ชื่อ-สกุล ผู้เสนอ สุภาภรณ์ ชีวะธนรักษ์

☐ นาย ☐ น.ส. ☐ นาง ☐ ดร. ☒ อจ. ☐ ผศ. ☐ รศ. ☐ ศจ.

ที่ทำงาน สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะพลังงานและวัสดุ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า ธนบุรี กรุงเทพฯ โทร. 4625364

สาขาวิชา:

☐ กายภาพ ☐ ทรัพย์-สิ่งแวดล้อม
☒ ชีวภาพ ☐ วิศวะ-เทคโน
☐ เกษตร ☐ ศึกษา
☐ แพทย์ ☐ ทั่วไป

THE STUDY OF CELLULOLYTIC MICROORGANISMS ISOLATED FROM ANAEROBIC DIGESTER FED WITH PINEAPPLE WASTE.

Supaporn Cheevadhanarak and Morakot Tanticharoen
Biotechnology Division, School of Energy and Materials
King Mongkut's Institute of Technology Thonburi Campus, Bangkok.

Bacteria producing extracellular enzymes were selected and isolated from anaerobic digester of pineapple solid waste by growing them on mineral salt agar and using Whatman filter paper No. 1 as carbon source. The mixed culture of M01 secrete cellulase, xylanase and β - glucosidase when grown on 1% α - cellulose mineral salt liquid media with $NaNO_3$ as nitrogen source. When xylan was used as carbon source, the xylanase but not cellulase was detected. We considered 2 separate groups of microorganism, the cellulose utilizing and the xylan-utilizing. The serial passage of M01 in cellulose media (54 Passage, M01 P 54 C) gave high yield of cellulase with little xylanase activity. The bacteria present in this culture failed to produce xylanase when grown on xylan media. The result indicated that the enrichment of xylan-utilizing microorganism was obtained by passing M01 in media which contained xylan. After 32 passage (M01 P 32 X), the culture was free from cellulose utilizing microbe leading to the inability to grown in α - cellulose media. However, the highly passage on cellulose media could not eliminate the xylan-utilizing bacteria but significantly reduced the xylanase yield. The recovery of xylanase activity in crude enzyme has been made when culture enriched with xylan utilizer were grown together with cellulose utilizing bacteria in an α - cellulose media. We suggest that, the product from cellulolysis of one group of microorganism can induce the growth of the second group thus leads to the production of xylanase.

การศึกษาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่แยกได้จากถังหมักก๊าซชีวภาพที่ใช้เปลือกสับปะรด

สุภาภรณ์ ชีวะธนรักษ์ และ มรกต ตันติเจริญ
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะพลังงานและวัสดุ
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า ธนบุรี

แบคทีเรียที่นำมาจากถังหมักก๊าซชีวภาพ และขึ้นบนกระดาษกรอง (Whatman . No 1) เป็นแบคทีเรียผสม (Mixed culture, M01) เมื่อนำ M01 ไปเลี้ยงใน mineral salt media ที่มี 1% α- เซลลูโลส เป็นแหล่งคาร์บอน และ $NaNO_3$ เป็นแหล่งของไนโตรเจน พบว่า แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถผลิตเอ็นไซม์ เซลลูเลส ไซแลนเนส และ เบตา กลูโคไซเดสได้ เมื่อนำไปเลี้ยงบนไซแลน ปรากฏว่าสามารถให้เอ็นไซม์ไซแลนเนสได้ แต่ไม่มีเซลลูเลสเกิดขึ้น M01 นี้จะประกอบไปด้วยกลุ่มของแบคทีเรีย 2 กลุ่ม คือกลุ่มที่ใช้เซลลูโลส และกลุ่มที่ใช้ไซแลน เมื่อเลี้ยง M01 ผ่านไปบนอาหารที่มีแต่เซลลูโลส เป็นแหล่งของคาร์บอนอย่างเดียวหลาย ๆ ครั้ง (54 Passage, M01P 54C) พบว่าความสามารถในการสร้างเซลลูเลสจะยังคงเดิม แต่ไซแลนเนสจะลดลงอย่างมาก เมื่อนำไปเลี้ยงบนไซแลน จะไม่ผลิตไซแลนเนสเหมือนกับที่เชื้อ M01 ดั้งเดิมเคยผลิต จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า เมื่อเลี้ยง M01 ไปบนเซลลูโลสหลาย ๆ ครั้ง จะขจัดกลุ่มที่ผลิตไซแลนเนสให้ลดจำนวนเหลือน้อยลงเรื่อย ในทำนองเดียวกัน M01 ที่เลี้ยงไปบนไซแลนหลาย ๆ ครั้ง (M01P32X) จะมีจำนวนเชื้อของกลุ่มที่ผลิตไซแลนเนสมากขึ้น ทำให้ได้ไซแลนเนสสูงมากกว่าเชื้อ M01 ดั้งเดิม เมื่อเลี้ยงบนไซแลน การเลี้ยง M01 ไปบนไซแลนนานขึ้น จะขจัดเชื้อกลุ่มที่ขึ้นบนเซลลูโลสออกให้หมด ซึ่งผิดกับการผ่าน M01 ไปบนเซลลูโลส ซึ่งเพียงแต่จะลดจำนวนของกลุ่มที่สร้างไซแลนเนสลงเท่านั้น เป็นที่คาดว่า ในกลุ่มผสมทั้ง 2 นี้ เมื่อเลี้ยงบนเซลลูโลส กลุ่มที่ใช้เซลลูโลสได้ เมื่อใช้เซลลูโลสไป จะให้สารบางอย่างที่ชักนำให้กลุ่มที่ใช้ไซแลนได้เจริญเติบโต และผลิตไซแลนเนสขึ้น เมื่อนำ M01P 32X ไปผสมกับ M 01 P54 C และเลี้ยงบนเซลลูโลส ปรากฏว่า จะให้เซลลูโลส และ ไซแลนเนส สูงเหมือนกับที่เชื้อดั้งเดิม M01 เคยให้มา

ชื่อเรื่อง (ไทย) การศึกษาชนิดของเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่แยกได้จากถังหมักก๊าซชีวภาพที่ใช้เปลือกสับปะรด

ผลของเอ็นไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสต่อ substrate CMC , xylan

ตารางที่ 1 แสดงผลของเอ็นไซม์ต่อ substrate CMC, xylan ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 6.8 เวลาที่ใช้ในการหา 1 ชั่วโมง เอ็นไซม์เป็น filtrate ได้จากการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียบน mineral salt media ที่มี 1% α- cellulose เป็นแหล่งของคาร์บอน และ $NaNO_3$ เป็นแหล่งของไนโตรเจน

activity ของเอ็นไซม์ ต่อ substrate คิดเป็นไมโครกรัมของน้ำตาลที่ย่อยได้/1มล.ของเอ็นไซม์					
M 01		M 01 P 54 C		M 01 P 32 X	
CMC ase	Xylanase	CMC ase	Xylanase	CMC ase	Xylanase
3144	2805	3176	743	0	0

ตารางที่ 2 แสดงผลของเอ็นไซม์ต่อ substrate CMC, xylan ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 6.8 เวลาที่ใช้ในการหา 1 ชั่วโมง เอ็นไซม์เป็น filtrate ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อบน mineral salt media ที่มี 1% xylan เป็นแหล่งคาร์บอน และ $NaNO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจน

activity ของเอ็นไซม์ต่อ substrate คิดเป็นไมโครกรัมของน้ำตาลที่ย่อยได้/1มล.ของเอ็นไซม์					
M 01		M 01 P 54 C		M 01 P 32 X	
CMC ase	Xylanase	CMC ase	Xylanase	CMC ase	Xylanase
0	1740	0	860	0	7300

ตารางที่ 3 แสดงผลของเอ็นไซม์ต่อ substrate CMC, xylan ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส pH 6.8 เวลาที่ใช้ในการหา 1 ชั่วโมง เอ็นไซม์เป็น filtrate ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อบน mineral salt media ที่มี 1% α- cellulose เป็นแหล่งคาร์บอน และ $NaNO_3$ เป็นแหล่งไนโตรเจน

activity ของเอ็นไซม์ต่อ substrate คิดเป็นไมโครกรัมของน้ำตาลที่ย่อยได้/1มล.ของเอ็นไซม์							
M 01		M 01 P 54 C		M 01 P 32 X		M01P54C+M01P32X	
CMC ase	Xylanase	CMC ase	Xylanase	CMC ase	Xylanase	CMC ase	Xylanase
3144	2805	3176	743	0	0	2820	3360

M 01 = inoculum จาก mineral salt ที่มี filter paper เป็นแหล่งคาร์บอน

M 01 P54C = inoculum เป็นเชื้อ M01 ที่ผ่านการเลี้ยงบน mineral salt ที่มี α - cellulose เป็นแหล่งคาร์บอน 54 Passage

M 01 P32X = inoculum เป็นเชื้อ M01 ที่ผ่านการเลี้ยงบน mineral salt ที่มี xylan เป็นแหล่งคาร์บอน 32 Passage

CMC = Carboxymethylcellulose

References

1. Berg, B., Hofston, B.V.& Pettersson, G.1972. J. App. Bact. 35:204-214.
2. Cheevadhanarak, S. and Tanticharoen, M. 1983. Annual report of ASEAN Working Group on Food Waste Materials.
3. Workman, W.E. and Day, D.F. 1982. Applied and Environmental Microbiology 44: 1289 - 1295.