

การผลิตเอนไซม์ไซลานเนสจากยีสต์ *Candida glabrata* strain SKa4/2

โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

Xylanase Production by *Candida glabrata* Strain SKa4/2 using Agricultural Residues

จันทพร ทองเอกแก้ว* และ วลีส ปะดังทะสา

Jantaporn Thongekkaew* and Wanlee Patangtasa

Received: 24 July 2019, Revised: 5 September 2019, Accepted: 15 October 2019

บทคัดย่อ

จากการศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสของยีสต์ *Candida glabrata* strain SKa4/2 โดยการเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนจากสารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ และแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคส (glucose) หรือ เบอร์ชวู้ดไซแลน (Birchwood xylan) 1 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ยีสต์สามารถผลิตเอนไซม์ได้ดีที่สุดเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีสารสกัดจากยีสต์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และ ใช้เบอร์ชวู้ดไซแลน เป็นแหล่งคาร์บอน ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ เท่ากับ 0.89 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นทำการทดสอบความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในอาหารที่มีเบอร์ชวู้ดไซแลน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.5-1.5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ยีสต์สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงที่สุด (0.85 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีเบอร์ชวู้ดไซแลน 1 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อทำการทดสอบความสามารถของยีสต์ในการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสเมื่อใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ ชานอ้อย ฟางข้าว และเปลือกข้าวโพด เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า ยีสต์สามารถใช้ชานอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีที่สุด โดยให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ เท่ากับ 0.61 ยูนิตต่อมิลลิลิตร การศึกษานี้จึงสรุปได้ว่ายีสต์ *Candida glabrata* strain SKa4/2 สามารถใช้ชานอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเอนไซม์ได้ ซึ่งจะเป็นการช่วยลดต้นทุนการผลิตสารที่มีประโยชน์จากการใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

คำสำคัญ: ยีสต์, ไซลานเนส, วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

ABSTRACT

Xylanase production from *Candida glabrata* strain SKa4/2 in the medium containing yeast extract as nitrogen source at the different concentration of 0.5 and 1% and carbon sources from glucose or Birchwood xylan at the concentration of 1% was investigated. The result showed that this yeast produced the highest yields of xylanase when grew in the medium containing 1% yeast extract and Birchwood xylan as a carbon source with the enzyme activity of 0.89 U mL^{-1} . Among the different concentration of Birchwood xylan (0.5-1.5%) on xylanase production, the maximum enzyme activity was achieved in the medium containing 1% Birchwood xylan (0.85 U mL^{-1}). Amongst different agricultural waste samples (such as sugarcane bagasse, rice straw and corn husk) as a carbon sources, sugarcane bagasse gave the highest yields of xylanase and the activities was 0.61 U mL^{-1} . This study suggests that sugarcane bagasse could be utilized as a carbon source for economical xylanase production by *Candida glabrata* strain SKa4/2. This may in turn reduce the cost of enzyme production leading to efficient use of lignocellulosic materials to produce value-added products.

Key words: yeast, xylanase, agricultural residues

บทนำ

เอนไซม์ไซลันเนส (xylanase) เป็นเอนไซม์ที่มีการใช้อย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาลไซโลส การฟอกสีกระดาษ อาหารสัตว์ อาหารเสริม และการผลิตเอทานอล สำหรับพลังงานทางเลือก (Bocchini *et al.*, 2003; Damiano *et al.*, 2003; Suchita and Ramesh, 2006; Ahmed *et al.*, 2009; Romdhane *et al.*, 2010; Teixeira *et al.*, 2010) แต่ในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่จะใช้เอนไซม์ที่นำเข้าจากต่างประเทศ มีราคาแพง ส่งผลให้ต้นทุนการผลิตมีราคาสูง จากการที่ประเทศไทยเป็นประเทศที่ประชากรส่วนใหญ่มีอาชีพเกษตรกรรม ปลูกพืชเศรษฐกิจต่างๆ เช่น ข้าว อ้อย ข้าวโพด ยางพารา ฯลฯ สำหรับการบริโภคและป้อนให้กับอุตสาหกรรม ทำให้มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น เปลือกข้าวโพด ชานอ้อย และฟางข้าว เป็นจำนวนมาก ทั้งนี้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเหล่านี้จะมีเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส สารประกอบเพคติก และลิกนินในปริมาณ

สูง (Kasemsumran *et al.*, 2010) ซึ่งสารประกอบดังกล่าวจุลินทรีย์ เช่น ยีสต์ สามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญและผลิตสารที่มีประโยชน์ได้ เช่น เอนไซม์ หรือ วิตามิน เป็นต้น (Rajoka *et al.*, 2012) การนำวัสดุเหล่านี้มาใช้ในการผลิตเอนไซม์ไซลันเนสอาจเป็นอีกแนวทางหนึ่งที่เพิ่มการใช้ประโยชน์จากวัสดุเศษเหลือนี้ อีกทั้งเป็นการลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมอีกทางหนึ่งได้

เอนไซม์ไซลันเนส (Xylanase หรือ Endo-1,4-beta-xylanase; EC 3.2.1.8) เป็นเอนไซม์ย่อยสลายไซแลนที่เป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลส พบได้ในผนังเซลล์พืช (Kuhad and Singh, 1993) โครงสร้างของไซแลนจะเป็นสายโพลีเมอร์ที่มีน้ำตาลไซโลส (D-xylose) เป็นหลักประมาณ 85-90 เปอร์เซ็นต์ ส่วนที่เหลือเป็นน้ำตาลอะราบินอส (L-arabinose) และกรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) (Kulkarni *et al.*, 1999) การย่อยสลายไซแลนต้องอาศัยกิจกรรมของเอนไซม์ อะซิติก เอสเทอร์เรส

(acetyl esterase) อะรีโนฟูราโนซิเดส (L-arabinofuranosidase) และกลูคูโรนิเดส (glucuronidase) เพื่อตัดหน่วยย่อยที่เป็นกิ่งก้านของไซแลนออกจากนั้นสายหลักของไซแลนจะถูกย่อยด้วยกลุ่มของเอนไซม์ไซแลนาส ได้แก่ 1. เอนโดไซแลนาส (endo-xylanase) ทำหน้าที่ย่อยพันธะ β -(1,4) ที่อยู่ภายในสายหลักแบบสุ่ม ได้ผลผลิตเป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ (xylooligosaccharides) 2. เอกไซแลนาส (exo-xylanase) ทำหน้าที่ย่อยสลายไซแลนและไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ จากด้านที่เป็น non-reducing end ให้ผลผลิตเป็นน้ำตาลไซโลส และ 3. เบตาไซโลซิเดส (β -xylosidase) ทำหน้าที่ย่อยน้ำตาลโมเลกุลคู่ที่เป็นผลผลิตจากการทำงานของเอนโดไซแลนาส และเอกไซแลนาส ได้เป็นน้ำตาลไซโลส เพื่อเป็นการช่วยลดต้นทุนในการผลิตเอนไซม์ และการนำเศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์ ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงมุ่งเน้นศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์ไซแลนาสจากยีสต์สายพันธุ์ *Candida glabrata* strain SKa4/2 ที่คัดแยกจากบริเวณป่าภายในมหาวิทยาลัยอุบลราชธานี โดยการใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงเชื้อ

วิธีดำเนินการวิจัย

1. การเตรียมกล้าเชื้อ

เก็บเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Candida glabrata* strain SKa4/2 จากจานอาหาร YPD (Yeast extract Peptone Dextrose Agar) ลงในอาหารเหลว YM (Yeast extract-Malt extract) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2. การศึกษาความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซแลนาส

ถ่ายเชื้อยีสต์จากอาหารเหลว YM ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยเปปโตน (peptone) 0.5 เปอร์เซ็นต์ และแหล่งไนโตรเจน คือ สารสกัดจากยีสต์ ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ โดยมีน้ำตาลกลูโคส หรือ เบอร์ชวู้ดไซแลน 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ในปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากัน ($OD_{600} = 0.1$) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ทำการเก็บเชื้อทุก 24 ชั่วโมง มาวัดการเจริญที่ OD_{600} และนำส่วนใสที่ได้หลังจากการปั่นเหวี่ยงเซลล์ (supernatant) มาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

3. การทดสอบความสามารถของยีสต์ในการผลิตเอนไซม์ไซแลนาสในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้นต่างๆ

ถ่ายเชื้อยีสต์จากอาหารเหลว YM ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากยีสต์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ แหล่งคาร์บอน คือ เบอร์ชวู้ดไซแลน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0.5-1.5 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากัน ($OD_{600} = 0.1$) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ทำการเก็บเชื้อทุก 24 ชั่วโมง มาวัดการเจริญ และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

4. การทดสอบความสามารถของยีสต์ในการผลิตเอนไซม์ไซแลนาสโดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน

4.1 การเตรียมวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

นำชานอ้อยและฟางข้าว ที่ผ่านการทำความสะอาดและตัดเป็นชิ้นเล็กๆ ไปอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 ชั่วโมง ส่วนเปลือกข้าวโพดจะอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง

จากนั้นนำขานอ้อย ฟางข้าว และเปลือกข้าวโพด มาปั่นให้ละเอียดและร่อนด้วยตะแกรงที่มีขนาด 25 เมช (mesh) เก็บวัสดุที่ได้ในขวดป้องกันความชื้นเพื่อการนำไปใช้ต่อไป

4.2 การทดสอบการผลิตเอนไซม์ไซลาลเนสของยีสต์

ถ่ายเชื้อยีสต์จากอาหารเหลว YM ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากยีสต์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ แหล่งคาร์บอนต่างๆ ได้แก่ ขานอ้อย ฟางข้าว และเปลือกข้าวโพด 1 เปอร์เซ็นต์ ในปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากัน ($OD_{600} = 0.1$) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ทำการเก็บเชื้อทุก 24 ชั่วโมง มาวัดการเจริญ และวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

5. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ไซลาลเนส

นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงเซลล์ (supernatant) มาหากิจกรรมของเอนไซม์ไซลาลเนส ที่มีเบอร์ชวู้ดไซเลนเป็นสารตั้งต้น โดยการปิเปตสารละลายเบอร์ชวู้ดไซเลน 1 เปอร์เซ็นต์ใน 50 mM citrate buffer pH 5.5 ปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง จากนั้นเติม supernatant ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เมื่อครบกำหนดเวลา นำสารละลายจากการบ่ม มาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โดยการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยสารละลาย Somogyi-Nelson (Somogyi, 1952) กำหนดให้ 1 หน่วยของเอนไซม์ไซลาลเนส หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่

สามารถย่อยสลายเบอร์ชวู้ดไซเลน 1 ไมโครโมล เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ ในเวลา 1 นาที

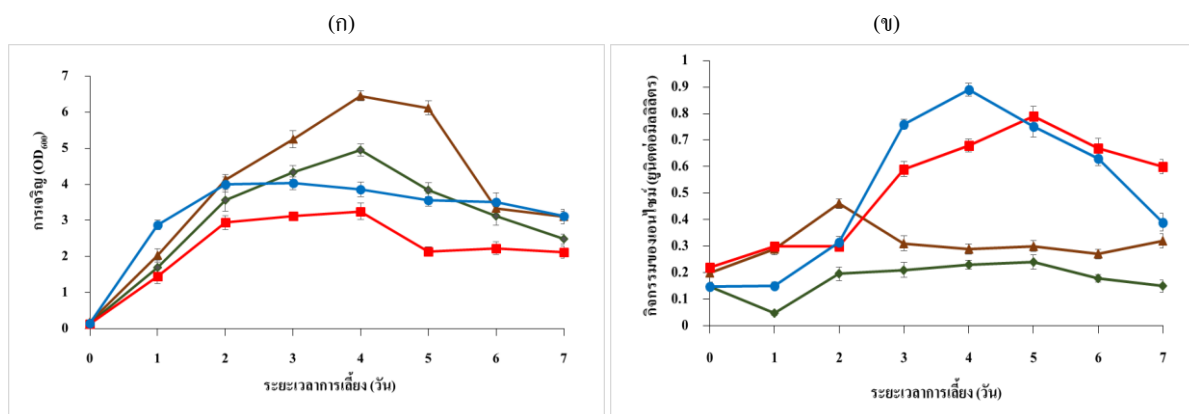
6. การวิเคราะห์ทางสถิติ

นำค่าจากผลการทดลองจากการวิเคราะห์การทดลองละ 3 ซ้ำ มาคำนวณค่าเฉลี่ย และ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน โดยใช้โปรแกรมไมโครซอฟต์เอ็กเซล เวอร์ชัน 2013

ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

1. ความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซลาลเนส

จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ และแหล่งไนโตรเจน คือ สารสกัดจากยีสต์ ที่ความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ และ น้ำตาลกลูโคส หรือ เบอร์ชวู้ดไซเลน 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน ผลการทดลองพบว่า ยีสต์สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในขณะที่การผลิตเอนไซม์ของยีสต์ จะพบว่ายีสต์สามารถผลิตเอนไซม์ได้ดีที่สุดในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และใช้เบอร์ชวู้ดไซเลนเป็นแหล่งคาร์บอน มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 0.89 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 4 ของการเลี้ยง ดังภาพที่ 1 ดังนั้นจึงเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองต่อไป



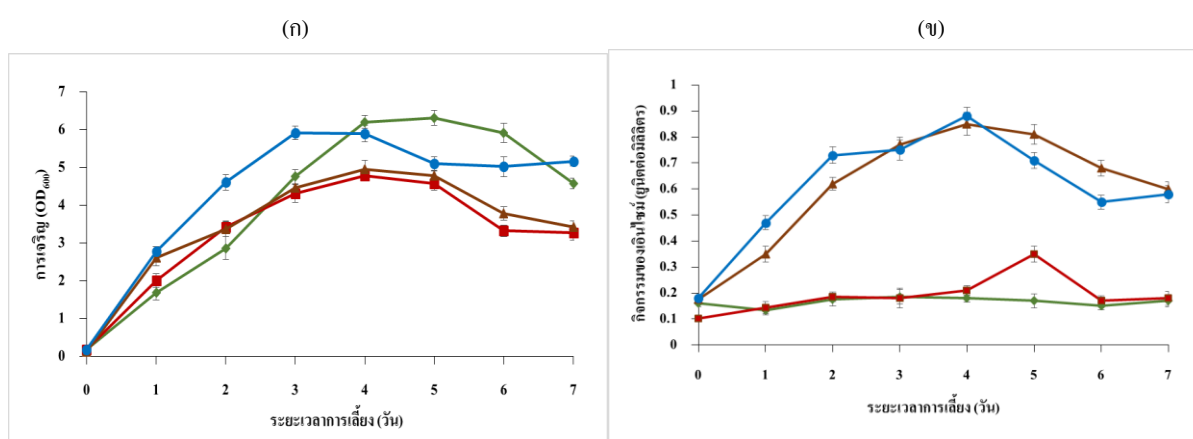
ภาพที่ 1 การเจริญ (ก) และการผลิตเอนไซม์ไฮาลูนาส (ข) ในอาหารเหลวที่มีแหล่งไนโตรเจนความเข้มข้น 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์ ที่มีแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลกลูโคสหรือเบอรี่วูดไซแลน

—●— 0.5% สารสกัดจากยีสต์ + 1% น้ำตาลกลูโคส —▲— 1% สารสกัดจากยีสต์ + 1% น้ำตาลกลูโคส
—■— 0.5% สารสกัดจากยีสต์ + 1% เบอรี่วูดไซแลน —●— 1% สารสกัดจากยีสต์ + 1% เบอรี่วูดไซแลน

2. การผลิตเอนไซม์ไฮาลูนาสของยีสต์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนความเข้มข้นต่างๆ

จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปปโตน 0.5 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากยีสต์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ แหล่งคาร์บอน คือ เบอรี่วูดไซแลน ที่ความเข้มข้นต่างๆ ตั้งแต่ 0 (ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน) 0.5, 1.0 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ผลการทดลอง พบว่า ยีสต์สามารถเจริญได้ดีทั้งในอาหารที่มี

น้ำตาลกลูโคสและมีเบอรี่วูดไซแลน ในขณะที่การผลิตเอนไซม์ของยีสต์ พบว่า ยีสต์มีการผลิตเอนไซม์ได้ดีในอาหารที่มีเบอรี่วูดไซแลน ที่ความเข้มข้น 1-1.5 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 0.85 หน่วยต่อมิลลิกรัม ในวันที่ 4 ดังภาพที่ 2 ดังนั้นจึงเลือกใช้แหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลองต่อไป

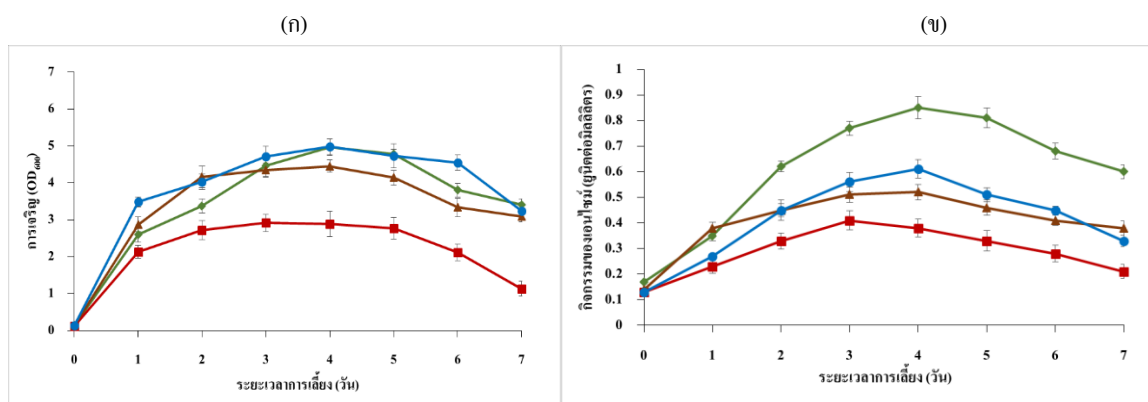


ภาพที่ 2 การเจริญ (ก) และการผลิตเอนไซม์ไฮาลูนาส (ข) ในอาหารเหลวที่มีเบอรี่วูดไซแลนที่ความเข้มข้นต่างๆ 0 (●), 0.5 (■), 1.0 (▲) และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ (●)

3. การผลิตเอนไซม์ไซลานเนสของยีสต์โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน

จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเปปโตเน 0.5 เปอร์เซ็นต์ สารสกัดจากยีสต์ 1 เปอร์เซ็นต์ และ แหล่งคาร์บอนต่างๆ ได้แก่ ชานอ้อย ฟางข้าว และเปลือกข้าวโพด 1 เปอร์เซ็นต์ และ เบอร์ชวู้ดไซแลน (ตัวเปรียบเทียบ) พบว่า ยีสต์สามารถเจริญในอาหารที่มีชานอ้อยและเปลือกข้าวโพด

ใกล้เคียงกับเบอร์ชวู้ดไซแลน ในขณะที่การผลิตเอนไซม์ของยีสต์ พบว่า ยีสต์สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงที่สุดจากอาหารที่มีเบอร์ชวู้ดไซแลน รองลงมา คือ ชานอ้อย และ เปลือกข้าวโพด มีค่ากิจกรรมเท่ากับ 0.85, 0.61 และ 0.52 ยูนิต์ต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ ในวันที่ 4 ของการเลี้ยง ส่วนการเลี้ยงเชื้อในฟางข้าว จะเจริญและให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต่ำที่สุด ดังภาพที่ 3



ภาพที่ 3 การเจริญ (ก) และการผลิตเอนไซม์ไซลานเนส (ข) จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

เบอร์ชวู้ดไซแลน (●) ชานอ้อย (●) ฟางข้าว (●) เปลือกข้าวโพด (●)

จากการศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสจากยีสต์สายพันธุ์ *Candida glabrata* strain SKa4/2 พบว่า ยีสต์สามารถใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ได้ดีกว่าที่ 0.5 เปอร์เซ็นต์ และพบว่ายีสต์สามารถผลิตเอนไซม์ในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอน คือ เบอร์ชวู้ดไซแลนได้ดีกว่าน้ำตาลกลูโคส ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากน้ำตาลกลูโคสจะไปกดการทำงานของ (repressor) การสร้างยีนเพื่อผลิตเอนไซม์ไซลานเนส แต่จะถูกนำไปใช้เป็นแหล่งอาหารเพื่อสร้างเป็นพลังงาน ส่งผลให้จุลินทรีย์มีการเจริญที่ดี ในขณะที่ไซแลนจะเป็นตัวเหนี่ยวนำ (inducer) ในการสร้างยีนเพื่อผลิตเอนไซม์ไซลานเนส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Gupta and Kar (2008) ที่พบว่าเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อ *Streptomyces syaneus* SN32 ในอาหารที่มีทั้งน้ำตาลกลูโคสและไซแลนจะ

ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ไซลานเนสในช่วงแรก แต่จะตรวจพบกิจกรรมของเอนไซม์หลังจากเชื้อมีการใช้น้ำตาลกลูโคสหมดไป สำหรับความเข้มข้นของเบอร์ชวู้ดไซแลนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ของยีสต์จะเท่ากับ 1.0-1.5 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารอาหารเป็นปัจจัยหนึ่งที่สำคัญต่อการผลิตเอนไซม์นี้ โดยจุลินทรีย์แต่ละชนิดจะมีความเข้มข้นที่เหมาะสมของสารอาหารที่แตกต่างกัน เช่น จากรายงานของ Kamble and Jadhav (2012) พบว่า *Cellulosimicrobium* sp. MTCC 10645 สามารถผลิตเอนไซม์ไซลานเนสได้ดีในอาหารเลี้ยงเชื้อที่แหล่งคาร์บอนมีความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Poosarla and Chandra (2010) พบว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสจาก *Gracilibacillus* sp. TSCPVG อยู่ที่ 0.75 เปอร์เซ็นต์

ในปัจจุบันแม้ว่าจะมีรายงานการศึกษาการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตเอนไซม์ เพื่อลดต้นทุนการใช้ผงไขแลนที่มีราคาสูงจำนวนมาก เช่น รายงานของ Patel and Prajapati (2014) ที่พบว่า *Cladosporium* sp. สามารถผลิตเอนไซม์ไซลานเนสได้ในอาหารที่เตรียมจากรำข้าว และ รายงานของ Ho (2015) ที่พบว่า *Bacillus subtilis* ATCC 6633 สามารถผลิตเอนไซม์ไซลานเนสได้ดีในอาหารที่เตรียมจากเปลือกข้าวบาร์เลย์ เป็นต้น หากแต่การศึกษาการผลิตเอนไซม์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรยังคงเป็นที่สนใจ เพื่อให้ได้แหล่งผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์แหล่งใหม่ๆ ในงานวิจัยนี้จึงทำการทดสอบความสามารถในการสร้างเอนไซม์ไซลานเนสของยีสต์สายพันธุ์ SK-4/2 เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆ ได้แก่ ชานอ้อย เปลือกข้าวโพด และฟางข้าว เปรียบเทียบกับอาหารเลี้ยงเชื้อทางการค้า (เบอร์ชวู้ดไซแลน) พบว่า ยีสต์สามารถเจริญเติบโตในอาหารที่มีชานอ้อย และเปลือกข้าวโพด ดีกว่าฟางข้าว ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากชานอ้อยและเปลือกข้าวโพดมีน้ำตาลที่ตกค้าง ได้แก่ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ที่ยีสต์สามารถนำไปใช้ได้ก่อนที่จะได้จากผลผลิตจากการทำงานของเอนไซม์ และจากการวิเคราะห์ปริมาณการผลิตเอนไซม์ของยีสต์สายพันธุ์ SK-4/2 นี้ พบว่า สามารถผลิตเอนไซม์ไซลานเนสได้สูงที่สุดในอาหารที่เตรียมจากเบอร์ชวู้ดไซแลน รองลงมาคือ ชานอ้อย เปลือกข้าวโพด และ ฟางข้าว ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับ Milagres *et al.* (2004) ศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสในสภาพถังหมักแบบมีอากาศโดยเชื้อรา *Thermoascus aurantiacus* ATCC 204492 พบว่า เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์ได้ปริมาณสูงเมื่อใช้ชานอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอน จากการที่เซลล์ยีสต์มีการผลิตเอนไซม์ได้แตกต่างกันในแต่ละชนิดของวัสดุ

เนื่องจากพืชแต่ละชนิดมีผนังเซลล์ที่มีองค์ประกอบทางเคมี โครงสร้าง และการเรียงตัวที่ต่างกันของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน จากการศึกษาของ Kuhad and Singh (1993) พบว่า เบอร์ชวู้ดไซแลน เป็นแหล่งคาร์บอนที่เอนไซม์ไซลานเนสย่อยได้มากที่สุด รองลงมา คือ เปลือกข้าวโพด ชานอ้อย และ ฟางข้าว ทั้งนี้เนื่องจากในฟางข้าว นอกจากจะมีเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสแล้วยังมีลิกนินในปริมาณสูง ซึ่งอาจมีผลต่อการนำเฮมิเซลลูโลสไปใช้ของเซลล์ยีสต์ ส่งผลให้เกิดการผลิตเอนไซม์ได้ช้ากว่าชานอ้อย และ เปลือกข้าวโพด

สรุป

จากการศึกษาการผลิตเอนไซม์ไซลานเนสจากยีสต์สายพันธุ์ SK-4/2 ด้วยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรนี้สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตเอนไซม์เพื่อลดต้นทุน เนื่องจากการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงนับว่าเป็นการเพิ่มแหล่งการผลิตเอนไซม์จากการใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมได้อีกแหล่งหนึ่ง ซึ่งนอกจากจะเป็นประโยชน์ทั้งทางด้าน การลดต้นทุนการผลิตจากการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกลับมาใช้ผลิตสารที่มีประโยชน์แล้ว ยังเป็นการช่วยลดมลภาวะจากวัสดุเหลือทิ้งที่มีจำนวนมากในประเทศได้อีกทางหนึ่งด้วย

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากสำนักบริหารโครงการส่งเสริมการวิจัยในอุดมศึกษา และพัฒนามหาวิทยาลัยวิจัยแห่งชาติ สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา ในปีงบประมาณ 2557 คณะผู้วิจัยขอขอบคุณเป็นอย่างยิ่งสำหรับการให้ทุนสนับสนุนงานวิจัยนี้ และขอขอบคุณคณะ

วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี ในการ
เอื้อเพื่อห้้องปฏิบัติการวิจัย ทำให้งานวิจัยนี้สำเร็จ
คล่องได้เป็นอย่างดี

เอกสารอ้างอิง

- Ahmed, S., Riaz, S. and Jamil, A. 2009. Molecular cloning of fungal xylanases: An overview. **Applied Microbiology and Biotechnology** 84(1): 19-35.
- Bocchini, D.A., Damiano, V.B., Gomes, E. and Da Silva, R. 2003. Effect of *Bacillus circulans* D1 thermostable xylanase on biobleaching of eucalyptus Kraft pulp. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 105-108: 393-401.
- Damiano, V.B., Bocchini, D.A., Gomes, E. and Da Silva, R. 2003. Application of crude xylanase from *Bacillus licheniformis* 77-2 to the bleaching of eucalyptus Kraft pulp. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 19: 139-44.
- Gupta, U. and Kar, R. 2008. Optimization and scale up of cellulase free endo xylanase production by solid state fermentation on corn cob and by immobilized cells of a thermotolerant bacterial isolate. **Jordan Journal of Biological Science** 1: 129-134.
- Ho, H.L. 2015. Xylanase production by *Bacillus subtilis* using carbon source of inexpensive agricultural wastes in two different approaches of submerged fermentation (SmF) and solid state fermentation (SsF). **Journal of Food Processing and Technology** 6(4): 1-9.
- Kamble, R.D. and Jadhav, A.R. 2012. Production, purification and characterisation of alkali stable xylanase from *Cellulosimicrobium* sp. MTCC 10645. **Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine** 2(3): S1790-S1797.
- Kasemsumran, S., Suttiwijitpukdee, N., Prasatsrisupub, J., Thanapase, W. and Miyata, S. 2010. Determination of chemical constituents in biomass for substitute energy utilization by using near infrared spectroscopy. **Agricultural Science Journal** 41: 65-68.
- Kuhad, R.C. and Singh, A. 1993. Lignocellulose Biotechnology: Current and future prospects. **Critical Reviews in Biotechnology** 13(2): 151-172.
- Kulkarni, N., Shendye, A. and Rao, M. 1999. Molecular and biotechnological aspects of xylanases. **FEMS Microbiology Review** 23(4): 411-456.
- Milagres, A.M.F., Santos, E., Piovan, T. and Roberto, I.C. 2004. Production of xylanase by *Thermoascus aurantiacus* from sugar cane bagasse in an aerated growth fermenter. **Process Biochemistry** 39(11): 1387-1391.
- Patel, K. and Prajapati, K. 2014. Xylanase production by *Cladosporium* sp. from agricultural waste. **International Journal of Current Research and Academic Review** 2(12): 84-90.
- Poosarla, V.G. and Chandra, T. 2010. Production of novel halo-alkali-thermo-stable xylanase by a newly isolated moderately halophilic

- and alkali-tolerant *Gracilibacillus* sp. TSCPVG. **Process Biochemistry** 45(10): 1730-1737.
- Rajoka, M.I., Ahmed, S., Hashmi, A.S. and Athar, M. 2012. Production of microbial biomass protein from mixed substrates by sequential culture fermentation of *Candida utilis* and *Brevibacterium lactofermentum*. **Annals of Microbiology** 62(3): 1173-1179.
- Romdhane, B.I.B., Achouri, I.M. and Belghith, H. 2010. Improvement of highly thermostable xylanases production by *Talaromyces thermophilus* for the agro-industrials residue hydrolysis. **Applied Biochemistry and Biotechnology** 162: 1635-1646.
- Somogyi, M. 1952. Notes on sugar determination. **The Journal of Biological Chemistry** 195(1): 19-23.
- Suchita, N. and Ramesh, C.K. 2006. Bleaching of wheat straw rich soda pulp with xylanase from a thermoalkalophilic *Streptomyces cyaneus* SN32. **Bioresource Technology** 97(18): 2291-2295.
- Teixeira, R.S.S., Siqueira, F.G., Souza, M.V., Filho, E.X.F and Bon, E.P.S. 2010. Purification and characterization studies of a thermostable-xylanase from *Aspergillus awamori*. **Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology** 37: 1041-1051.