethier *et al.*,1993 ; Faulds and Williamson, 1994 and Ratto *et al.*, 1994)

3.3 ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง

ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์เพื่อสร้างไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดส พบว่าจุลินทรีย์พวกแบคทีเรียจะใช้เวลาในการเจริญและสร้างเอนไซม์ได้สูงสุดที่เวลาประมาณ 2-3 วัน เช่น *Streptomyces roseiscleroticus* และ *Bacillus* sp. สามารถผลิตไซแลเนสได้สูงสุดที่เวลา 2 วัน (Okazaki *et al.*, 1984 and Jeffries *et al.*, 1991) แต่จุลินทรีย์จำพวกราต้องใช้เวลาในการเจริญและสร้างเอนไซม์สูงสุด ที่เวลาประมาณ 4-10 วัน เช่น *Aspergillus terrus* สามารถผลิตบีตาไซโลสิเดสได้สูงสุดที่เวลา 7 วัน หรือ *Aspergillus niger* สามารถผลิตไซแลเนสได้สูงสุดที่เวลา 4 วัน (John *et al.*, 1979 ; Ghosh and Kunda, 1980 ; Copa-Patino *et al.*, 1993 and Gomes *et al.*, 1994)

ตัวอย่างค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิและระยะเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เพื่อสร้างเอนไซม์ไซแลเนสหรือบีตาไซโลสิเดสดังแสดงไว้ในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 ภาวะที่เหมาะสมที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ชนิดต่างๆเพื่อสร้างไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดส

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (^{0}C)	ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus AANG 19	4.0	35	4-7	Smith and Wood,1991b
Aspergillus fumigatus	-	40	5	Kitpreechavanich *et al.*,1986
Aspergillus niger	5.5	30	3	John *et al.*, 1979
Aspergillus ochraces	6.5	30	6-14	Biswas *et al.*,1987
Aspergillus terreus	4.8-4.9	30	7	Ghosh and Kunda,1980

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ	อุณหภูมิที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง (^{0}C)	ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง (วัน)	เอกสารอ้างอิง
Bacillus circulan	8.0-8.5	30	2-3	Ratto *et al.*,1992
Butyrivibrio fibrisolven	6.8-7.0	37	2	Sewell *et al.*,1988
Dictyoglomus sp B 1	7.0	68	3	Ratto *et al.*, 1994
Cellulomonas uda	7.0	30	5	Rapp and Wagner, 1986
Penicillium wortmanni	5.4	30	5	Matsuo *et al.*,1987
Rhodobacter marinus	7.1	65	2	Dahlberg *et al.*,1993
Rhoderthesmus marinus	7.1	65	1	Dahlberg *et al.*,1993
Streptomyces T 7	7.0	50	3	Ross *et al.*,1992
Thermoascus aurantiacus	5.0-5.5	45	8	Gomes *et al*,1994
Thermoascus aurantiacus	4.0	50	-	Gomes *et al.*,1994
Thermomonospora fusca	8.0	50	3	Bachmann and McCarthy,1989
Thermomonospora fusca BD 25	7.0	50-55	2-4	Trigo and Ball,1994
Thermomonospora strain LL	7.6	55	2	Ristroph and Humphreyt,1985
Thermomyces lanuginosa	-	50	5-6	Gomes *et al.*,1993

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่มีรายงานไว้

สมบัติของไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดส

1 ผลของอุณหภูมิต่อเอนไซม์

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสค่อนข้างแปรผันโดยขึ้นอยู่กับแหล่งที่มาของเอนไซม์ พบว่า จุลินทรีย์ส่วนมากจะสร้างไซแลเนสที่ทำงานได้ดีในช่วง 50-60 องศาเซลเซียส และ บีตาไซโลสิเดสที่ทำงานได้ดีที่ 40-55 องศาเซลเซียส ดังตัวอย่างต่อไปนี้คือ

ไซแลเนสจาก *Thermomonospora fusca* BD 25 (Trigo and Ball, 1994) มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ 60 องศาเซลเซียส และมีความเสถียรที่อุณหภูมิสูงมากกว่า 70 องศาเซลเซียสไซแลเนสจาก *Thermomonospora* สายพันธุ์ 29 (Srivastava,1993) สร้างเอนไซม์ไซแลเนสที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานในช่วง 60-70 องศาเซลเซียส มีความเสถียรต่ออุณหภูมิได้มากกว่า 80 องศาเซลเซียส แต่เมื่อทำการบ่มเอนไซม์ที่ 55 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 21 วัน พบว่าแอคติวิตีจะลดลง 50% นอกจากนี้ไซแลเนสจากรา *Fusidium* สายพันธุ์ BX 1 (Ohno *et al.*, 1994) สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และมีความเสถียรต่ออุณหภูมิ ตั้งแต่ 0-50 องศาเซลเซียส

เอนไซม์บีตาไซโลสิเดสจาก *Bacillus stearothermophilus* (Nanmori *et al.*, 1990)สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงถึง 70 องศาเซลเซียส และสูญเสียแอคติวิตีเมื่อบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชม หรือ *Thermoanaerobacter aurantiacus* สามารถผลิตบีตาไซโลสิเดสที่มีความเสถียรต่ออุณหภูมิสูงมาก คือ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลาถึง 5 วัน และมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ 75 องศาเซลเซียส (Ratto *et al.*, 1994)

2 ผลของความเป็นกรดด่างต่อเอนไซม์

เอนไซม์ไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสจากจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ มีค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานเป็นกลางถึงด่าง แต่จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างไซแลเนส และบีตาไซโลสิเดสที่มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานเป็นด่างเช่น

Bacillus stearothermophilus (Khasin *et al.*, 1993) ผลิตเอนไซม์ไซแลเนสที่มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ 9.00 ขึ้นไป

บีตาไซโลสิเดสส่วนใหญ่มักมีความเสถียรต่อค่าความเป็นกรดด่างในช่วงแคบกว่าเอนไซม์ไซแลเนส ดังตัวอย่างต่อไปนี้ คือ

เอนไซม์บีตาไซโลสิเดสจาก *Thermoanaerobacter ethanolicus* (Shao *et al.*, 1992) มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานในช่วง 5.00-5.20

เอนไซม์ไซแลเนสจาก *Trichoderma reesei* (Dekker, 1983) มีความเสถียรต่อค่าความเป็นกรดด่างในช่วงกว้างตั้งแต่ 2.00-10.00

เอนไซม์บีตาไซโลสิเดสจาก *Thermoanaerobacter ethanolicus* (Shao *et al.*, 1992) มีความเสถียรต่อค่าความเป็นกรดด่างในช่วง 3.00-4.00 แต่จุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างบีตา-ไซโลสิเดสที่มีความเสถียรต่อค่าความเป็นกรดด่างในช่วงกว้างเช่น

Aspergillus fumigatus (Yasui *et al.*, 1989) สร้างบีตาไซโลสิเดสที่มีความเสถียรต่อค่าความเป็นกรดด่างในช่วงกว้างตั้งแต่ 2.00-8.00 หรือบีตาไซโลสิเดสจาก *Chaetomium trilaterate* (Uziie *et al.*, 1985) เสถียรต่อค่าความเป็นกรดด่างในช่วง 4.00-11.00 เป็นต้น

สมบัติของไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสจากจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ สามารถแสดงได้ดังตารางที่ 3 และตารางที่ 4

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 สมบัติของไซแลเนสจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตีอย่างสมบูรณ์	เอกสารอ้างอิง
Aureobasidium pullulans Y 2311	4.8	4.5	54	70 ^{0}C , 30 นาที	Li *et al.*, 1993
Aureobasidium pullulans	4.0	5.0	45	80	Myburgh *et al.*, 1991
Bacillus subtilis	6.0	3.5-9.0	45	-	John *et al.*, 1979
Bacillus stearothermophilus	9.0	7.0	65	65 ^{0}C ,มากกว่า 6 ชม.	Khasin *et al.*, 1993
Bacillus stearothermophilus	6.0	5.0-11.0	60	80 ^{0}C , 1 ชม.	Nanmori *et al.*, 1990
Ceratocystis paradoxa	5.1	5.0-10.0	80	100	Dekker and Richards, 1976
Chainia sp.	6.0	5.0-7.0	60	-	Bastawde *et al.*, 1991
Dictyoglomur sp.	6.0-7.0	9.0	90	-	Ratto *et al.*, 1994
Fusidium sp. BX 1	5.5	4.0-9.0	60	-	Ohno *et al.*, 1994
Humicola lanuginosa	6.0	5.00-8.0	65	80	Kitpreechavanich *et al.*, 1984

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตีอย่างสมบูรณ์	เอกสารอ้างอิง
Phanerochate chrysosporium	5.0	4.0-9.0	50	-	Copa-Patino *et al.*, 1993
Rhodothermus marinus	7.1	-	65	มากกว่า 80 ^{0}C , 24 ชม.	Dahlberg *et al.*, 1993
Streptomyces sp.S 510	6.0	4.0-11.0	60	-	Rhyum *et al.*, 1993
Streptomyces HM 15	5.0-7.0	5.7	50-60	60 ^{0}C , มากกว่า 5	Patel and Ray, 1994
Streptomyces sp.	5.50	-	60	-	Okeke and Paterson, 1992
Streptomyces sp. E-86	5.5-6.2	4.5-10.5	55-60	70	Kusakabe *et al.*, 1977
Streptomyces sp. KT23	5.5	4.0-10.0	55	-	Nagajima *et al.*, 1984
Streptomyces sp. No.3137	5.0-6.0	4.0-8.0	50-60	-	Nakanishi *et al.*, 1976
Streptomyces xylophagus	6.2	5.3-7.3	55-60	70	Kawaminami and Lizuka, 1969
Thermomonospora fusca BD 25	7.0-8.0	มากกว่า 9	60	-	Trigo and Ball, 1994

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตีอย่างสมบูรณ์	เอกสารอ้างอิง
Thermoascus aurantiscus	5.0	3.0-9.0	80	-	Gomes *et al.*, 1994
Trichoderma reesei	5.5-6.0	3.0-7.0	-	90	Shamala and Sreekantish, 1986

หมายเหตุ

- หมายถึง ไม่มีรายงานไว้

ตารางที่ 4 สมบัติของบีตาไซโลสิเดสจากจุลินทรีย์ต่าง ๆ

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตีอย่างสมบูรณ์	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus niger	6.7-7.0	-	42	-	John *et al.*, 1979
Aspergillus niger 15	3.8-4.0	3.0-8.0	70	70 ^{0}C , 1 ชม.	Rodionova *et al.*, 1983
Aspergillus fumigatus	4.5	2.0-8.0	75	60 ^{0}C , 20 นาที	Yasui *et al.*, 1989
Aureobasidium pullulans	4.5	2.0-9.5	80	75 ^{0}C , 1 ชม	Dobberstein *et al.*, 1991
Bacillus stearothermophilus	6.0	6.0-8.0	70	80 ^{0}C , 1 ชม.	Nanmori *et al.*, 1990
Chaetomium trilaterale	4.0-5.0	4.0-11.0	45	-	Uzil *et al*, 1985
Cellulomonas uda	5.4-6.1	-	43-45	-	Rapp and Wagner, 1986
Clostridium acetobutyricum ATCC824	6.0-6.5	6.0-8.0	45	-	Lee and Forsberg, 1987
Emericella nidulans	4.5-5.0	4.0-6.0	55	60 ^{0}C , 30 นาที	Matsuo and Yasui, 1984b
Neurospora crassa	4.5-5.0	-	55	-	Desphande *et al.*, 1985
Rhodobacter marinus	7.1	-	65	-	Dahlberg *et al.*, 1993
Streptomyces sp.	6.5	6.0-9.0	45	55 ^{0}C , 30 นาที	Nakanishi *et al.*, 1987

ตารางที่ 4 (ต่อ)

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตีอย่างสมบูรณ์	เอกสารอ้างอิง
Trichoderma reesei QM 9414	4.0-5.0	2.5-6.	55-60	-	Dekker,1983
Trichoderma viride	3.0-4.0	5.5	-	75 ^{0}C , 30 นาที	Matsuo and Yasui, 1984a
Thermomonospora strain LL	6.5	5.0-8.0	70	-	Ristroph and Humphreyt, 1985
Trichoderma reesei	4.0	3.0-6.0	60	60 ^{0}C , 1 วัน	Poutanen and Puls, 1988
Thermomonospora fusca	5.0-9.0	-	40-60	-	Backman and McCarthy, 1989
Thermoanaerobacter ethanolicus	5.0-5.2	5.0-8.0	65-82		Shao and Wiegel, 1992
Thermoascus aurantiacus	5.0	4.0-6.0	75	-	Ratto *et a.*, 1994

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่มีรายงานไว้

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายที่จะคัดเลือก *Streptomyces* spp. สายพันธุ์ที่เจริญได้ในภาวะอุณหภูมิและความเป็นกรดด่างสูง และสามารถสร้างไซแลเนสและบีตาไซโลสิเดสได้ โดยคาดว่าเอนไซม์ทั้งคู่นี้จะมีคุณสมบัติทนต่ออุณหภูมิและความเป็นกรดด่างสูง ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการนำมาใช้ในกระบวนการฟอกสีเยื่อกระดาษ ซึ่งจะช่วยลดสารพิษและสารเคมีตกค้างนอกจากนี้จุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ ยังเป็นแหล่งของยีนที่เป็นรหัสของเอนไซม์ทั้งสองนี้ เพื่อนำไปศึกษาทางพันธุวิศวกรรมต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย