การผลิตและการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดยเชื้อรา Penicillium pinophilum TISTR 3386

PRODUCTION AND STUDY ON SOME PROPERTIES OF DEXTRANASE BY Penicillium pinophilum TISTR 3386

มธุรส จันทร์ศุภมงคล
MATUROT JUNSUPAMONGKOL

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2543

ISBN 974-648-015-4

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตและการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดยเชื้อรา *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

PRODUCTION AND STUDY ON SOME PROPERTIES OF DEXTRANASE BY *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

T038956

มธุรส จันทร์ศุภมงคล

MATUROT JUNSUPAMONGKOL

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ม่.....
ะเบียน 38956
เดือน, ป 20 ก.พ. 2544
.b.....
.i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2543

ISBN 974-648-015-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRODUCTION AND STUDY ON SOME PROPERTIES OF DEXTRANASE BY *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

MATUROT JUNSUPAMONGKOL

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2000

ISBN 974-648-015-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2000

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บัณฑิตวิทยาลัย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ การผลิตและการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดยเชื้อรา *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

PRODUCTION AND STUDY ON SOME PROPERTIES OF DEXTRANASE BY *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

ชื่อนักศึกษา นางสาวมธุรส จันทร์ศุภมงคล

รหัสประจำตัว 40065208

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
ผศ.เนาวรัตน์	ปานแย้ม	
รศ.สุขใจ	ชูจันทร์	
ผศ.อรไท	สุขเจริญ	
ผศ.ดร.นวลพรรณ	ณ ระนอง	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 15 พฤศจิกายน 2543 เวลา 10.00 น. เป็นต้นไป

สถานที่สอบ ณ ห้อง 424 ห้องประชุม-สัมมนา

บัณฑิตวิทยาลัยรับรองแล้ว

(รศ.ดร.บุญวัฒน์ อัตชู)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่.....9.....**เดือน**.....ธันวาคม.....**พ.ศ.**..2543...

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis Title	Production and Study on Some Properties of Dextranase by *Penicillium pinophilum* TISTR 3386
Student	Miss Maturot Junsupamongkol
Student ID.	40065208
Degree	Master of Science
Programme	Biotechnology
Year	2000
Thesis Advisor	Assistant Professor Dr. Nuanphan Naranong

ABSTRACT

An optimized medium for dextranase production by *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 contained 7.5 g/l dextran, 3.0 g/l $NaNO_3$, 1.5 g/l KH_2PO_4, 0.5 g/l KCl and 0.5 g/l $MgSO_4 \cdot 7H_2O$. An initial pH of the medium was adjusted to 4.0. In shake flask culture, the maximum activity of 38,933.90 U/ml was obtained at the 192 hrs with the shaking speed of 200 rpm at 30^0C. In fermentor, the dextranase with activity of 37,993.88 U/ml was also obtained at the 192 hrs with the agitation speed of 400 rpm and the aeration rate of 1.0 vvm at 30^0C. Some properties of the crude enzyme were studies. The dextranase was purified 10.92 times after precipitation with ammonium sulfate and dialysis step with a specific activity of 170,889.46 U/mg of protein. The optimal pH and temperature for dextranase activity were 4.0 and 60^0C, respectively. The enzyme was stable at pH range between 3.0 and 8.0 and at temperature below 50^0C. The enzyme was inhibited by Hg^{2+}, Ag^{+}, Cu^{2+} and Pb^{2+}. The K_m and V_{max} values of dextranase with dextran as substrate were 1.67 g/l and 20 μg/ml/min, respectively. The end products from hydrolysis of dextran by dextranase from *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 were mainly found to be isomaltose and isomaltotriose. The enzyme was defined as endodextranase.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ II

กิตติกรรมประกาศ III

สารบัญ IV

สารบัญตาราง VI

สารบัญรูป VIII

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย 1

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 2

บทที่ 2 หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 เด็กซแตรน 3

2.2 เอนไซม์เด็กซแตรนเนส 6

2.3 แหล่งที่พบเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 8

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 12

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 17

2.6 การนำเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาประยุกต์ใช้ 20

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย 24

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 24

3.2 วิธีการวิจัย 26

3.3 วิธีวิเคราะห์ 32

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 33

4.1 ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่า 33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลการศึกษาผลของโลหะที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....51
4.3 ผลของน้ำตาลบางชนิดที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรเนส.....55
4.4 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่า และในระดับถังหมักแบบแบตช์.....67
4.5 ผลการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....69
4.6 ผลการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....80
4.7 ผลการวิเคราะห์ผลิตผลที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium pinophilum* TISTR 3386.....82

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัย.....84

บรรณานุกรม.....86

ภาคผนวก.....91
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ.....92
ภาคผนวกข การวิเคราะห์.....93
ภาคผนวก ค.....103
ภาคผนวก ง ข้อมูล.....105

ประวัติผู้เขียน.....120

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 เปรียบเทียบการย่อยเด็กซแตรนโดยเอนโดเด็กซแตรนเนสและเอกโซเด็กซแตรนเนส.....7

2.2 แสดงผลของพีเอชที่มีต่อกิจกรรมและความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากจุลินทรีย์.....18

2.3 แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อกิจกรรมและความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากจุลินทรีย์.....19

2.4 แสดงอิออนของโลหะและเกลืออนินทรีย์บางชนิดที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ที่ได้จากจุลินทรีย์.....20

4.1 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....34

4.2 แสดงการเปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....38

4.3 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....44

4.4 แสดงการเปรียบเทียบผลของพีเอชเริ่มต้นที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....45

4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลของการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....51

4.6 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมโลหะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....55

4.7 แสดงการเปรียบเทียบผลของน้ำตาลบางชนิดที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....59

4.8 แสดงการเปรียบเทียบผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรนที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....63

4.9 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส.....64

4.10 แสดงการเปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าและในระดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

ง1 แสดงผลของเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างๆ 105

ง2 แสดงผลของแหล่งไนโตรเจน 106

ง3 แสดงผลของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 108

ง4 แสดงผลของพีเอชเริ่มต้น 109

ง5 แสดงผลของอุณหภูมิ 110

ง6 แสดงผลของโลหะ 111

ง7 แสดงผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน 113

ง8 แสดงผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน 115

ง9 แสดงผลของการใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับเด็กซแตรน 116

ง10 แสดงผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่า 118

ง11 แสดงผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับถังหมัก 119

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แสดงการย่อยน้ำตาลซูโครสโดยเอนไซม์เด็กซแตรนซูเครสเพื่อสังเคราะห์เด็กซแตรน 4

2.2 แสดงแบบจำลองของปฏิกิริยาการย้ายหมู่กลูโคซิลของเอนไซม์เด็กซตริน-เด็กซแตรนเนส.....5

4.1 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนที่ความเข้มข้น ก) 5.0 กรัมต่อลิตร ข) 7.5 กรัมต่อลิตร ค) 10.0 กรัมต่อลิตร 35

4.2 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนที่ความเข้มข้น ก) 12.5 กรัมต่อลิตร ข) 20.0 กรัมต่อลิตร 36

4.3 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจน ก) ยีสต์สกัด ข) โซเดียมไนเตรท ค) เปปโตน 39

4.4 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจน ก) น้ำแช่ข้าวโพด ข) แอมโมเนียมซัลเฟต ค) แอมโมเนียมคลอไรด์.....40

4.5 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น ก) 0.75 กรัมต่อลิตร ข) 1.0 กรัมต่อลิตร.....42

4.6 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น ก) 1.50 กรัมต่อลิตร ข) 2.00 กรัมต่อลิตร 43

4.7 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อพีเอชเริ่มต้นอาหาร ก) พีเอช 4.0 ข) พีเอช 5.0 ค) พีเอช 6.0.....46

4.8 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อพีเอชเริ่มต้นอาหาร ก) พีเอช 7.0 ข) พีเอช 8.0.....47

4.9 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ ก) 30 องศาเซลเซียส ข) 40 องศาเซลเซียส 49

4.10 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ ก) 50 องศาเซลเซียส ข) 60 องศาเซลเซียส.....50

4.11 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อเติมโลหะ ก) ไม่เติมโลหะ ข) ซิงค์ซัลเฟต ค) เฟอร์รัสซัลเฟต 53

4.12 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อเติมโลหะ ก) เลดอะซิเตต ข) แคดเมียมคลอไรด์ ค) เมอร์คิวรีคลอไรด์.....54

4.13 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรน ก) เด็กซแตรน ข) กลูโคส ค) มอลโตส.....57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.14 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรน ก) ซูโครส ข) ฟรักโตส ค) อะราบิโนส 58

4.15 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน ก) เด็กซแตรนเพียงอย่างเดียว ข) กลูโคสร่วมกับเด็กซแตรน ค) มอลโตสร่วมกับเด็กซแตรน 61

4.16 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน ก) ซูโครสร่วมกับเด็กซแตรน ข) ฟรักโตสร่วมกับเด็กซแตรน ค) อะราบิโนสร่วมกับเด็กซแตรน 62

4.17 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนร่วมกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น ก) ไม่เติมกลูโคส ข) 1.0 กรัมต่อลิตร ค) 2.0 กรัมต่อลิตร 65

4.18 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนร่วมกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น ก) 5.0 กรัมต่อลิตร ข) 10.0 กรัมต่อลิตร 66

4.19 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ก) ฟลาสก์เขย่าปริมาตร 250 มิลลิลิตร ข) ถังหมักปริมาตร 5 ลิตร 68

4.20 แสดงผลของพีเอชต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 72

4.21 แสดงผลของอุณหภูมิต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 74

4.22 แสดงความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่พีเอชต่างๆ 75

4.23 แสดงความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่อุณหภูมิต่างๆ 77

4.24 แสดงกราฟ Lineweaver-Burk ระหว่าง 1/V และ 1/[S] 81

4.25 paper chromatography แสดงผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 83

ข1 แสดงกราฟมาตรฐานของไอโซมอลโตส 96

ข2 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส 97

ข3 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส 98

ข4 แสดงกราฟมาตรฐานของเด็กซแตรน 99

ข5 แสดงกราฟมาตรฐานของโปรตีน (อัลบูมิน) 101

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

เด็กซแตรนเป็นโฮโมพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคสซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะ α-1,6 กลูโคซิดิก เด็กซแตรนที่ใช้ทางการค้าสังเคราะห์ได้จากเชื้อแบคทีเรียในสกุลของ *Leuconostoc* โดยเฉพาะ *L. mesenteroides* และ *L. dextranicum* (Lee and Fox, 1985) เด็กซแตรนที่ผลิตได้ถูกนำมาใช้ประโยชน์ทางด้านการแพทย์และทางอุตสาหกรรม แต่ในขณะเดียวกันเด็กซแตรนก็ก่อให้เกิดปัญหาโดยเฉพาะปัญหาที่เกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล เนื่องจากเด็กซแตรนที่ปนเปื้อนอยู่ในวัตถุดิบและที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการผลิตน้ำตาล มีผลทำให้ประสิทธิภาพในกระบวนการผลิตลดต่ำลง ผลผลิตที่ได้ลดลงและมีคุณภาพไม่ดี (Tilbury and French, 1974) ซึ่งแนวทางในการแก้ไขปัญหา คือการกำจัดเด็กซแตรนทั้งที่อยู่ในวัตถุดิบและที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิต วิธีการหนึ่งที่นิยมและใช้ได้ผลดีในการกำจัดเด็กซแตรน ของโรงงานผลิตน้ำตาลในหลายๆ ประเทศ เช่น ออสเตรเลีย ญี่ปุ่น และอินดีสตะวันตก คือ การใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาย่อยเด็กซแตรนที่ปะปนอยู่ ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะมีความจำเพาะต่อการย่อยพันธะ α-1,6 ที่เชื่อมหน่วยย่อยของเด็กซแตรน (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2535)

เนื่องจากประเทศไทยเป็นประเทศหนึ่งที่ส่งน้ำตาลเป็นสินค้าออกและประสบปัญหาการปนเปื้อนของเด็กซแตรน ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงเป็นแนวทางในการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเพื่อแก้ไขปัญหาการผลิตน้ำตาลภายในประเทศ

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาปัยจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่า

1.2.2 ศึกษาผลของโลหะที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

1.2.3 ศึกษาผลของน้ำตาลบางชนิดที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

1.2.4 เปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าและในระดับถังหมัก

1.2.5 ศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจากเชื้อรา *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 รวมทั้งผลของน้ำตาลบางชนิดและโลหะที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส นอกจากนี้ยังศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับถังหมักตลอดจนสมบัติของเอนไซม์ที่ผลิตได้

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เพื่อเป็นแนวทางในการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส และใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการขยายกำลังผลิตเข้าสู่ระดับอุตสาหกรรม

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
หลักการและทฤษฎีที่เกี่ยวข้อง

2.1 เด็กซแตรน

2.1.1 คุณสมบัติ

เด็กซแตรนจัดอยู่ในกลุ่มของพอลิแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ออกมาภายนอกเซลล์โดยเชื้อแบคทีเรีย เป็นสารประกอบพวกโฮโมพอลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส ซึ่ง 95 เปอร์เซ็นต์ของสายต่อกันด้วยพันธะ α-1,6 กลูโคซิดิก และอีก 5 เปอร์เซ็นต์เป็นสายสาขาที่ต่อกันด้วยพันธะชนิด α-1,3 ในบางชนิดสายสาขาอาจต่อกันด้วยพันธะชนิด α-1,2 หรือ α-1,4 ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่สังเคราะห์เด็กซแตรน (Galvesz-Mariscal and Lopez-Munguia, 1991)

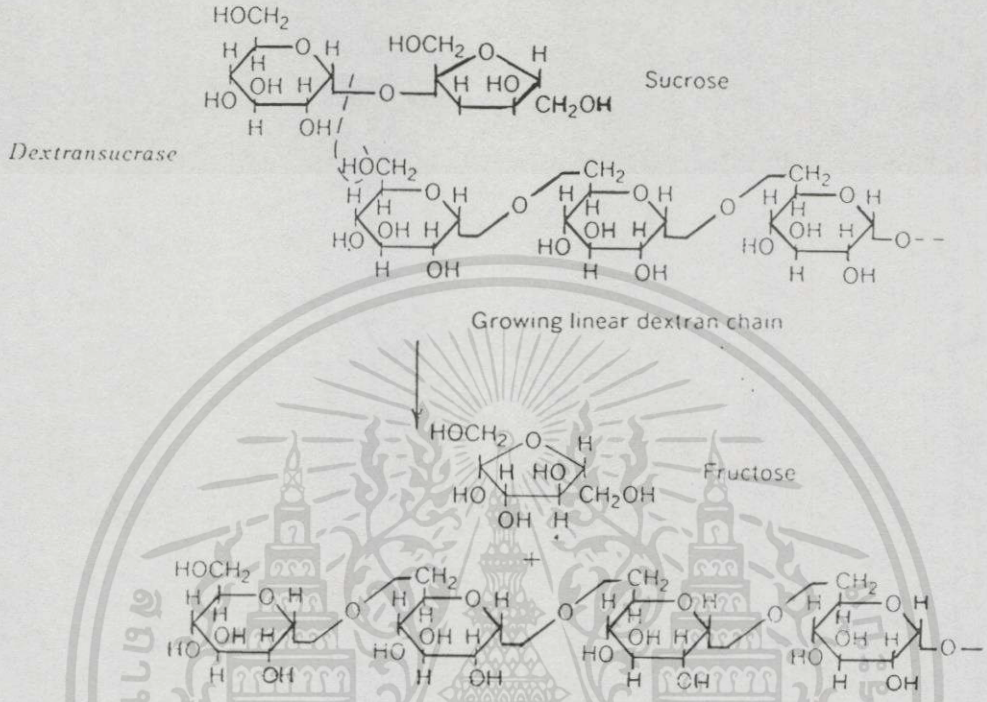
2.1.2 การสังเคราะห์เด็กซแตรน

2.1.2.1 การสังเคราะห์เด็กซแตรนโดยเอนไซม์เด็กซแตรนซูเครส

เด็กซแตรนส่วนใหญ่ถูกสังเคราะห์จากเอนไซม์เด็กซแตรนซูเครส ซึ่งมีชื่อเรียกตามระบบการเรียกชื่อของเอนไซม์ว่า α-1,6-glucan D-fructose-2-glucosyltransferase (Dsase) ; EC. 2.4.1.5 เอนไซม์ชนิดนี้ถูกผลิตขึ้นจากแบคทีเรียในสกุลของ *Lactobacillus* *Leuconostoc* และ *Streptococcus* โดยเฉพาะ *Leuconostoc mesenteroides* *Leuconostoc dextranicum* และ *Streptococcus bovis* (Foster *et al.*, 1980) โดยทำหน้าที่ย้ายหมู่กลูโคซิล (transglucosylation) จากโมเลกุลของน้ำตาลซูโครส ซึ่งเป็นสับสเทรตในการสังเคราะห์ไปเป็นเด็กซแตรนและปลดปล่อยส่วนของฟรักโตสออกมา ดังสมการ (James and Chung, 1993)

$C_{12}H_{22}O_{11}$	$\rightarrow$	$(C_6H_{12}O_6)$	+	$(C_6H_{12}O_6)$	$\rightarrow$	$(C_6H_{18}O_5)_X$
Sucrose		Fructose		Glucose		Dextran
(MW=342)		(MW=180)		(MW=180)		(MW=15,000-2,000,000+)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงการย่อยน้ำตาลซูโครสโดยเอนไซม์เด็กซแตรนซูเครสเพื่อสังเคราะห์เด็กซแตรน
ที่มา : Jame and Chung (1993)

2.1.2.2 การสังเคราะห์เด็กซแตรนโดยเอนไซม์เด็กซตริน-เด็กซแตรนเนส

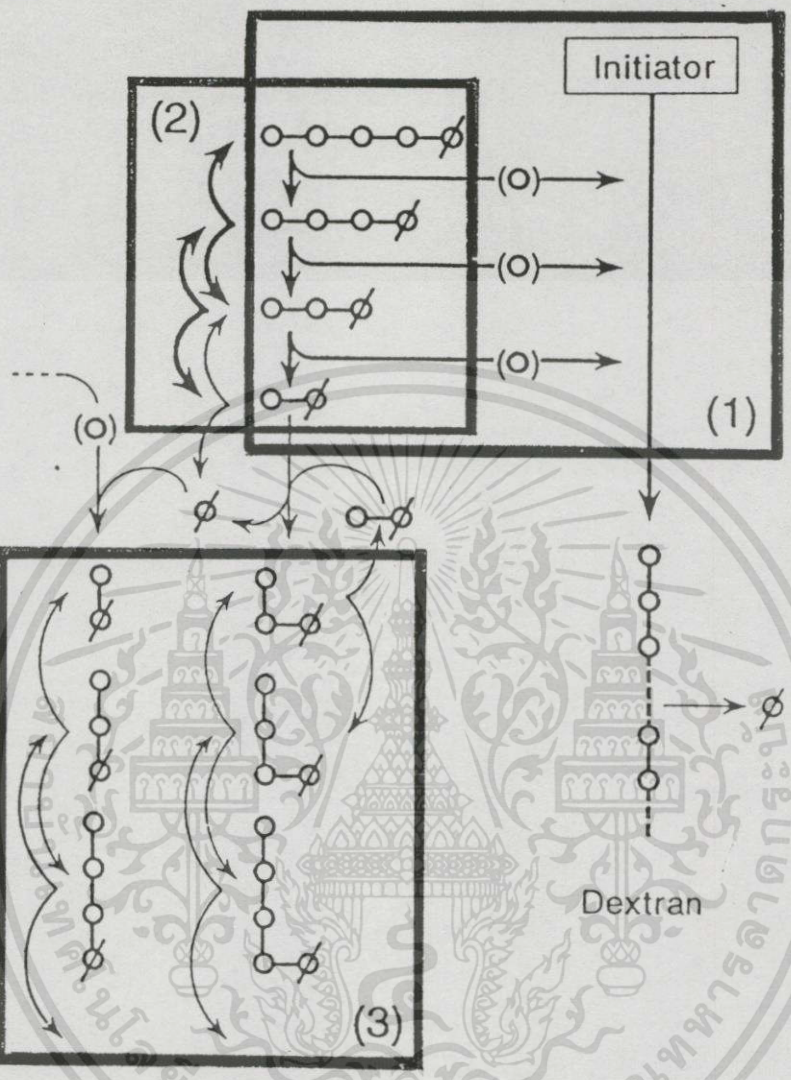
เอนไซม์เด็กซตริน-เด็กซแตรนเนส (Ddase) ; EC. 2.4.1.2 ถูกผลิตขึ้นโดยแบคทีเรียในสกุลของ *Acetobacter* ซึ่งได้แก่ *A. capsulatus* และ *A. viscous* เอนไซม์ชนิดนี้สังเคราะห์เด็กซแตรนได้โดยการย้ายหมู่กลูโคซิลจากโมเลกุลของโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งปฏิกิริยาของการย้ายหมู่กลูโคซิลแบ่งออกเป็น 3 ปฏิกิริยา ได้แก่

1) การย้ายจาก α- 1 , 4 กลูโคซิล ไปเป็น α- 1, 6

2) การย้ายจาก α- 1 , 4 กลูโคซิล ไปเป็น α- 1, 4

3) การย้ายจาก α- 1 , 6 กลูโคซิล ไปเป็น α- 1, 6 (Yamamoto *et al.*,1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 แสดงแบบจำลองของปฏิกิริยาการย้ายหมู่กลูโคซิลของเอนไซม์เด็กตริน-เด็กซแตรนเนส

ที่มา : Yamamoto *et al.* (1993)

ปฏิกิริยาที่ (1) การย้ายพันธะ α- 1 , 4 กลูโคซิล เพื่อจัดเรียงเป็นพันธะ α- 1, 6

ปฏิกิริยาที่ (2) การย้ายพันธะ α- 1 , 4 กลูโคซิล เพื่อจัดเรียงเป็นพันธะ α- 1, 4

ปฏิกิริยาที่ (3) การย้ายพันธะ α- 1 , 6 กลูโคซิล เพื่อจัดเรียงเป็นพันธะ α- 1, 6

สัญลักษณ์ O แทน สายของกลูโคส (O) แทน สายของกลูโคสที่ถูกย้าย

∅ แทน พันธะกลูโคซิดิกทางปลายสายที่ไม่มีหมู่รีดิวซ์ (กลูโคส)

— แทน พันธะ α- 1 , 4 กลูโคซิล | แทน พันธะ α- 1 , 6 กลูโคซิล

(→) แทน ปฏิกิริยาเกิดขึ้นเร็ว (→) แทน ปฏิกิริยาเกิดขึ้นช้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.1.3 การนำเด็กซแตรนมาใช้ประโยชน์ (Aspinall, 1983)

2.1.3.1 ทางด้านการแพทย์

ในประเทศสหรัฐอเมริกา ได้นำเด็กซแตรนมาทำให้มีมวลโมเลกุลที่เล็กลงเพื่อให้เหมาะสำหรับการใช้เพิ่มปริมาตรน้ำเลือด (blood plasma extender) ใช้ผลิตสารที่ใช้ดูดซับน้ำเลือด (restore blood volume) ให้กับผู้ป่วยที่เกิดอาการช็อคเนื่องจากเสียเลือดมาก ใช้เพิ่มประสิทธิภาพการไหลเวียนของเลือดในเส้นเลือดฝอยเพื่อเป็นการป้องกันและรักษาภาวะการอุดตันในเส้นเลือด นอกจากนี้ยังนำเด็กซแตรนมาใช้ในการผลิตสารตัวอื่นๆ อีกมากมาย เช่น ผลิตเด็กซแตรน-ซัลเฟต (dextran sulfate) เพื่อใช้เป็นสารต้านทานการจับตัวเป็นก้อนของเลือด ใช้ผลิตสารละลายไอร์ออน-เด็กซแตรน (iron dextran) เพื่อบรรเทาภาวะการขาดแคลนเหล็กของผู้ป่วยโรคโลหิตจาง

2.1.3.2 ทางด้านอุตสาหกรรม

ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตเซฟลาเด็ก (Sephadex) สำหรับใช้ใน Gel Filtration Techniques ใช้เป็นสารเพิ่มความหนืดในอาหารควบคุมน้ำหนักตัว เนื่องจากในลำไส้เล็กไม่มีเอนไซม์ที่สามารถย่อยได้

2.2 เอนไซม์เด็กซแตรนเนส

2.2.1 คุณสมบัติ

เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีชื่อเรียกตามระบบการเรียกชื่อของเอนไซม์ว่า α-1,6-glucan-6-glucanohydrolase ; EC. 3.2.1.11 จัดเป็นเอนไซม์ที่ต้องการการชักนำ (inducible enzyme) จากเด็กซแตรน (Simonson and Liberta, 1975) เอนไซม์ชนิดนี้มีความจำเพาะต่อการย่อยพันธะ α-1,6 ที่เชื่อมหน่วยย่อยของเด็กซแตรน เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่พบโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 ชนิด คือ เอนโดเด็กซแตรนเนส (endodextranase) และ เอกโซเด็กแตรนเนส (exodextranase)

2.2.1.1 เอนโดเด็กซแตรนเนส

เอนโดเด็กซแตรนเนสมักพบในกลุ่มของเชื้อราและในแบคทีเรียบางสายพันธุ์ ลักษณะการย่อยพันธะของเอนโดเด็กซแตรนเนส คือ จะย่อยพันธะ α-1,6 กลูโคซิดิก ภายในโมเลกุลของเด็กซแตรนอย่างสุ่ม ซึ่งตำแหน่งที่เอนไซม์เข้าทำการย่อยในครั้งแรกมักจะเป็นตำแหน่งที่ 2 และที่ 3 ของพันธะกลูโคซิดิกทางปลายสายที่ไม่มีหมู่รีดิวซ์ (non-reducing) เมื่อเพิ่มปริมาณพันธะกลูโคซิดิกในโมเลกุลของเด็กซแตรนให้สูงขึ้น ตำแหน่งที่เอนไซม์เข้าย่อยจะเปลี่ยนมาอยู่ที่ตำแหน่งที่ 4 และ 5 ของพันธะกลูโคซิดิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตผลที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนโดยเอนโดเด็กซแตรนเนส คือไอโซมอลโตส ไอโซมอลโตไตรโอส อาจพบกลูโคสได้ในปริมาณที่เล็กน้อย เนื่องจากเอนโดเด็กซแตรนเนสสามารถย่อยไอโซมอลโตไตรโอสได้อย่างช้าๆ ได้ผลิตผลเป็น กลูโคส และไอโซมอลโตส สำหรับไอโซมอลโตสนั้น ไม่พบการย่อยต่อไป เนื่องจากเอนโดเด็กซแตรนเนสไม่สามารถย่อยพันธะกลูโคซิดิกที่มีจำนวนพันธะต่ำกว่า 2 พันธะ (Sugiura and Ito, 1973)

2.2.1.2 เอกโซเด็กซแตรนเนส

เอกโซเด็กซแตรนเนสมักพบในเนื้อเยื่อของสัตว์ที่เลี้ยงลูกด้วยน้ำนม และในแบคทีเรียบางสายพันธุ์ เช่น *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* และ *Bacillius* sp. ซึ่งลักษณะการย่อยพันธะของเอกโซเด็กซแตรนเนส คือ จะย่อยพันธะ α - 1 , 6 กลูโคซิดิก ทางด้านปลายที่ไม่มีหมู่รีดิวซ์เข้ามาอย่างเป็นระเบียบ

ผลิตผลที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนโดยเอกโซเด็กซแตรนเนสมักจะเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดียว เช่น กลูโคส (Sugiura *et al.*, 1974 ; Zevenhuizen, 1968)

ความแตกต่างระหว่างเอนโดเด็กซแตรนเนสและเอกโซเด็กซแตรนเนส แสดงในตารางที่ 2.1 (Wheatley and Moo-Young, 1977)

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบการย่อยเด็กซแตรนโดยเอนโดเด็กซแตรนเนสและเอกโซเด็กซแตรนเนส

คุณสมบัติ	เอกโซเด็กซแตรนเนส	เอนโดเด็กซแตรนเนส
1. ลักษณะของการย่อยพันธะα-1,6 กลูโคซิดิกของเด็กซแตรน	ย่อยพันธะทางปลายสายเด็กซแตรนเข้ามาอย่างเป็นระเบียบ	ย่อยพันธะภายในโมเลกุลของเด็กซแตรนอย่างสุ่ม
2. ความเร็วของการย่อยพันธะ	ช้า	เร็ว
3. น้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อย	ปริมาณต่ำ	ปริมาณสูง
4. น้ำตาลโมเลกุลเดียว (กลูโคส) ที่ได้จากการย่อย	ปริมาณสูง	ปริมาณต่ำ
5. น้ำหนักโมเลกุลของผลิตผลน้ำตาลที่ได้จากการย่อย	น้ำหนักโมเลกุลต่ำ	ส่วนใหญ่จะมีน้ำหนักโมเลกุลสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 แหล่งที่พบเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

เอนไซม์เด็กซแตรนเนสสามารถพบได้ทั้งในพืชชั้นสูง เนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมบางชนิด และจุลินทรีย์ในกลุ่มต่างๆ

2.3.1 แหล่งของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในพืชชั้นสูง

Heyn (1970) ได้รายงานว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีส่วนเกี่ยวข้องกับการยืดยาวของเซลล์ในส่วนของโคลีออฟไทล์ (coleoptiles) ของ *Avena* โดยการย่อยผนังเซลล์ของโคลีออฟไทล์ซึ่งมีอัลฟา-กลูแคน (α-glucan) เป็นส่วนประกอบ ซึ่งเป็นสายของกลูโคสซึ่งเชื่อมกันด้วยพันธะ α-1,6 เอนไซม์ชนิดนี้ถูกค้นพบว่ามีความไวต่อการกระตุ้นของออกซิน ซึ่งเป็นฮอร์โมนควบคุมการเจริญของพืช โดยทำหน้าที่เป็นตัวกลางทำให้ผนังเซลล์เกิดการอ่อนตัว เพื่อให้ออกซินควบคุมการยืดยาวของโคลีออฟไทล์ได้

Anton and Heyn (1981) รายงานว่าเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่พบในโคลีออฟไทล์ของ *Avena sativa* เกี่ยวข้องกับการอ่อนตัวของผนังเซลล์ เพื่อให้เกิดการขยายขนาดของเซลล์ในส่วนของโคลีออฟไทล์ จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างฮอร์โมนออกซินและเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดยการนำโคลีออฟไทล์ที่มีปริมาณฮอร์โมนออกซินสูงซึ่งได้จากการเจริญในที่มืด และโคลีออฟไทล์ที่เจริญในสภาวะปกติมาบด และนำมาบ่มพร้อมกับเด็กซแตรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พีเอช 4.0 พบว่า ในส่วนของโคลีออฟไทล์ที่มีฮอร์โมนออกซินสูง จะพบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงเช่นเดียวกัน

2.3.2 แหล่งของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในเนื้อเยื่อของสัตว์เลี้ยงลูกด้วยน้ำนมบางชนิด

Dahlqvist (1962) ทำการศึกษาเนื้อเยื่อในบริเวณกระเพาะอาหารและลำไส้ของหนูพันธุ์ Sprague-Dawley พบว่า ในส่วนของกระเพาะอาหาร และลำไส้ใหญ่ในส่วนของซีกัมและโคลอนจะพบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสอยู่ต่ำ แต่ในส่วนของลำไส้เล็กจะพบกิจกรรมของเอนไซม์อยู่สูง ซึ่งพบในส่วนของเยื่อบุลำไส้เล็กเท่านั้น โดยจะละลายปะปนอยู่กับเอนไซม์ทริปซินในลำไส้เล็ก ความสำคัญของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลำไส้เล็กอาจจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการย่อยเด็กซแตรนก่อนการดูดซึมเข้าสู่น้ำเลือด

2.3.3 เอนไซม์เด็กซแตรนเนสในจุลินทรีย์

2.3.3.1 กลุ่มของเชื้อรา

เอนไซม์เด็กซแตรนเนสพบมากที่สุดในกลุ่มของเชื้อรา มักพบในสกุลของ *Penicillium* *Aspergillus* *Chaetomium* *Paecilomyces* และ *Fusarium* (Sun *et al.*, 1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hiraoka *et al.* (1972) รายงานว่า *Aspergillus carneus* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้ 2 ชนิด คือ เด็กซแตรนเนส-I ซึ่งมีค่าพีไอ (pI) 4.12 และเด็กซแตรนเนส-II ซึ่งมีค่าพีไอ (pI) 4.35 เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิด มีค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 5.0-5.5 และคงตัวต่อพีเอชในช่วง 4.5-9.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง กิจกรรมของเอนไซม์ถูกยับยั้งโดย คอปเปอร์(II)อิออน (Cu^{2+}) เมอร์คิวรี(II)อิออน (Hg^{2+}) เฟอร์รัส(II)อิออน (Fe^{2+}) และซิลเวอร์(I)อิออน (Ag^{+})

Kosaric *et al.* (1973) ศึกษาสายพันธุ์ของ *Penicillium* จำนวน 28 สายพันธุ์ ที่สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส พบว่า *Penicillium funiculosum* ให้ผลผลิตของเอนไซม์สูงที่สุด คือ 2,000 หน่วยต่อมิลลิลิตร โดยกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุดภายหลังจากที่ปริมาณเซลล์ลดลง เอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ 5.0-5.5 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

Minakova and Preobrazhenskaya (1980) รายงานสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium purpurogenum* ประกอบด้วย เด็กซแตรน 2 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) 0.23 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.05 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.025 เปอร์เซ็นต์ เฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.01 เปอร์เซ็นต์ ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.0044 เปอร์เซ็นต์ แมงกานีสซัลเฟตเตตระไฮเดรต ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) 0.004 เปอร์เซ็นต์ และ คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 0.005 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอชเริ่มต้น 6.0 เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้นมีพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ที่ 5.5 และคงตัวต่อพีเอชในช่วง 4.5-7.5

Hattori *et al.* (1981) รายงานว่า *Chaetomium gracile* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสชนิดเอนโดเด็กซแตรนเนส ได้ 2 ชนิด คือ ซีดี-I (CD-I) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 77,000 ดาลตัน และซีดี-II (CD-II) ซึ่งมีน้ำหนักโมเลกุล 71,000 ดาลตัน เอนไซม์เด็กซแตรนเนสทั้ง 2 ชนิด มีสมบัติทางเอนไซม์คล้ายคลึงกัน คือ มีพีเอชที่เหมาะสมอยู่ที่ 5.5 มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 5.5-11.0 และคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 55 องศาเซลเซียส

Madhu and Prabhu (1983) รายงานว่า *Penicillium aculeatum* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูง ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 2 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) และยีสต์สกัด ชนิดละ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ที่พีเอช 6.3-6.5 เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้นมีค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ 5.0 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ จากการย่อยเด็กซแตรนโดยเอนไซม์เด็กซแตรนเนส พบว่า 90 เปอร์เซ็นต์ของเด็กซแตรนถูกเปลี่ยนเป็นไอโซมอลโตไตรโอส ในเวลา 4 ชั่วโมง

Koenig and Day (1988) รายงานสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Lipomyces starkeyi* ประกอบด้วย อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีส่วนผสมของ เด็กซแตรน 10 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 2.5 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 5 กรัมต่อลิตร แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) และโซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ชนิดละ 0.1 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเริ่มต้นในช่วง 2.5-4.0 อุณหภูมิของการเพาะเลี้ยงในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส ซึ่งให้กิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 1,031-1,417 หน่วยสากลต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง (IU/g dry weight cells)

Masry (1991) รายงานว่า *Fusarium moniliforme* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูง คือ 66.45 หน่วยต่อมิลลิลิตรในวันที่ 8 ของการเพาะเลี้ยง ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซแตรน 20 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) 0.159 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเริ่มต้น 5.5 ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้นมีพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ คือ 5.0 และ 55 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

Galvez-Mariscal and Lopez-Munguia (1991) ได้ทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจากดินและอากาศ จากเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกได้ 23 สายพันธุ์ มีอยู่ 2 สายพันธุ์ที่ให้กิจกรรมสูงที่สุดคือ *Penicillium purpurogenum* และ *Paecilomyces lilacinus* หลังจากนั้นนำเอนไซม์ที่ได้ของทั้ง 2 สายพันธุ์ มาทดสอบกับตัวอย่างน้ำอ้อยซึ่งมีการปนเปื้อนของสารละลายเด็กซแตรนจากโรงงานในแมกซิกัน พบว่าเมื่อเติมเอนไซม์ในปริมาณเพียงเล็กน้อยที่อุณหภูมิ 55-60 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 10-20 นาที สามารถลดความหนืดของน้ำอ้อยได้

Petronijevic *et al.* (1993) รายงานว่า *Aspergillus ustus* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูง ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 10 กรัมต่อลิตร โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) 4 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.5 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.75 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 7-8

Jensen and Olsen (1996) รายงานว่า *Thermomyces lanuginosus* สามารถใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและชักนำเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ซึ่งการผลิตเอนไซม์จะสูงที่สุดในชั่วโมงที่ 22 ของการเพาะเลี้ยง และกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลงเมื่อการเจริญเข้าสู่ระยะที่มีการเจริญสูงสุด (stationary phase) ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากเอนไซม์โปรติเอสที่เกิดขึ้นไปมีผลต่อเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

Pleszczynska *et al.* (1997) ได้รายงานการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium notatum* พบว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตได้มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากับ 110 กิโลดาลตัน จากการย่อยเด็กซแตรนโดยเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นเป็นชนิดเอนโดเด็กซแตรนเนส เนื่องจากผลิตผลสุดท้ายของการย่อยคือ ไอโซมอลโตส (isomaltose) และไอโซมอลโตไตรโอส (isomaltotriose)

Arnold *et al.* (1998) ศึกษาเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตจาก *Sporothrix schenckii* IP-29 ซึ่งเจริญในอาหารที่ใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอน เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตได้มีน้ำหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โมเลกุล 79 กิโลดาลตัน มีพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ 5.0 และคงตัวต่อพีเอชในช่วง 4.5-10.5 ผลิตผลที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนที่มีน้ำหนักโมเลกุล 170 กิโลดาลตัน ประกอบด้วย กลูโคส 38 เปอร์เซ็นต์ ไอโซมอลโตส 38 เปอร์เซ็นต์ และโอลิโกแซคคาไรด์ที่เป็นสาขาของเด็กซแตรน 24 เปอร์เซ็นต์

2.3.3.2 กลุ่มของแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่มีรายงานการผลิตเอนไซม์ได้แก่ *Arthrobacter globiformis* (Sawai *et al.*, 1976) และบางสายพันธุ์ของ *Flavobacterium Pseudomonas Actinomyces Lactobacillus Streptococcus* และ *Bacteroides* (Wynter *et al.*, 1997)

Bailey and Clarke (1959) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Lactobacillus bifidus* ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 15 กรัมต่อลิตร แบคโต-ทริปโตน (bacto-trytone) 1 กรัมต่อลิตร และยีสต์สกัด 0.3 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเริ่มต้น 7.2 กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสถูกตรวจพบภายหลังจากเลี้ยงไป 48 ชั่วโมง ผลของการใช้กลูโคสที่ความเข้มข้น 10 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรนพบว่า ไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเกิดขึ้น

Zevenhuizen (1968) ศึกษาเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Bacillus megatherium* ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 1 เปอร์เซ็นต์ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 0.5 เปอร์เซ็นต์ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 0.1 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมคลอไรด์ (MgCl) 0.02 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) 0.25 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษาลักษณะการย่อยของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้น พบว่า เป็นชนิดเอกโซเด็กซแตรนเนส เนื่องจากเอนไซม์เข้าย่อยพันธะ α-1,6 กลูโคซิดิก ทางด้านปลายสายของเด็กซแตรนที่ไม่มีหมู่รีดิวซ์อย่างเป็นระเบียบ ซึ่งผลิตผลหลักที่ได้จากการย่อย คือ กลูโคส

Sugiura *et al.* (1974) ศึกษาเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* พบว่า เอนไซม์มีค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ที่ 7.0-7.5 และคงตัวต่อพีเอชในช่วง 5.0-11.0 ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสถูกกระตุ้นโดยซีสเตอีน และอีดีทีเอ (EDTA) แต่ถูกยับยั้งโดย ไอโอดีน เมอร์คิวรีคลอไรด์ ($HgCl_2$) เอ็น-โบรโมซัคซินิไมด์ (N-bromosuccinimide) และคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4$)

Staat and Schachtele (1975) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Actinomyces israelii* ที่แยกได้จากคราบฟันของคน จากการศึกษา พบว่า แบคทีเรียชนิดนี้สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสชนิดคอนสติติวตีฟเอนไซม์ (constitutive enzyme) โดยสามารถเจริญและผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้เมื่อเจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กลูโคสความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน แต่เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้นจากการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสต่ำกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นตัวชักนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Kobayashi *et al.* (1983) ศึกษาเอนไซม์เด็กซแตรนเนส-II จาก *Flavobacterium* sp. M-73 ซึ่งทำให้บริสุทธิ์ด้วย 5 ขั้นตอน พบว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีน้ำหนักโมเลกุล 114,000 ดาลตัน มีค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ คือ 7 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 6.5-12.0 ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และคงตัวต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่า 35 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที เอนไซม์เด็กซแตรนเนส-II มีความจำเพาะต่อพันธะ α-1,6 กลูโคซิดิก สามารถย่อยคลินิกเด็กซแตรน (clinical dextran) และเซฟลาเด็กเจล (sephadex gel) ได้ จากการวิเคราะห์ผลิตผลที่ได้จากการย่อยคลินิกเด็กซแตรน พบว่ามีกลูโคส 31 เปอร์เซ็นต์ และไอโซมอลโตส 63 เปอร์เซ็นต์

Muriyatmo *et al.* (1997) รายงานว่า *Streptococcus* sp. B1 สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้ในปริมาณสูง เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่ใช้เด็กซแตรน 1.0 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 2 วัน กิจกรรมจำเพาะ (specific activity) ของเอนไซม์ก่อนการตกตะกอน คือ 1,532 หน่วยของเด็กซแตรนต่อมิลลิกรัมของโปรตีน (DU/mg protein) และกิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ภายหลังการตกตะกอนด้วยเอทธานอลเย็น และทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ single step preparative PAGE คือ 18,407 หน่วยของเด็กซแตรนต่อมิลลิกรัมของโปรตีน โดยเอนไซม์จะมีกิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 5.5 และอุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส การเติมซูโครส กลูโคส และฟรักโตสลงในอาหารจะช่วยเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์

Wynter *et al.* (1997) ศึกษาเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Thermoanaerobacter* sp. พบว่าเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นมีน้ำหนักโมเลกุล 140 กิโลดาลตัน มีค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ที่ 5.5 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้นนั้นไม่มีการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง โดยเอนไซม์มีความคงตัวต่ออุณหภูมิสูงกว่าเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Chaetomium gracile* แต่เมื่อเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นในสภาวะเดียวกัน พบว่า *Chaetomium gracile* ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 2,750 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ในขณะที่ *Thermoanaerobacter* sp. มีกิจกรรมของเอนไซม์ 10 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

2.4.1 แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์และสร้างพลังงาน ซึ่งปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเลือกใช้แหล่งคาร์บอน คือ ผลผลิตที่ต้องการ ในการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ต้องการการชักนำ พบว่า เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีอิทธิพลต่อการชักนำเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เด็กซแตรนเนส อย่างไรก็ดี ความเข้มข้นของเด็กซแตรนและน้ำหนักโมเลกุลของเด็กซแตรนก็มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของจุลินทรีย์

Yamaguchi and Gocho (1973) ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* พบว่า เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ในขณะที่แป้งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 7 เปอร์เซ็นต์ กลูโคสให้กิจกรรมของเอนไซม์ 5 เปอร์เซ็นต์ ซูโครสให้กิจกรรมของเอนไซม์ 4 เปอร์เซ็นต์ มอลโตสให้กิจกรรมของเอนไซม์ 5 เปอร์เซ็นต์และฟรักโตสให้กิจกรรมของเอนไซม์ 2.5 เปอร์เซ็นต์

Madhu and Prabhu (1983) ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส จากการศึกษาพบว่า การผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium aculeatum* ต้องการการชักนำ ซึ่งเด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงแหล่งเดียวที่สามารถกระตุ้นการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้ เมื่อเพิ่มความเข้มข้นและน้ำหนักโมเลกุลของเด็กซแตรน พบว่า มีผลทำให้การผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงขึ้น

Masry (1991) ทำการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Fusarium moniliforme* พบว่า เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียวที่กระตุ้นการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส เมื่อใช้กลูโคส ไซโลส ซูโครส มอลโตส ไอโซมอลโตส และไอโซมอลโตไตรโอส เป็นแหล่งคาร์บอน จะไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเกิดขึ้น

Galvez-Mariscal and Lopez-Munguia (1991) ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่มีผลชักนำการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Paecilomyces lilacinus* โดยใช้เด็กซแตรนร่วมกับผลิตผลที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรน (ไอโซมอลโตส) ที่เปอร์เซ็นต์ความเข้มข้นต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอนในการศึกษา พบว่า การใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว สามารถชักนำให้ผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้ดีที่สุด ซึ่งการใช้เด็กซแตรนร่วมกับไอโซมอลโตส ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงตามความเข้มข้นของไอโซมอลโตสที่มากขึ้น

Jensen and Olsen (1996) ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Thermomyces lanuginosus* พบว่า เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุด จากการเพิ่มน้ำหนักโมเลกุลของเด็กซแตรน ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงขึ้น โดยเด็กซแตรนที-2000 ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 44 หน่วยต่อมิลลิลิตร เด็กซแตรน ที-10 ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 36 หน่วยต่อมิลลิลิตร แป้งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 37 หน่วยต่อมิลลิลิตร มอลโตสให้กิจกรรมของเอนไซม์ 11 หน่วยต่อมิลลิลิตร ซูโครสให้กิจกรรมของเอนไซม์ 5 หน่วยต่อมิลลิลิตร น้ำมันมะกอก (olive oil) ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 6 หน่วยต่อมิลลิลิตร และกลูโคสให้กิจกรรมของเอนไซม์ 3 หน่วยต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2 แหล่งไนโตรเจน

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความสามารถในการใช้แหล่งไนโตรเจนได้ต่างกัน จุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญและให้ผลผลิตสูงในอาหารที่ใช้ไนโตรเจนจากสารอินทรีย์ แต่บางชนิดสามารถใช้ไนโตรเจนจากสารอนินทรีย์ได้ดีกว่า ดังนั้นการเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนจึงขึ้นอยู่กับความสามารถของจุลินทรีย์ในการใช้สารประกอบไนโตรเจน

Tsuchiya *et al.* (1952) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญ และการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของเชื้อราในสกุลของ *Penicillium* จากการศึกษาแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ที่ระดับความเข้มข้นเดียวกัน พบว่า น้ำแช่ข้าวโพด และยีสต์สกัด เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงกว่าการใช้ มอลต์สกัด (malt extract) และตับสกัด (liver extract) ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์

Fukumoto *et al.* (1971) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium luteum* จากแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ ได้แก่ เปปโตน น้ำแช่ข้าวโพด และยีสต์สกัด ส่วนแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอนินทรีย์ ได้แก่ โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และแอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) พบว่า การใช้โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

Yamaguchi and Gocho (1973) ทำการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์และสารอนินทรีย์ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* จากการศึกษาพบว่า พอลิเปปโตนที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด คือ 70 หน่วยต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือ การใช้พอลิเปปโตนที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับยีสต์สกัดที่ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 55 หน่วยต่อมิลลิลิตร การใช้เนื้อสกัด (meat extract) ที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 44.6 หน่วยต่อมิลลิลิตร การใช้น้ำแช่ข้าวโพดที่ความเข้มข้น 2 เปอร์เซ็นต์ ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 19 เปอร์เซ็นต์ และการใช้โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 15 หน่วยต่อมิลลิลิตร

Minakova and Preobrazhenskaya (1980) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium purpurogenum* โดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน 3 แหล่ง ได้แก่ โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) และแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) ที่ความเข้มข้น 0.23 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ในอาหารที่มีโซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด คือ 300 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในขณะที่แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 42 หน่วยต่อมิลลิลิตร และแอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 83 หน่วยต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Madhu and Prabhu (1983) ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium aculeatum* โดยแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ศึกษาได้แก่ โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) เปปโตน และน้ำแช่ข้าวโพด พบว่า โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุด

Masry (1991) ทำการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Fusarium moniliforme* จากการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl) แอมโมเนียมไนเตรท (NH_4NO_3) พอลิเปปโตน และน้ำแช่ข้าวโพด พบว่า การใช้แอมโมเนียมไนเตรท เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ความเข้มข้น 0.159 กรัมต่อลิตร เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตเอนไซม์

2.4.3 แหล่งฟอสเฟตและแร่ธาตุชนิดอื่นๆ

จุลินทรีย์ต้องการแร่ธาตุเพื่อใช้เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวเคมี เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ และเป็นองค์ประกอบบางอย่างของเซลล์ ซึ่งแร่ธาตุหลักที่สำคัญที่ต้องเติมในอาหารเลี้ยงเชื้อ ได้แก่ แมกนีเซียม (Mg) ฟอสเฟต (P) โพแทสเซียม (K) ซัลเฟอร์ (S) แคลเซียม (Ca) และคลอไรด์ (Cl) ส่วนแร่ธาตุรองที่จุลินทรีย์ต้องการในปริมาณที่เล็กน้อย ได้แก่ โคบอลต์ (Co) คอปเปอร์ (Cu) เหล็ก (Fe) แมงกานีส (Mn) และซิงค์ (Zn) (Stanbury *et al.*, 1995)

Yamaguchi and Gochi (1973) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยเด็กซแตรน 1 เปอร์เซ็นต์ พอลิเปปโตน 1 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.1 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.1 เปอร์เซ็นต์ ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 0.1 เปอร์เซ็นต์ ยีสต์สกัด 5 เปอร์เซ็นต์ ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 170 หน่วยต่อมิลลิลิตร พบว่าเมื่อเสริมแหล่งคาร์บอนและแร่ธาตุ ซึ่งได้แก่ เอทธานอล 2 เปอร์เซ็นต์ แมงกานีสซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ($MnSO_4 \cdot 6H_2O$) 0.005 เปอร์เซ็นต์ และแคลเซียมคลอไรด์ 0.002 เปอร์เซ็นต์ ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเพิ่มขึ้นเป็น 220 หน่วยต่อมิลลิลิตร

Minakova and Preobrazhenskaya (1980) เปรียบเทียบผลของการเสริมแร่ธาตุบางชนิดลงในสูตรอาหารที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium purpurogenum* พบว่า ในสูตรอาหารที่เสริมแร่ธาตุจำพวกเฟอร์รัสซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot 7H_2O$) ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($ZnSO_4 \cdot 7H_2O$) แมงกานีสซัลเฟตเตตระไฮเดรต ($MnSO_4 \cdot 4H_2O$) และคอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 420 หน่วยต่อมิลลิลิตร ส่วนสูตรอาหารที่ไม่เสริมแร่ธาตุ ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 300 หน่วยต่อมิลลิลิตร

Galvez-Mariscal and Lopez-Munguia (1991) ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Paecilomyces lilacinus* จากสูตรอาหาร 16 สูตร ที่มีการผันแปรความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นของเด็กซแตรน ยีสต์สกัด แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$) และแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) พบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมประกอบด้วย เด็กซแตรน 16 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 9.12 กรัมต่อลิตร แมกนีเซียมคลอไรด์ 0.25 กรัมต่อลิตร และแคลเซียมคลอไรด์ 0.4 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 5.8 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ซึ่งพบว่าให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด คือ 42 หน่วยของเด็กซแตรนต่อมิลลิลิตร (UD/ml.)

Petronijevic *et al.* (1993) รายงานว่า สูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Aspergillus ustus* ประกอบด้วย เด็กซแตรน 10 กรัม โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) 4 กรัมต่อลิตร โดยเสริมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.5 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot H_2O$) 0.75 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 520 หน่วยต่อมิลลิลิตร

2.4.4 พีเอชเริ่มต้นและอุณหภูมิ

จุลินทรีย์แต่ละชนิดสามารถเจริญและสร้างผลผลิตได้ที่พีเอชและอุณหภูมิแตกต่างกัน โดยทั่วไปเชื้อราสามารถเจริญได้ดีในช่วงพีเอชระหว่าง 3-6 และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส (Alexopoulos and Mins, 1992)

Tsuchiya *et al.* (1952) ศึกษาส่วนประกอบของอาหารและสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส พบว่า *Penicillium lilacinum* NRRL 896 สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูงในอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 2 เปอร์เซ็นต์ น้ำแช่ข้าวโพด 3 เปอร์เซ็นต์ และเกลือแร่ที่เหมาะสม ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์ 280 หน่วยของเด็กซแตรนต่อมิลลิลิตร สำหรับ *Penicillium funiculosum* NRRL 1768 สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูงในอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 1 เปอร์เซ็นต์ น้ำแช่ข้าวโพด 1 เปอร์เซ็นต์ และเกลือแร่ที่เหมาะสมที่พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 5.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์ 245 หน่วยของเด็กซแตรนต่อมิลลิลิตร

Fukumoto *et al.* (1971) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium luteum* ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 2 เปอร์เซ็นต์ โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$) 0.3 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 0.2 เปอร์เซ็นต์ และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 0.05 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมื่อปรับสูตรอาหารดังกล่าวให้มีค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 และเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด

Koenig and Day (1988) รายงานว่าปัจจัยที่สำคัญสำหรับการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Lipomyces starkeyi* คือ พีเอชเริ่มต้นและอุณหภูมิของการเพาะเลี้ยง จากการปรับพีเอชของอาหารให้อยู่ในช่วง 3.0-5.0 พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์อยู่ระหว่าง 1,031-1,417 หน่วยสากลต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง เมื่อปรับพีเอชของอาหารเป็น 2.5 พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์ 218 หน่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สากลต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และที่พีเอชของอาหารเท่ากับ 6.0 พบว่าไม่มีกิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้น ส่วนพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. starkeyi* อยู่ระหว่าง 25-30 องศาเซลเซียส การเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิสูงกว่า 33 องศาเซลเซียส จะไม่พบการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเลย

Wynter *et al.* (1995) ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของจุลินทรีย์บางชนิด ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วย เด็กซแตรน 20 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 2 กรัมต่อลิตร แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) 1 กรัมต่อลิตร และสารละลายเกลือฮัทเนอร์ (Hutner 's salt solution) ที่พีเอช 6.5-7.0 พบว่า *Chaetomium gracile* *Chaetomium theromophilum* var. *coprophilum* ATCC 28076 *Pseudomonase mixta* ACM 733 และ *Cellvibrio mixtus* ACM 1666 สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ส่วน *Chaetomium luteum* ATCC 34113 และ *Chaetomium virescens* ATCC 32319 สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

2.5.1 พีเอช

พีเอชมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ เนื่องจากทำให้เกิดการแตกอิออน (inonization) ของโปรโตโทรปิคกรุป (prototropic group) ที่อยู่ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ มีผลทำให้เกิดการเปลี่ยนโครงรูปสามมิติ ซึ่งจะนำไปสู่การเบี่ยงเบนในด้านการจับกับสับสเทรต นอกจากนี้พีเอชยังมีผลต่อการเกิดสารประกอบเชิงซ้อนของเอนไซม์-สับสเทรต (ES complex) และการแตกอิออนของสับสเทรตและโคแฟคเตอร์ นำไปสู่การจับกับเอนไซม์ที่เปลี่ยนไป ทางด้านความคงตัวของเอนไซม์พบว่า กรดแก่ หรือด่างแก่ มีผลทำให้โครงสร้างของโปรตีนในระดับปฐมภูมิ ทุติยภูมิ และตติยภูมิเปลี่ยนไป ซึ่งมีผลทำให้โครงสร้างของโปรตีนเสียสภาพ (Chaplin and Bucke, 1992) โดยทั่วไปเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมอยู่ระหว่าง 5.0-6.5 และคงตัวต่อพีเอชในช่วง 3.0-12.0 ซึ่งผลของพีเอชที่มีต่อกิจกรรมและความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในตารางที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
2895C

ตารางที่ 2.2 แสดงผลของพีเอชที่มีต่อกิจกรรมและความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากจุลินทรีย์

จุลินทรีย์	พีเอชที่เหมาะสม	ช่วงพีเอชที่คงตัว	อ้างอิง
Actinomyces israelii	6.3	5.6-7.0	Staat and Schachtele, 1975
Aspergillus carneus	5.0-5.5	4.5-9.0	Hiraoka *et al.*, 1972
Brevibacterium fuscum var. *dextranlyticum*	7.5	5.0-11.0	Sugiura *et al.*, 1974
Chaetomium gracile	5.5	5.5-11.0	Hattori *et al.*, 1981
Flavobacterium sp. M-73	7.0	6.5-12.0	Kobayashi *et al.*, 1983
Fusarium sp.	6.5	4.5-11.8	Shimizu *et al.*, 1998
Fusarium moniliforme	5.5	5.5-7.5	Simonson *et al.*, 1975
Lipomyces starkeyi	5.0	2.5-7.0	Koenig and Day, 1989
Paecilomyces lilacinus	4.5	-	Lee and Fox, 1985
Penicillium funiculosum	6.0	5.0-7.5	Sugiura and Ito, 1973
Penicillium luteum	5.0	3.5-7.5	Fukumoto *et al.*, 1971
Penicillium purpurogenum	5.5	6.5-7.0	Minakova and Preobrazhenskaya, 1980
Penicillium roquefortii	5.0	4.0-8.0	Hattori and Ishibashi, 1981
Sporothrix schenckii IP-29	5.0	4.5-10.5	Arnold *et al.*, 1998
Streptomyces sp. J-13-3	6.0	6.0-8.0	Okazaki *et al.*, 1992

2.5.2 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ การเพิ่มอุณหภูมิมีผลทำให้อัตราเร็วของการเกิดปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น เนื่องจากโมเลกุลของสับสเทรตมีพลังงานจลน์มากขึ้น ทำให้อัตราเร็วของการชนกันระหว่างเอนไซม์กับสับสเทรตสูงขึ้น จากการที่เอนไซม์เป็นสารประกอบเชิงซ้อนของโปรตีน และกิจกรรมของการเร่งปฏิกิริยาเกิดจากโครงรูปตติยภูมิเรียงตัวกันอย่างมีระเบียบในทิศทางที่จะต้องจับกับสับสเทรตบริเวณจับและบริเวณเร่งของปฏิกิริยา การเพิ่มอุณหภูมิจนสูงเกินไปมีผลทำให้สับสเทรตมีพลังงานจลน์สูงเกินไป โครงรูปตติยภูมิของเอนไซม์ซึ่งยึดกันด้วยพันธะที่มีแรงอ่อนเกิดการเสียหาย ทำให้เอนไซม์เสียสภาพหรือสูญเสียกิจกรรมไป (Chaplin and Bucke, 1992) โดยทั่วไปเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในช่วง 35-50 องศาเซลเซียส และมีความคงตัวต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่า 55 องศาเซลเซียส ซึ่งผลของอุณหภูมิที่มีต่อกิจกรรมและความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในตารางที่ 2.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.3 แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อกิจกรรมและความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากจุลินทรีย์

จุลินทรีย์	อุณหภูมิ(องศาเซลเซียส)		อ้างอิง
	เหมาะสม	ช่วงความคงตัว	
Aspergillus carneus	60	ต่ำกว่า 50	Hiraoka *et al.*, 1972
Brevibacterium fuscum var. *dextranlyticum*	37	ต่ำกว่า 50	Sugiura *et al.*, 1974
Chaetomium gracile	65	ต่ำกว่า 55	Hattori *et al.*, 1981
Flavobacterium sp. M-73	35	ต่ำกว่า 35	Kobayashi *et al.*, 1983
Fusarium sp.	35	ต่ำกว่า 45	Shimizu *et al.*, 1998
Fusarium moniliforme	55	ต่ำกว่า 55	Simonson *et al.*, 1975
Lipomyces starkeyi	55	ต่ำกว่า 40	Koenig and Day, 1989
Paecilomyces lilacinus	55	ต่ำกว่า 70	Lee and Fox, 1985
Penicillium funiculosum	55	ต่ำกว่า 45	Sugiura and Ito, 1973
Penicillium luteum	50	ต่ำกว่า 50	Fukumoto *et al.*, 1971
Penicillium purpurogenum	-	ต่ำกว่า 40	Minakova and Preobrazhenskaya, 1980
Streptococcus mutans K1-R	35	ต่ำกว่า 40	Pulkownik and Walker, 1977
Streptomyces sp. J-13-3	50	ต่ำกว่า 50	Okazaki *et al.*, 1992

2.5.3 อิออนของโลหะและเกลืออนินทรีย์บางชนิด

อิออนของโลหะและเกลืออนินทรีย์บางชนิดมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ บางชนิดอาจไปส่งเสริมกิจกรรมของเอนไซม์ในรูปของโคแฟคเตอร์ซึ่งช่วยให้เอนไซม์จับกับสับสเทรตได้ดีขึ้น หรือช่วยให้เอนไซม์อยู่ในรูปที่เหมาะสมแก่การเร่งปฏิกิริยา แต่อิออนของโลหะหนักและเกลืออนินทรีย์บางชนิดมีผลไปยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ โดยทำให้เอนไซม์จับกับสับสเทรตได้ช้าลงหรือน้อยลง หรืออาจไปมีผลยับยั้งการเปลี่ยนแปลงของสารประกอบเชิงซ้อนเอนไซม์-สับสเทรตไปเป็นผลผลิต ซึ่งความสามารถในการส่งเสริมหรือยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับชนิดของเอนไซม์ (Chaplin and Bucke, 1992) สำหรับอิออนของโลหะและเกลืออนินทรีย์บางชนิดที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในตารางที่ 2.4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 แสดงอิออนของโลหะและเกลืออนินทรีย์บางชนิดที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากจุลินทรีย์

จุลินทรีย์	อิออนของโลหะและเกลืออนินทรีย์		อ้างอิง
	ผลส่งเสริม	ผลยับยั้ง	
Actinomyces israelii	-	Ag^{-}, Hg^{2+}	Staat and Schachtele, 1975
Aspergillus carneus	-	Ag^{-}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, Hg^{2+}	Hiraoka *et al.*, 1972
Brevibacterium fuscum var. *dextranlyticum*	cysteine, EDTA	Iodine, Cu^{2+}, Hg^{2+},NBS	Sugiura *et al.*, 1974
Chaetomium gracile	-	Cu^{2-}, Fe^{2+}, Hg^{+}	Hattori *et al.*, 1981
Flavobacterium sp. M-73	Ca^{2+}, Mn^{2+}, Mg^{2+}	Cu^{2-}, Fe^{2+}, Hg^{2+}, Zn^{+}	Kobayachi *et al* , 1983
Fusarium sp.	-	Ag^{-}, Cu^{2+}, Fe^{3+}, Hg^{2+}, NBS	Shimizu *et al.*, 1998
Penicillium aculeatum	-	Cu^{2-}, Hg^{2+}, Pb^{2+}	Madhu and Prabhu, 1983
Penicillium funiculosum	Co^{2+}, Mn^{2+}, Cu^{2+}	Iodine, Ag^{+}, Cu^{2+}	Sugiura and Ito, 1973
Sporothrix schenckii IP-29	-	Cu^{2-}, Hg^{2+}, Pb^{2+}, Zn^{2+}	Arnold *et al.*, 1998
Streptomyces sp. J-13-3	-	Hg^{-}, Hg^{2+}, *p*-CMB	Okazaki *et al.*, 1992

2.6 การนำเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาประยุกต์ใช้

2.6.1 ใช้ผลิตเด็กซแตรนที่ใช้ทางการแพทย์

ความสนใจในการนำเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาใช้ประโยชน์ เกิดขึ้นในช่วงสงครามโลกครั้งที่ 2 เมื่อเด็กซแตรนถูกนำมาใช้ เพิ่มปริมาตรน้ำเลือด (blood plasma extender) ในกรณีที่ผู้ป่วยช็อคเนื่องจากเสียเลือด ซึ่งเด็กซแตรนที่ได้จากการสังเคราะห์โดย *Leuconostoc mesenteroides* มีคุณสมบัติคล้ายกับเด็กซแตรนที่นำมาใช้เพิ่มปริมาตรน้ำเลือด แต่มีขนาดใหญ่เกินกว่าที่จะใช้เพิ่มปริมาตรน้ำเลือด ดังนั้นจึงมีการศึกษาค้นคว้าเพื่อลดขนาดของเด็กซแตรนให้ได้ขนาดที่ต้องการ โดยใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาย่อยเด็กซแตรนให้มีมวลโมเลกุลที่เหมาะสมที่จะใช้เพิ่มปริมาตรน้ำเลือด (Tsuchiya, 1952)

Kim *et al.* (1996) ได้ศึกษาการผลิตเด็กซแตรนที่ใช้ทางการแพทย์ โดยการเพาะเลี้ยง *Leuconostoc mesenteroides* NRRL B-512FMC ร่วมกับ *Lipomyces starkeyi* ATCC 74054 ในสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่มีส่วนผสมของน้ำตาลซูโครสและแป้ง โดย *L. mesenteroides* จะสร้างเอนไซม์เด็กซแตรนซูเครสออกมาเพื่อสังเคราะห์เด็กซแตรน ส่วน *L. starkeyi* จะผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาย่อยเด็กซแตรนที่เกิดขึ้นและผลิตเอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้ง โอลิโกแซคคไรด์ที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนและแป้ง จะถูกนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์เด็กซแตรนที่มีโมเลกุลเล็ก โดยเด็กซแตรนที่สังเคราะห์ขึ้นใหม่จะมีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ระหว่าง 40-75 กิโลดาลตัน ซึ่งมีขนาดเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ต่อไป

Kim *et al.* (1996) ปรับปรุงวิธีการในการผลิตเด็กซแตรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำเพื่อใช้เพิ่มปริมาตรน้ำเลือด และใช้เพิ่มการไหลเวียนของเลือด โดยการเพาะเลี้ยง *Leuconostoc mesenteroides* (ATCC 10830) ร่วมกับ *Lipomyces starkeyi* (ATCC 74054) ที่ผ่านการกลายพันธุ์ ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์ ในการเพาะเลี้ยงแบบผสมจะใช้หัวเชื้อของ *L. mesenteroides* ความเข้มข้น 1.2 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ร่วมกับ *L. starkeyi* ความเข้มข้น 0.3 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) ที่พีเอชเริ่มต้น 5.2 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ในสูตรอาหารที่ประกอบด้วยกลูโคส 20-30 เปอร์เซ็นต์ ทำการตรวจสอบโมเลกุลของเด็กซแตรนที่เกิดขึ้นโดยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน (electron microscopy) พบว่าเด็กซแตรนที่ผลิตขึ้นมีน้ำหนักโมเลกุล 5,000-10,000 ดาลตัน หลังจากนั้นแยกเด็กซแตรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ออกจากกันโดยใช้ gel permeation chromatography

2.6.2 ลดปัญหาการสะสมของคราบฟันซึ่งเป็นสาเหตุของฟันผุ

คราบฟันเกิดจากการสะสมของเด็กซแตรนที่สังเคราะห์ขึ้นจากน้ำตาลซูโครสโดยแบคทีเรียที่อยู่ภายในช่องปาก ซึ่งการสะสมของเด็กซแตรนที่ผิวฟันนั้นเป็นสาเหตุทำให้ฟันผุ ในปี 1966 Jordan and Keyes ได้ศึกษาการก่อตัวของคราบฟันในระดับห้องปฏิบัติการ โดยใช้ฟันสังเคราะห์ จากการศึกษาพบว่า ปัจจัยหลักที่ทำให้เกิดการก่อตัวของคราบฟัน คือ น้ำตาลซูโครส ซึ่งจะถูกเปลี่ยนไปเป็นเด็กซแตรน (คราบฟันที่สะสม) โดยแบคทีเรียในช่องปาก วิธีการที่สามารถป้องกันการก่อตัวของคราบฟัน คือการใช้สารควบคุมการก่อตัวหรือใช้สารที่สามารถย่อยคราบฟันได้ ซึ่งสารชนิดหนึ่งที่สามารถย่อยคราบฟันที่อยู่บนฟันสังเคราะห์ได้ คือ เอนไซม์เด็กซแตรนเนส

Fitzgerald *et al.* (1968) ได้ทำการศึกษาผลของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสต่อการกำจัดคราบฟัน โดยนำลวดสแตนเลสไปลอยบนอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงซึ่งเติมซูโครสเพื่อให้ *Streptococcus* เจริญและสร้างตะกอนที่คล้ายกับคราบฟันบนเส้นลวด นำเส้นลวดดังกล่าวไปแช่ในสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จาก *Penicillium funiculosum* พบว่าเอนไซม์สามารถย่อยตะกอนที่คล้ายกับคราบฟันบนเส้นลวดได้

Fitzderald *et al.* (1969) ได้ทำการศึกษาผลของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่มีต่อคราบฟันของหนูแฮมเตอร์ โดยการเพาะเลี้ยง *Streptococcus* sp. E-49 ที่ฟันของหนู หลังจากนั้นให้หนูกิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารที่มีส่วนผสมของกลูโคส 56 เปอร์เซ็นต์ โดยหนูชุดทดลอง จะให้ดื่มน้ำที่มีส่วนผสมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium funiculosum* ที่ความเข้มข้น 80 หน่วยต่อมิลลิลิตร ทุกๆ วัน ส่วนหนูชุดควบคุม จะให้ดื่มน้ำธรรมดา จากการทดลองพบว่า ในหนูชุดทดลองแทบจะไม่พบคราบฟันเกิดขึ้นเลยเมื่อเปรียบเทียบกับหนูชุดควบคุม เมื่อศึกษาการเจริญของ *Streptococcus* sp. E-49 ในหนูทั้ง 2 ชุด พบว่า ไม่มีความแตกต่างกันทางด้านการเจริญ แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสไม่มีผลต่อการเจริญของแบคทีเรีย แต่มีผลต่อคราบฟันที่เกิดขึ้น

Okada *et al.* (1992) ศึกษาเอนโดเด็กซแตรนเนสที่ผลิตจาก *Arthrobacter globiformis* ในการย่อยสลายมิวแตน (mutan) ซึ่งเป็นกลูแคนที่สะสมเป็นคราบฟัน ที่สังเคราะห์จากน้ำตาลซูโครสโดย *Streptococcus mutans* จากการทดลองพบว่า หากใช้เอนโดเด็กซแตรนเนสปริมาณ 1 หน่วย ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พีเอช 6.0 หรือใช้เอนโดเด็กซแตรนเนสปริมาณ 0.3 หน่วย ร่วมกับเอนไซม์อัลฟา-อะไมเลส จาก *Bacillus licheniformis* ปริมาณ 0.7 หน่วย สามารถขจัดคราบฟันหรือใช้ป้องกันการก่อตัวของคราบฟัน ดังนั้นจึงแนะนำให้ใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนสเป็นส่วนผสมของยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก สารทำความสะอาดฟันปลอม ยาอม หมากฝรั่งและลูกกวาดทำความสะอาดปาก

2.6.3 แก้ปัญหาการผลิตน้ำตาลในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำตาล

การปนเปื้อนของจุลินทรีย์ในขณะที่เก็บเกี่ยวอ้อยจะมีผลกระทบต่อคุณภาพของน้ำอ้อยที่ได้ โดยเฉพาะจุลินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์เด็กซแตรนจะทำให้น้ำอ้อยมีความหนืดและเป็นการชักนำให้จุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ ปนเปื้อนมากขึ้น น้ำอ้อยเหล่านี้เมื่อเข้าสู่โรงงานจะทำให้เกิดความยุ่งยากในกระบวนการผลิตน้ำตาล เนื่องจากเด็กซแตรนที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำอ้อยมีลักษณะเป็นเมือกเหนียว จะไปเคลือบตามท่อขนส่งน้ำตาลหรือเครื่องมือที่เกี่ยวข้องกับการผลิต ส่งผลให้ประสิทธิภาพในการผลิตต่ำลง นอกจากนี้เด็กซแตรนยังไปขัดขวางการเกิดผลึกและความใสของผลึกน้ำตาล ทำให้น้ำตาลที่ได้จากกระบวนการผลิตมีคุณภาพต่ำ (Clarke, 1997)

Kapseu *et al.* (1993) รายงานว่าการปนเปื้อนของเด็กซแตรน เป็นสาเหตุหนึ่งที่ทำให้เกิดการสูญเสียผลผลิตในกระบวนการผลิตน้ำตาล โดยการปนเปื้อนของเด็กซแตรนจะเพิ่มสูงขึ้นในขั้นตอนการพรีไลม์มิ่ง (preliming) ของการผลิตน้ำตาล ซึ่งวิธีการที่นิยมมากในการกำจัดเด็กซแตรนคือการใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนส แต่วิธีการที่ดีที่สุดในการป้องกันการปนเปื้อนของเด็กซแตรน คือการรักษาความสะอาดในขั้นตอนต่างๆ ของการผลิตน้ำตาล และควรมีสุขาภิบาลของโรงงานที่ดี

Sumarno (1994) รายงานการใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนสของโรงงาน Cepiring suger ในประเทศอินโดนีเซีย พบว่า การเติมเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่มีกิจกรรมจำเพาะ (specific activity) 48 หน่วยของเด็กซแตรนต่อกรัม ในปริมาณ 6 กรัมต่อตัน ลงในน้ำผลไม้ที่เป็นวัตถุดิบ อุณหภูมิ 50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที สามารถลดปริมาณของเด็กซแตรนได้ 34-68 เปอร์เซ็นต์ และทำให้ความหนืดลดลง 9-27 เปอร์เซ็นต์

Kubik *et al.* (1994) ได้ทำการศึกษาผลของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสต่อการลดความหนืดของน้ำผลไม้ที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำตาล โดยเติมเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จาก *Penicillium funiculosum* ลงในน้ำผลไม้ที่มีการปนเปื้อนของเด็กซแตรนในระดับความเข้มข้น 5,000 พีพีเอ็ม (p.p.m.) โดยเติมเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 10 หน่วย ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส สามารถทำให้ความหนืดของน้ำผลไม้ลดลงจาก 4.3 เซนติพอยท์ (cP) เหลือเพียง 2.0 เซนติพอยท์ ภายในเวลา 30 นาที

Sumarno (1997) รายงานการใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนสในการย่อยเด็กซแตรน เพื่อแก้ปัญหาความยุ่งยากในกระบวนการผลิตน้ำตาล โดยใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนส NOVO DN 30 KL 1006 ที่ความเข้มข้น 5 กรัมต่อตัน หรือ 150 หน่วยของเด็กซแตรนต่อลิตร (DU/l) ที่พีเอช 5.3-5.4 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถย่อยเด็กซแตรนที่ปนเปื้อนอยู่ได้ 99.8 เปอร์เซ็นต์ ภายในเวลา 20 นาที

Clarke *et al.* (1997) ทดลองใช้เอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Chaetomium gracile* ในโรงงานผลิตน้ำตาล 2 แห่งที่หลุยซ์เซียนา ซึ่งมีรายงานการปนเปื้อนเด็กซแตรนในปริมาณสูง โดยโรงงานแห่งแรกจะเติมเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในน้ำผลไม้ก่อนการเติมไลม์ (lime) ที่ความเข้มข้น 6 กรัมต่อลิตร ส่วนโรงงานที่ 2 จะเติมเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในช่วงการตกผลึกน้ำตาล ที่ความเข้มข้น 6 กรัมต่อลิตร ทำการตรวจสอบโดยวิธีเฮซ (haze test) พบว่า โรงงานแห่งแรกมีการสูญเสียน้ำตาลลดลงจาก 2000 mau (milliabsorbance units) ไปเป็น 300-400 mau และในโรงงานที่ 2 มีการสูญเสียน้ำตาลลดลงจาก 1500 mau ไปเป็น 400 mau

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 สารเคมี

	บริษัทผู้ผลิต
-เด็กซแตรน (น้ำหนักโมเลกุล 5,000,000-40,000,000 ดาลตัน)	SIGMA
-เด็กซแตรน (น้ำหนักโมเลกุล188,000 ดาลตัน)	SIGMA
-ยีสต์สกัด (yeast extract)	DIFCO
-เปปโตน	DIFCO
-น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liqour)	MERCK
-โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$)	MERCK
-แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	MERCK
-แอมโมเนียมคลอไรด์ (NH_4Cl)	MERCK
-โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	BAKER
-โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	MERCK
-แมกนีเซียมซัลเฟตเฮบตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	BAKER
-โพเตโตเด็กซ์โตรสอการ์ (Potato Dextrose Agar, PDA)	DIFCO
-กลูโคส (D(+)-Glucose Anhydrous)	-
-ซูโครส	-
-มอลโตส	MERCK
-ฟรักโตส	SIGMA
-อะราบิโนส	SIGMA
-ไอโซมอลโตส (isomaltose)	SIGMA
-ไอโซมอลโตไตรโอส (isomaltotriose)	SIGMA
-คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	MERCK
-เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$)	SEELZA-HANNOVER
-ซิงค์ซัลเฟต ($ZnSO_4$)	MERCK
-เมอร์คิวรีคลอไรด์ ($HgCl_2$)	MERCK
-เลดอะซิเตต ($Pb(AcO)_2 \cdot 3H_2O$)	MERCK

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	บริษัทผู้ผลิต
-นิเกิลซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต ($NiSO_4 \cdot 6H_2O$)	MERCK
-โคบอลต์คลอไรด์ ($CoCl_2$)	MERCK
-แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)	MERCK
-โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)	MERCK
-แมกนีเซียมคลอไรด์ ($MgCl_2$)	MERCK
-แมงกานีสคลอไรด์ ($MnCl_2$)	MERCK
-ซิงค์คลอไรด์ ($ZnCl_2$)	MERCK
-ซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$)	MERCK
-โซเดียมโพแทสเซียมตาร์เตรต เตตระไฮเดรต ($COOK(CHOH)_2COONa \cdot 4H_2O$)	MERCK
-ไดโซเดียมซัลเฟตแอนไฮครัส (Na_2SO_4)	CARLO ERBA
- ไดเบสิคโซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	MERCK
- แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$)	MERCK
- ไดโซเดียมอาร์ซิเนต ($Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$)	MERCK
-โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)	MERCK
-โฟลิน (Folin-Ciocalteu)	SIGMA
-อัลบูมิน (bovine serum albumin)	MERCK
-เอทธิลอะซีเตต (ethyl-acetate)	MERCK
-ไพริดีน (pyridine)	MERCK
-โซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$)	MERCK
-เมธานอล (methanol)	SIGMA
-อะซีโตน (actone)	SIGMA
-ไกลซีน (glycine)	MERCK
-กรดไฮโดรคลอริก (HCl)	LAB SCAN
-โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	SIGMA
- กรดซิตริก ($C_4H_8O_7 \cdot H_2O$)	CARLO EBRA
- กรดซัลฟิวริก	CARLO EBRA
- ฟีนอล	MERCK
-ทวีน 80 (Tween 80)	MERCK

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.2 อุปกรณ์

	บริษัทผู้ผลิต
-เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ	SCIENTIFIC PROMOTION CO. รุ่น innova 4230
-เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง	SHIMADZU รุ่น UV-1601
-เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง	DENVER INSTRUMENT รุ่น 215
-เครื่องปั่นเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิ	HERMEL รุ่น Z 283 K
-อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	MEMMERT รุ่น D 94426
-หม้อนึ่งอัดไอ	HIRAYAMA รุ่น HV-50
-ตู้อบ	MEMMERT รุ่น 600
-ตู้เขี่ยเชื้อ	ISSCO รุ่น BVT 123
-ถังหมักขนาด 5 ลิตร และชุดควบคุม สภาวะ	B. BRAUN BIOTECH INTERNATIONAL รุ่น BIOSTRAT-B
-กล้องจุลทรรศน์	OLYMPUS OPTICAL รุ่น CHS
-เครื่องชั่ง 3 ตำแหน่ง	METTLER TOLEDO รุ่น PG 5002
-เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง	METTLER TOLEDO รุ่น AG 204
-โถดูดความชื้น	WERTHEIM รุ่น GL-32
-เครื่องผสมหลอดทดลอง	SCIENTIFIC INDUSTRIES INC. รุ่น G-560E
-ชุดกรองมิลลิพอร์	GELMAN SCIENCES
-ไมโครปิเปตต์	GILSON
- เครื่องแก้วต่างๆ	PYREX

3.1.3 เชื้อจุลินทรีย์

Penicillium pinophilum TISTR 3386 ได้รับมาจากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4-10 องศาเซลเซียสบนผิวอาหารเอียงพีดีเอ (PDA) ทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 3 เดือน

3.2 วิธีการวิจัย

3.2.1 สปอร์แขวนลอยของเชื้อรา *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

ถ่ายสปอร์ของเชื้อรา *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 ที่เจริญอยู่บนอาหารผิวเอียงพีดีเอ (PDA) มาเลี้ยงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อพีดีเอ ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นถ่ายสปอร์จากฟลาสก์ด้วยสารละลายทวีน 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มีความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทำการกรองเส้นใยออกโดยผ่านสำลีบนกรวยแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้ว นับจำนวนสปอร์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) สารละลายสปอร์แขวนลอยนี้จะใช้เป็นเชื้อเริ่มต้นในการศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าต่อไป

3.2.2 การศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่า

การศึกษาการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าจะใช้สูตรอาหารที่ดัดแปลงมาจาก Sherief *et al.* (1991) ดังแสดงในภาคผนวก ก2 สำหรับการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส เมื่อเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในแต่ละการทดลองเรียบร้อยแล้ว นำอาหารเหลวปริมาตร 60 มิลลิลิตร บรรจุลงในฟลาสก์หลุมปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี นำอาหารทั้งหมดไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อเย็นแล้ว จึงเติมสารละลายสปอร์แขวนลอยที่เตรียมจากข้อ 3.2.1 ในแต่ละฟลาสก์จะปรับให้มีจำนวนสปอร์เริ่มต้นเท่ากับ 1.6×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรของอาหาร โดยแต่ละการทดลองจะทำ 5 ซ้ำ

3.2.2.1 ศึกษาความเข้มข้นของเด็กซแตรน

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อตามสูตรที่ได้แสดงในภาคผนวก ก2 สำหรับความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ใช้เด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน ดังนี้ คือ 5.0 7.5 10.0 12.5 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำหนักแห้ง

3.2.2.2 ศึกษาแหล่งไนโตรเจน

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลผลิตของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุดจากข้อ 3.2.2.1 มาเติมแหล่งไนโตรเจนต่างๆ คือ ยีสต์สกัด เปปโตน น้ำแช่ข้าวโพด โซเดียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมคลอไรด์ ตามลำดับ โดยใช้ที่ความเข้มข้น 3.0 กรัมต่อลิตร หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำหนักแห้ง

3.2.2.3 ศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลผลิตของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุดจากข้อ 3.2.2.2 โดยเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0.75 1.00 1.50 และ 2.00 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำหนักแห้ง

3.2.2.4 ศึกษาพีเอชเริ่มต้น

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลผลิตของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุดจากข้อ 3.2.2.3 มาปรับพีเอชให้เป็น 4.0 5.0 6.0 7.0 และ 8.0 ตามลำดับ ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ และสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำหนักแห้ง

3.2.2.5 ศึกษาอุณหภูมิ

เมื่อทราบพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ผลผลิตของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุดจากข้อ 3.2.2.4 จึงทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม โดยนำอาหารสูตรดังกล่าวมาเติมสารละลายสปอร์ นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำหนักแห้ง

3.2.3 การศึกษาผลของโลหะต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามข้อ 3.2.2.4 มาเติมโลหะ คือ แคดเมียมคลอไรด์ ซิงค์ซัลเฟต เฟอร์รัสซัลเฟต เมอร์คิวรีคลอไรด์ และเลดอะซิเตต ตามลำดับ โดยใช้ที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิตามข้อ 3.2.2.5 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำหนักแห้ง

3.2.4 การศึกษาผลของน้ำตาลบางชนิดที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

3.2.4.1 การใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามข้อ 3.2.2.4 มาศึกษาผลของน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์ น้ำตาลที่ใช้ ได้แก่ กลูโคส ซูโครส มอลโตส ฟรักโตส และอะราบิโนส โดยใช้ที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตรเป็นแหล่งคาร์บอนแทนการใช้เด็กซแตรนในสูตรอาหาร หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามข้อ 3.2.2.5 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นเวลานาน 5 วัน เปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอน โดยการวัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลทั้งหมด และน้ำหนักแห้ง

3.2.4.2 การใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามข้อ 3.2.2.4 มาศึกษาผลของการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ร่วมกับเด็กซแตรน น้ำตาลที่ใช้ ได้แก่ กลูโคส ซูโครส มอลโตส ฟรักโตส และอะราบิโนส โดยใช้ที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตรร่วมกับเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 7.5 กรัมต่อลิตร หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามข้อ 3.2.2.5 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ น้ำตาลทั้งหมด และน้ำหนักแห้ง

3.2.4.3 การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับเด็กซแตรน

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามข้อ 3.2.2.4 มาศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคสต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดยใช้กลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ คือ 1.0 2.0 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตรร่วมกับเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 7.5 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากใส่สารละลายสปอร์แล้ว นำฟลาสก์ทั้งหมดไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามข้อ 3.2.2.5 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน เป็นเวลานาน 5 วัน วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลรีดิวซ์ และน้ำหนักแห้ง

3.2.5 การศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าและในระดับถังหมักแบบแบตช์ (batch culture)

ในระดับฟลาสก์ เตรียมสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามข้อ 3.2.2.4 ปริมาตร 60 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์หลุมปริมาตร 250 มิลลิลิตร หลังจากฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที จึงเติมสารละลายของสปอร์แขวนลอยให้มีความเข้มข้น 1.6×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามข้อ 3.2.2.5 บนเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ส่วนในระดับถังหมักเตรียมอาหารปริมาตร 3 ลิตร ลงในถังหมักปริมาตร 5 ลิตร หลังจากฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 45 นาที จึงเติมสารละลายของสปอร์แขวนลอยให้มีความเข้มข้น 1.6×10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามข้อ 3.2.2.5 ที่อัตราการให้อากาศ 1.0 ปริมาตรอากาศต่อปริมาตรอาหารต่อนาที (vvm) และที่อัตราเร็วของการกวน 400 รอบต่อนาที ทำการเก็บตัวอย่างในช่วงเวลาต่างๆ ดังนี้ คือ วันที่ 0-2 เก็บตัวอย่างทุกๆ 3 ชั่วโมง วันที่ 3-9 เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วัดพีเอช วิเคราะห์กิจกรรมของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์เด็กซแตรนเนส น้ำตาลทั้งหมด และน้ำหนักแห้ง

3.2.6 การศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

3.2.6.1 การเตรียมตัวอย่างสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำน้ำหมักจากการหมักในระดับฟลาสก์เขย่าปริมาตร 2000 มิลลิลิตร ซึ่งเก็บในวันที่ให้กิจกรรมสูงที่สุดมากรองเอาเซลล์ออก นำส่วนของน้ำใสมาตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัวต่างๆ กัน ดังนี้คือ 0-40 40-60 และ 60-80 ตามลำดับ (ปริมาณเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการตกตะกอนแสดงในตารางที่ ค1) โดยตกตะกอนที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง แยกตะกอนออกโดยการปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที นำตะกอนที่ได้ในแต่ละช่วงของการตกตะกอนมาละลายในบัฟเฟอร์ (0.05 โมลาร์ของซิเตรท-ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ พีเอช 5.0) แล้วนำตะกอนช่วงที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุดมาแยกเกลือออกโดยการไดอะไลซีสในน้ำกลั่นเป็นเวลา 1 วัน โดยเปลี่ยนน้ำทุกๆ 4 ชั่วโมง เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสก่อนการตกตะกอน หลังการตกตะกอน และหลังการไดอะไลซีส

3.2.6.2 ศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากข้อ 3.2.6.1 ที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามวิธีในภาคผนวก ข3 เตรียมสารละลายเด็กซแตรน 1 เปอร์เซ็นต์ ด้วยบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชต่างๆ เป็นสับสเทรตในการหากิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดยใช้ 0.05 โมลาร์ของซิเตรท-ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (citrate-phosphate buffer) สำหรับพีเอช 2.5 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 และ 0.05 โมลาร์ของไกลซีน-โซเดียมไฮดรอกไซด์ บัฟเฟอร์ (glycine-NaOH buffer) สำหรับพีเอช 9.0 10.0 11.0 ตามลำดับ เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่วิเคราะห์ได้ในรูปกิจกรรมสัมพัทธ์

3.2.6.3 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากข้อ 3.2.6.1 ที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามวิธีในภาคผนวก ข3 เตรียมสารละลายเด็กซแตรน 1 เปอร์เซ็นต์ด้วยบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ (จากข้อ 3.2.6.2) เป็นสับสเทรต และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 10 20 30 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่วิเคราะห์ได้ในรูปกิจกรรมสัมพัทธ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6.4 ศึกษาความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่พีเอชต่างๆ

นำสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากข้อ 3.2.6.1 มาบ่มในบัฟเฟอร์ที่มีค่าพีเอชต่างๆ ดังนี้ คือ 2.5 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 9.0 10.0 และ 11.0 ตามลำดับ (โดยใช้บัฟเฟอร์ตามข้อ 3.2.6.2) ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำสารละลายเอนไซม์มาปรับพีเอชให้เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (ตามข้อ 3.2.6.2) แล้วจึงนำมาวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามวิธีในภาคผนวก ข3 ในสภาวะที่เหมาะสมซึ่งเอนไซม์มีกิจกรรมสูงสุด (ตามข้อ 3.2.6.2 และ 3.2.6.3) เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่วิเคราะห์ได้ในรูปกิจกรรมที่เหลือ

3.2.6.5 ศึกษาความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่อุณหภูมิต่างๆ

นำสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากข้อ 3.2.6.1 มาบ่มที่อุณหภูมิ 10 20 30 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เป็นเวลานาน 30 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นทันทีแล้วจึงนำมาเจือจางให้เหมาะสมก่อนนำไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสตามวิธีในภาคผนวก ข3 ในสภาวะที่เหมาะสมซึ่งเอนไซม์มีกิจกรรมสูงที่สุด (ตามข้อ 3.2.6.2 และ 3.2.6.3) เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่วิเคราะห์ได้ในรูปกิจกรรมที่เหลือ

3.2.6.6 ศึกษาผลของโลหะและเกลืออนินทรีย์ที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากข้อ 3.2.6.1 ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ประมาณ 50 หน่วยต่อมิลลิลิตร มาบ่มด้วยโลหะและเกลืออนินทรีย์ ซึ่งละลายในน้ำดีไอ (deionized water) โดยให้มีความเข้มข้นสุดท้ายของโลหะและเกลืออนินทรีย์ เท่ากับ 0.003 โมลาร์ โลหะและเกลืออนินทรีย์ที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ เมอร์คิวรีคลอไรด์ เลดอะซิเตต เฟอร์รัสซัลเฟต แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต คอปเปอร์ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ซิงค์ซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต นิเกิลซัลเฟตเฮกซะไฮเดรต โคบอลต์คลอไรด์ แคลเซียมคลอไรด์ โพแทสเซียมคลอไรด์ โซเดียมคลอไรด์ แมกนีเซียมคลอไรด์ แมงกานีสคลอไรด์ ซิงค์คลอไรด์ ซิลเวอร์ไนเตรท ตามลำดับ ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 30 นาที นำไปวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์ตามวิธีในภาคผนวก ข3 ในสภาวะที่เหมาะสมซึ่งเอนไซม์มีกิจกรรมสูงที่สุด (ตามข้อ 3.2.6.2 และ 3.2.6.3) เปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่เหลืออยู่ในรูปของกิจกรรมสัมพัทธ์

3.2.7 การศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ประมาณ 30 หน่วยต่อมิลลิลิตร และสารละลายเด็กซแตรน (ละลายในบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ตามข้อ 3.2.6.2) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ คือ 0.1 0.25 0.5 1.0 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ตามข้อ 3.2.6.3 ทำการเก็บตัวอย่างสารละลายผสมเพื่อนำมาวิเคราะห์หาน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นตามระยะเวลาดังนี้ คือ 0 2 4 6 8 10 15 และ 20 นาที ตามลำดับ นำค่าน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในแต่ละช่วงเวลามาเขียนกราฟ เพื่อคำนวณหาอัตราเร็วเริ่มต้น (V) ของปฏิกิริยา จากนั้นเขียนกราฟ Lineweaver-Burk ระหว่าง 1/[S] กับ 1/V เพื่อคำนวณหาค่า K_m และ V_{max} จากกราฟ

3.2.8 การวิเคราะห์ผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

การวิเคราะห์ผลิตผลสุดท้ายใช้ Ascending paper chromatography ที่ดัดแปลงมาจาก Simonson *et al.* (1975) (แสดงในภาคผนวก ข5) โดยใช้สารละลายตัวอย่างที่ได้จากการบ่มสับสเทรตที่ความเข้มข้น 2.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตรพร้อมกับสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ประมาณ 400 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในสภาวะที่เหมาะสม (ตามข้อ 3.2.6.2 และ 3.2.6.3) เปรียบเทียบสารละลายตัวอย่างที่ได้กับสารละลายมาตรฐาน ได้แก่ กลูโคส มอลโตส ไอโซมอลโตส ไอโซมอลโตไตรโอส และเด็กซแตรน ที่มีความเข้มข้น 2.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.3 วิธีวิเคราะห์

3.3.1 วิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธีของ Somogyi Nelson (แสดงในภาคผนวก ข1)

3.3.2 วิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด โดยวิธี Phenol-sulphuric (แสดงในภาคผนวก ข2)

3.3.3 วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (แสดงในภาคผนวก ข3)

3.3.4 วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีของ Lowry (แสดงในภาคผนวก ข4)

3.3.5 วิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธี CRD และเปรียบเทียบผลการทดลองโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่า

4.1.1 ผลของความเข้มข้นของเด็กซแตรน

นำสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่แสดงในภาคผนวก ก มาศึกษาความเข้มข้นของเด็กซแตรน โดยใช้เด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 5.0 7.5 10.0 12.5 และ 20.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการศึกษาความเข้มข้นของเด็กซแตรนที่มีต่อเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.1-4.2 จากการทดลองพบว่า เมื่อเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 7.5 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจะสูงที่สุด คือ 7,083.70 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมา คือการเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 5,781.90 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์ต่ำที่สุด เมื่อเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 713.66 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับการเจริญของเชื้อ พบว่า การเจริญจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของเด็กซแตรน และพบว่าเซลล์จะสูงที่สุดเมื่อเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.72 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมา คือการเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 12.5 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.65 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง การเจริญของเชื้อจะต่ำที่สุด เมื่อเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 1.78 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับพีเอชของน้ำหมักพบว่า มีการเปลี่ยนแปลงตามความเข้มข้นของเด็กซแตรน ซึ่งการเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหมักมีพีเอช 7.2 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 7.5 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหมักมีพีเอช 6.4 ในวันที่ 5 ของเพาะเลี้ยง การเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหมักมีพีเอช 5.9 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 12.5 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหมักมีพีเอช 5.6 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 20.0 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้น้ำหมักมีพีเอช 5.4 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง จากการเปรียบเทียบผลของการเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างๆ ทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างกัน ให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลของการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเพิ่มความเข้มข้นของเด็กซแตรนให้สูงกว่า 7.5 กรัมต่อลิตร มีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสลดลง และมีผลทำให้การเจริญของเชื้อสูงขึ้น ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับ Fukumoto *et al.* (1971) ที่รายงานว่า ความหนืดของอาหารมีผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium luteum* ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูงที่สุด เมื่อเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 1.5-2.0 เปอร์เซ็นต์ลงในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง การเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นสูงกว่านี้ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง Tsuchiya *et al.* (1952) รายงานว่าความเข้มข้นของเด็กซแตรนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium funiculosum* NRRL 1132 *Penicillium lilacinum* NRRL 896 และ *Penicillium verruculosum* NRRL 2135 คือ 2.0 เปอร์เซ็นต์ โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์ 360 หน่วยของเด็กซแตรนเนสต่อมิลลิลิตร 220 หน่วยของเด็กซแตรนเนสต่อมิลลิลิตร และ 75 หน่วยของเด็กซแตรนเนสต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลของการเพิ่มความเข้มข้นของเด็กซแตรนให้สูงกว่า 2.0 เปอร์เซ็นต์ ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง Yamaguchi and Gocho (1973) รายงานว่า ความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* คือ 1.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 270 หน่วยต่อมิลลิลิตร Minakova and Preobrazhenskaya (1980) รายงานว่า *Penicillium purpurogenum* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูงคือ 420 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อเจริญในอาหารที่เติมเด็กซแตรน 2 เปอร์เซ็นต์ Madhu and Prabhu (1983) รายงานว่า ความเข้มข้นเด็กซแตรนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium aculeatum* คือ 1.5 เปอร์เซ็นต์ การเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นสูงกว่านี้ ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง Galvez-Mariscal and Lopez-Munguia (1991) รายงานว่า ความเข้มข้นของเด็กซแตรนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Paecilomyces lilacinus* คือ 16 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 42 หน่วยของเด็กซแตรนเนสต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.1 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

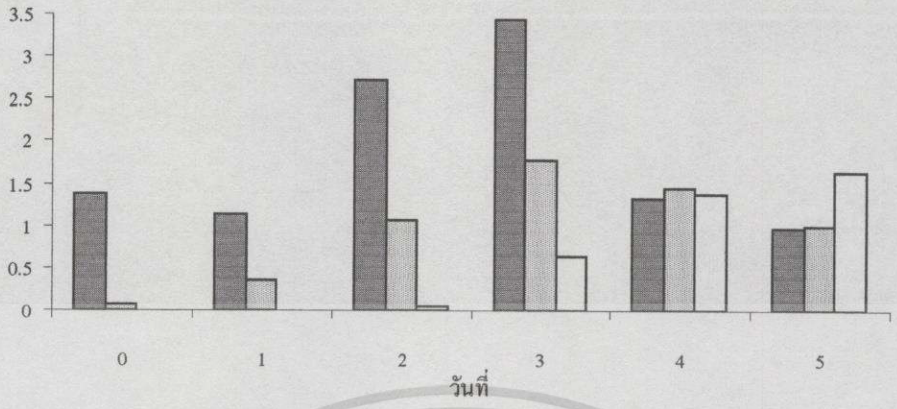
ความเข้มข้นของเด็กซแตรน (กรัมต่อลิตร)	5.0	7.5	10.0	12.5	20.0
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	1,632.20 a	7,083.70 b	5,781.90 c	3,277.50 d	713.66 e

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

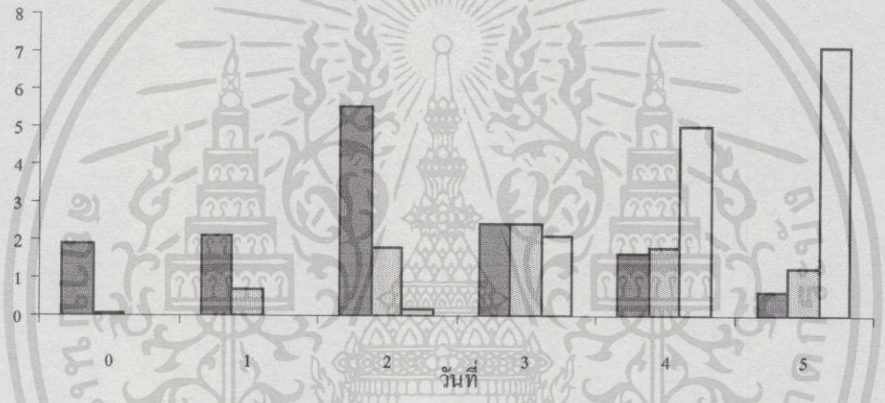
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

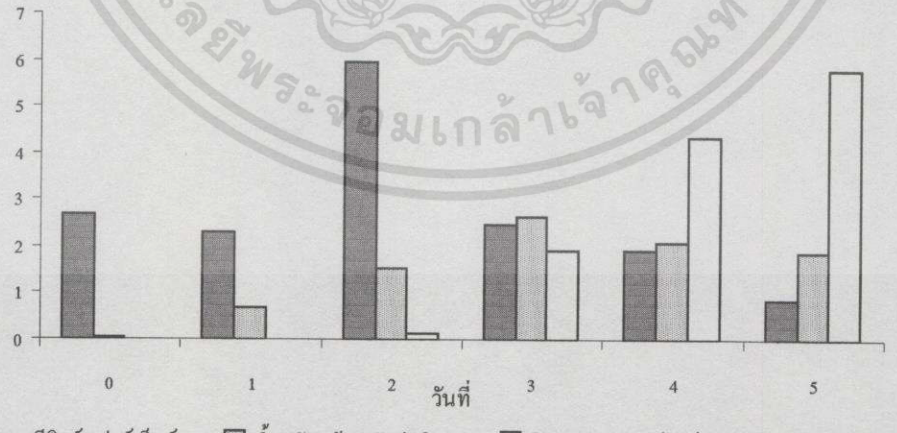
ก)



ข)



ค)

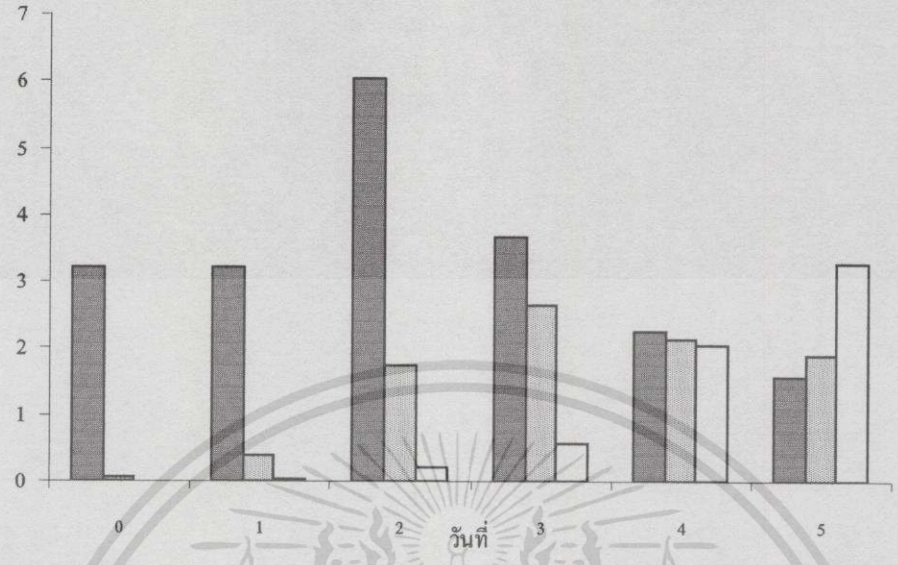


รูปที่ 4.1 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนที่ความเข้มข้น

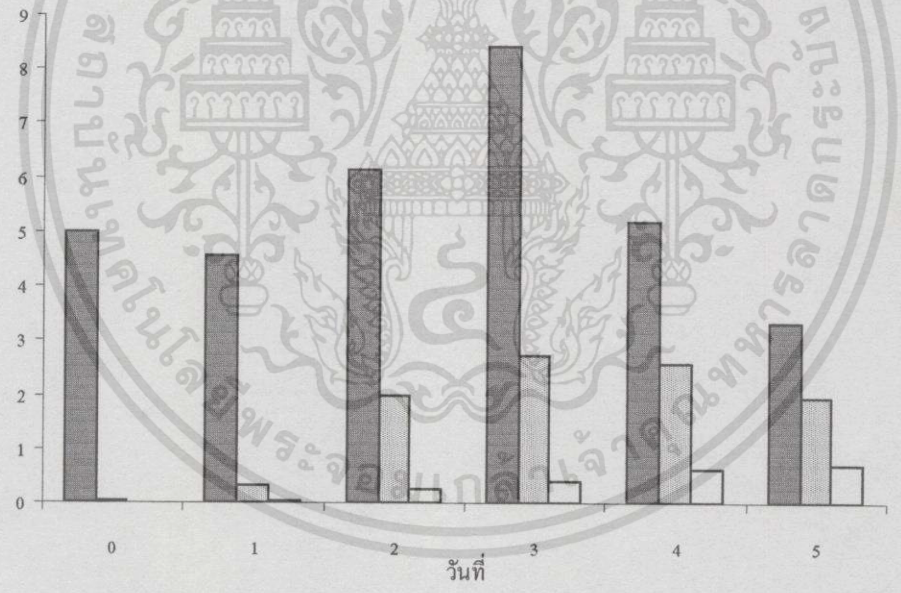
ก) 5.0 กรัมต่อลิตร ข) 7.5 กรัมต่อลิตร ค) 10.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)



น้ำตาลรีดิวซ์ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยต่อมิลลิลิตร) x1000

รูปที่ 4.2 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนที่ความเข้มข้น

ก) 12.5 กรัมต่อลิตร ข) 20.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ผลของแหล่งไนโตรเจน

นำสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ทราบความเข้มข้นของเด็กซแตรนที่เหมาะสมจากข้อ 4.1.1 (ความเข้มข้นของเด็กซแตรน เท่ากับ 7.5 กรัมต่อลิตร) มาศึกษาแหล่งไนโตรเจน โดยแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ศึกษา คือ ยีสต์สกัด เปปโตน น้ำแช่ข้าวโพด โซเดียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมคลอไรด์ โดยใช้ที่ความเข้มข้น 3.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.3-4.4 จากการทดลอง พบว่า ยีสต์สกัดและโซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์ 8,663.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร และ 8,576.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ รองลงมาคือ น้ำแช่ข้าวโพด ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 5,914.10 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับเปปโตน ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 2,748.90 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจะต่ำเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์ 118.90 หน่วยต่อมิลลิลิตร และ 33.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ สำหรับการเจริญของเชื้อ พบว่า เมื่อใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจน ให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 2.62 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมา คือการใช้โซเดียมไนเตรท ซึ่งให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.46 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง การเจริญของเชื้อต่ำที่สุดเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน ซึ่งให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.00 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับพีเอชของน้ำหมัก พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงตามแหล่งไนโตรเจน โดยยีสต์สกัดและเปปโตนให้พีเอชของน้ำหมักเป็นกลาง คือ 7.4 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โซเดียมไนเตรทและน้ำแช่ข้าวโพด ให้พีเอชของน้ำหมักเป็นค่อนข้างเป็นกรด คือ 6.1 และ 5.0 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ สำหรับแอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมคลอไรด์ ให้พีเอชของน้ำหมักเป็นกรด คือ 2.1 และ 1.8 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบผลของยีสต์สกัดและโซเดียมไนเตรททางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ยีสต์สกัดและโซเดียมไนเตรตให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.2

จากการที่ยีสต์สกัดและโซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสไม่แตกต่างกัน ดังนั้นจึงเลือกโซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนในการศึกษาการผลิตเอนไซม์ เนื่องจากโซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาถูกกว่ายีสต์สกัด การใช้แอมโมเนียมซัลเฟตและแอมโมเนียมคลอไรด์เป็นแหล่งไนโตรเจน ทำให้เกิดสภาวะที่เป็นกรดในน้ำหมัก เนื่องจากเกลือแอมโมเนียมถูกใช้ไปทำให้เกิดเกลือซัลเฟตและเกลือคลอไรด์ขึ้น (Stanbury, 1995) ซึ่งความเป็นกรดของน้ำหมักที่สูงเกินไปอาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ผลของการใช้โซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนสอดคล้องกับผลของการผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium luteum* (Fukumoto *et al.*, 1971) *Penicillium acleatum* (Madhu and Prabhu, 1983) และ *Penicillium purpurogenum* (Minakova and Preobrazhenskaya, 1980) ที่รายงานว่า โซเดียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ผลการทดลองแตกต่างกับ Charles and Farrell (1957) ที่รายงานว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium lilacinum* คือ น้ำแช่ข้าวโพด Yamaguchi and Gocho (1973) รายงานว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* คือ พอลิเปปโตน สำหรับ Masry (1991) รายงานว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Fusarium monoliforme* คือแอมโมเนียมไนเตรท ซึ่งผลของการใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน อาจเป็นผลมาจากชนิดของจุลินทรีย์ ส่วนประกอบอื่นๆ ของอาหาร และสภาวะของการเพาะเลี้ยง

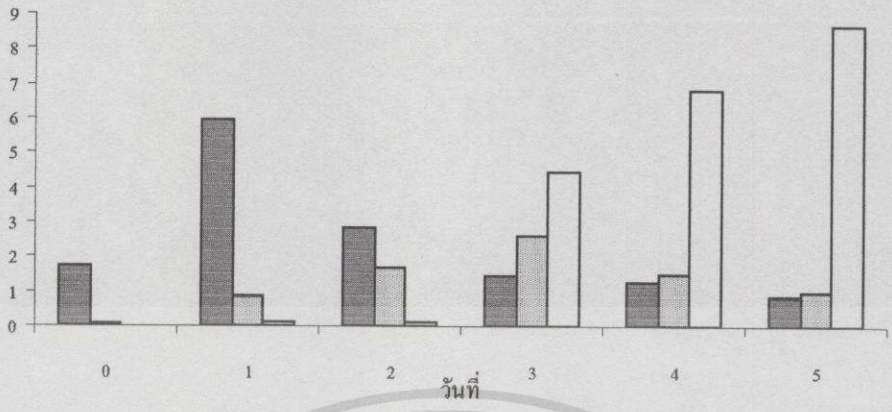
ตารางที่ 4.2 แสดงการเปรียบเทียบผลของแหล่งไนโตรเจนที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

แหล่งไนโตรเจน	ยีสต์สกัด	โซเดียมไนเตรท	เปปโตน	น้ำแช่ข้าวโพด	แอมโมเนียมซัลเฟต	แอมโมเนียมคลอไรด์
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	8,663.00 a	8,576.00 a	2,748.90 b	5,914.10 c	118.90 d	33.00 e

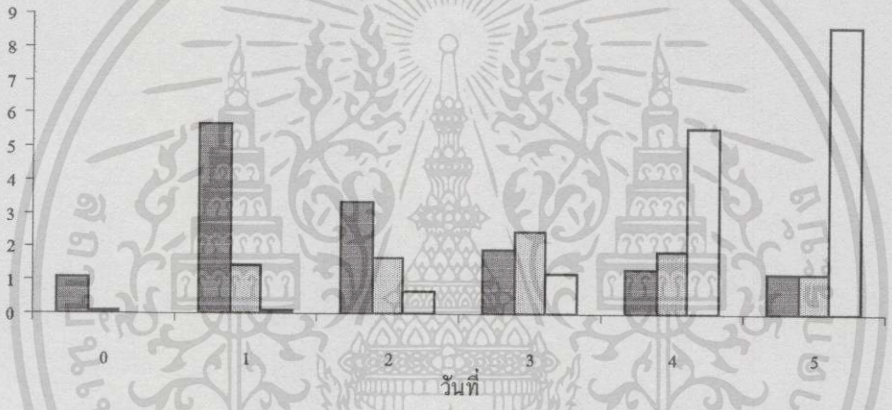
กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)



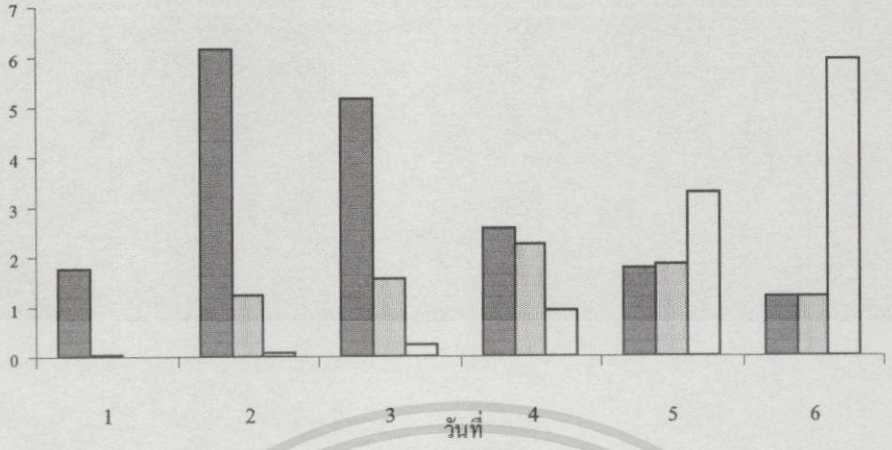
ค)

น้ำตาลรีดิวซ์ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยต่อมิลลิลิตร) x1000

รูปที่ 4.3 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจน
ก) ยีสต์สกัด ข) โซเดียมไนเตรท ค) เปปโตน

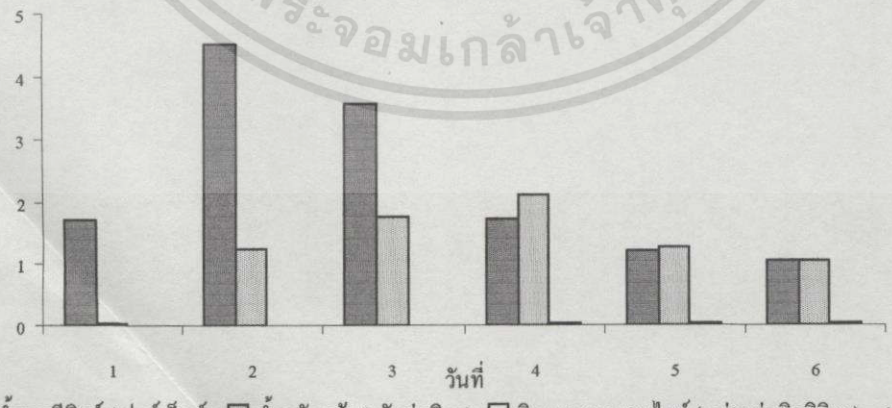
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)

ค)



น้ำตาลรีดิวซ์ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยต่อมิลลิลิตร) x 1000

รูปที่ 4.4 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้แหล่งไนโตรเจน
ก) น้ำแช่ข้าวโพด ข) แอมโมเนียมซัลเฟต ค) แอมโมเนียมคลอไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.3 ผลของความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

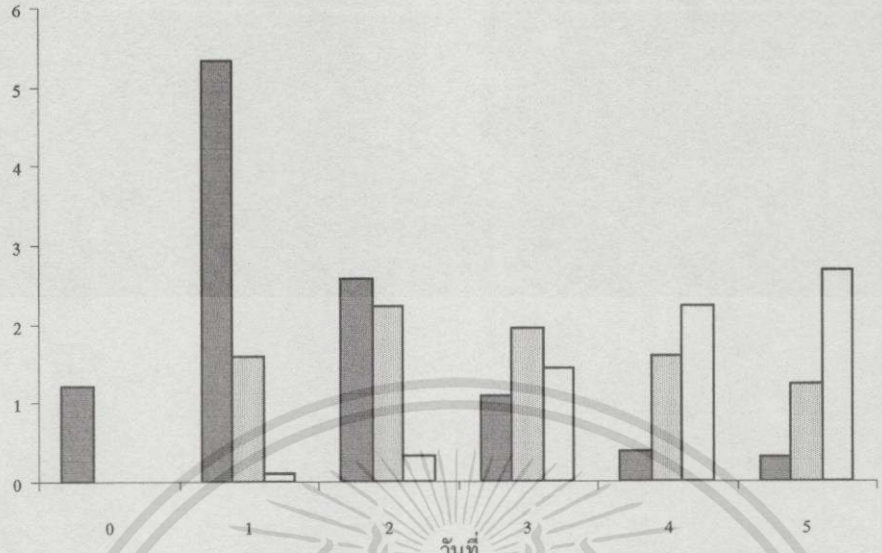
นำสูตรอาหารที่ทราบแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมจากข้อ 4.1.2 (แหล่งไนโตรเจน คือ โซเดียมไนเตรต) มาศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โดยใช้ที่ความเข้มข้น 0.75 1.0 1.5 และ 2.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลการศึกษาความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่มีต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.5-4.6 จากการทดลองพบว่า การเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด คือ 30,726.87 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมา คือ การเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร และ 0.75 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 26,563.40 หน่วยต่อมิลลิลิตร และ 26,035.24 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ กิจกรรมของเอนไซม์ต่ำที่สุดเมื่อเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์ 23,788.60 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับการเจริญของเชื้อ เมื่อมีการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 1.5 กรัมต่อลิตร พบว่าเซลล์จะสูงที่สุด โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.56 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0.75 กรัมต่อลิตร 1.0 กรัมต่อลิตร และ 2.0 กรัมต่อลิตร ให้ผลของการเจริญไม่แตกต่างกัน โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.23 กรัมต่อลิตร 2.22 กรัมต่อลิตร และ 2.22 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ สำหรับพีเอชของน้ำหมัก พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน คือในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง พีเอชของน้ำหมักเพิ่มขึ้น โดยอยู่ในช่วง 6.0-6.2 และลดลงในวันที่ 2 ของการบ่ม โดยอยู่ในช่วง 5.1-5.3 หลังจากนั้นพีเอชจะเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ ซึ่งพีเอชของน้ำหมักในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง อยู่ในช่วง 5.9-6.3 จากการเปรียบเทียบผลของการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ 1.5 กรัมต่อลิตร ให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสแตกต่างจากความเข้มข้นอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

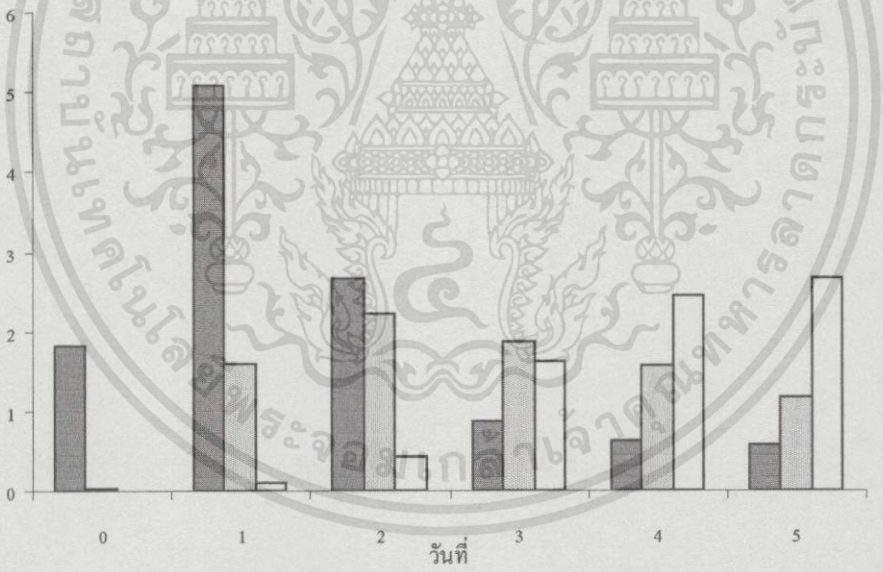
จากผลของการทดลองแสดงให้เห็นว่า โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตมีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตเป็นแหล่งฟอสเฟตที่สำคัญ เชื้อนำไปใช้เป็นส่วนประกอบของนิวคลีโอโปรตีน ซึ่งมีความสำคัญต่อกระบวนการสร้างพลังงานของเซลล์ ผลการทดลองสอดคล้องกับการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium luteum* (Fukumoto *et al.*, 1971) และ *Penicillium aculeatum* (Madhu and Prabhu, 1983) ที่รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจะสูงที่สุด เมื่อเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ Minakova and Preobrazhenskaya (1980) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)

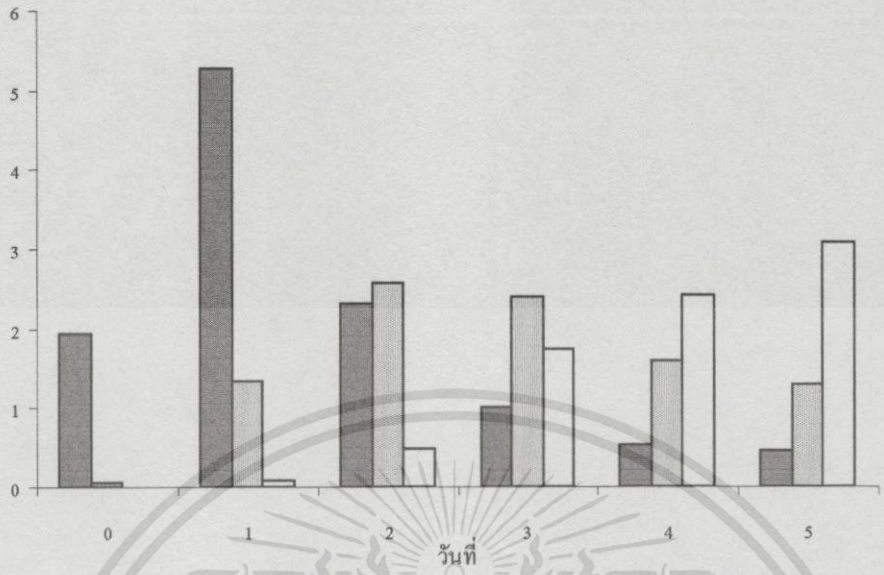


รูปที่ 4.5 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น

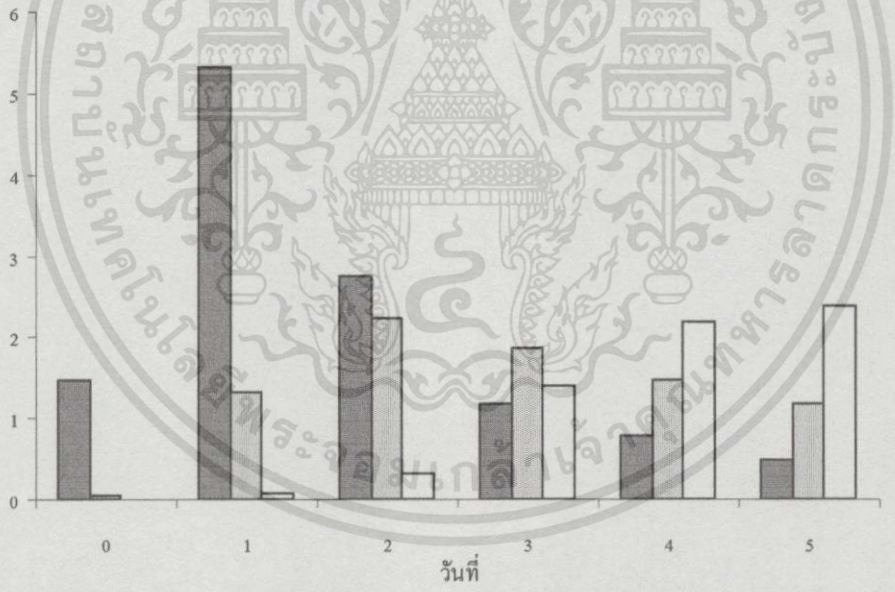
ก) 0.75 กรัมต่อลิตร ข) 1.00 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)



น้ำตาลรีดิวซ์ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยต่อมิลลิลิตร) x10000

รูปที่ 4.6 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น

ก) 1.50 กรัมต่อลิตร ข) 2.00 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Penicillium purpurogrnum เพิ่มขึ้นจาก 100 หน่วยต่อมิลลิลิตร ไปเป็น 300 หน่วยต่อมิลลิลิตร เมื่อเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ Petronijevic *et al.* (1993) รายงานว่า ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Aspergillus ustus* คือ 0.5 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.3 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (กรัมต่อลิตร)	0.75	1.0	1.5	2.0
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	26,035.24 a	26,563.40 a	30,726.87 b	23,788.60 c

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4.1.4 ผลของพีเอชเริ่มต้น

นำสูตรอาหารที่ทราบความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสม จากข้อ 4.1.3 (ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เท่ากับ 1.5 กรัมต่อลิตร) มาศึกษาพีเอชเริ่มต้น โดยการนำสูตรอาหารดังกล่าวมาปรับพีเอชให้เท่ากับ 4.0 5.0 6.0 7.0 และ 8.0 ตามลำดับ

ผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่มีต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.7-4.8 จากการทดลองพบว่า พีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส คือ 4.0 โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 2.60 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง และให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจะสูงที่สุด คือ 35,905.30 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง เมื่อปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ 5.0 พบว่ามีการเจริญและการผลิตเอนไซม์รองลงมา คือ มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.54 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง และมีกิจกรรมของเอนไซม์ 33,381.10 หน่วยต่อมิลลิลิตรในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เท่ากับ 6.0 พบว่า มีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.21 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง และมีกิจกรรมของเอนไซม์ 32,193.80 หน่วยต่อมิลลิลิตรในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง แต่เมื่อปรับพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นกลางและด่าง คือ 7.0 และ 8.0 พบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้ง 1.85 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง และ 1.50 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ และมีกิจกรรมของเอนไซม์ 29,288.60 หน่วยต่อมิลลิลิตร และ 26,101.30 หน่วยต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบผลของพีเอชเริ่มต้นของอาหารทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่ต่างกัน ให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4

จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้สูงในสภาวะที่เป็นกรด (พีเอช 4.0-6.0) ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Hultin and Nordstrom (1949) ที่รายงานว่า *Penicillium funiculosum* และ *Penicillium lilacinum* จะให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด เมื่อปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารให้เท่ากับ 4.0 Tsuchiya *et al.* (1952) รายงานว่า *Penicillium lilacinum* NRRL 896 ให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด เมื่อเจริญในอาหารที่มีพีเอช 6.0 และ *Penicillium funiculosum* NRRL 1132 ให้กิจกรรมของเอนไซม์สูง เมื่อเจริญในอาหารที่มีพีเอช 5.0 ซึ่งการปรับพีเอชของอาหารให้สูงกว่า 6.0 ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ลดลง Minakova and Preobrazhenskaya (1980) รายงานว่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium purpurogenum* คือ 5.0 Koenig and Day (1988) รายงานว่า พีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซมเด็กซแตรนเนสของ *Lipomyces starkeyi* อยู่ในช่วง 3.0-5.0 โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์ 1,030-1,417 หน่วยสากลต่อน้ำหนักแห้ง (IU/dry weight cells) และไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ เมื่อเจริญในอาหารที่มีพีเอช 6.0 Pebery (1989) รายงานว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Penicillium* sp. อยู่ในช่วง 4-6 Masry (1991) รายงานว่า *Fusarium moniliforme* จะให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด เมื่อเจริญอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ถูกปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.5

ตารางที่ 4.4 แสดงการเปรียบเทียบผลของพีเอชเริ่มต้นที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

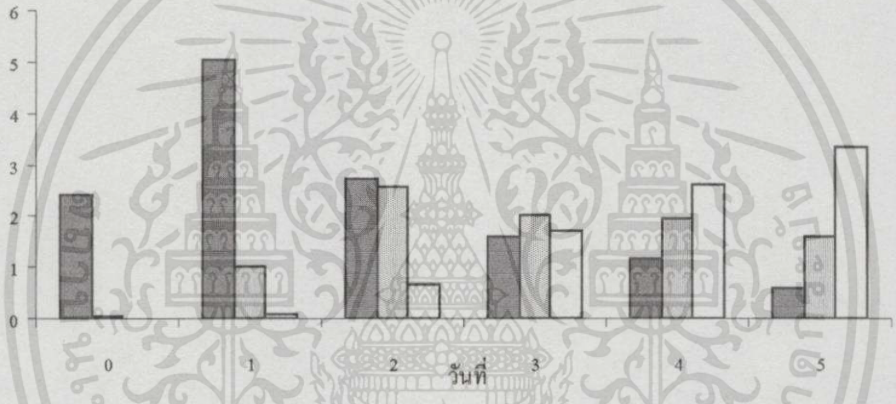
พีเอชเริ่มต้น	4.0	5.0	6.0	7.0	8.0
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	35,905.30 a	33,381.10 b	32,193.80 c	29,288.60 d	26,101.30 e

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

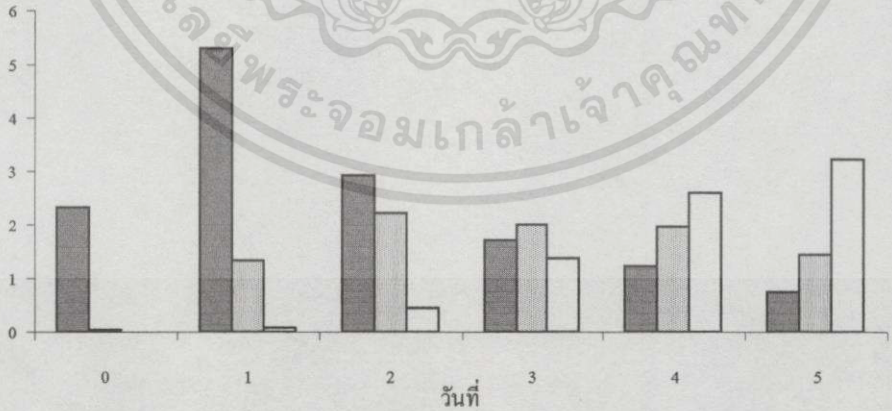
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

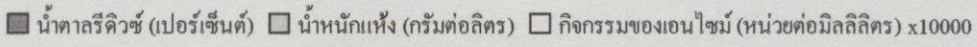
ก)

ข)



ค)

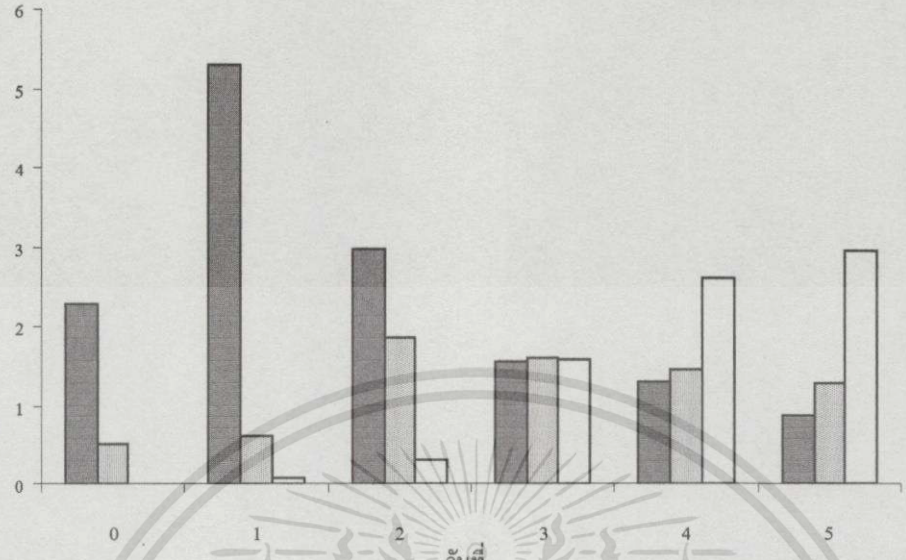




รูปที่ 4.7 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อพีเอชเริ่มต้นของอาหาร
ก) พีเอช 4.0 ข) พีเอช 5.0 ค) พีเอช 6.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)

น้ำตาลรีดิวซ์ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยต่อมิลลิลิตร) x10000

รูปที่ 4.8 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อพีเอชเริ่มต้นของอาหาร
ก) พีเอช 7.0 ข) พีเอช 8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.5 ผลของอุณหภูมิ

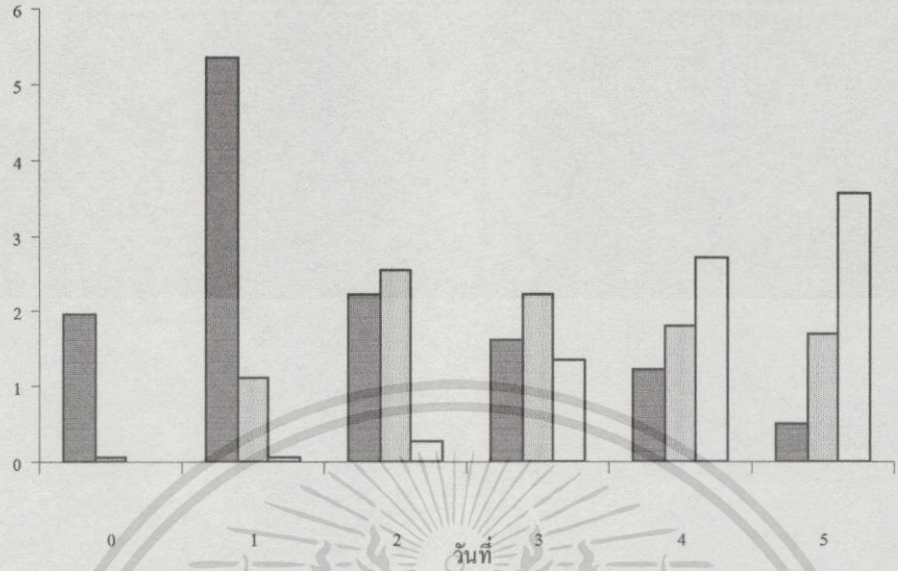
เมื่อทราบพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสม จากข้อ 4.1.4 (พีเอชเริ่มต้น เท่ากับ 4.0) จึงนำสูตรอาหารดังกล่าวมาศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้บ่มเชื้อ โดยทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 40 50 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.9-4.10 จากการทดลองพบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส คือ 30 องศาเซลเซียส โดยน้ำหนักเซลล์แห้งจะสูงที่สุด คือ 2.55 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของเพาะเลี้ยง และมีกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด คือ 35,293.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมาคือ การบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.20 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง และมีกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 18,894.68 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง แต่การบ่มที่อุณหภูมิ 50 และ 60 องศาเซลเซียส พบน้ำหนักเซลล์แห้งน้อยมาก คือ 0.17 และ 0.10 กรัมต่อลิตรในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ และพบกิจกรรมของเอนไซม์ 6.61 หน่วยต่อมิลลิลิตร และ 3.30 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ จากการเปรียบเทียบผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมของการบ่มทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การบ่มที่อุณหภูมิต่างกันให้ผลต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.5

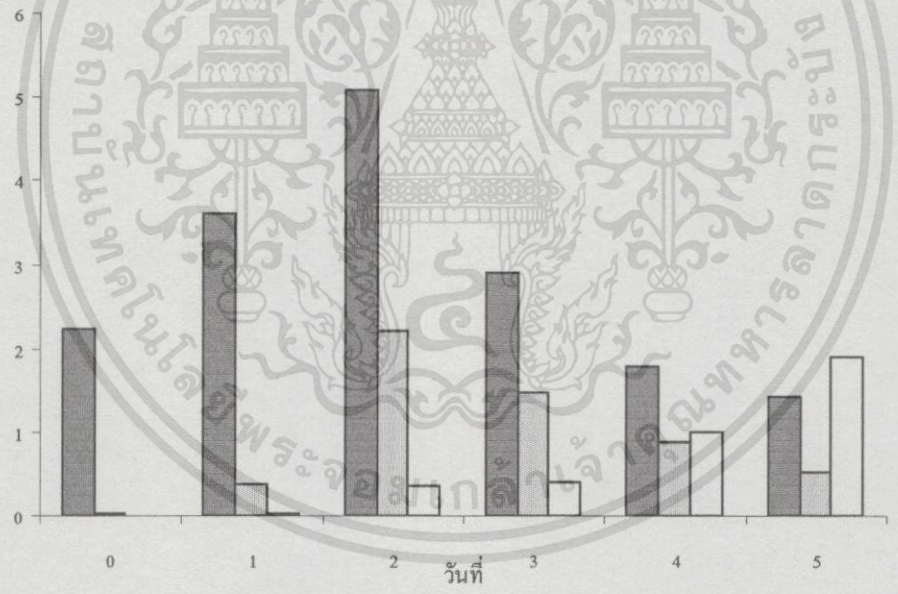
จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 คือ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Simonson *et al.* (1975) ที่รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Fusarium moniliforme* คือ 30 องศาเซลเซียส Minakova and Preobrazhenskaya (1980) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium purpurogenum* อยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส Mudhu and Prabhu (1983) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Penicillium aculeatum* คือ 30 องศาเซลเซียส Koenig and Day (1988) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Lipomyces starkeyi* อยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส ซึ่งการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิสูงกว่า 33 องศาเซลเซียส จะไม่พบการเจริญของเชื้อเลย Pebery (1989) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Penicillium* sp. อยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส Wynter *et al.* (1995) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Chaetomium gracile* ATCC 60150 *Chaetomium indicum* ATCC 48386 *Cellvibrio mixtus* ACM 2601 *Pseudomonas mixta* ACM 733 *Bacillus coagulans* คือ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



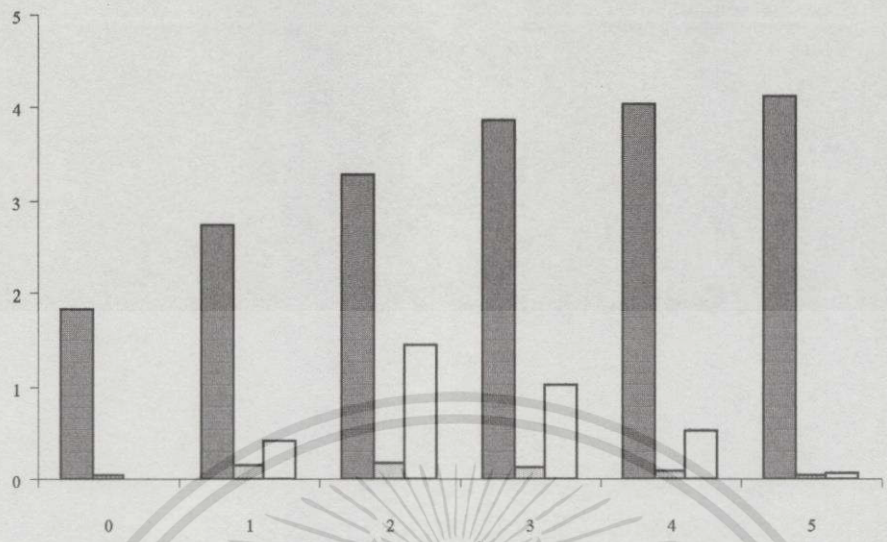
ข)



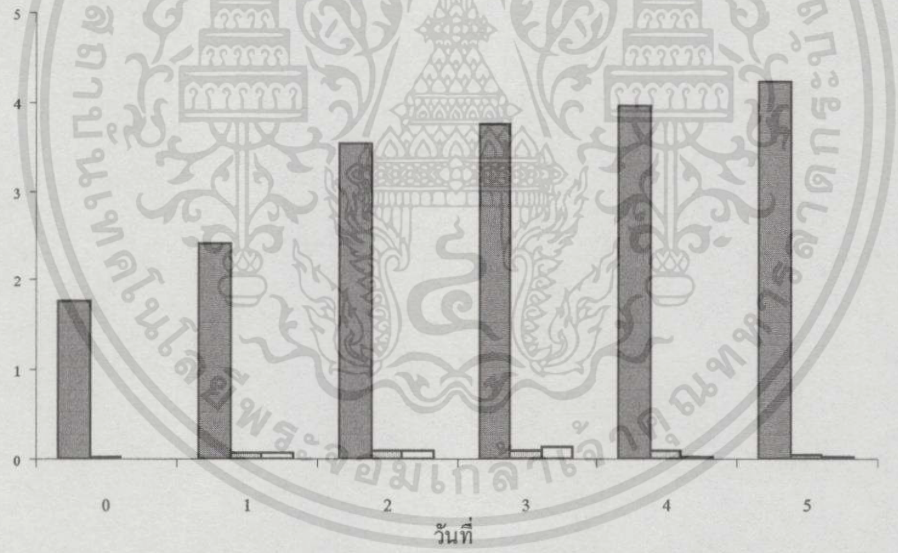
รูปที่ 4.9 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ
ก) 30 องศาเซลเซียส ข) 40 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)



น้ำตาลรีดิวซ์ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยต่อมิลลิลิตร) x100

รูปที่ 4.10 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ
ก) 50 องศาเซลเซียส ข) 60 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 แสดงการเปรียบเทียบผลของการบ่มเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

อุณหภูมิของการบ่มเชื้อ (องศาเซลเซียส)	30	40	50	60
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	35,293.00 a	18,894.68 b	6.61 c	3.30 d

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

จากการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 พบว่าส่วนประกอบอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสประกอบด้วย เด็กซแตรน 7.5 กรัมต่อลิตร โซเดียมไนเตรท 3.0 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมคลอไรด์ 0.5 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮบตะไฮเดรต 0.5 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 และอุณหภูมิของการเพาะเลี้ยง 30 องศาเซลเซียส ภายหลังจากการบ่มบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 5 วัน พบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 35,293.00 หน่วยต่อมิลลิลิตรในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง และมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.55 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง

4.2 ผลการศึกษาผลของโลหะที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำสูตรอาหารที่ได้รับการดัดแปลงให้เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาศึกษาผลของโลหะ โดยโลหะที่ใช้ศึกษา ได้แก่ แคดเมียมคลอไรด์ ซิงค์ซัลเฟต เฟอร์รัสซัลเฟต เมอร์คิวรีซัลเฟต และเลดอะซิเตต โดยใช้ที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ผลของโลหะที่มีต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.11-4.12 จากการทดลองพบว่า โลหะทุกชนิดที่เติมลงในอาหารที่เลี้ยงเชื้อมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับอาหารที่ไม่เติมโลหะ โดยอาหารที่ไม่เติมโลหะให้กิจกรรมของเอนไซม์ 35,656.40 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ผลของการเติมเฟอร์รัสซัลเฟตลงในอาหาร พบว่า มีกิจกรรมของเอนไซม์ 15,687.22 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติมเลดอะซิเตต พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ 2,453.70 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติมซิงค์ซัลเฟต พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ 2,127.80 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติมแคดเมียมคลอไรด์ พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ 23.26 หน่วย

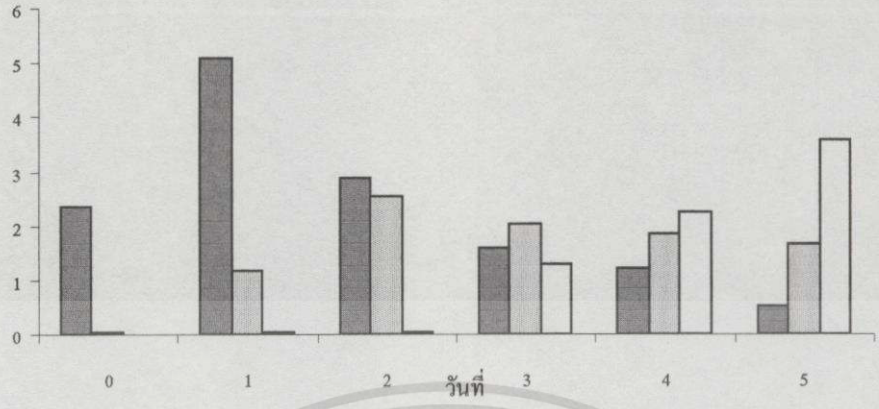
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งการเติมเมอร์คิวรีคลอไรด์ จะไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเลย สำหรับการเจริญของเชื้อ พบว่าการเติมซิงค์คลอไรด์และเฟอร์รัสซัลเฟต ส่งผลให้การเจริญสูงขึ้นเล็กน้อย โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 2.64 กรัมต่อลิตร และ 2.57 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ ในขณะที่อาหารที่ไม่เติมโลหะจะให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.54 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งการเติมเลดอะซิเตต แคดเมียมคลอไรด์ และเมอร์คิวรีคลอไรด์ มีผลยับยั้งการเจริญ โดยพบว่ามีน้ำหนักเซลล์แห้ง 1.37 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง 0.13 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง และ 0.12 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ สำหรับพีเอชของน้ำหมัก พบว่า การเติมแคดเมียมคลอไรด์และเมอร์คิวรีคลอไรด์ มีผลทำให้พีเอชของน้ำหมักเป็นกรด คือ 4.0 และ 3.4 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนการเติมเฟอร์รัสซัลเฟตและเลดอะซิเตต มีผลทำให้พีเอชของน้ำหมักเป็นกลาง คือ 6.8 และ 6.4 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ตามลำดับ ส่วนการเติมซิงค์ซัลเฟตมีผลทำให้พีเอชของน้ำหมักเป็นด่าง คือ 8.1 ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง จากการเปรียบเทียบผลของการเติมโลหะทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า อาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมโลหะให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสแตกต่างจากอาหารที่ไม่เติม ดังแสดงในตารางที่ 4.6

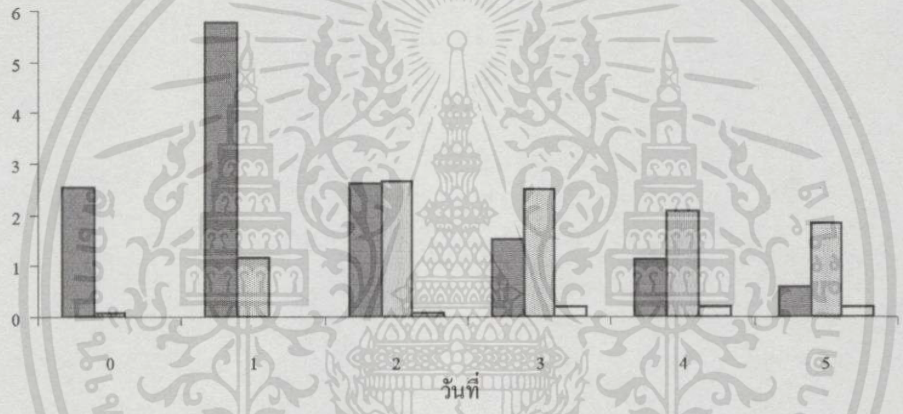
จากผลการทดลอง พบว่า การเติมซิงค์ซัลเฟตและเฟอร์รัสซัลเฟต พบว่ามีการเจริญของเชื้อสูงขึ้นเล็กน้อย ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก ซิงค์(II)อิออน (Zn^{2+}) และเฟอร์รัส(II)อิออน (Fe^{2+}) เป็นแหล่งเกลือแร่ที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาชีวเคมีและเป็นองค์ประกอบบางอย่างของเซลล์ ซึ่งจุลินทรีย์ต้องการในปริมาณที่เล็กน้อย แต่เนื่องจากเติมลงไปในอาหารมากเกินไป อาจจะไปทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในน้ำหมัก ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง Hiraoka *et al.* (1972) รายงานว่ากิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Aspergillus carneus* ถูกยับยั้งโดย เฟอร์รัส(II)อิออน (Fe^{2+}) Kobayachi *et al.* (1983) รายงานว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Flavobacterium* sp. M-37 ถูกยับยั้งโดยเฟอร์รัส(II)อิออน (Fe^{2+}) และซิงค์(II)อิออน (Zn^{2+}) Arnold *et al.* (1998) รายงานว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Sporothrix schenckii* IP-29 ถูกยับยั้งโดย ซิงค์(II)อิออน (Zn^{2+})

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

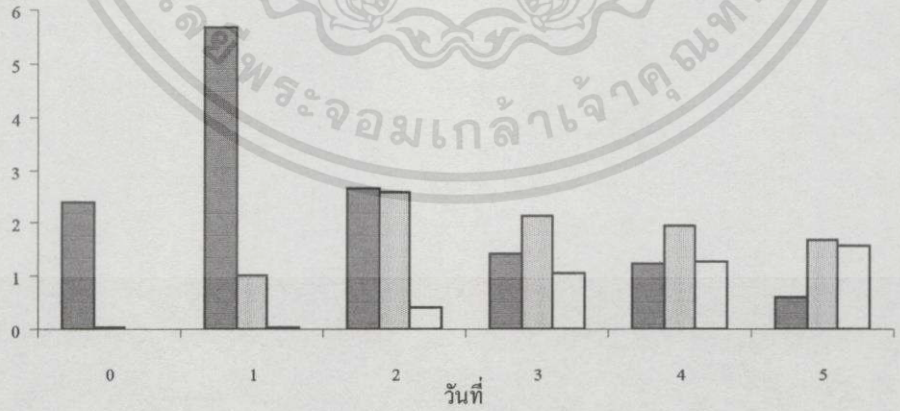
ก)

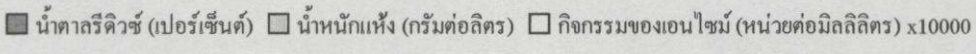


ข)



ค)





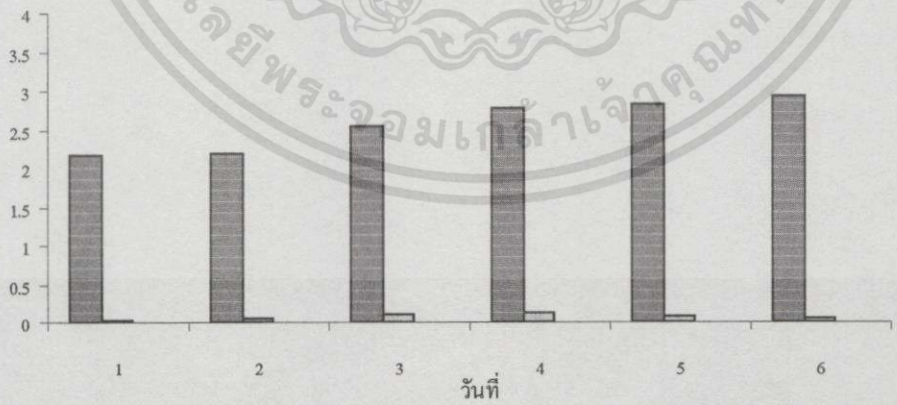
รูปที่ 4.11 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อเติมโลหะ
ก) ไม่เติมโลหะ ข) ซิงค์ซัลเฟต ค) เฟอร์รัสซัลเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)

ข)

ค)



น้ำตาลรีดิวซ์ (เปอร์เซ็นต์) น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร) กิจกรรมของเอนไซม์ (หน่วยต่อมิลลิลิตร) x1000

รูปที่ 4.12 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อเติมโลหะ
ก) เลดอะซิเตต ข) แคดเมียมคลอไรด์ ค) เมอร์คิวรีคลอไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมโลหะลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

โลหะหนัก	ไม่เติม	ซิงค์ซัลเฟต	เฟอร์รัสซัลเฟต	เลดอะซิเตต	แคดเมียมคลอไรด์	เมอร์คิวรีคลอไรด์
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	35,656.40 a	2,127.80 b	15,687.22 c	2,453.70 d	23.26 e	0 f

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4.3 ผลของน้ำตาลบางชนิดที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

4.3.1 ผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส มาศึกษาผลของน้ำตาลบางชนิด ซึ่งน้ำตาลที่ใช้ศึกษา ได้แก่ กลูโคส ซูโครส มอลโตส ฟรักโตส และอะราบิโนส ตามลำดับ โดยใช้ที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร แทนการใช้เด็กซแตรนในสูตรอาหาร

ผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดแทนเด็กซแตรนที่มีต่อเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.13-4.14 จากการใช้น้ำตาลทุกชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรนพบว่า มีเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเกิดขึ้นเพียงเล็กน้อยเมื่อเทียบกับเด็กซแตรน ซึ่งการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอน ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 35,524.20 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับอาหารที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์ 246.48 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน พบกิจกรรมของเอนไซม์ 4.49 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การใช้มอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอน พบกิจกรรมของเอนไซม์ 56.20 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การใช้ฟรักโตสเป็นแหล่งคาร์บอน พบกิจกรรมของเอนไซม์ 13.88 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การใช้อะราบิโนสเป็นแหล่งคาร์บอน พบกิจกรรมของเอนไซม์ 47.60 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับการเจริญของเชื้อ พบว่า น้ำตาลทุกชนิดที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรน มีผลต่อการเจริญของเชื้อ ซึ่งการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.58 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.90 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การใช้มอลโตสเป็นแหล่งคาร์บอนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.87 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง การใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนให้น้ำ

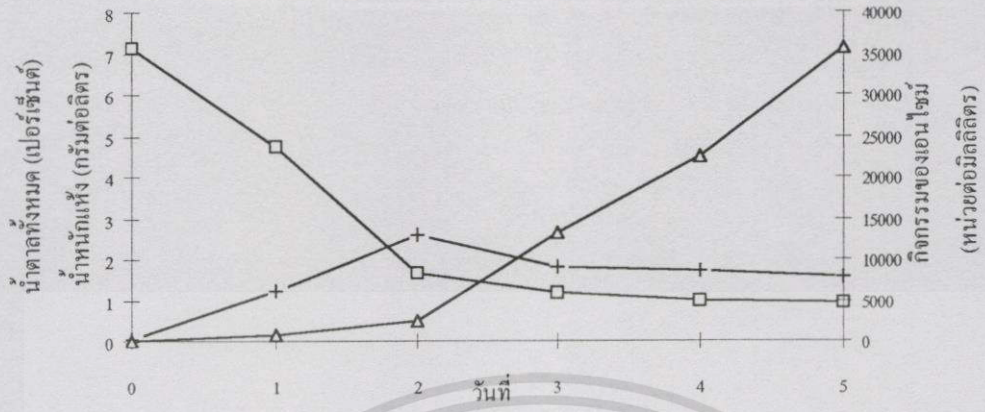
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หนักเซลล์แห้ง 2.34 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง การใช้ฟรักโตสเป็นแหล่งคาร์บอนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.59 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง การใช้อะราบิโนสเป็นแหล่งคาร์บอนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.12 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 4 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับพีเอชของน้ำหมัก พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน คือ ในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง พีเอชของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นในช่วง 4.4-6.4 และลดลงในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง โดยอยู่ในช่วง 3.5-5.3 หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นในลักษณะคงที่ ซึ่งพีเอชของน้ำหมักในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง อยู่ในช่วง 5.3-6.5 จากการเปรียบเทียบผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า น้ำตาลทุกชนิดให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสแตกต่างจากการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอน ดังแสดงในตารางที่ 4.7

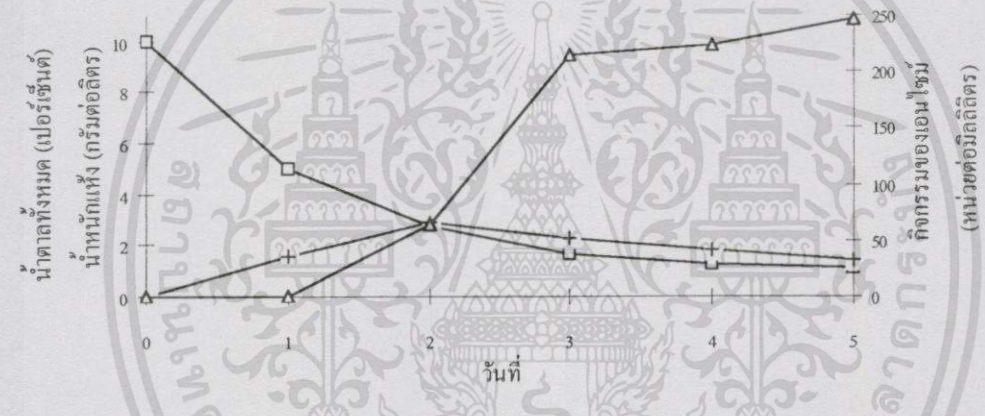
จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้ 2 ลักษณะ คือ ผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสโดยการชักนำของเด็กซแตรน (inducible enzyme) และผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์ (constitutive enzyme) ซึ่งกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ทำให้เกิดการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์ได้สูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ ผลของการผลิตเอนไซม์สอดคล้องกับรายงานของ Yamaguchi and Gocho (1973) ที่รายงานว่า *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสได้ 2 ลักษณะ คือ ผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสโดยการชักนำของเด็กซแตรน ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุด และผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์ โดยใช้แป้ง กลูโคส ซูโครส มอลโตส และฟรักโตส เป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 7 เปอร์เซ็นต์ 5 เปอร์เซ็นต์ 4 เปอร์เซ็นต์ 5 เปอร์เซ็นต์ และ 2.5 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเอนไซม์ที่ถูกชักนำโดยเด็กซแตรน ตามลำดับ Staat and Schachtele (1975) รายงานว่า *Actinomyces israelii* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์ เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่ใช้กลูโคส ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน แต่กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้ต่ำกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นตัวชักนำ Jensen and Olsen (1996) รายงานว่า *Thermomyces lanuginosus* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์โดยใช้แป้ง มอลโตส กลูโคส ซูโครส และน้ำมันมะกอก เป็นแหล่งคาร์บอน โดยให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 37 หน่วยต่อมิลลิลิตร 11 หน่วยต่อมิลลิลิตร 3 หน่วยต่อมิลลิลิตร 5 หน่วยต่อมิลลิลิตร และ 6 หน่วยต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แต่กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่เกิดขึ้นต่ำกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นตัวชักนำ ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 44 หน่วยต่อมิลลิลิตร ผลการทดลองแตกต่างจาก Fukumoto *et al.* (1971) ที่รายงานว่า *Penicillium luteum* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรน และโอลิโกแซคคาไรด์ที่ประกอบด้วยพันธะ α-1,6 เป็นแหล่งคาร์บอน แต่ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้ กลูโคส มอลโตส ซูโครส และแลกโตสเป็นแหล่งคาร์บอน Marsy (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

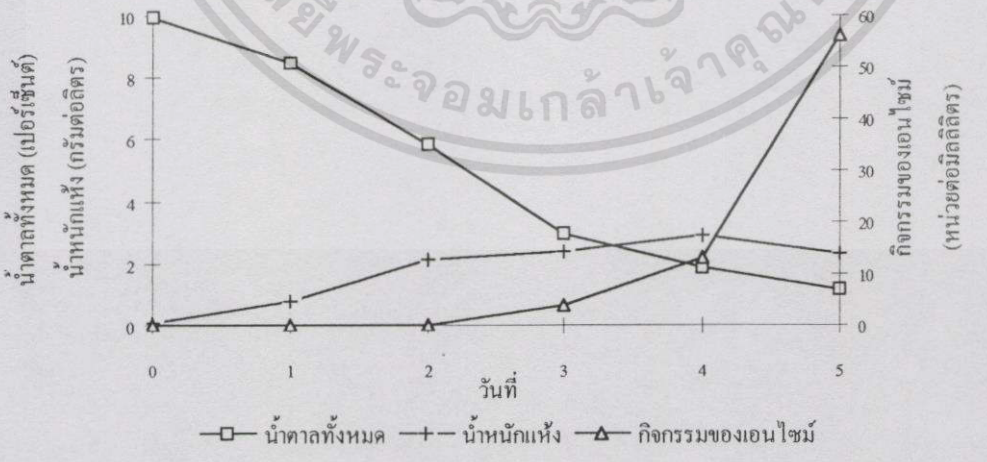
ก)



ข)



ค)

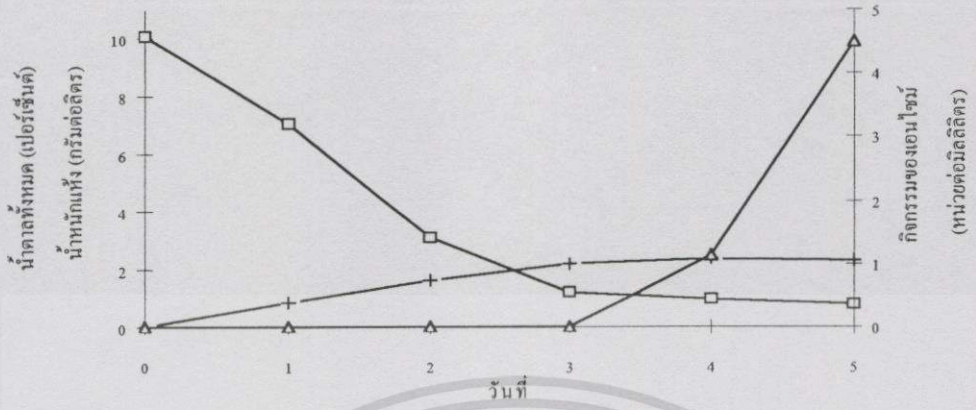


รูปที่ 4.13 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรน

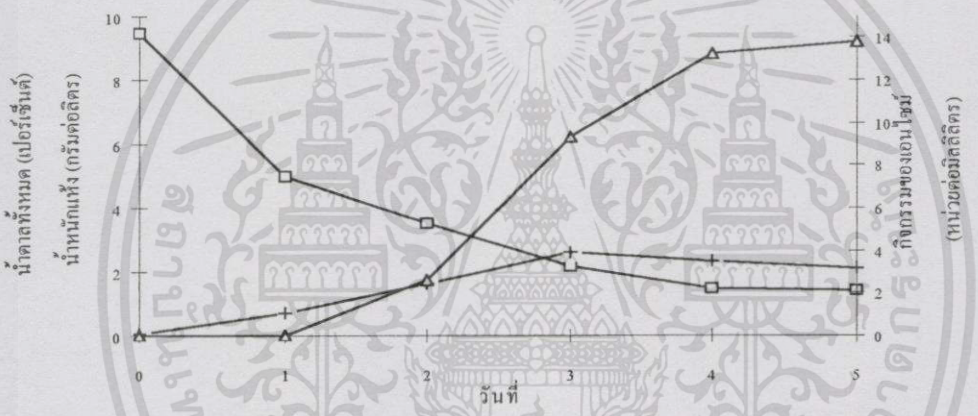
ก) เด็กซแตรน ข) กลูโคส ค) มอลโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

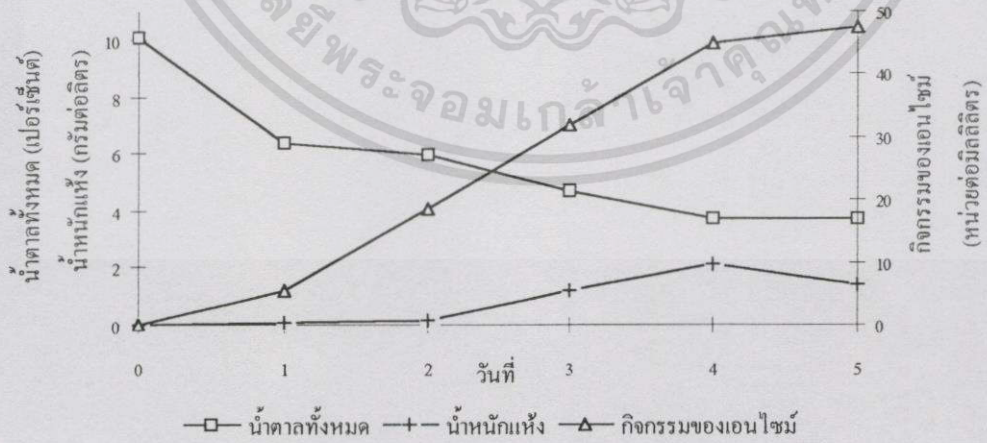
ก)



ข)



ค)



รูปที่ 4.14 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรน

ก) ซูโครส ข) ฟรักโตส ค) อะราบิโนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายงานว่า *Fusarium moniliforme* สามารถผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่ใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอน แต่เมื่อเจริญอยู่ในอาหารที่ใช้กลูโคส มอลโตส และไซโลส เป็นแหล่งคาร์บอน จะไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์เลย

ตารางที่ 4.7 แสดงการเปรียบเทียบผลของน้ำตาลบางชนิดที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

ชนิดของน้ำตาล	เด็กซแตรน	กลูโคส	ซูโครส	มอลโตส	ฟรักโตส	อะราบิโนส
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	35,524.20 a	246.48 b	4.49 b	56.20 b	13.88 b	47.60 b

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4.3.2 ผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส มาศึกษาผลของใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน ซึ่งน้ำตาลที่ใช้ศึกษา ได้แก่ กลูโคส ซูโครส มอลโตส ฟรักโตส และอะราบิโนส ตามลำดับ โดยใช้ที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร ใช้ร่วมกับเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 7.5 กรัมต่อลิตร

ผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรนที่มีต่อเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.15-4.16 จากการทดลองพบว่า การใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรนส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงกว่าการใช้น้ำตาลชนิดนั้นๆ เป็นแหล่งคาร์บอนแต่เพียงอย่างเดียว แต่กิจกรรมของเอนไซม์ที่เพิ่มขึ้นนั้นต่ำกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 35,524.23 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับการใช้กลูโคสร่วมกับเด็กซแตรน ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 24,837.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะ การใช้มอลโตสร่วมกับเด็กซแตรนให้กิจกรรมของเอนไซม์ 23,530.84 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การใช้ซูโครสร่วมกับเด็กซแตรนให้กิจกรรมของเอนไซม์ 20,438.30 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การใช้ฟรักโตสร่วมกับเด็กซแตรนให้กิจกรรมของเอนไซม์ 22,916.30 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การใช้อะราบิโนสร่วมกับเด็กซแตรนให้กิจกรรมของเอนไซม์ 21,350.28 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง โดยที่กิจกรรมของเอนไซม์จะเกิดในวันที่ 1-2 ของการเพาะเลี้ยงภายหลังจากน้ำตาลที่เติมเริ่มลดลง สำหรับการเจริญของเชื้อ พบว่า น้ำตาลทุกชนิดที่ใช้ร่วมกับเด็กซแตรน

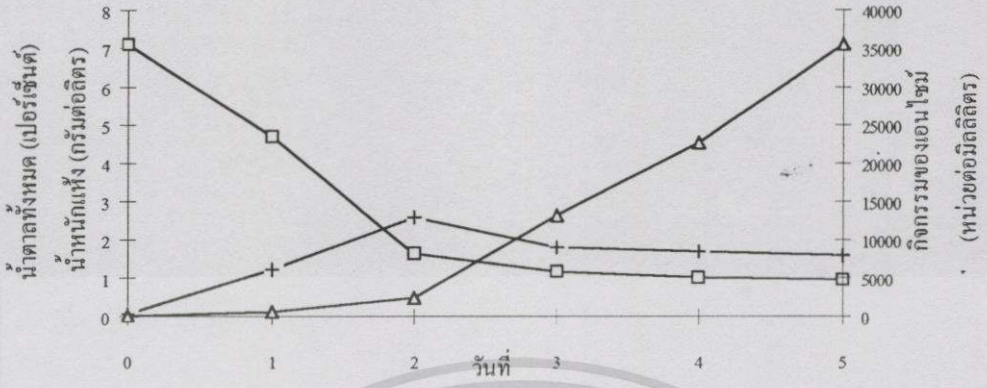
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ซึ่งให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.58 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การใช้กลูโคสร่วมกับเด็กซแตรนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.80 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การใช้มอลโตสร่วมกับเด็กซแตรนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.78 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการพาะเลี้ยง การใช้ซูโครสร่วมกับเด็กซแตรนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.82 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การใช้ฟรักโตสร่วมกับเด็กซแตรนให้น้ำหนักเซลล์ 2.89 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การใช้อะราบิโนสร่วมกับเด็กซแตรนให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.69 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับค่าพีเอชของน้ำหมัก พบว่า มีการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน คือ ในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง พีเอชของน้ำหมักเพิ่มขึ้นในช่วง 6.3-6.5 และลดลงในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง โดยอยู่ในช่วง 3.8-5.3 หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นในลักษณะคงที่ ซึ่งพีเอชของน้ำหมักในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง อยู่ในช่วง 6.2-6.5 จากการเปรียบเทียบผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรนทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การใช้เด็กซแตรนเป็นหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสแตกต่างจากการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน และการใช้กลูโคสร่วมกับเด็กซแตรนให้ผลของการผลิตเอนไซม์แตกต่างจากการใช้น้ำตาลชนิดอื่นๆ ร่วมกับเด็กซแตรน ดังแสดงในตารางที่ 4.8

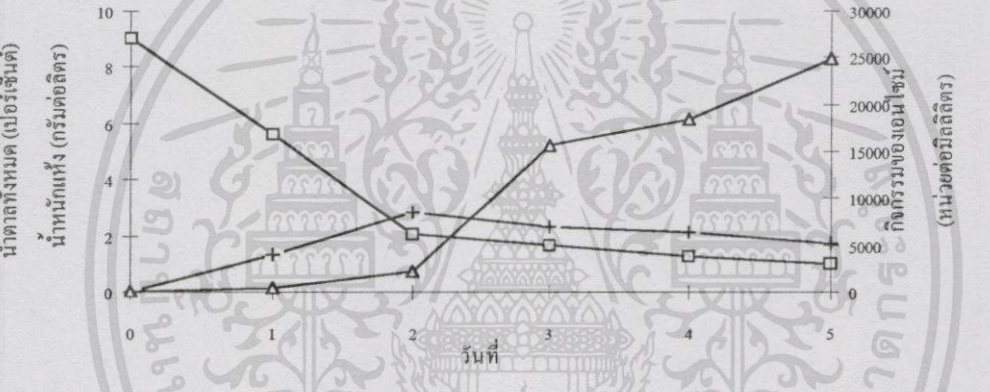
จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า น้ำตาลบางชนิดที่เติมร่วมกับเด็กซแตรนเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอน ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ โดยให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่เกิดขึ้นจากการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน พบว่า เริ่มเกิดขึ้นในช่วงวันที่ 1-2 ของการเพาะเลี้ยงภายหลังจากที่น้ำตาลที่เติมเริ่มลดลง ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดขึ้นจะต่ำกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก น้ำตาลที่เติมลงไปมีโมเลกุลเล็ก เชื้อสามารถใช้ได้ดีกว่าการใช้เด็กซแตรนซึ่งมีโมเลกุลใหญ่ ดังนั้นจึงใช้น้ำตาลเหล่านี้ก่อนเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ หลังจากที่น้ำตาลเริ่มลดลงจึงผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสออกมาย่อยเด็กซแตรนเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป จากการเปรียบเทียบระยะเวลาของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่า การใช้กลูโคสร่วมกับเด็กซแตรน ให้ผลของการผลิตเอนไซม์เร็วกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ โดยกิจกรรมของเอนไซม์ที่เริ่มปรากฏในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยงจะสูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ได้จากการใช้น้ำตาลชนิดอื่นๆ และปริมาณน้ำตาล (total sugar) ของอาหารที่เติมกลูโคสในช่วงวันที่ 1-2 ของการเพาะเลี้ยง ลดลงเร็วกว่าในอาหารที่เติมน้ำตาลชนิดอื่นๆ ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจาก กลูโคสเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดียว เชื้อสามารถใช้ได้ง่ายและเร็วกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ ดังนั้นกลูโคสที่เติมลงไปจึงลดลงเร็วกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ เป็นผลให้มีการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสออกมาย่อยเด็กซแตรนได้เร็วกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

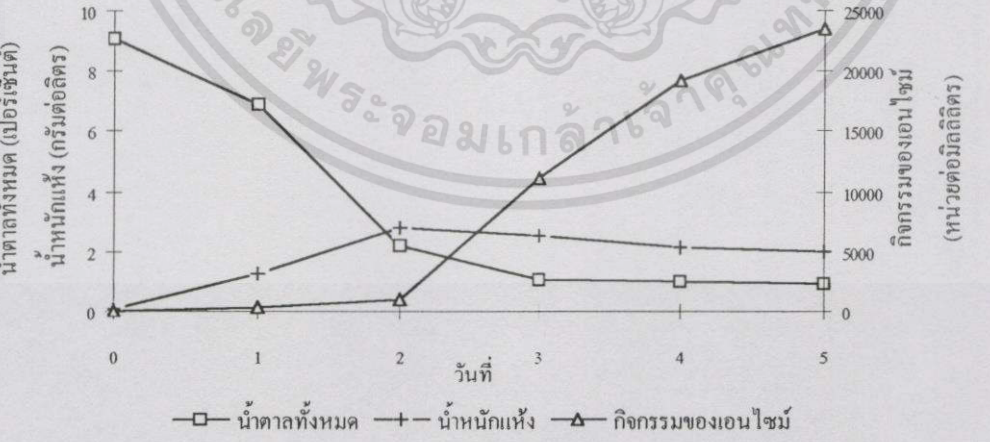
ก)



ข)



ค)



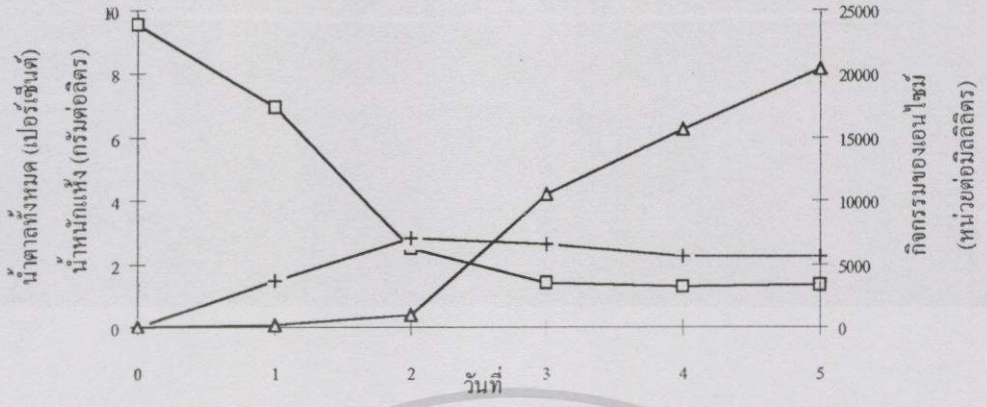
รูปที่ 4.15 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน

ก) เด็กซแตรนเพียงอย่างเดียว ข) กลูโคสร่วมกับเด็กซแตรน

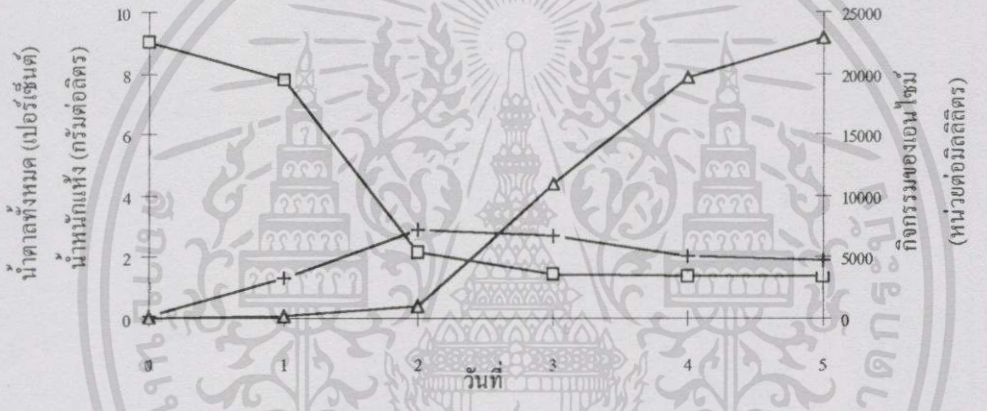
ค) มอลโตสร่วมกับเด็กซแตรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

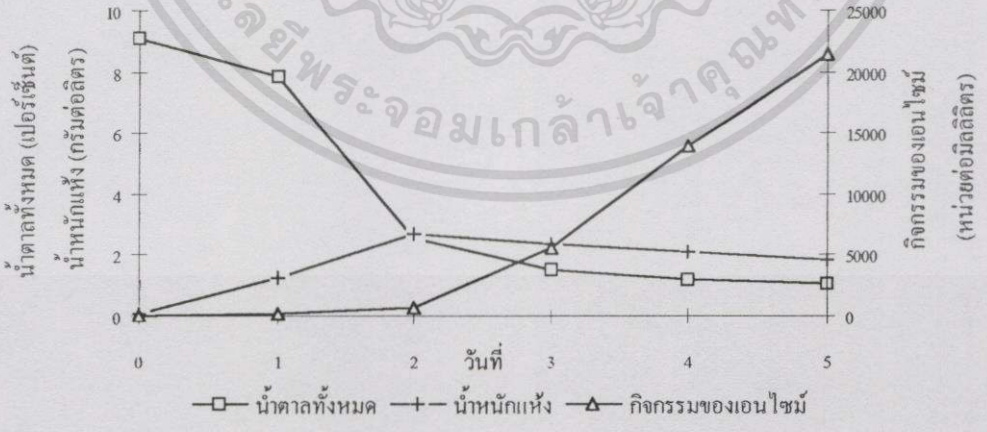
ก)



ข)



ค)



รูปที่ 4.16 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน

ก) ซูโครสร่วมกับเด็กซแตรน ข) ฟรักโตสร่วมกับเด็กซแตรน

ค) อะราบิโนสร่วมกับเด็กซแตรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 แสดงการเปรียบเทียบผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรนที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

เติมเด็กซแตรนร่วมกับ	ไม่เติม	กลูโคส	ซูโครส	มอลโตส	ฟรักโตส	อะราบิโนส
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	35,524.23 a	24,837.00 b	20,438.30 c	23,530.84 c	22,916.30 c	21,350.28 c

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ

ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4.3.3 ผลของการใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับเด็กซแตรน

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมาศึกษาผลของน้ำตาลกลูโคส โดยการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.0 2.0 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ร่วมกับเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 7.5 กรัมต่อลิตร

ผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสที่มีต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.17-4.18 จากการทดลองพบว่า การเติมกลูโคสร่วมกับเด็กซแตรนส่งผลให้การเจริญของเชื้อเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกลูโคส ซึ่งการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุด คือ 4.10 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 3 ของการเพาะเลี้ยง รองลงมา คือ การเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 3.41 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.72 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง การเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.64 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ให้น้ำหนักเซลล์แห้ง 2.52 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส พบว่า การเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นต่ำๆ คือ 1.0 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์จะสูงที่สุด คือ 40,572.70 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง ซึ่งกิจกรรมของเอนไซม์สูงกว่าการใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว ซึ่งให้กิจกรรมของเอนไซม์ 36,938.30 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง แต่เมื่อเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นสูงกว่า 1.0 กรัมต่อลิตร ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง โดยการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 22,837.00 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคสที่ความเข้มข้น 5.0 กรัมต่อลิตร ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 9,931.70 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง การเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร ให้กิจกรรมของเอนไซม์ 6,588.10 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับค่าพีเอชของน้ำหมัก พบว่ามีการเปลี่ยนแปลงไปในทางเดียวกัน คือ ในวันที่ 1 ของการเพาะเลี้ยง พีเอชของน้ำหมักเพิ่มขึ้นในช่วง 4.4-6.4 และลดลงในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง โดยอยู่ในช่วง 4.3-5.9 หลังจากนั้นจะเพิ่มขึ้นในลักษณะคงที่ ซึ่งในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยง มีค่าพีเอชอยู่ในช่วง 6.1-6.5 จากการเปรียบเทียบผลของการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ทางสถิติ โดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า การเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆให้ผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การเติมน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นสูงๆ คือ 5.0 กรัมต่อลิตร และ 10.0 กรัมต่อลิตร ให้ผลผลิตของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในวันที่ 5 ของการเพาะเลี้ยงต่ำกว่าเมื่อเติมน้ำตาลกลูโคสที่ 1.0 กรัมต่อลิตร และ 2.0 กรัมต่อลิตร โดยพบว่าในช่วงแรกของการเจริญ จะไม่มีการผลิตเอนไซม์เกิดขึ้นเลย เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสทำให้เกิดกระบวนการคะตะบอไลต์ รีเพรสชั่น (catabolite repression) เมื่อน้ำตาลกลูโคสถูกใช้หมดไป จึงพบการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในวันที่ 2 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตร แล้วส่งผลให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงขึ้นนั้น อาจเป็นผลมาจาก กลูโคสที่เติมลงไปมีความเข้มข้นต่ำ เชื้อสามารถใช้เพื่อการสร้างเซลล์ได้หมดในระยะเวลาอันรวดเร็ว จึงไม่มีผลไปกดการผลิตเอนไซม์ ในขณะเดียวกันปริมาณกลูโคสที่ความเข้มข้นต่ำๆ ช่วยส่งเสริมการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์ ในระยะแรกของการเจริญ

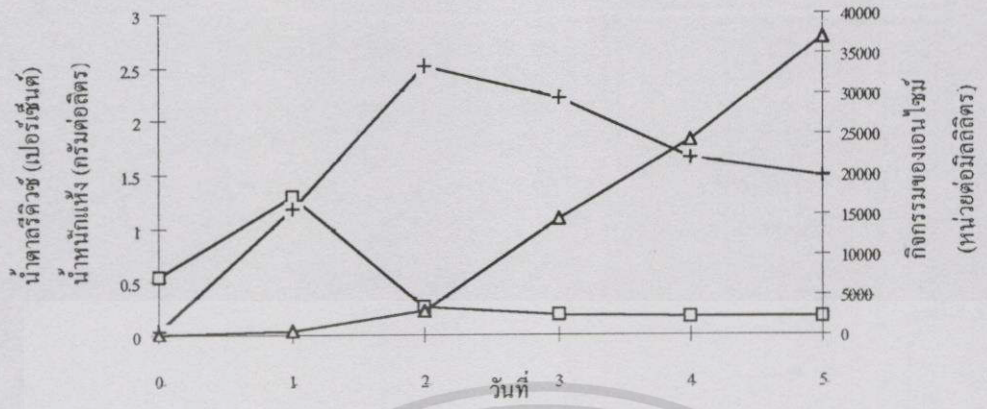
ตารางที่ 4.9 แสดงการเปรียบเทียบผลของการเติมกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

ความเข้มข้นของกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ไม่เติม	1.0	2.0	5.0	10.0
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	36,938.30 a	40,572.70 b	22,837.00 c	9,931.70 d	6,588.10 e

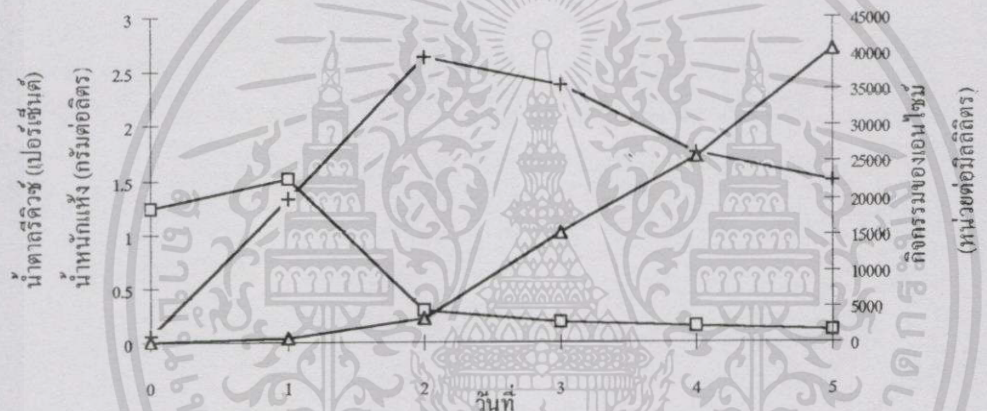
กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

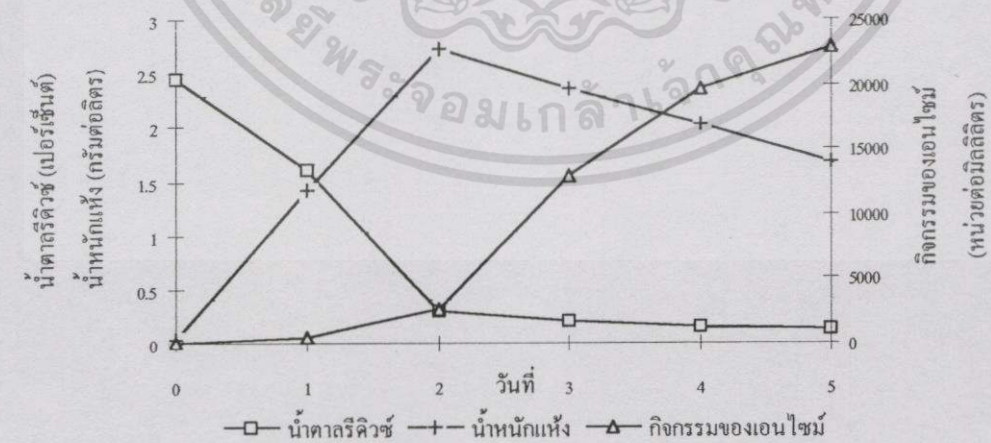
ก)



ข)



ค)

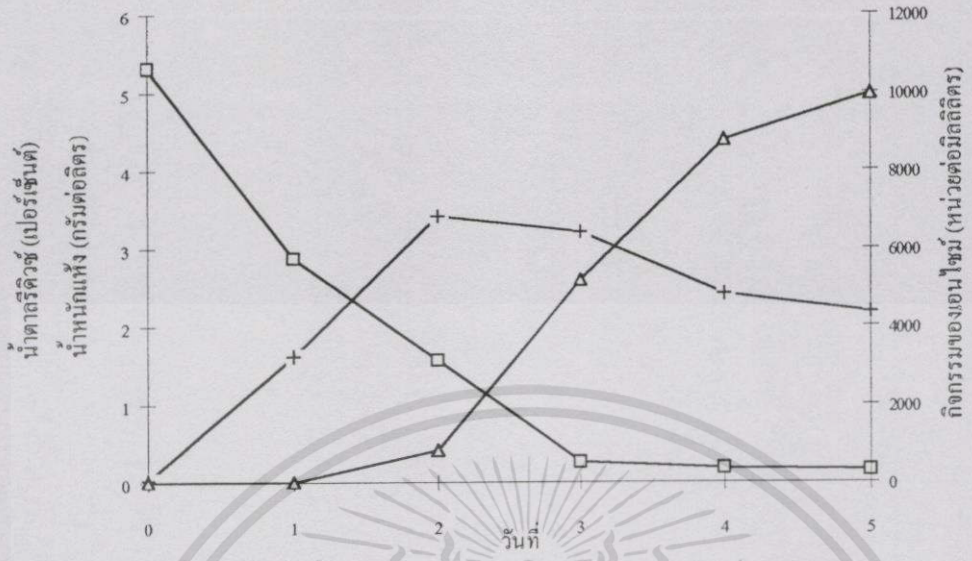


รูปที่ 4.17 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนร่วมกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น

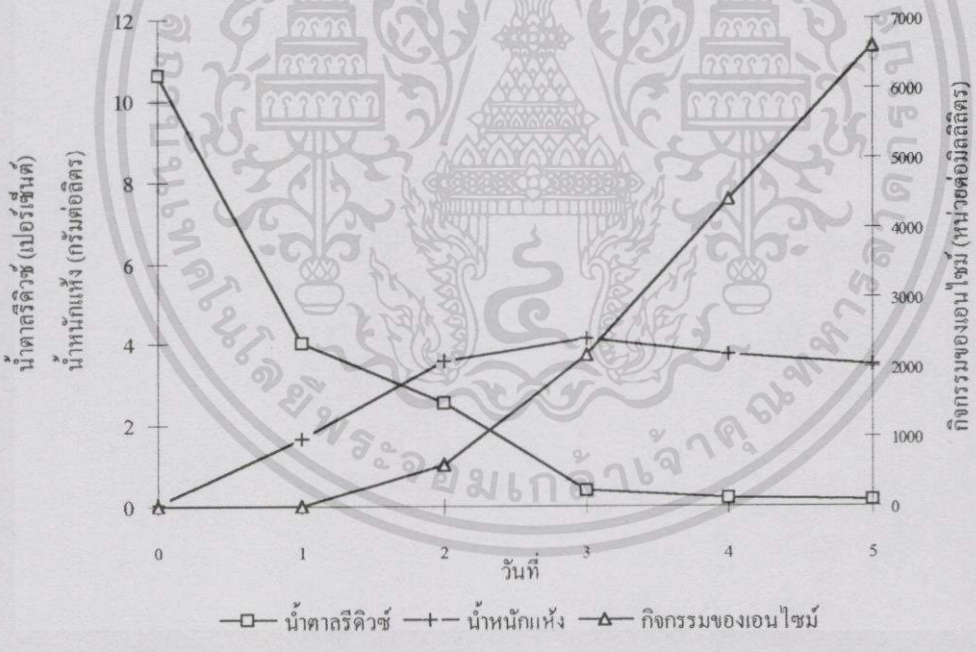
ก) ไม่เติมกลูโคส ข) 1.0 กรัมต่อลิตร ค) 2.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)



รูปที่ 4.18 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเมื่อใช้เด็กซแตรนร่วมกับน้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้น

ก) 5.0 กรัมต่อลิตร ข) 10.0 กรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าและในระดับถังหมักแบบแบตช์

นำสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส มาศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์ในระดับฟลาสก์เขย่าปริมาตร 250 มิลลิลิตร และในถังหมักปริมาตร 5 ลิตร

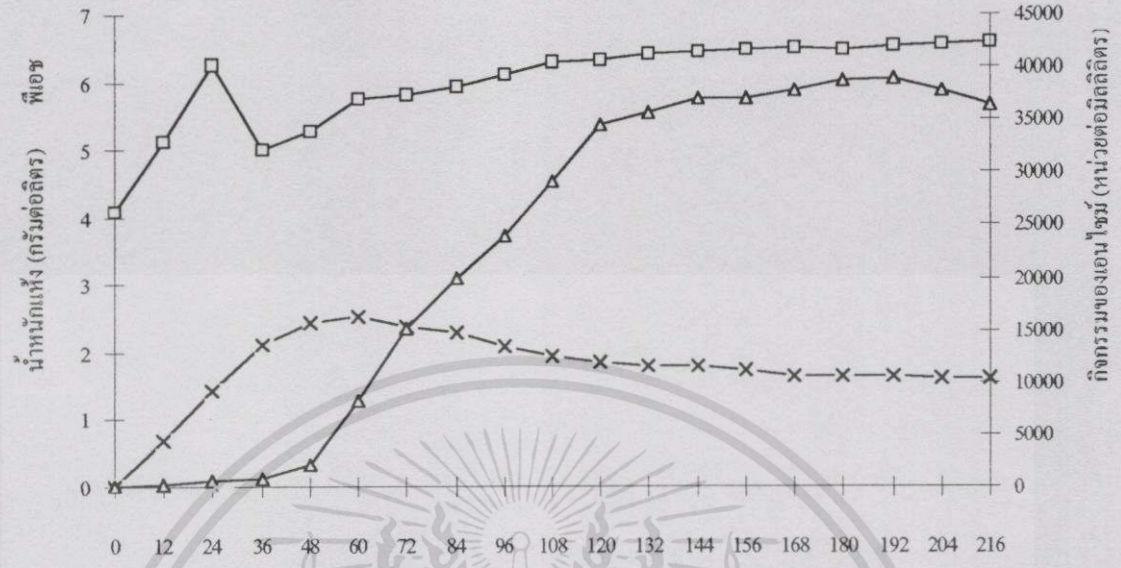
ผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าและในระดับถังหมักแสดงในรูปที่ 4.19 จากการทดลองในระดับฟลาสก์เขย่า พบว่า การเจริญของ *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 เกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 48 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง และมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 2.52 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 54 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นน้ำหนักเซลล์แห้งจะลดลง โดยมีน้ำหนักเซลล์แห้ง 1.62 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 216 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส เริ่มปรากฏอย่างชัดเจนในชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 584.10 หน่วยต่อมิลลิลิตร และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีกิจกรรมสูงที่สุด คือ 38,933.90 หน่วยต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 192 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลง โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 36,361.20 หน่วยต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 216 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนพีเอชของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นจาก 4.1 เป็น 6.3 ในชั่วโมงที่ 27 ของการเพาะเลี้ยง และลดลงจากเหลือ 4.9 ในชั่วโมงที่ 33 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นพีเอชของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นในระดับคงที่ โดยมีพีเอช 6.7 ในชั่วโมงที่ 219 ของการเพาะเลี้ยง

ส่วนในระดับถังหมัก พบว่า การเจริญของเชื้อเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 48 ชั่วโมงแรกของการเพาะเลี้ยง และมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 2.42 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 57 ของการเพาะเลี้ยง สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเริ่มปรากฏอย่างชัดเจนในชั่วโมงที่ 27 ของการเพาะเลี้ยง โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 556.83 หน่วยต่อมิลลิลิตร และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนมีกิจกรรมสูงที่สุด คือ 37,993.88 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 192 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นกิจกรรมของเอนไซม์จะลดลง โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์ 35,251.10 หน่วยต่อมิลลิลิตรในชั่วโมงที่ 216 ของการเพาะเลี้ยง ส่วนพีเอชของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นจาก 4.0 เป็น 6.5 ในชั่วโมงที่ 27 ของการเพาะเลี้ยง และลดลงเหลือ 4.4 ในชั่วโมงที่ 48 ของการเพาะเลี้ยง หลังจากนั้นพีเอชของน้ำหมักจะเพิ่มขึ้นในระดับคงที่ โดยมีพีเอช 6.5 ในชั่วโมงที่ 216 ของการเพาะเลี้ยง จากการเปรียบเทียบกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่เกิดขึ้นจากการหมักทั้ง 2 แบบ ทางสถิติโดยวิธี DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 99 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสไม่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.10

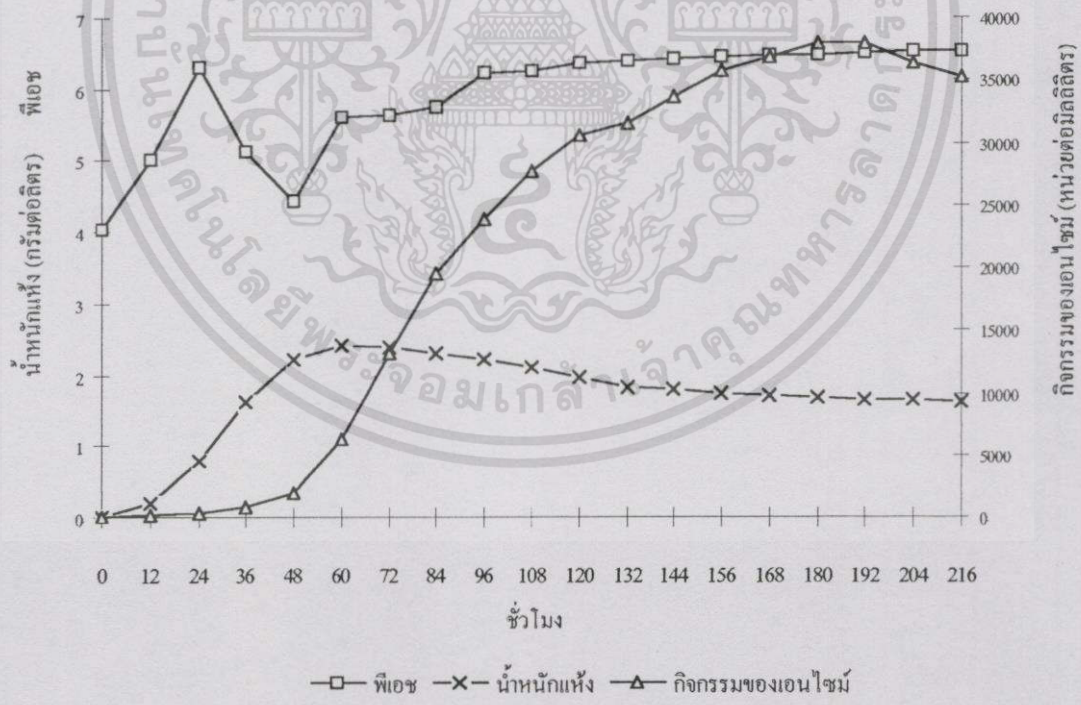
จากการทดลองแสดงให้เห็นว่า ลักษณะของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าและในระดับถังหมัก มีความคล้ายคลึงกัน คือการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสไม่สัมพันธ์กับการเจริญ โดยกิจกรรมของเอนไซม์จะสูงที่สุดภายหลังจากที่ปริมาณเซลล์ลดลง ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก)



ข)



รูปที่ 4.19 แสดงผลของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

ก) ฟลาสก์เขย่าปริมาตร 250 มิลลิลิตร ข) ถังหมักปริมาตร 5 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะของการผลิตเอนไซม์สอดคล้องกับผลการศึกษาของ Kosaric *et al.* (1973) ที่ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการสร้างเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium funiculosum* โดยพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจะสูงที่สุด ภายหลังจากที่ปริมาณเซลล์ลดลง นอกจากนี้ได้อธิบายการปลดปล่อยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสว่า การสร้างและการสะสมเอนไซม์เด็กซแตรนเนสเกิดขึ้นในส่วนของเซลเมมเบรน ซึ่งถูกปลดปล่อยออกสู่ภายนอกเซลล์ในขณะเจริญเติบโต เพื่อย่อยเด็กซแตรนให้มีโมเลกุลที่เหมาะสมที่จะดูดซึมเข้าสู่เซลล์เมมเบรนได้ เมื่อเด็กซแตรนหมดลงจะไม่มีการปลดปล่อยเอนไซม์ออกสู่ภายนอก เอนไซม์ที่เหลืออยู่จะถูกสะสมในส่วนของเซลล์เมมเบรน และจะถูกปลดปล่อยออกมาเมื่อเซลล์มีการสลายตัว Galvez-Mariscal and Lopez-Munguia (1991) รายงานว่ารูปแบบของการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Paecilomyces lilacinus* ไม่สัมพันธ์กัน โดยกิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุดภายหลังจากที่ปริมาณเซลล์สูงสุดไปแล้ว 4 วัน

ตารางที่ 4.10 แสดงการเปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่าและในระดับถังหมัก

รูปแบบของการหมัก	ฟลาสก์เขย่า	ถังหมัก
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	38,933.90 a	37,993.88 a

กำหนดให้ ตัวอักษรเหมือนกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ
ตัวอักษรต่างกัน หมายถึง กิจกรรมของเอนไซม์มีความแตกต่างกันทางสถิติ

4.5 ผลการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

4.5.1 ผลของการเตรียมตัวอย่างสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

นำน้ำหมักที่ได้จากการบ่ม *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 ในระดับฟลาสก์เขย่า เป็นเวลานาน 7 วัน มากรองเพื่อแยกส่วนที่เป็นตัวเซลล์ออก พบว่า ส่วนที่เป็นน้ำใสมีปริมาตร 1,800 มิลลิลิตร มีกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 60,898,678.00 หน่วย และมีกิจกรรมจำเพาะ 15,651.24 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน หลังจากนั้นนำส่วนที่เป็นน้ำใสมาตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 0-40 40-60 และ 60-80 ตามลำดับ พบว่า การตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 0-40 พบกิจกรรมของเอนไซม์ 983,259.88 หน่วย และมีกิจกรรมจำเพาะ 1,520.20 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน การตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 40-60 พบกิจกรรมของเอนไซม์ 3,171,806.10 หน่วย และมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิจกรรมจำเพาะ 10,816.80 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ส่วนการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 60-80 พบกิจกรรมของเอนไซม์ 26,167,400.00 หน่วย และมีกิจกรรมจำเพาะ 154,681.10 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน จากการการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัวต่างๆ พบว่า การตกตะกอนที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 60-80 ได้ตะกอนที่มีกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงที่สุด จึงนำตะกอนมาละลายใน 0.05 โมลาร์ของซิเตรท-ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (citrate-phosphate buffer) ที่พีเอช 5.0 ปริมาตร 40 มิลลิลิตรแล้วจึงทำการไดอะไลซีสในน้ำกลั่นที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง สารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้หลังจากการไดอะไลซีสมีปริมาตร 60 มิลลิลิตร มีกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส 18,502,202.00 หน่วย และมีกิจกรรมจำเพาะ 170,889.46 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 10.9 เท่า และได้ผลิตผลของเอนไซม์ 30.4 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งความบริสุทธิ์และผลิตผลของเอนไซม์ที่ได้ในแต่ละขั้นตอน แสดงในตารางที่ 4.11

Hiraoka *et al.* (1972) รายงานการตกตะกอนเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Aspergillus carneus* ด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 80 เป็นเวลา 24 ชั่งโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่าภายหลังการไดอะไลซีส เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 9.5 เท่า และให้ผลิตผลของเอนไซม์ 54.3 เปอร์เซ็นต์ Simonson *et al.* (1975) รายงานการตกตะกอนเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Fusarium moniliforme* ด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 30-90 ภายหลังการไดอะไลซีส เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 27 เท่า และให้ผลิตผลของเอนไซม์ 55.2 เปอร์เซ็นต์ Pulkownik and Walker (1977) ศึกษาความบริสุทธิ์ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Streptococcus mutans* K1-R ภายหลังการตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 20-80 พบว่าเอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 13 เท่า และให้ผลิตผลของเอนไซม์ 52 เปอร์เซ็นต์ Hattori *et al.* (1981) ทำการกรองเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Chaetomium gracile* ด้วยดูโอไลต์ เอ-2 (Duolite A-2) หลังจากนั้นนำมาตกตะกอนด้วยเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว 80 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า ภายหลังการไดอะไลซีส เอนไซม์มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 9.9 เท่า และให้ผลิตผลของเอนไซม์ 51.9 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

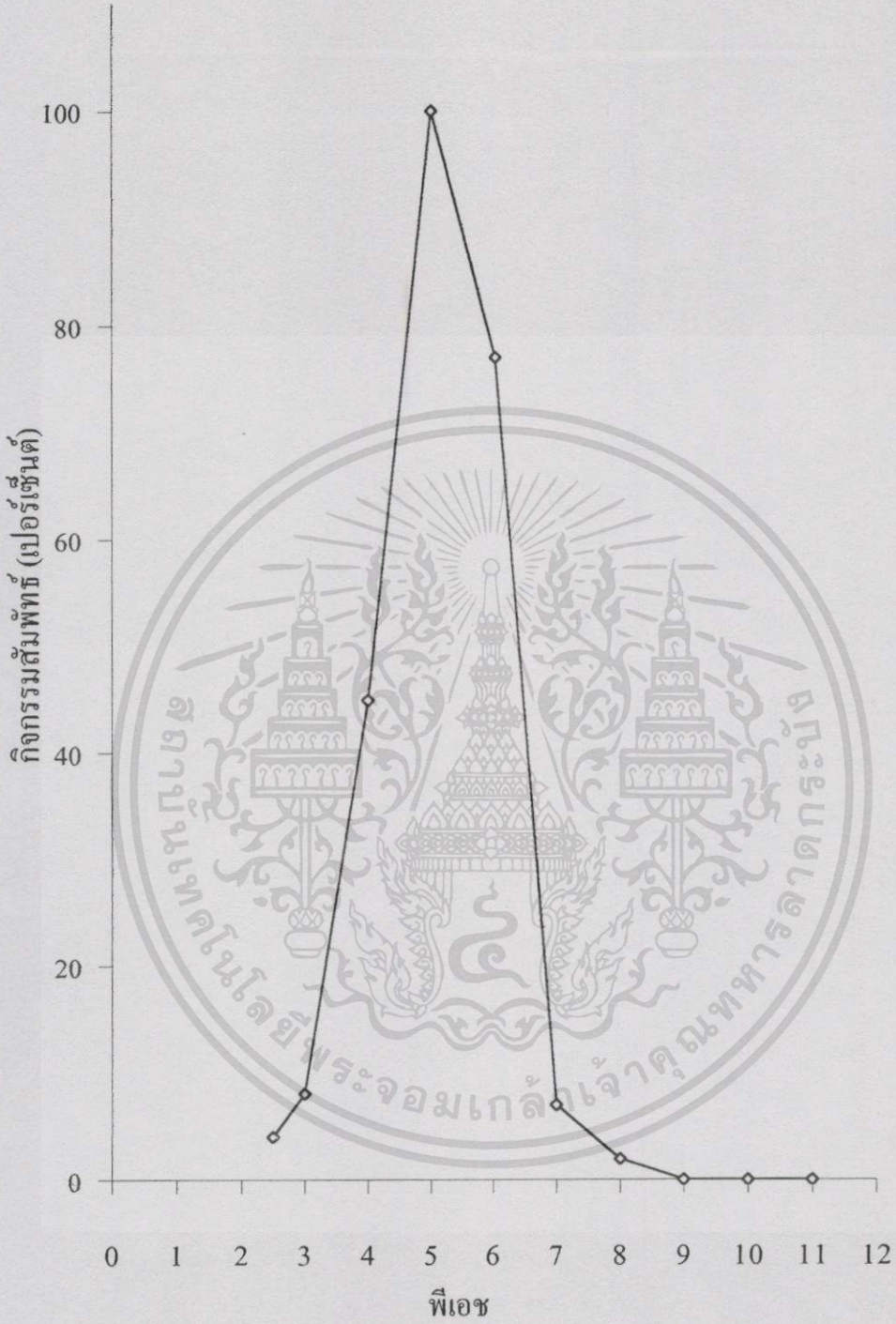
ตารางที่ **4.11** แสดงผลของการตกตะกอนเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในแต่ละขั้นตอน

ขั้นตอน	กิจกรรมทั้งหมด (หน่วย)	โปรตีนทั้งหมด (มิลลิกรัม)	กิจกรรมจำเพาะ (หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	ความบริสุทธิ์ (เท่า)	ผลิตผล (เปอร์เซ็นต์)
เอนไซม์ก่อนตกตะกอน	60,898,678.00	3,890.98	15,651.24	1.0	100
เปอร์เซ็นต์อิ่มตัวของแอมโมเนียมซัลเฟต					
0-40	983,259.88	646.80	1,520.20	0.1	1.6
40-60	3,171,806.10	293.23	10,816.80	0.7	5.2
60-80	26,167,400.00	169.20	154,681.10	9.8	43.0
ไดอะไลซีส	18,502,202.00	108.27	170,889.46	10.9	30.4

4.5.2 ผลการศึกษาพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

ผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.20 จากการทดลองพบว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส คือ 5.0 ที่พีเอช 6.0 กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 77 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่พีเอช 4.0 กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 45 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่พีเอชต่ำกว่า 4.0 และสูงกว่า 6.0 พบว่าเอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ (denature) โดยที่พีเอช 3.0 กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 8 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่พีเอช 2.5 กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 4 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่พีเอช 7.0 กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 7 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่พีเอช 8.0 กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 2 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด และที่พีเอช 9.0 10.0 และ 11.0 ไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ ซึ่งผลของพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสอดคล้องกับเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Penicillium luteum* (Fukumoto *et al.*, 1971) *Penicillium roquefortii* (Hattori and Ishibashi, 1981) *Lipomyces starkeyi* (Koenig and Day, 1989) และ *Sporothrix schenckii* IP-29 (Arnold *et al.*, 1998) ที่รายงานว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส คือ 5.0 สำหรับพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Chaetomium gracile* (Hattori *et al.*, 1981) *Fusarium moniliforme* (Simonson *et al.*, 1975) และ *Penicillium purpurogenum* (Minakova and Probrazhenskaya, 1980) คือ 5.5 Sugiura and Ito (1973) รายงานว่า พีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium funiculosum* คือ 6.0 Lee and Fox (1985) รายงานว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 แสดงผลของพีเอชต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เด็กซแตรนเนสจาก *Paecilomyces lilacinus* คือ 4.5 Shimizu *et al.* (1998) รายงานว่าพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Fusarium* sp. คือ 6.5 Sugira and Ito (1973) สรุปว่า ส่วนใหญ่เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจากเชื้อรามีพีเอชที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส อยู่ในช่วงที่เป็นกรดคือ 4.5-6.5

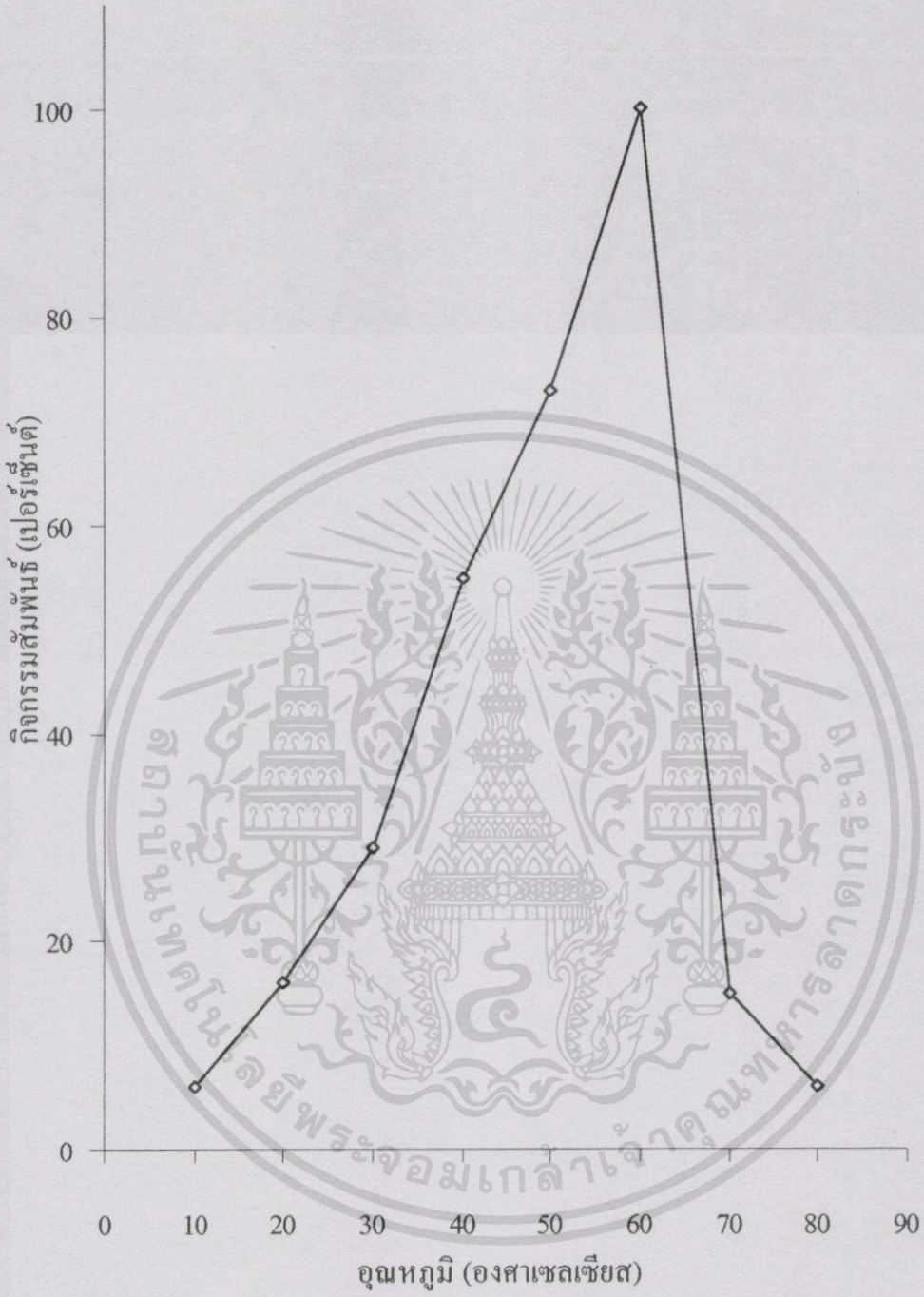
4.5.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูปที่ 4.21 จากการทดลอง พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส คือ 60 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 73 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 55 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 40 องศาเซลเซียสและสูงกว่า 60 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 29 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 16 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 6 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 15 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์ลดลงเหลือ 6 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมสูงสุด ซึ่งผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสอดคล้องกับเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Aspergillus carneus* (Hiraoka *et al.*, 1972) และ *Paecilomyces lilacinus* (Galvez-Mariscal and Lopez-Munguia, 1991) ที่รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส คือ 60 องศาเซลเซียส สำหรับเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium funiculosum* (Kosaric *et al.*,1973) *Fusarium moniliforme* (Simonson *et al.*, 1975) *Lipomyces starkeyi* (Koenig and Day, 1989) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ คือ 55 องศาเซลเซียส Fukumoto *et al.* (1971) รายงานว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium luteum* คือ 50 องศาเซลเซียส Hattori *et al.* (1981) รายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Chaetomium gracile* คือ 65 องศาเซลเซียส

4.5.4 ผลการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่พีเอชต่างๆ

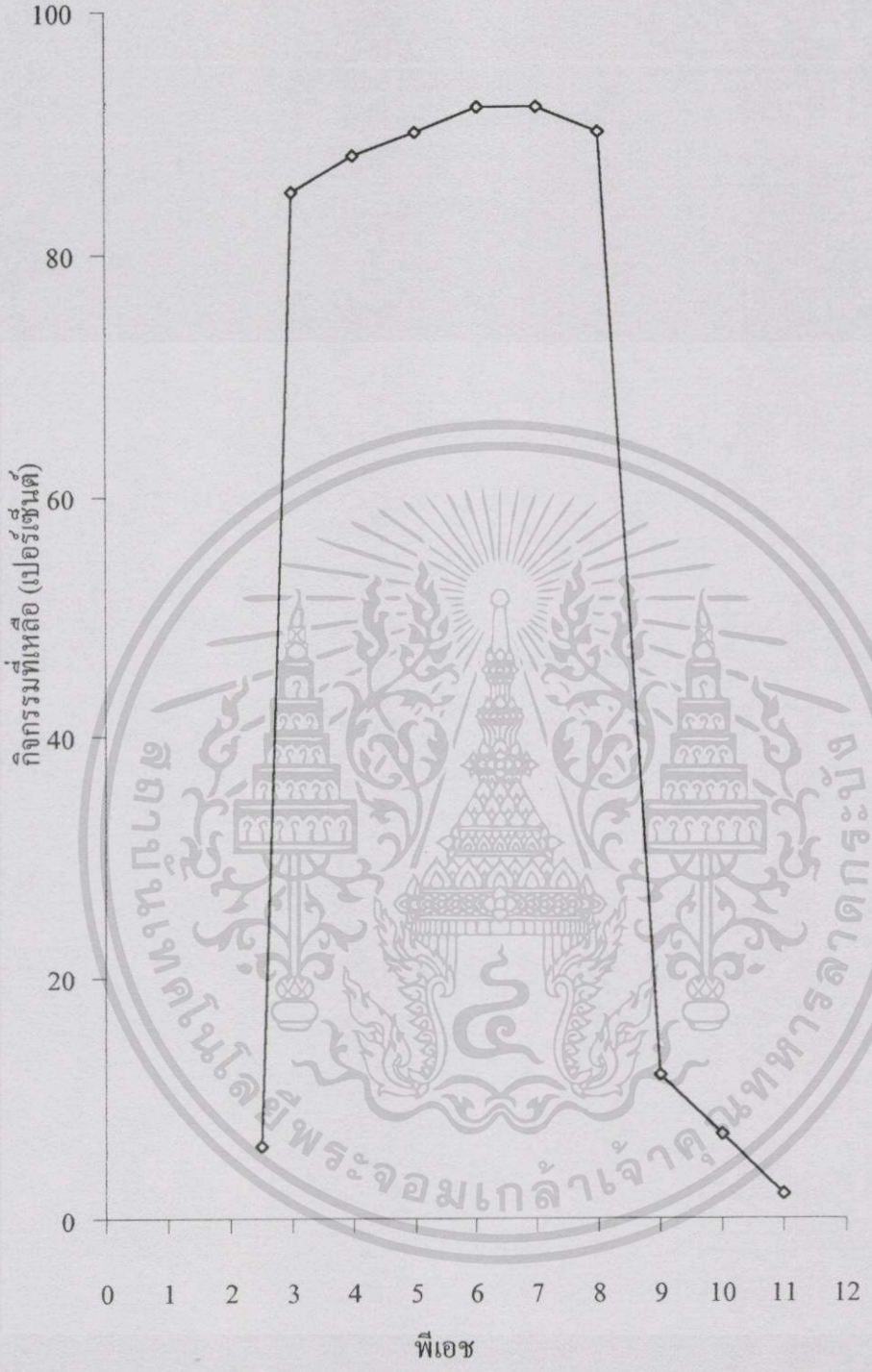
ผลของพีเอชต่างๆ ที่มีต่อความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูป 4.22 จากการทดลอง พบว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 3.0-8.0 โดยมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือ ประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น ที่พีเอช 2.5 และสูงกว่า 8.0 พบว่าเอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติเอนไซม์ โดยที่พีเอช 2.5 มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ 6 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น ที่พีเอช 9.0 มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ 12 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.21 แสดงผลของอุณหภูมิต่างๆ ต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 แสดงความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่พีเอชต่างๆ

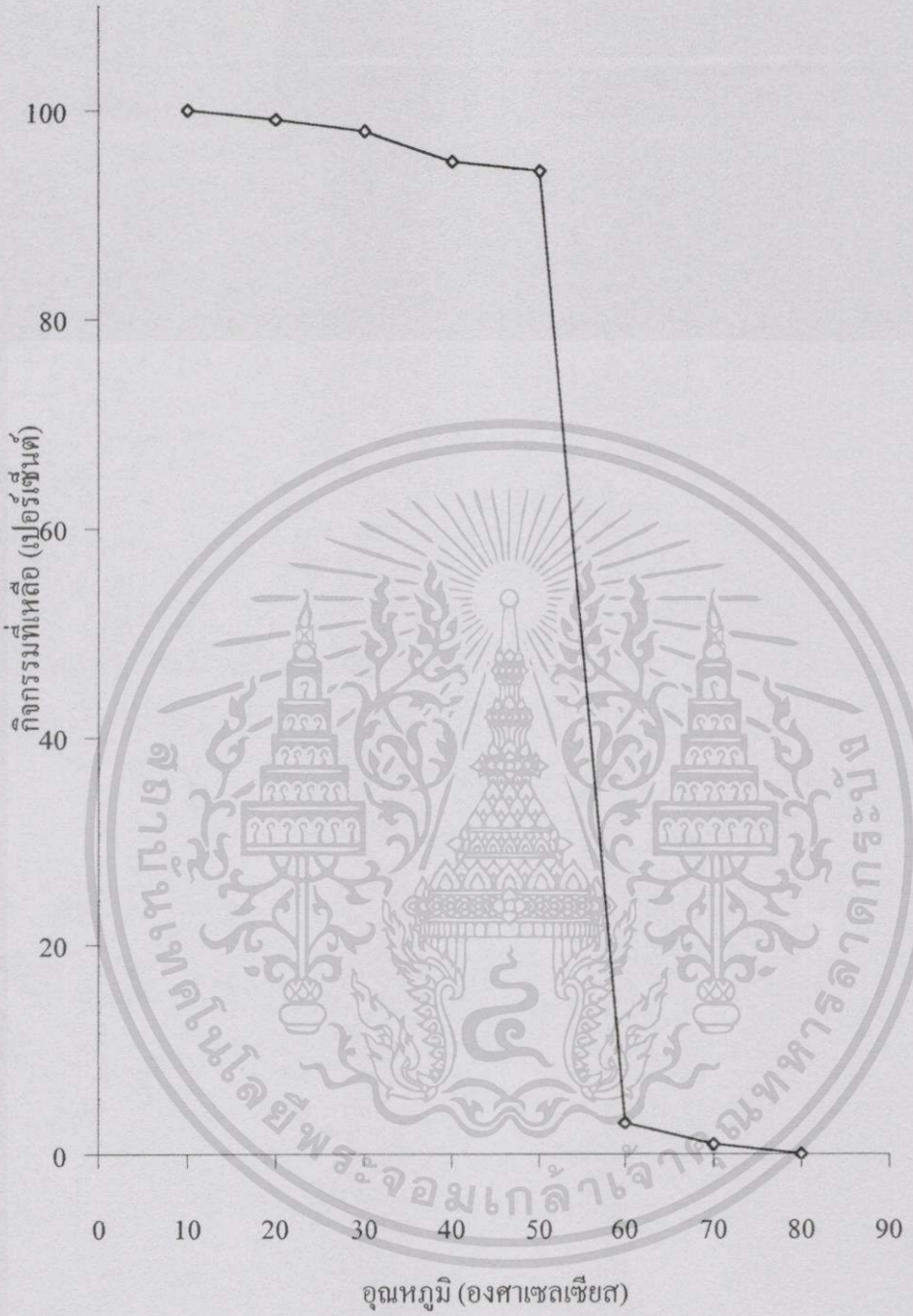
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่พีเอช 10.0 มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ 7 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น และที่พีเอช 11.0 มีกิจกรรมของเอนไซม์ที่เหลือ 2 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น ซึ่งผลของความคงตัวของเอนไซม์สอดคล้องกับ Fukumoto *et al.* (1971) ที่รายงานว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium luteum* มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 3.5-7.5 Hiraoka *et al.* (1972) รายงานว่าเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Aspergillus carneus* มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 4.5-9.0 Hattori and Ishibashi (1981) รายงานว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium roqefortii* มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 4.0-8.0 Webb and Spencer-Martins (1983) รายงานว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Lipomyces starkeyi* มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 3.5-7.5 Shimizu *et al.* (1998) รายงานว่าเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Fusarium* sp. มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 4.5-11.8 Arnold *et al.* (1998) รายงานว่าเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Sporothrix schenckii* IP-29 มีความคงตัวต่อพีเอชในช่วง 4.5-10.5

4.5.5 ผลการศึกษาความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่อุณหภูมิต่างๆ

ผลของอุณหภูมิต่างๆ ที่มีต่อความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในรูป 4.23 จากการทดลองพบว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีความคงตัวต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส โดยมีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือประมาณ 96 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น ที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส พบว่าเอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ โดยที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือ 3 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส มีกิจกรรมเอนไซม์ที่เหลือ 1 เปอร์เซ็นต์ของกิจกรรมเริ่มต้น และที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ ซึ่งผลของความคงตัวต่ออุณหภูมิของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส สอดคล้องกับเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium luteum* (Fukumoto *et al.*, 1971) *Aspergillus carneus* (Hiraoka *et al.*, 1972) *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum* (Sugiura *et al.*, 1974) *Penicillium aculeatum* (Madha and Prabhu, 1983) และ *Streptomyces* sp. J-13-3 (Okazaki *et al.*, 1992) ที่รายงานว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีความคงตัวต่ออุณหภูมิที่ต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Fusarium moniliforme* (Simonson *et al.*, 1975) และ *Chaetomium gracile* (Hattori *et al.*, 1981) มีความคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 55 องศาเซลเซียส สำหรับเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium funiculosum* (Sugiura and Ito, 1973) และ *Fusarium* sp. (Shimizu *et al.*, 1998) มีความคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 45 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.23 แสดงความคงตัวของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.6 ผลของโลหะและเกลืออนินทรีย์ที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

ผลของโลหะและเกลืออนินทรีย์ที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส แสดงในตารางที่ 4.12 จากการทดลองพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์ถูกยับยั้งอย่างสมบูรณ์โดยเมอร์คิวรี (II) อิออน (Hg^{2+}) และ ซิลเวอร์(I)อิออน (Ag^{+}) รองลงมา คือ เลด(II)อิออน (Pb^{2+}) และคอปเปอร์(II)อิออน (Cu^{2+}) ซึ่งมีผลทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เหลืออยู่ 31 และ 54 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ส่วนโลหะและเกลืออนินทรีย์ชนิดอื่นๆ มีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เพียงเล็กน้อย

Lee and Fox (1985) ศึกษาสาเหตุของโลหะและเกลืออนินทรีย์ที่ทำให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสลดลง เนื่องจากเอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีหมู่ซัลไฟดริล ซึ่งโลหะเช่น เมอร์คิวรี(II)อิออน (Hg^{2+}) ซิลเวอร์(I)อิออน (Ag^{+}) คอปเปอร์(II)อิออน (Cu^{2+}) และเลด(II)อิออน(Pb^{2+}) จะไปยับยั้งปฏิกิริยาของเอนไซม์ในลักษณะของตัวยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (non-competitive inhibitors) โดยเข้าจับกับหมู่ซัลไฟดริลของเอนไซม์ แล้วส่งผลให้โครงรูปของเอนไซม์เปลี่ยน จึงทำให้ประสิทธิภาพในการเร่งปฏิกิริยาหมดไป ถึงแม้ว่าเอนไซม์ยังสามารถจับกับสับสเทรทไว้ได้ก็ตาม Okazaki *et al.* (1992) รายงานว่ากิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Streptomyces* sp. J-13-3 ถูกยับยั้งโดย เมอร์คิวรี(I) อิออน (Hg^{+}) เมอร์คิวรี(II)อิออน (Hg^{2+}) และพารา-คลอโรเมอร์คิวรีเบนโซอิค แอซิด (*p*-CMB) แสดงให้เห็นว่า หมู่ซัลไฟดริลมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ เนื่องจากสารเหล่านี้จะเข้าไปทำปฏิกิริยากับ –SH (หมู่ซัลไฟดริล) แล้วทำให้ความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ลดลง Kosaric *et al.* (1973) รายงานว่า เมอร์คิวรี(II) อิออน (Hg^{2+}) และซิลเวอร์(I)อิออน (Ag^{+}) ที่ความเข้มข้น 0.001 โมลาร์ และคอปเปอร์(II)อิออน (Cu^{2+}) ที่ความเข้มข้น 0.01 โมลาร์ สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium funiculosum* อย่างสมบูรณ์ Staat and Schachtele (1975) รายงานว่า กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Actinomyces israelii* ถูกยับยั้งโดย เมอร์คิวรี(II)อิออน (Hg^{2+}) และซิลเวอร์(I)อิออน (Ag^{+}) ที่ความเข้มข้น 0.001 โมลาร์ Madhu and Prabhu (1983) รายงานว่า เมื่อใช้ เมอร์คิวรี(II) อิออน (Hg^{2+}) คอปเปอร์(II)อิออน (Cu^{2+}) และ เลด(II)อิออน (Pb^{2+}) ที่ความเข้มข้น 0.06 โมลาร์สามารถยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium aculeatum* อย่างสมบูรณ์ Shimizu *et al.* (1998) ศึกษาผลของโลหะที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Fusarium* sp. โดยใช้โลหะที่ความเข้มข้น 0.005 โมลาร์ พบว่า เฟอร์รัส(III)อิออน (Fe^{3+}) เมอร์คิวรี(II)อิออน (Hg^{2+}) และซิลเวอร์(I)อิออน (Ag^{+}) มีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์อย่างสมบูรณ์ ส่วนคอปเปอร์(II)อิออน (Cu^{2+}) มีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ 70 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 แสดงผลของโลหะและเกลืออนินทรีย์ที่มีต่อกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

โลหะและเกลืออนินทรีย์	กิจกรรมสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)
ไม่เติม	100
$AgNO_3$	5
$CoCl_2$	87
$CaCl_3$	97
KCl	87
NaCl	90
$MgCl_2$	97
$MnCl_2$	78
$HgCl_2$	0
$ZnCl_2$	80
$FeSO_4$	83
$CuSO_4 \cdot 5H_2O$	54
$Pb(AcO)_2 \cdot 3H_2O$	31
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	98
$ZnSO_4 \cdot 7H_2O$	88
$NiSO_4 \cdot 6H_2O$	84

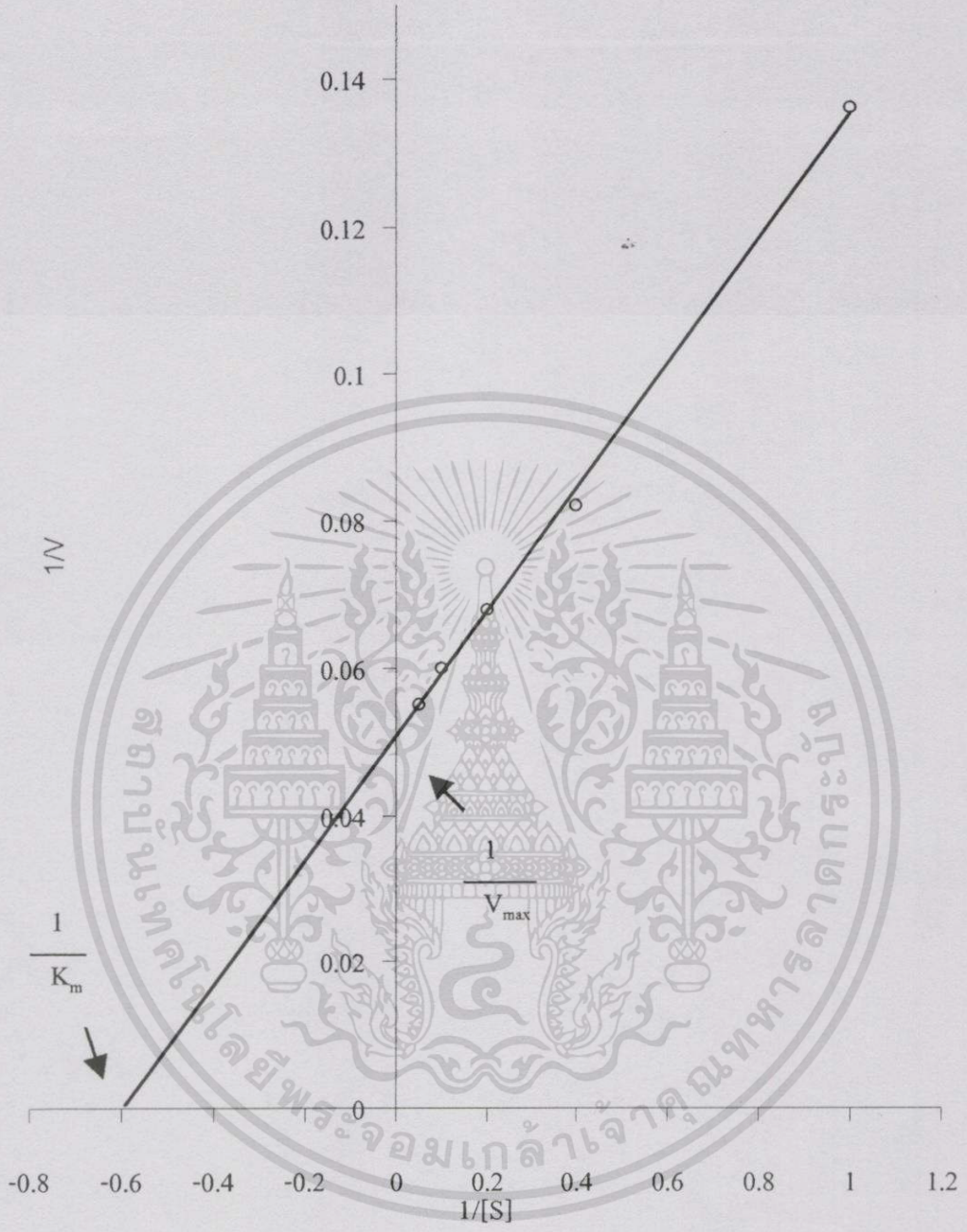
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลของการศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส

หลังจากบ่มสารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่มีกิจกรรมประมาณ 30 หน่วยต่อมิลลิลิตร กับเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างในช่วงเวลาต่างๆ มาวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น จากนั้นนำผลที่ได้ไปเขียนกราฟระหว่างน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในช่วงเวลาต่างๆ เพื่อหาความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยา นำความเร็วเริ่มต้นของปฏิกิริยาที่ได้มาเขียนกราฟ Lineweaver-Burk ระหว่าง 1/[S]และ 1/V เพื่อคำนวณค่า K_m และ V_{max} ดังแสดงในรูปที่ 4.24 จากกราฟแสดงให้เห็นว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีค่า K_m เท่ากับ 1.67 กรัมต่อลิตรและ V_{max} เท่ากับ 20.00 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อนาที

Tsura *et al.* (1972) ศึกษาจลนพลศาสตร์ของการย่อยไอโซมอลโตเด็กซตริน และเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Aspergillus carneus* ที่พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จากการศึกษา พบว่า การเพิ่มความยาวพันธะของไอโซมอลโตเด็กซตริน มีผลทำให้ค่า K_m ลดลง โดยไอโซมอลโตไตรโอส (IM3) ให้ค่า K_m 25 มิลลิโมลาร์ และ K_{cat} 128 ต่อวินาที ไอโซมอลเตตระโอส (IM4) ให้ค่า K_m 6.5 มิลลิโมลาร์ และ K_{cat} 1,880 ต่อวินาที ไอโซมอลเพนโตส (IM5) ให้ค่า K_m 4.1 มิลลิโมลาร์ และ K_{cat} 2,080 ต่อวินาที เด็กซแตรน ที-2000 (dextran T-2000) ให้ค่า K_m 0.3 ไมโครโมลาร์ และ K_{cat} 2,380 ต่อวินาที Simonson *et al.* (1975) ศึกษาค่า K_m ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสของ *Fusarium moniliforme* โดยการบ่มเอนไซม์ด้วยเด็กซแตรนที-10 ภายใต้สภาวะมาตรฐาน พบว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีค่า K_m เท่ากับ 1.1×10^{4} โมลาร์ Pulkownik and Walker (1977) ศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Streptococcus mutans* K1-R โดยบ่มเอนไซม์พร้อมกับเด็กซแตรนที-2000 และไอโซมอลโตออกตะโอส (IM8) ที่พีเอช 6.0 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส พบว่า เอนไซม์มีค่า K_m 1.4×10^{-5}โมลาร์ และ 1.8×10^{-2}โมลาร์ ตามลำดับ จากค่า K_m ที่เกิดขึ้น แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีความจำเพาะต่อเด็กซแตรนที-2000 มากกว่า ไอโซมอลโตออกตะโอส Webb and Spencer-Martins (1983) ศึกษาจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Lipomyces starkeyi* โดยการบ่มเอนไซม์ด้วยเด็กซแตรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่างๆ ภายใต้สภาวะมาตรฐาน พบว่า ค่า K_m จะลดลง เมื่อบ่มเอนไซม์ด้วยเด็กซแตรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูงขึ้น สำหรับค่า V_{max} พบว่า ให้ผลไม่ต่างกัน โดยเด็กซแตรนที-40 ให้ค่า K_m 0.171 มิลลิโมลาร์ และ V_{max} 2.8 ไมโครโมลาร์ของกลูโคสต่อมิลลิลิตรต่อนาที (µmol glucose/ml/min) เด็กซแตรนที-70 ให้ค่า K_m 0.413 มิลลิโมลาร์ และ V_{max} 2.3 ไมโครโมลาร์ของกลูโคสต่อมิลลิลิตรต่อนาที เด็กซแตรนที-500 ให้ค่า K_m 0.013 มิลลิโมลาร์ และ V_{max} 2.8 ไมโครโมลาร์ของกลูโคสต่อมิลลิลิตรต่อนาที เด็กซแตรนที-2000 ให้ค่า K_m 0.456 มิลลิโมลาร์ และ V_{max} 2.2 ไมโครโมลาร์ของกลูโคสต่อมิลลิลิตรต่อนาที แสดงให้เห็นว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสมีความจำเพาะต่อเด็กซแตรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.24 แสดงกราฟ Lineweaver-Burk ระหว่าง 1/V และ 1/[S]

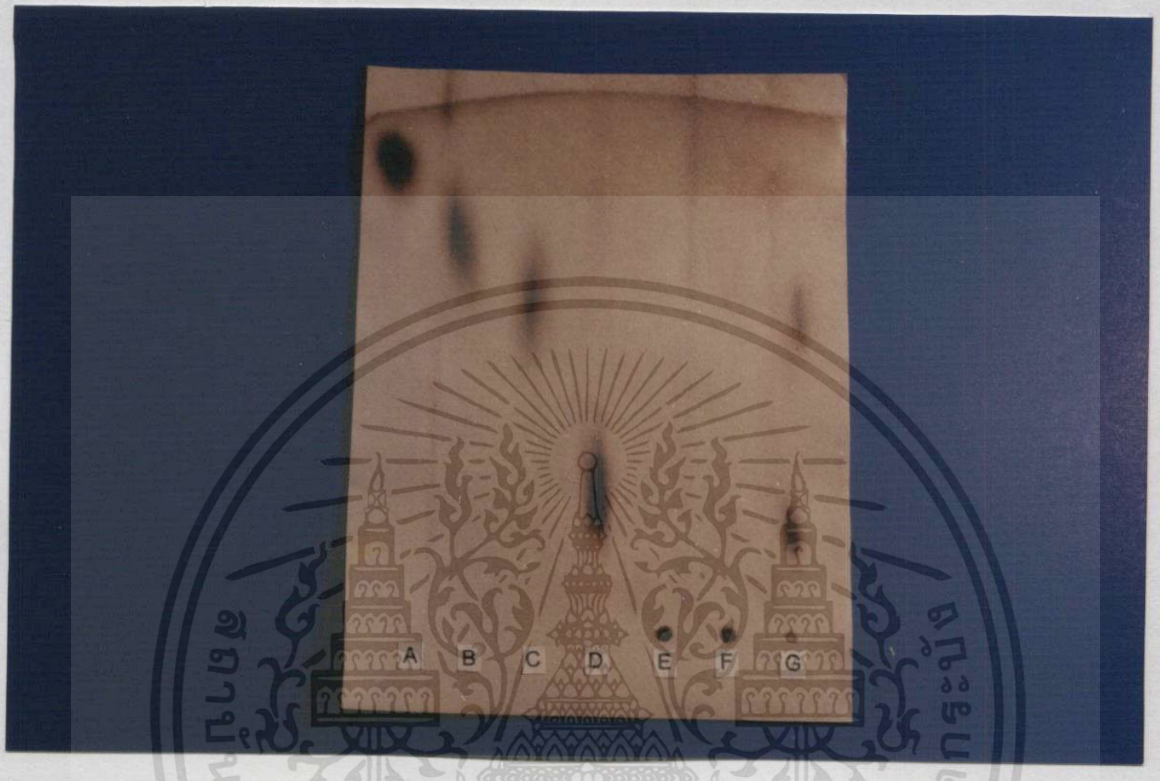
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการวิเคราะห์ผลิตผลที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนส จาก *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

ศึกษาผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยโดย Ascending paper chromatrography โดยใช้สารละลายตัวอย่างที่ได้จากการบ่มเอนไซม์เด็กซแตรนเนสพร้อมกับเด็กซแตรนที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง

ผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรน คือ ไอโซมอลโตส และไอโซมอลโตไตรโอส ดังแสดงในรูปที่ 4.25 จากผลิตผลที่เกิดขึ้น อาจสรุปได้ว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 เป็นชนิดเอนโดเด็กซแตรนเนส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Tsura *et al.* (1972) ที่รายงานว่าผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนที-2000 ด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Aspergillus carneus* โดย HPLC คือ ไอโซมอลโตส ไอโซมอลโตไตรโอส และกลูโคสในปริมาณเล็กน้อย จากการศึกษาลักษณะของการย่อย พบว่า เอนไซม์สามารถย่อยไอโซมอลโตไตรโอสได้อย่างช้า ได้ผลิตผล คือ กลูโคส และไอโซมอลโตส แต่ไม่สามารถย่อยไอโซมอลโตสได้เลย Simonson *et al.* (1975) รายงานว่าเอนไซม์เด็กซแตรนเนสบริสุทธ์จาก *Fusarium moniliforme* เป็นชนิดเอนโดเด็กซแตรนเนส จากการวิเคราะห์ผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนโดย Ascending paper chromatography พบว่า ผลิตผลสุดท้ายที่ได้ คือ ไอโซมอลโตส Madhu and Prabhu (1983) รายงานว่า ผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium aculeatum* โดย paper chromatrography คือ ไอโซมอลโตส และไอโซมอลโตไตรโอส Webb and Spencer-Martins (1983) รายงานว่า ผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Lipomyces starkeyi* คือ ไอโซมอลโตส และไอโซมอลโตไตรโอส จากผลิตผลที่เกิดขึ้น อาจสรุปได้ว่า เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้นเป็นชนิดเอนโดเด็กซแตรนเนส Brown and Inkerman (1992) ศึกษาผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Chaetomium gracile* โดย HPLC พบว่าผลิตผลที่ได้จากการย่อย คือ ไอโซมอลโตส และไอโซมอลโตไตรโอส โดยจะพบกลูโคสในปริมาณเล็กน้อย จากการศึกษาลักษณะของการย่อย พบว่า ปริมาณของไอโซมอลโตไตรโอสจะสูงที่สุดในช่วง 5 นาทีแรก หลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็ว เนื่องจากถูกย่อยเป็น กลูโคส และไอโซมอลโตส มีผลทำให้ปริมาณของไอโซมอลโตสสูงที่สุด Pleszczynska *et al.* (1997) รายงานว่าผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium notatum* คือ ไอโซมอลโตส และไอโซมอลโตไตรโอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 paper chromatography แสดงผลิตผลสุดท้ายที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจาก *Penicillium pinophilum* TISTR 3386

A แทน กลูโคส B แทน มอลโตส C แทน ไอโซมอลโตส

D แทน ไอโซมอลโตไตรโอส E แทน เด็กซแตรน

F แทน สารตัวอย่างที่ได้จากการบ่มเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์ที่ทำให้เสียสภาพ

G แทน สารตัวอย่างที่ได้จากการบ่มเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัย

ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจากเชื้อรา *Penicillium pinophilum* TISTR 3386 ประกอบด้วยสูตรอาหารที่มีเด็กซแตรน 7.5 กรัมต่อลิตร โซเดียมไนเตรท 3.0 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1.5 กรัมต่อลิตร โพแทสเซียสคลอไรด์ 0.5 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต 0.5 กรัมต่อลิตร ที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 และอุณหภูมิของการเพาะเลี้ยง 30 องศาเซลเซียส

การเติมโลหะได้แก่ แคดเมียมคลอไรด์ เฟอร์รัสซัลเฟต เมอร์คิวรีคลอไรด์ ซิงค์ซัลเฟต และเลดอะซิเตต ที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร มีผลให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสลดลง

จากการศึกษาผลของน้ำตาลบางชนิด โดยใช้กลูโคส มอลโตส ซูโครส ฟรักโตส และอะราบิโนส ที่ความเข้มข้น 10.0 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนแทนเด็กซแตรน พบว่าน้ำตาลทุกชนิดมีผลต่อการเจริญของเชื้อ สำหรับกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส พบว่าน้ำตาลทุกชนิดให้กิจกรรมของเอนไซม์เกิดขึ้นเล็กน้อย โดยน้ำตาลกลูโคสให้ผลผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่น

เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคส มอลโตส ซูโครส ฟรักโตส และอะราบิโนสที่ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตรร่วมกับเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 7.5 กรัมต่อลิตร พบว่าให้กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสสูงกว่าการใช้น้ำตาลชนิดนั้นๆ เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงอย่างเดียว แต่กิจกรรมของเอนไซม์ที่เกิดขึ้น ต่ำกว่าเมื่อใช้เด็กซแตรนเป็นแหล่งคาร์บอน

การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 1.0 2.0 5.0 และ 10.0 กรัมต่อลิตร ร่วมกับเด็กซแตรน พบว่า การใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นสูงๆ คือ 5.0 กรัมต่อลิตร และ 10.0 กรัมต่อลิตรร่วมกับเด็กซแตรน ทำให้เกิดกระบวนการคะตะบอไลซ์ รีเพรสชัน แต่การเติมกลูโคสที่ความเข้มข้น 1.0 กรัมต่อลิตรร่วมกับเด็กซแตรน ให้กิจกรรมของเอนไซม์สูงขึ้นเป็นผลมาจากน้ำตาลกลูโคสช่วยส่งเสริมการผลิตเอนไซม์ในลักษณะของคอนสติติวตีฟเอนไซม์

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในฟลาสก์เขย่าปริมาตร 250 มิลลิลิตร พบว่า ผลผลิตของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจะสูงที่สุด คือ 38,933.90 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 192 ของการเพาะเลี้ยง และมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 2.52 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 54 ของการเพาะเลี้ยง ในระดับถังหมักปริมาตร 5 ลิตร พบว่า ผลผลิตของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสจะสูงที่สุด คือ 37,993.88 หน่วยต่อมิลลิลิตร ในชั่วโมงที่ 192 ของการเพาะเลี้ยง และมีน้ำหนักเซลล์แห้งสูงที่สุด คือ 2.42 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 57 ของการเพาะเลี้ยง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาสมบัติบางประการของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส พบว่าเอนไซม์ตกตะกอนได้ดีที่เปอร์เซ็นต์ความอิ่มตัวของเกลือแอมโมเนียมที่ 60-80 โดยมีกิจกรรมจำเพาะ 154,681.10 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน ภายหลังการไดอะไลซีส เอนไซม์มีกิจกรรมจำเพาะ 170,889.46 หน่วยต่อมิลลิกรัมของโปรตีน มีความบริสุทธิ์ขึ้น 10.9 เท่า และมีผลผลิตของเอนไซม์ 30.4 เปอร์เซ็นต์ เอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ผลิตขึ้นมีค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรม คือ 4.0 และ 60 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เอนไซม์มีความคงตัวที่ช่วงพีเอช 3.0-8.0 และคงตัวที่อุณหภูมิต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียส โลหะและเกลืออนินทรีย์ที่มีผลยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ได้แก่ เมอร์คิวรี(II)อิออน (Hg^{2+}) ซิลเวอร์(I)อิออน (Ag^{+}) เลด(II)อิออน (Pb^{2+}) และคอปเปอร์(II)อิออน (Cu^{2+}) สำหรับจลนพลศาสตร์ของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรน พบว่า มีค่า K_m 1.67 กรัมต่อลิตร และ V_{max} 20.0 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตรต่อนาที จากการวิเคราะห์ผลิตผลที่ได้จากการย่อยเด็กซแตรนด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนส โดย Ascending paper chromatography คือ ไอโซมอลโตส และไอโซมอลโตไตรโอส

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2535. เอนไซม์ทางอาหาร ตอนที่1. กรุงเทพฯ : ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Alexopoulos, C.J. and Mins, C.W. 1992. Introductory Mycology. New York. : John Wiley & Sons.

Anton, N. and Heyn, J. 1981. "Molecular basis of Auxin-Regulated Extension Growth and Role of Dextranase." Proc. Natl. Acad. Sci. U.S.A. 78(11) : 6608-6612.

Arnold, W.N., Nguyen, T.B.P. and Mann, L.C. 1998. "Purification and Characterization of a Dextranase from *Sporothrix schenckii* IP-29." Arch. of Microbiol. 170 : 91-98.

Aspinall, G.O. 1983. The Polysaccharides. Vol. 2. New York. : Academic.

Bailey, R.W., Clarke, R.T.J. 1959. "A Bacterial Dextranase." Biochem. J. 72 : 49-54.

Brown, J.C. and Inkerman, P.A. 1992. "Specific Method for Quantitative Measurement of the Total Dextran Content of Raw Sugar." J. Agric. Food Chem. 40 : 227-233.

Chambers, J.A.A. 1993. "Buffer, Chelating Agents and Denaturants." pp. 1-36. in Chambers, J.A.A. and Rickwood, D. Biochemistry LABFAX. Oxford. : BIOS Scientific.

Chaplin, M.F., Bucke C. 1992 Enzyme Technology. London. : Cambridge University.

Charles, A.F. and Farrell, L.N. 1957. "Preparative and Use of Enzymatic Material from *Paecilomyces lilacinus* to Yield Clinical Dextran." Can. J. Microbiol. 3 : 239-247.

Clarke, M.A., Edye, L.A., Cole, F. and Kitchar, J.L. 1997. "Sugar Cane Factory Trials with Dextranase Enzyme (from *Chaetomium gracile*)." Sugar J. 60 : 20-22.

Clarke, M.A., Lillehoj, E.B. and Tsang, W.S.C. 1984. "*Leuconostoc* spp. in Sugar Cane Processing Sampies." Proc. Sugar Process. Res. Conf. 141-150.

Dahlqvist , A. 1962. "Rat-Intestinal Dextranase." Biochem. J. 86 : 72-76.

Dubois, M., Gilles, K.A., Hamilton, J.K., Rebers, P.A. and Smith, F. 1956. "Colorimetric Method for Determination of Sugars and Related Substances." Anal. Chem. 28 : 350-356.

Fitzderald, R.J., Keyes, P.H. and Stoudt, T.H. 1969. "The Effects of a Dextranase Preparation on Plaque and Caries in Hamsters, a Preliminary Report." JADA. 76 : 301-304.

Fitzderald, R.J., Spinell, D.M. and Stoudt, T.H. 1968. "Enzymatic Removal of Artificial Plaques." Arch. Oral. Biol. 13 : 125-128.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Foster, D.H., Inkerman, P.A. and McNeil, K.E. 1980. "Studies on Cane Deterioration in Australia." Proc. Int. Soc. Sugar Cane Technol. 17 : 2204-2220.

Fukumoto, J., Tsuji, H. and Tsura, D. 1971. "*Penicillium luteum* Dextranase : Its Production and Some Enzymatic Properties." J. Biochem. 69(6) :1113-1121.

Galvez-Mariscal, A. and Lopez-Munguia, A. 1991. "Production and Characterization of A Dextranase from an Isolation *Paecilomyces lilacinum* Strain." Appl. Microbiol. Biotechnol. 36(3) : 327-331.

Hattori, A. and Ishibashi, K. 1981. "Screening of Dextranase Producing Microorganisms." Agric. Biol. Chem. 45(10) : 2347-2349.

Hattori, A., Ishibashi, K. and Minato, S. 1981. "The Purification and Characterization of the Dextranase of *Chaetomium graile.*" Agric. Biol. Chem. 45(11) : 2409-2416.

Heyn, A.N.J. 1970. "Dextranase Activity and Auxin-Induced Cell Elongation in Coleoptiles of *Avena.*" Biochem. Biophys. Res. Commun. 38 : 255-262.

Hiraoka, N., Fukumoto, J. and Tsuru, D. 1972. "Studies on Mold Dextranase III : Purification and Some Enzymatic Properties of *Aspergillus carneus* Dextranase." J. Biochem. 71(1) : 57-64.

Hultin, E. and Nordstrom, H. 1949. "Investigations on Dextranase I : On the Occurrence and Assay of Dextranase." Acta Chem. Scand. 3 : 1405-1471.

James, C.P.C. and Chung, C.C. 1993. Cane Sugar Handbook. New York. : John Wil y & Sons.

Janson, J. and Porath, J. 1966. "A Bacterial Dextranase." Methods Enzymol. 8 : 615-621.

Jensen, B. and Olsen, J. 1996. "Extracellular α-Glucosidase with Dextran Hydrolyzing Activity from the Thermophilic Fungus, *Thermomyces lanuginosus.*" Curr. Microbiol. 33(3) : 152-155.

Jordan, H.V. and Keyes, P.H. 1966. "In Vitro Methods for the Study of Plaque Formation and Carious Lesions." Arch. Oral Biol. 11 : 793-801.

Kapseu, C., Kambou, S., Toko, V. and Tedga, N. 1993. "Influence of Dextran on Sugar Processing in Cameroon." Cahiers Agric. 2 : 422-424.

Kim, D., Seo, H.C. and Day, D.F. 1996. "Dextran Production by *Leuconostoc merenteroides* in the Presence of a Dextranase Producing Yeast, *Lipomyces starkryi.*" Biotech. Techniques. 10 : 227-232

Kim, D., Young, J., Hwa, P. and Day, D.F. 1996. "Mixed Culture Fermentation for the Production of Clinical Quality Dextran with Starch and Sucrose." Biotechnol. Lett. 18 :

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1031-1034.

Kobayashi, M., Takagi, S., Shiota, M., Mitsuishi, Y and Matsuda, K. 1983. "An Isomaltotriose-Producing Dextranase from *Flavobacterium* sp. M-73 : Purification and Properties." Agric. Biol. Chem. 47(11) : 2585-2593.

Koenig, D.W. and Day, D.F. 1988. "Production of Dextranase by a *Lipomyces starkeyi*." Biotechnol. Lett. 10(2) : 117-122.

Koenig, D.W. and Day, D.F. 1989. "Induction of *Lipomyces starkeyi* Dextranase." Appl. Environ. Microbiol. 55 : 2079-2081.

Kosaric N., Yu, K. and Zajic, J.E. 1973. "Dextranase Production from *Penicillium funiculosum*" Biotechnol. Bioeng. 15 : 729-741.

Kubik, C., Galas, E. and Sikora, B. 1994. "Dextranase from *Penicillium funiculosum* 72 Properties Deciding the Possibilities for Its Use in the Sugar Industry." Gazeta-Cukrownicza 102(6) : 102-105.

Lee, J.A. and Fox, P.F. 1985 . "Purification and Characterization of *Paecilomyces lilacinus* Dextranase." Enzyme Microb. Technol. 7 : 573-577.

Lowry, O.H., Rosenbrough, N.J., Farr, A.F. and Randall, R.J. 1951. "Protein Measurement with the Folin Phenal Reagent." J. Biol. Chem. 193 : 265-275.

Madhu and Prabhu, K.A. 1983. "Studies on Dextranase from *Penicillium aculeatum*." Enzyme Microb. Technol. 6 : 217-220.

Masry, E. 1991. "Optimization of Dextranase Synthesis by a Locally Isolated *Fusarium moniliforme*." Egyptian J. Microbiol. 26 : 37-48.

Minakova, A.L. and Preobrazhenskaya, M.E. 1980. "Isolation and Properties of a Dextranase from *Penicillium purpurogenum* (FTOLL)." Appl. Biochem. Microbiol. 16 : 502-509.

Muriyatmo, U., Miswar, B.M. and Hasyim. 1997. "Characterization of Dextranase from *Streptococcus* sp. B1." Majalah-Penelitian-Guta 33 : 2-3

Okada, G., Akano, H., Sato, T., Okumura, H. and Kawamura, Y. 1992. "Dental Plaque Degrading compositions." United States Patent 9 : 259-266.

Okazaki, K., Abe, T., Saruwatari, K., Kato, F., Maruyama, K. and Tagawa, K. 1992. "Purification and Properties of Mycodextranase from *Streptomyces* sp. J-13-3." Biosci. Biotechnol. Biochem. 56(9) : 1401-1405.

Pebery, J.F. 1989. Biotech Handbook *Penicillium* and *Acremonium*. New York. : Plenum Press.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Petronijevic Z., Cvetkovic, B., Nesic, R. and Stankovic, S. 1993. "Influence of Nutrient Medium Composition, Initial pH and Aeration on the Production of Dextranase in *Aspergillus ustus*." Mikrobiologija 30(2) : 89-96.

Pulkownik, A. and Walker, G.L. 1977. "Purification and Substrate Specificity of an Endodextranase of *Streptococcus mutans* K1-R." Carbohyd Res. 54 : 237-251.

Pleszczynska, M., Szczodrak, J., Rogalski, J. and Fiedurek, J. 1997. "Hydrolysis of Dextran by *Penicillium notatum* Dextranase and Identification of Final Digestion Products." Mycol. Res. 101(1) : 69-72.

Sawai, T., Ikagi, I. and Nawa, A. 1976. "Identification of an Isomaltodextranase Producing Bacterium *Arthrobacter globiformis*." Agric. Biol. Chem. 40 : 1249-1953.

Sherief, A.A., El-Sawah, M.M.A., El-Naby, M.A. 1991. "Some Properties of Chitinase Produced by a Potent *Aspergillus carneus* Strain." Appl. Microbiol. Biotechnol. 35 : 228-230.

Shimizu, E.,Takehiro, U.,Manabu, O. and Okada, G. 1998. "Purification and Characterization of an Isomaltotriose Producing Endodextranase from a *Fusarium* sp." Biosci. Biotechnol. Biochem. 62(1) : 117-122.

Simonson, L.G. and Liberta, A.E. 1975. "New Sources of Fungal Dextranase." Mycologia 67 : 845-851.

Simonson, L.G., Liberta, A.E. and Richardson, A. 1975. "Characterization of an Extracellular Dextranase from *Fusarium moniliforme*." Appl. Microbiol. 30(5) : 855-861.

Somogyi, M. 1952. "Notes on Sugar Determination." J. Biol. Chem. 195 : 19-23.

Staat, R.H. and Schachtele, C.F. 1975. "Characterization of a Dextranase Produced by an Oral Strain of *Actinomyces israelii*." Infect. Immun. 12(3) : 556-563.

Stanbury, P.F., Whitaker, A. and Hall, S.J. 1995. Principles of Fermentation Technology. Oxford : Elsevier Science.

Sugiura, M. and Ito, A. 1973. "Studies on Dextranses III : Action Patterns of Dextranase from *Penicillium funiculosum* on Substrate and Inhibition on Hydrolysis Reaction by Substrate Analogues." Chem. Pharm. Bull. 22(7) : 1593-1599.

Sugiura, M., Ito, A. and Yamaguchi, T. 1974. "New Exo-dextranase from *Brevibacterium fuscum* var. *dextranlyticum*." Biochim. Biophys. Acta 350 : 61-70.

Sumarno. 1994. "The Engineering of an Equipment to Hydrolize Dextran Enzymatically in Raw Juice at Cepiring Sugar Factory." Majalah-Perusahaan-Gula 30(1) : 15-20.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sumarno. 1997. "Dextran Hydrolysis in Raw Cane Juice Using Dextranase Novo DN 30 KL 1006." Berita-Pusat-Penelitian-Perkeburan-Gula-Indonesia 19 : 44-47.

Sun, J., Cheng, X., Zhang, Y., Yan, Z. and Zhang, S. 1988. "A Strain of *Paecilomyces lilacinus* Producing High Quality Dextranase. : Purification and Characterization." Ann. N.Y. Acad. Sci. 542 : 192-194.

Tilbury, R.H. and French, S.M. 1974. "Further Studies on Enzyme Hydrolysis of Dextrans in Mill Juice by Dextranases and Amylases." Proceedings of the International Society of Sugar Cane Technology, pp. 1277-1287, 15th Congress, Townsville, Australia.

The Association of official Agricultural Chemists (A.O.A.C.). 1965. Official Method of Analysis. 12th. ed. Washington D.C. : George Bantay.

Townsed, G.E. and Lindgren, A.A. 1953. "Viable Yeast Count." Cytologia 18 : 183.

Tsuchiya, H.M., Jeanes, A., Bricker, H.M. and Wilham, C.A. 1952. "Dextran-Degrading Enzymes from Molds." J. Bacteriol. 64 : 513-519.

Tsura, D., Hiraoka, N. and Fukumoto, J. 1972. "Studies on Mold Dextranase IV : Substrate Specificity of *Aspergillus carnrus*." J. Biochem. 71(4) : 653-660.

Webb, E. and Spencer-Martins, I. 1983. "Extracellular Endodextranase from the Yeast *Lipomyces starkeyi*." Can. J. Microbiol. 29 : 1092-1095.

Wheatley, M.A. and Moo-Young, M. 1977. "Degradation of Polysaccharides by Endo- and Exoenzymes : Dextran-Dextranase Model Systems." Biotechnol. Bioeng. 19 : 219-233.

Wynter, C.V.A., Chang, M., Jersey, J., Patel, B., Inkerman, P.A. and Hamilton, S. 1997. "Isolation and Characterization of a Thermostable Dextranase." Enzyme Microb. Technol. 20 : 242-247.

Wynter, C.V.A., Galea, C.F., Cox, L.M., Dawson, M.W., Patel, B.K., Hamilton, S.,Jersey, J.D. and Inkerman, P.A. 1995. "Thermostable Dextranase : Screening, Detection and Preliminary Characterization." J. Appl. Bacteriol. 79 : 203-212.

Yamaguchi and Gocho. 1973. "Production and Properties of Alkaline Dextranase from a Newly Isolated *Brevibacterium*." Agric. Biol. Chem. 37(11) : 2527-2533.

Yamamoto, K., Yoshikawa, K. and Okoda, S. 1993. "Detailed Action Mechanism of Dextrin Dextranase from *Acetobactor capsulatus* ATCC 11894." Biosci. Biotechnol. Bichem. 57 (1) : 74-50.

Zevenhuizen, L.P.T.M. 1968. " Cell-Bound Exodextranase of *Bacillus* Species." Carbohyd. Res 6 : 310-318.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารโพเตโตเด็กซโตรสอการ์ (Potato Dextrose Agar ; PDA)

เป็นสูตรอาหารที่ใช้เก็บรักษาเชื้อรา เพิ่มจำนวนเซลล์และสร้างสปอร์ ซึ่งในอาหาร 1.0 ลิตร ประกอบด้วย

มันฝรั่ง	200.0	กรัม
(ต้มในน้ำเดือดและกรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำใส)		
กลูโคส	20.0	กรัม
วุ้นผง	15.0	กรัม

อาหารปริมาตร 50 มิลลิลิตร จะบรรจุลงในฟลาสก์ปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี แล้วจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

เป็นสูตรอาหารเริ่มต้นที่ใช้เลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนส ดัดแปลงมาจาก Sherief *et al.* (1991) ซึ่งในอาหาร 1.0 ลิตร ประกอบด้วย

เด็กซแตรน	10.0	กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	3.0	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	1.0	กรัม
โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	0.5	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮบตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$)	0.5	กรัม

ปรับพีเอชให้เท่ากับ 5.0

ส่วนผสมของอาหารถูกปรับพีเอชด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ หรือสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 1.0 โมลาร์ ซึ่งอาหารปริมาตร 60 มิลลิลิตร จะบรรจุลงในฟลาสก์หลุมปริมาตร 250 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลี แล้วจึงนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีของ Somogyi Nelson ดัดแปลงมาจาก Somogyi (1952)

สารเคมี

1. สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent)

1.1 10 เปอร์เซ็นต์ของคอปเปอร์เพนตะไฮเดรต ($CuSO_2 \cdot 5H_4O$) เตรียมโดยการละลาย 10 กรัม ของคอปเปอร์เพนตะไฮเดรตในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.2 สารละลายฟอสเฟตตาร์เตรต (Phosphate - Tartrate Solution) เตรียมโดยละลายไดเบสิคโซเดียมฟอสเฟต (Na_2SO_4) 28 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมตาร์เตรต ($COOK(CHOH)_2COONa \cdot 4H_2O$) 40 กรัม ทำให้ละลาย แล้วเติม 1.0 นอร์มอล ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ตามด้วยไดโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 120 กรัม เมื่อละลายเข้ากันดีแล้ว ปรับปริมาตรให้เป็น 900 มิลลิลิตร เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 2 วัน

1.3 ทำการผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน เก็บที่อุณหภูมิห้อง

2. สารละลายอาร์ซิโนโมลิบเดรต (Nelson 's Arsenomolybdate Color Reagent)

2.1 ละลายแอมโมเนียมโมลิบเดรต ($(NH_4)_6Mo_7O_{24} \cdot 4H_2O$) 25 กรัม ในน้ำกลั่น 450 มิลลิลิตร เติมกรดกำมะถันเข้มข้น 21 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

2.2 ละลายไดโซเดียมอาร์ซิเนต ($Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$) 3 กรัม ในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร

2.3 ผสมสารละลายทั้งสองเข้าด้วยกัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องในห้องสีชา

วิธีการ

1. เติมตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง แล้วจึงเติม 1.0 มิลลิลิตรของสารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent) ผสมให้เข้ากัน ต้มในน้ำเดือดนาน 15 นาที ควรปิดปากหลอดทดลองเพื่อลดการระเหยของน้ำ

2. ทำให้เย็นทันทีแล้วจึงเติม 1.0มิลลิลิตรของสารละลายอาร์ซิโนโมลิบเดรต (Arsenomolybdate reagent) ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้นาน 2 นาที

3. เติมน้ำกลั่น 2.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน แล้วจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

4. นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐานของไอโซมอลโตสหรือน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมกราฟมาตรฐานของไอโซมอลโตส

เตรียมสารละลายมาตรฐานไอโซมอลโตสที่ความเข้มข้น 0 20 40 60 80 100 150 200 และ 250 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วทำการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้น นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้และความเข้มข้นของสารละลายมาสร้างกราฟมาตรฐานของไอโซมอลโตส (รูปที่ ข1)

การเตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วทำการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้น นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้และความเข้มข้นของสารละลายมาสร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (รูปที่ ข2)

2. การวิเคราะห์น้ำตาลทั้งหมด (Total sugar) โดยวิธี Phenol-sulphuric ที่ดัดแปลงมาจาก Dubois *et al.* (1956)

สารเคมี

1. สารละลายฟีนอล 5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)
2. กรดกำมะถันเข้มข้น

วิธีการ

1. เติมตัวอย่าง 1.0 มิลลิลิตร และสารละลายฟีนอล 1.0 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองผสมให้เข้ากัน
2. เติมกรดกำมะถันปริมาตร 5.0 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลองข้างต้น ตั้งทิ้งไว้ 10 นาที แล้วจึงเขย่าแรงๆ ให้เข้ากัน
3. ตั้งทิ้งไว้ประมาณ 20 นาที แล้วจึงวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร
4. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตราฐานของน้ำตาลกลูโคส

การสร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่ความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วทำการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้น นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้และความเข้มข้นของสารละลายมาสร้างกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส (รูปที่ ข3)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างกราฟมาตรฐานของเด็กซแตรน

เตรียมสารละลายมาตรฐานเด็กซแตรนที่ความเข้มข้น 0 20 40 60 80 และ 100 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วทำการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้น นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้และความเข้มข้นของสารละลายมาสร้างกราฟมาตรฐานของเด็กซแตรน (รูปที่ ข4)

3. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนสโดยวิธีที่ดัดแปลงมาจาก Janson and Porath (1966)

สารเคมี

1. สารละลายเด็กซแตรน 1 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยการละลายเด็กซแตรน (D-4876) 1.0 กรัม ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ (citrate-phosphate buffer) ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอชเท่ากับ 5.0 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. สารเคมีที่ใช้สำหรับวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ ตามวิธีของ Somogyi Nelson

วิธีการ

1. ใส่สารละลายเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (ที่เจือจางอย่างเหมาะสม) ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตรลงในหลอดทดลอง

2. นำสารละลายเด็กซแตรน 1.0 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร มาเติมในหลอดทดลองที่มีสารละลายดังกล่าว ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที

3. หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที

4. หลอดควบคุม (control) ให้นำสารละลายเอนไซม์มาหยุดปฏิกิริยา โดยนำไปต้มในน้ำเดือดก่อนเติมสารละลายเด็กซแตรน

5. แบลงก์ (blank) ให้ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายเอนไซม์

6. หลังจากหยุดปฏิกิริยาให้นำส่วนของน้ำใสไปวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi Nelson

7. นำมาคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์ตามสูตร

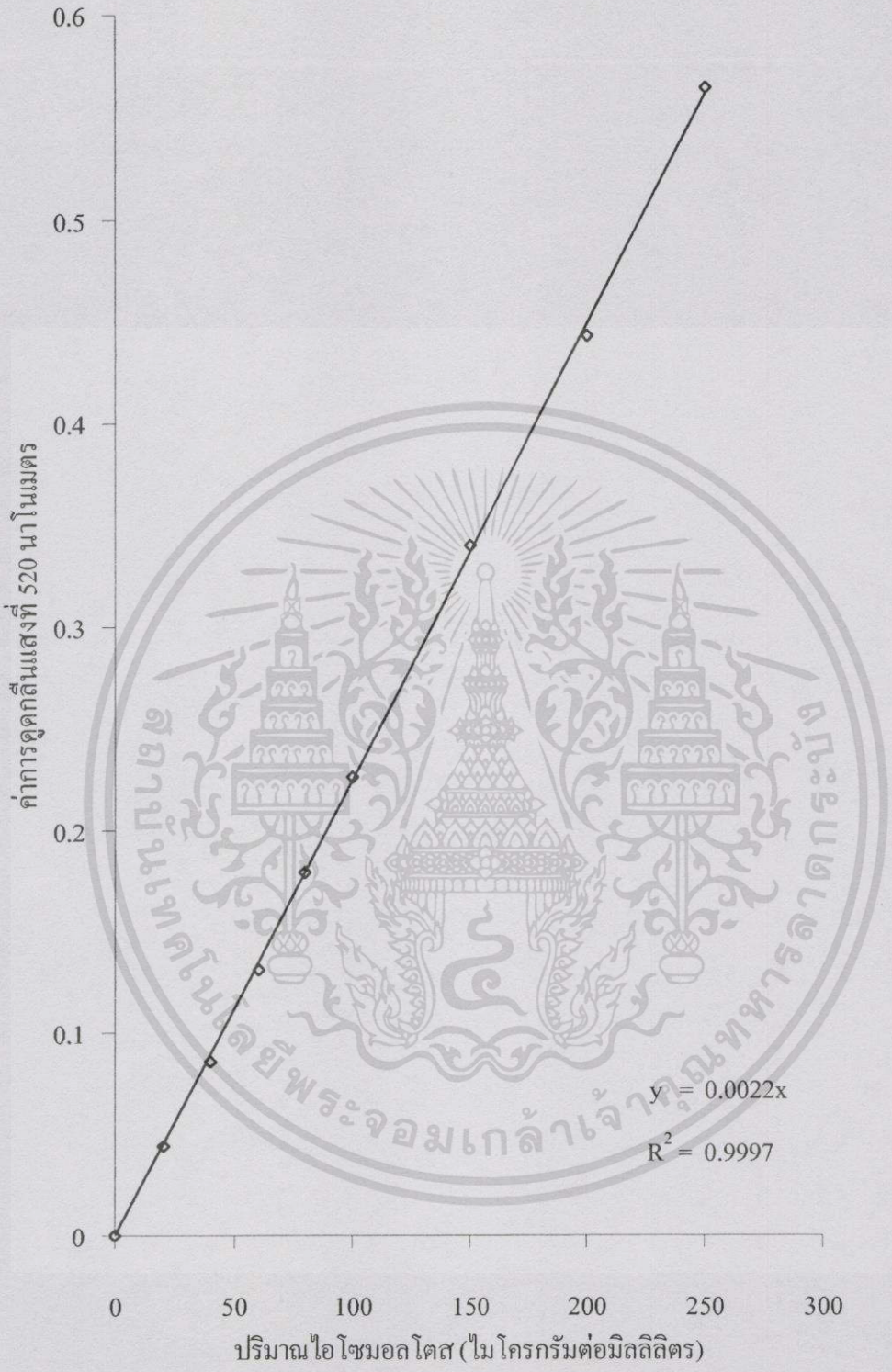
กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส =

$$\frac{\text{(ค่าการดูดกลืนแสง x ปริมาตรทั้งหมด x ค่าความเจือจาง)}}{\text{(ความชันของกราฟมาตรฐาน x เวลา)}}$$

= หน่วยต่อมิลลิลิตร

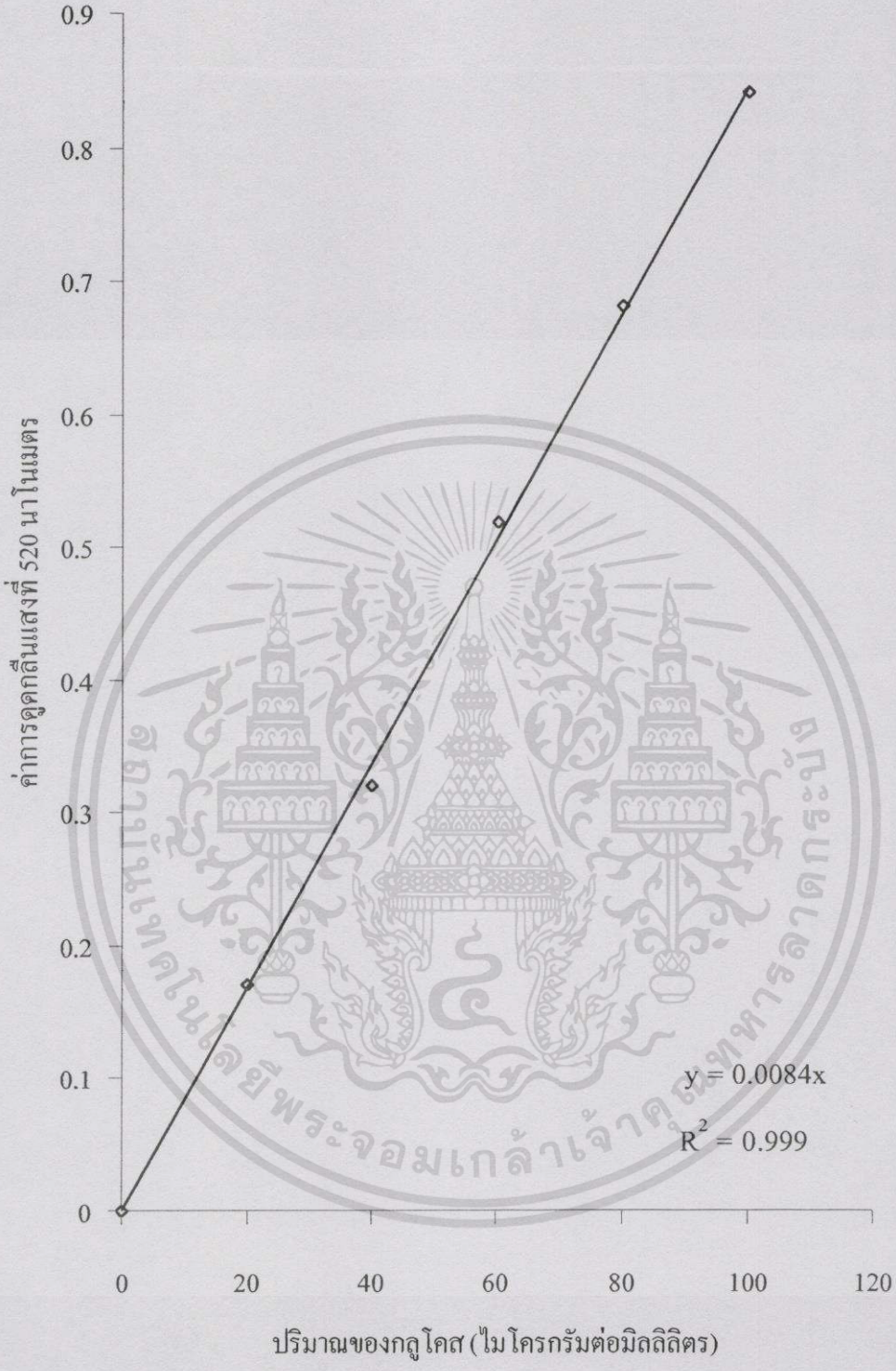
กำหนดให้ 1 หน่วยของเอนไซม์ คือปริมาณของเอนไซม์ซึ่งสามารถย่อยสลายสับสเทรตและให้ไอโซมอลโตส 1 ไมโครกรัม ภายในเวลา 1 นาทีภายใต้สภาวะที่ทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



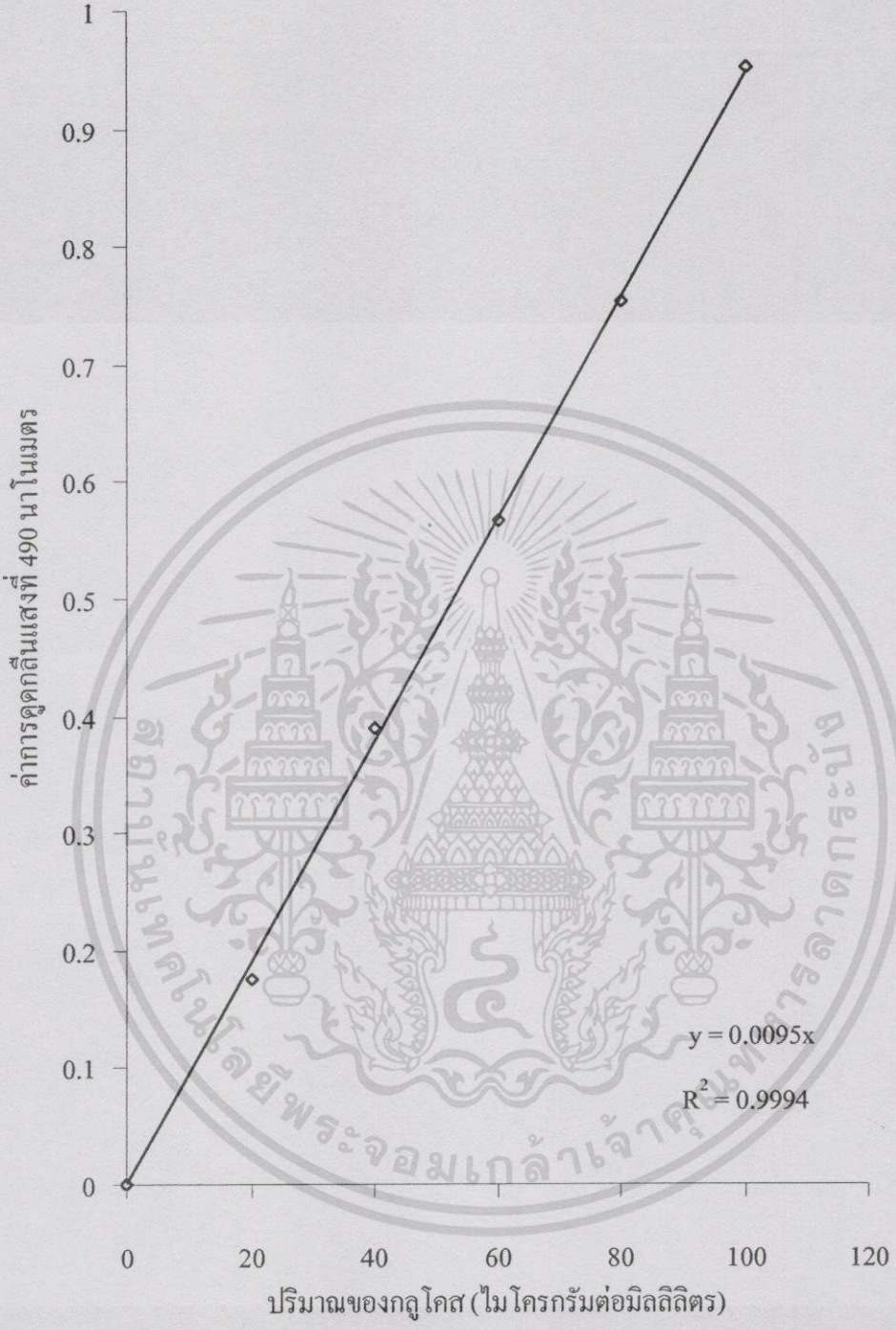
รูปที่ ข1 แสดงกราฟมาตรฐานของไอโซมอลโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



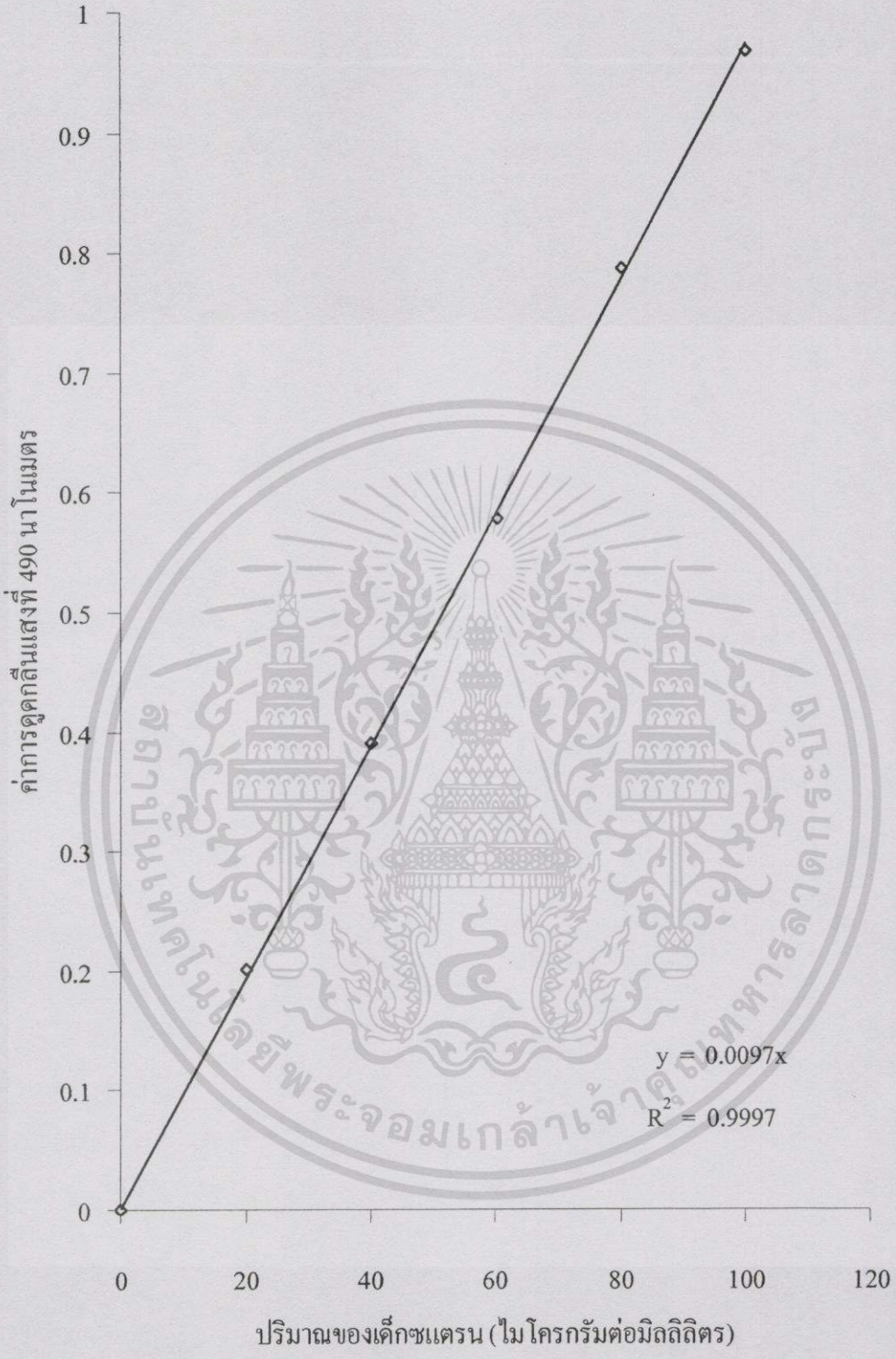
รูปที่ ข2 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข3 แสดงกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข4 แสดงกราฟมาตรฐานของเด็กซแตรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. การวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน โดยวิธีของ Lowry (Lowry *et al.*, 1951)

สารเคมี

1. สารละลาย ก

ละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) 2.0 กรัม ในโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 0.1 นอร์มอล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

2. สารละลาย ข

ละลายโพแทสเซียมตาร์เทรต ($COOK(CHOH)_2COONa \cdot 4H_2O$) 2.7 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3. สารละลาย ค

ละลายคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 1.0 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

4. สารละลาย ง

นำสารละลาย ก 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย ข 1.0 มิลลิลิตร และสารละลาย ค 1.0 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน (สารละลายนี้เตรียมเมื่อต้องการใช้เท่านั้น)

5. โฟลิน (Folin-Ciocalteu reagent) ความเข้มข้น 1.0 นอร์มอล

นำโฟลิน (2.0 นอร์มอล) มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในอัตราส่วน 1:1 (สารนี้ควรเตรียมเมื่อต้องการใช้เท่านั้น)

วิธีการ

1. นำสารละลายตัวอย่างที่ต้องการหาปริมาณโปรตีน 1.0 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

2. เติมสารละลาย ง 5.0 มิลลิลิตรลงในหลอดที่มีตัวอย่าง ผสมสารละลายให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 10 นาที

3. เติมโฟลิน 1.0 นอร์มอล 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองข้อ 2 ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 30 นาที

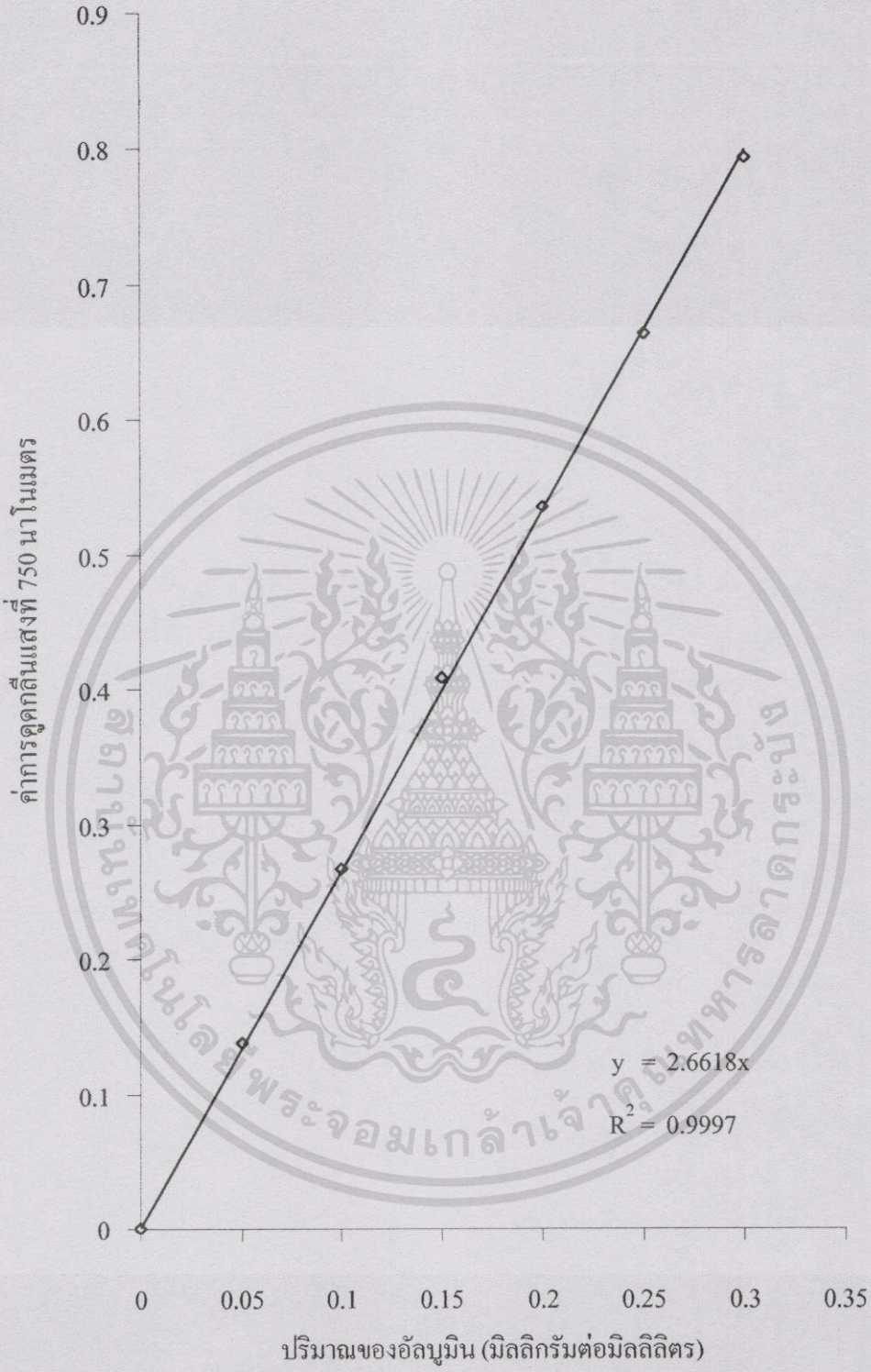
4. นำไปวัดสีที่เกิดขึ้น ที่ความยาวคลื่น 750 นาโนเมตร

5. นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตราฐานของอัลบูมิน (bovine serum albumin)

การสร้างกราฟมาตรฐานของอัลบูมิน

เตรียมสารละลายมาตรฐานของอัลบูมิน ที่ความเข้มข้น 0 0.05 0.10 0.15 0.20 0.25 และ 0.30 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ แล้วทำการวิเคราะห์ตามวิธีข้างต้น นำค่าดูดกลืนแสงที่วัดได้และความเข้มข้นของสารละลายมาสร้างกราฟมาตรฐานของอัลบูมิน (รูปที่ ข5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข5 แสดงกราฟมาตรฐานของโปรตีน (อัลบูมิน)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. การวิเคราะห์ผลิตผลสุดท้าย โดย Ascending Paper Chromatography ที่ดัดแปลงมาจาก Simonson *et al.* (1975)

สารเคมี

1. สารละลายที่เป็นตัวพา (Solvent)

เอทธิลอะซีเตต/ ไพริดีน /น้ำกลั่น (10:4:3 โดยปริมาตร)

2. สารละลายที่ทำให้เกิดสี (Developing solution)

2.1 สารละลายอิ่มตัวของซิลเวอร์ไนเตรท เตรียมโดยเติมสารละลายอิ่มตัวของซิลเวอร์ไนเตรท ($AgNO_3$) 0.1 มิลลิลิตร ในอะซีโตน (Acetone) 20 มิลลิลิตร ถ้าหลังการเติมได้สารละลายที่ขุ่นขาว ให้เติมน้ำกลั่นทีละหยดจนได้สารละลายใส

2.2 0.5 โมลาร์ ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ในเมทธานอล เตรียมโดยละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.0 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตรเล็กน้อย แล้วจึงเติมเมธานอลให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3. โซเดียมไธโอซัลเฟต เข้มข้น 5.0 เปอร์เซ็นต์

ละลายโซเดียมไธโอซัลเฟต ($Na_2S_2O_3$) 5.0 กรัมในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร หรือ ละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($Na_2S_2O_3 \cdot 5H_2O$) 7.8 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 100 มิลลิลิตร (สารละลายนี้ต้องเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ใช้)

วิธีการ

1. หยด (spot) สารละลายตัวอย่างที่ได้จากการบ่มสับสเทรตด้วยเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (มีกิจกรรมของเอนไซม์ประมาณ 400 หน่วยต่อมิลลิลิตร) ปริมาตร 10 ไมโครลิตร บนเส้นดินสอที่ลากบนปลายกระดาษ Whatman เบอร์ 3 โดยแต้มให้เป็นจุดเล็กๆ

2. นำกระดาษโครมาโตรกราฟฟีจากข้อ 1 มาใส่ในแชมเบอร์ (chamber) ที่มีตัวพา (solvent) อยู่ ปล่อยให้ตัวพา เคลื่อนที่ซึมไปตามกระดาษ ที่อุณหภูมิห้อง นาน 15-25 ชั่วโมง

3. นำกระดาษออกจากแชมเบอร์ไปตากให้แห้ง ในตู้ควัน (Fume hood) ต่อไปนี้จะเรียกว่า โครมาโตแกรม (Chromatogram)

4. จุ่มโครมาโตแกรมที่แห้งในสารละลายอิ่มตัวของซิลเวอร์ไนเตรท แล้วจึงทำให้แห้งในตู้ควัน

5. พ่น 0.5 โมลาร์ ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ ในเมธานอล ลงบนโครมาโตแกรม จนเห็นจุดสีน้ำตาลบนกระดาษ แล้วปล่อยให้แห้ง

6. นำโครมาโตแกรมที่แห้งไปแช่ในสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตความเข้มข้น5.0 เปอร์เซ็นต์ เพื่อลดสีของฉากหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

1. การนับสปอร์ ดัดแปลงมาจาก Townsed and Lindgren (1953)

วิธีการ

1. วางกระจกปิดสไลด์ (cover slip) บนแชมเบอร์ที่ใช้นับสปอร์ (counting chamber)

2. บรรจุสารละลายสปอร์ที่เจือจางให้เหมาะสมแล้วบนแชมเบอร์ด้วยปิเปต

3. นับสปอร์ 5 ช่องตรงตำแหน่ง บนซ้าย ล่างซ้าย บนขวา ล่างขวา และตรงกลางของช่องใหญ่ด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า

4. เมื่อนับสปอร์ครบ 5 ช่องแล้ว ให้นำสปอร์ทั้ง 5 ช่องมารวมกัน เพื่อคำนวณตามสูตร

$$\text{จำนวนสปอร์ทั้งหมด} = 5A \times 10^4 \times \text{ความเจือจาง}$$

กำหนดให้ A คือ จำนวนสปอร์ที่นับได้จาก 5 ช่อง

2. การคำนวณน้ำหนักแห้ง (cell dry weight) ตามวิธีการของ The Association of Official Agricultural Chemist (1965)

วิธีการ

1. อบกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น แล้วนำมาชั่งหาน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

2. นำกระดาษกรองที่ได้มากรองน้ำหมักปริมาตร 30 มิลลิลิตร หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 20 มิลลิลิตร แล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง (หรือจนกระทั่งน้ำหนักคงที่) ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น นำไปชั่งหาน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง

3. นำไปคำนวณตามสูตร

$$\text{น้ำหนักแห้ง (กรัม/100 มิลลิลิตร)} = \frac{[(A-B)\times 100]}{30}$$

โดยกำหนดให้ A = น้ำหนักของกระดาษกรองที่ผ่านการกรอง

B = น้ำหนักของกระดาษกรองก่อนกรอง

3. การเตรียมบัฟเฟอร์

3.1 0.05 โมลาร์ของซิเตรท-ฟอสเฟต บัฟเฟอร์ (citrate-phosphate buffer) พีเอช 2.5 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 และ 8.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลาย ก : 0.05 โมลาร์ ของกรดซิตริก ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)

ละลาย 10.507 กรัม ของกรดซิตริก ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

สารละลาย ข : 0.05 โมลาร์ ของไดเบสิคโซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4)

ละลาย 7.098 กรัม ของไดเบสิคโซเดียมฟอสเฟตในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

3.2 0.05 โมลาร์ ของไกลซีน-โซเดียมไฮดรอกไซด์ บัฟเฟอร์ (glycine-NaOH buffer) พีเอช 9.0 10.0 และ 11.0

สารละลาย ก : 0.05 โมลาร์ ของไกลซีน (glycine)

ละลาย 3.752 กรัม ของไกลซีนในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตร

สารละลาย ข : 0.05 โมลาร์ ของโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

ละลาย 2.000 กรัมของกรดโซเดียมไฮดรอกไซด์ในน้ำกลั่น แล้วปรับปริมาตรให้เป็น 1ลิตร

ในการปรับค่าพีเอชของบัฟเฟอร์ ให้ใช้สารละลายที่มีค่าพีเอชใกล้เคียงกับค่าที่ต้องการเป็นตัวหลัก และใช้สารละลายอีกตัวเป็นตัวปรับจนกระทั่งได้ค่าพีเอชที่ต้องการ

ตารางที่ ค1 แสดงปริมาณเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต(เปอร์เซ็นต์อิ่มตัว)ที่ใช้ตกตะกอนโปรตีน (Chambers, 1993)

ความเข้มข้นเริ่มต้นของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (เปอร์เซ็นต์อิ่มตัวที่ 0°C)	ความเข้มข้นสุดท้ายของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (เปอร์เซ็นต์อิ่มตัวที่ 0°C)											
	20	30	40	50	60	70	75	80	85	90	95	100
	กรัมของเกลือแอมโมเนียมซัลเฟตที่เติมลงในสารละลาย 100 มิลลิลิตร											
0	10.7	16.6	21.9	29.5	36.6	44.2	48.3	52.3	56.7	61.1	65.9	70.7
10	5.4	11.1	17.1	23.6	30.5	37.9	41.8	45.8	50.0	54.4	58.9	63.6
20	0	5.6	11.5	17.7	24.4	31.6	35.4	39.2	43.3	47.5	51.9	56.5
30		0	5.7	11.9	18.4	25.3	28.9	32.8	36.7	40.8	45.1	49.5
40			0	5.9	12.2	19.0	22.5	26.2	30.0	34.0	38.1	42.4
50				0	6.1	12.7	16.1	19.7	23.3	27.2	31.2	35.3
60					0	6.3	9.6	13.1	16.6	20.4	24.2	28.3
70						0	3.2	6.6	10.0	13.6	17.3	21.2
75							0	3.2	6.7	10.2	13.9	17.6
80								0	3.3	6.8	10.4	14.1
85									0	3.4	6.9	10.6
90										0	3.4	7.1
95											0	3.5
100												0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ข้อมูล

ตารางที่ ง1 แสดงผลของเด็กซแตรนที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของเด็กซแตรน	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
5.0 กรัมต่อลิตร	0	5.09	0	1.38	0.06
	1	6.61	2.64	1.14	0.36
	2	6.40	38.99	2.71	1.07
	3	6.95	639.65	3.42	1.78
	4	7.10	1,367.84	1.33	1.44
	5	7.24	1,632.16	0.97	1.00
7.5 กรัมต่อลิตร	0	5.05	0	1.92	0.04
	1	5.25	26.43	2.08	0.69
	2	5.51	132.16	5.53	1.78
	3	5.64	2,101.32	2.42	2.43
	4	5.81	5,022.03	1.65	1.77
	5	6.41	7,083.70	0.65	1.25
10.0 กรัมต่อลิตร	0	5.05	0	2.66	0.05
	1	5.30	13.22	2.29	0.67
	2	5.25	118.94	5.96	1.52
	3	5.35	1,903.08	2.45	2.63
	4	5.56	4,314.98	1.93	2.03
	5	5.92	5,781.94	0.83	1.87
12.5 กรัมต่อลิตร	0	4.97	0	3.22	0.05
	1	5.17	26.43	3.20	0.38
	2	5.10	198.24	6.03	1.74
	3	5.24	581.49	3.67	2.65
	4	5.49	2,028.63	2.25	2.13
	5	5.63	3,277.53	1.56	1.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง1 (ต่อ)

ความเข้มข้นของเด็กซแตรน	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวส์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
20.0 กรัมต่อลิตร	0	4.97	0	4.99	0.03
	1	5.19	46.36	4.57	0.32
	2	4.97	264.33	6.14	1.99
	3	5.23	422.91	8.41	2.72
	4	5.38	640.97	5.19	2.57
	5	5.46	713.66	3.32	1.65

ตารางที่ ง2 แสดงผลของแหล่งไนโตรเจน

แหล่งไนโตรเจน	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
ยีสต์สกัด	0	5.01	0	1.72	0.03
	1	3.98	99.12	5.95	0.89
	2	5.12	138.77	2.83	1.68
	3	6.26	4,433.92	1.46	2.62
	4	6.97	6,806.17	1.28	1.51
	5	7.35	8,662.99	0.84	1.00
น้ำแช่ข้าวโพด	0	5.02	0	1.77	0.04
	1	4.54	79.29	6.15	1.26
	2	4.20	251.10	5.17	1.56
	3	4.64	918.50	2.56	2.22
	4	4.82	3,297.36	1.77	1.85
	5	5.00	5,914.10	1.21	1.21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง2 (ต่อ)

แหล่งไนโตรเจน	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
เปปโตน	0	5.02	0	1.72	0.04
	1	3.05	39.65	4.27	0.86
	2	4.66	502.20	2.37	1.64
	3	6.33	1,400.88	1.66	2.36
	4	7.03	2,312.78	1.44	1.69
	5	7.43	2,748.90	1.27	1.20
โซเดียมไนเตรท	0	4.97	0	1.06	0.05
	1	5.08	66.08	5.64	1.44
	2	5.26	634.36	3.31	1.66
	3	5.27	1,215.86	1.88	2.46
	4	5.75	5,533.23	1.32	1.88
	5	6.05	8,576.00	1.18	1.21
แอมโมเนียมซัลเฟต	0	4.95	0	1.33	0.04
	1	2.20	6.61	4.53	1.56
	2	2.05	19.82	3.91	1.73
	3	1.91	158.59	2.15	2.00
	4	1.98	145.37	1.83	1.26
	5	2.09	118.94	1.05	1.10
แอมโมเนียม	0	4.99	0	1.69	0.03
คลอไรด์	1	1.90	6.61	4.49	1.23
	2	1.75	6.61	3.55	1.73
	3	1.59	26.43	1.72	2.10
	4	1.65	33.04	1.19	1.26
	5	1.75	33.04	1.04	1.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง3 แสดงผลของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต

ความเข้มข้นของโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
0.75 กรัมต่อลิตร	0	5.03	0	1.20	0.01
	1	6.23	918.50	5.30	1.58
	2	5.09	3,151.98	2.56	2.23
	3	5.43	14,405.29	1.08	1.93
	4	5.96	22,995.59	0.38	1.60
	5	6.29	26,035.24	0.31	1.25
1.00 กรัมต่อลิตร	0	5.03	0	1.81	0.03
	1	6.15	859.42	5.08	1.59
	2	5.17	4,110.13	2.66	2.22
	3	5.49	16,149.78	0.86	1.86
	4	5.96	24,317.18	0.62	1.58
	5	6.11	26,563.38	0.57	1.18
1.50 กรัมต่อลิตร	0	5.04	0	1.94	0.04
	1	6.04	667.40	5.28	1.34
	2	5.27	4,790.75	2.31	2.56
	3	5.52	17,444.93	1.02	2.39
	4	5.84	24,317.18	0.53	1.59
	5	6.05	30,726.87	0.44	1.28
2 .00กรัมต่อลิตร	0	4.99	0	1.46	0.05
	1	5.96	674.01	5.32	1.33
	2	5.27	3,277.53	2.74	2.22
	3	5.38	13,942.73	1.17	1.88
	4	5.71	21,722.47	0.77	1.47
	5	5.91	23,788.55	0.49	1.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง4 แสดงผลของพีเอชเริ่มต้น

พีเอช	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
4.0	0	3.97	0	2.67	0.03
	1	6.37	911.89	5.15	1.21
	2	5.38	2,480.18	2.57	2.60
	3	5.95	15,969.16	1.35	2.32
	4	6.35	26,488.99	1.10	1.98
	5	6.49	35,905.29	0.46	1.78
5.0	0	5.01	0	2.41	0.02
	1	6.34	759.911	5.02	1.00
	2	5.28	6,522.03	2.72	2.54
	3	5.97	17,048.46	1.59	2.02
	4	6.34	25,903.09	1.15	1.93
	5	6.43	33,381.06	0.57	1.58
6.0	0	6.00	0	2.32	0.04
	1	6.36	667.40	5.29	1.33
	2	5.17	4,579.29	2.91	2.21
	3	5.97	13,579.29	1.69	2.01
	4	6.35	25,848.02	1.22	1.97
	5	6.38	32,193.83	0.75	1.45
7.0	0	7.02	0	2.27	0.05
	1	6.77	819.38	5.28	0.62
	2	5.13	3,059.47	2.96	1.85
	3	5.73	15,660.79	1.55	1.60
	4	6.11	25,903.08	1.30	1.44
	5	6.23	29,288.55	0.85	1.27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง4 (ต่อ)

พีเอช	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
8.0	0	7.98	0	2.12	0.04
	1	7.20	733.48	5.23	0.35
	2	4.60	1,955.95	2.98	1.03
	3	5.65	11,662.99	1.85	1.50
	4	5.99	21,640.97	1.58	1.33
	5	6.11	26,101.32	1.03	1.02

ตารางที่ ง5 แสดงผลของอุณหภูมิ

อุณหภูมิ	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
30 องศาเซลเซียส	0	4.03	0	1.96	0.06
	1	6.46	607.93	5.35	1.10
	2	5.43	2,603.52	2.23	2.55
	3	5.92	13,436.56	1.62	2.21
	4	6.21	26,861.23	1.22	1.81
	5	6.45	35,292.95	0.50	1.68
40 องศาเซลเซียส	0	3.97	0	2.23	0.03
	1	4.70	161.19	3.60	0.39
	2	5.44	350.22	5.07	2.20
	3	5.85	4,044.05	2.89	1.46
	4	5.94	9,951.54	1.79	0.88
	5	5.85	18,894.68	1.42	0.51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง5 (ต่อ)

อุณหภูมิ	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
50 องศาเซลเซียส	0	4.00	0	1.84	0.05
	1	4.11	42.95	2.74	0.15
	2	4.11	145.37	3.28	0.17
	3	4.09	102.42	3.86	0.12
	4	4.08	52.86	4.02	0.08
	5	4.05	6.61	4.11	0.04
60 องศาเซลเซียส	0	4.00	0	1.76	0.03
	1	4.13	6.61	2.42	0.07
	2	4.12	9.91	3.52	0.10
	3	4.03	13.22	3.75	0.09
	4	4.01	3.30	3.94	0.09
	5	4.01	3.30	4.22	0.05

ตารางที่ ง6 แสดงผลของโลหะ

โลหะ ความเข้มข้น 2.0 กรัมต่อลิตร	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
ไม่เติม	0	4.09	0	2.34	0.03
	1	6.46	385.90	5.09	1.16
	2	5.36	3,674.01	2.86	2.54
	3	6.14	13,050.66	1.58	2.01
	4	6.42	22,506.61	1.23	1.84
	5	6.54	35,656.39	0.52	1.67

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง6 (ต่อ)

โลหะ ความเข้มข้น 2 กรัมต่อลิตร	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์ เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
แคดเมียมคลอไรด์	0	4.00	0	2.34	0.04
	1	4.02	0	2.65	0.06
	2	3.99	0.53	3.11	0.08
	3	4.00	17.97	3.87	0.10
	4	3.93	19.82	4.93	0.13
	5	3.95	23.26	5.33	0.08
เมอร์คิวรีคลอไรด์	0	4.02	0	2.16	0.03
	1	4.02	1.32	2.18	0.04
	2	3.47	1.59	2.53	0.09
	3	3.47	3.44	2.76	0.12
	4	3.41	0	2.81	0.08
	5	3.42	0	2.92	0.05
ซิงค์ซัลเฟต	0	4.03	0	2.53	0.06
	1	4.05	103.74	5.75	1.16
	2	7.02	844.46	2.60	2.64
	3	7.63	1,827.75	1.52	2.48
	4	7.89	2,111.89	1.12	2.08
	5	8.06	2,127.75	0.58	1.84
เฟอร์รัสซัลเฟต	0	4.01	0	2.37	0.03
	1	6.25	202.20	5.65	1.01
	2	5.51	4,027.53	2.64	2.57
	3	6.29	10,486.78	1.43	2.13
	4	6.43	12,720.26	1.23	1.92
	5	6.79	15,687.22	0.59	1.69

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง6 (ต่อ)

โลหะ ความเข้มข้น 2 .0 กรัมต่อลิตร	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์ เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
เลดอะซีเตต	0	4.00	0	2.25	0.04
	1	4.04	0.53	2.22	0.32
	2	6.26	142.73	3.21	1.26
	3	5.45	511.45	5.38	1.37
	4	6.25	1,066.52	2.05	1.03
	5	6.44	2,453.74	1.12	0.90

ตารางที่ ง7 แสดงผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดเป็นแหล่งคาร์บอน

ชนิดของน้ำตาล	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์ เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อ มิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
เด็กซแตรน	0	4.06	0	7.12	0.04
7.5 กรัมต่อลิตร	1	6.43	649.56	4.71	1.23
	2	5.32	2,405.73	1.65	2.58
	3	5.83	13,281.94	1.15	1.81
	4	6.29	22,546.56	0.98	1.70
	5	6.46	35,524.23	0.94	1.56
กลูโคส	0	4.00	0	10.01	0.03
10.0 กรัมต่อลิตร	1	4.37	0	5.01	1.58
	2	5.21	64.10	2.74	2.90
	3	5.44	215.42	1.61	2.25
	4	5.86	223.57	1.24	1.83
	5	6.22	246.48	1.11	1.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง7 (ต่อ)

ชนิดของน้ำตาล	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
มอลโตส	0	4.05	0	9.95	0.04
10.0 กรัมต่อลิตร	1	5.98	0	8.43	0.76
	2	3.45	0	5.85	2.12
	3	4.35	3.96	2.99	2.37
	4	4.63	12.56	1.85	2.87
	5	5.74	56.17	1.14	2.33
ซูโครส	0	4.02	0	10.11	0.03
10.0 กรัมต่อลิตร	1	5.51	0	7.06	0.83
	2	3.93	0	3.12	1.66
	3	4.75	0	1.22	2.21
	4	4.92	1.12	0.97	2.34
	5	5.26	4.49	0.81	2.28
อะราบิโนส	0	4.08	0	10.06	0
10.0 กรัมต่อลิตร	1	5.84	5.29	6.36	0.04
	2	4.85	18.50	5.99	0.16
	3	5.14	31.72	4.71	1.19
	4	5.46	44.93	3.72	2.12
	5	6.09	47.58	3.72	1.42
ฟรักโตส	0	3.99	0	9.48	0.03
10.0 กรัมต่อลิตร	1	6.16	0	4.98	0.69
	2	4.47	2.64	3.49	1.63
	3	5.23	9.25	2.16	2.59
	4	5.39	13.21	1.45	2.33
	5	5.79	13.88	1.41	2.13

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง8 แสดงผลของการใช้น้ำตาลบางชนิดร่วมกับเด็กซแตรน

น้ำตาลบางชนิด	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
เด็กซแตรนชนิดเดียว	0	4.06	0	7.12	0.69	0.04
	1	6.43	649.56	4.71	2.36	1.23
	2	5.32	2,405.73	1.65	1.25	2.58
	3	5.83	13,281.94	1.15	0.67	1.81
	4	6.29	22,546.56	0.98	0.33	1.70
	5	6.46	35,524.23	0.94	0.22	1.56
กลูโคสร่วมกับเด็กซแตรน	0	4.00	0	9.04	2.46	0.03
	1	6.03	448.00	5.59	2.23	1.33
	2	5.16	2,225.64	2.02	1.26	2.80
	3	5.42	15,646.53	1.65	0.51	2.30
	4	5.84	18,383.26	1.24	0.37	2.09
	5	6.23	24,837.00	1.00	0.23	1.74
มอลโตสร่วมกับเด็กซแตรน	0	4.01	0	9.10	2.11	0.05
	1	6.50	264.32	6.89	2.66	1.24
	2	4.35	1,016.79	2.20	1.29	2.78
	3	5.67	11,140.97	1.03	0.56	2.53
	4	6.36	19,189.43	0.98	0.34	2.15
	5	6.50	23,530.84	0.93	0.26	1.99
ซูโครสร่วมกับเด็กซแตรน	0	4.01	0	9.56	1.52	0.03
	1	6.26	137.44	6.92	2.23	1.45
	2	3.90	947.58	2.50	1.39	2.82
	3	5.60	10,493.39	1.41	0.70	2.59
	4	6.10	15,541.85	1.28	0.46	2.22
	5	6.45	20,438.33	1.32	0.34	2.20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง8 (ต่อ)

น้ำตาลบางชนิด	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
อะราบิโนสร่วมกับเด็กซแตรน	0	4.01	0	9.09	2.25	0.04
	1	6.36	153.30	7.84	2.67	1.24
	2	5.23	677.54	2.58	1.52	2.69
	3	5.39	5,517.62	1.51	0.75	2.36
	4	5.88	13,889.97	1.16	0.57	2.07
	5	6.19	21,350.28	1.07	0.45	1.83
ฟรักโตสร่วมกับเด็กซแตรน	0	4.02	0	9.00	2.18	0.04
	1	6.34	130.84	7.81	2.65	1.29
	2	3.79	910.13	2.16	1.35	2.89
	3	5.55	10,903.08	1.43	0.61	2.67
	4	6.21	19,651.93	1.40	0.48	2.00
	5	6.46	22,916.30	1.39	0.36	1.87

ตารางที่ ง9 แสดงผลของการใช้น้ำตาลกลูโคสที่ความเข้มข้นต่างๆ ร่วมกับเด็กซแตรน

	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
เด็กซแตรนชนิดเดียว	0	4.00	0	0.55	0.03
	1	6.42	537.44	1.30	1.19
	2	5.84	2,952.64	0.26	2.52
	3	6.27	14,577.09	0.19	2.22
	4	6.42	24,277.53	0.17	1.65
	5	6.49	36,938.33	0.16	1.49

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง9 (ต่อ)

	วันที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
กลูโคส 1.0	0	4.00	0	1.23	0.06
กรัมต่อลิตร	1	6.32	558.37	1.51	1.32
ร่วมกับ	2	5.49	3,393.17	0.30	2.64
เด็กซแตรน	3	6.24	15,141.81	0.18	2.38
	4	6.26	25,546.26	0.14	1.75
	5	6.38	40,572.69	0.11	1.49
กลูโคส 2.0	0	4.00	0	2.44	0.04
กรัมต่อลิตร	1	6.33	405.07	1.60	1.42
ร่วมกับ	2	5.28	2,681.72	0.29	2.72
เด็กซแตรน	3	5.72	12,812.78	0.20	2.35
	4	6.04	19,665.20	0.15	2.03
	5	6.29	22,837.00	0.13	1.67
กลูโคส 5.0	0	4.00	0	5.31	0.03
กรัมต่อลิตร	1	5.07	0.66	2.86	1.62
ร่วมกับ	2	4.65	826.21	1.56	3.41
เด็กซแตรน	3	5.07	5,191.63	0.25	3.20
	4	5.65	8,768.72	0.19	2.40
	5	6.10	9,931.72	0.15	2.19
กลูโคส 10.0	0	4.00	0	10.64	0.04
กรัมต่อลิตร	1	4.42	0.66	4.00	1.68
ร่วมกับ	2	4.28	598.02	2.57	3.60
เด็กซแตรน	3	5.05	2,180.62	0.38	4.10
	4	5.44	4,400.88	0.22	3.72
	5	6.08	6,588.11	0.17	3.46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง10 แสดงผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับฟลาสก์เขย่า

วันที่	ชั่วโมงที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
0	0	4.09	0	7.71	0
	3	4.08	0	7.53	0.05
	6	4.09	3.57	7.32	0.02
	9	4.10	9.71	6.54	0.03
1	24	6.26	584.14	4.77	1.43
	27	6.33	639.65	3.52	1.64
	30	5.27	697.20	2.61	1.82
	33	4.92	712.33	2.44	2.12
2	48	5.26	2,094.71	1.53	2.43
	51	5.37	4,202.64	1.30	2.47
	54	5.62	5,748.90	1.28	2.52
	57	5.74	8,187.12	1.15	2.49
3	72	5.81	15,083.70	1.13	2.38
	81	5.93	20,008.81	1.09	2.29
4	96	6.11	23,973.57	1.04	1.09
	105	6.27	29,123.35	0.99	1.94
5	120	6.32	34,385.02	0.97	1.84
	129	6.39	35,665.20	0.94	1.80
6	144	6.44	36,960.35	0.96	1.75
	153	6.45	37,000.00	0.96	1.73
7	168	6.48	37,393.83	0.95	1.65
	177	6.40	38,669.60	0.95	1.65
8	192	6.53	38,933.92	0.95	1.63
	201	6.56	37,735.68	0.94	1.62
9	216	6.57	36,361.23	0.94	1.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง11 แสดงผลของการผลิตเอนไซม์เด็กซแตรนเนสในระดับถังหมัก

วันที่	ชั่วโมงที่	พีเอช	กิจกรรมของเอนไซม์เด็กซแตรนเนส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)	น้ำตาลทั้งหมด (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	น้ำหนักแห้ง (กรัมต่อลิตร)
0	0	4.04	0	7.67	0
	3	4.04	0	7.66	0.02
	6	4.03	1.59	7.55	0.09
	9	4.03	6.74	6.69	0.10
1	24	6.31	349.78	4.97	0.79
	27	6.51	556.83	3.62	1.23
	30	6.08	662.78	2.84	1.40
	33	5.13	700.44	2.52	1.61
2	48	4.42	1,918.72	1.72	2.22
	51	5.39	3,186.12	1.41	2.33
	54	5.52	4,603.52	1.32	2.41
	57	5.59	6,061.67	1.23	2.42
3	72	5.63	13,129.96	1.12	2.37
	81	5.71	19,559.47	1.10	2.29
4	96	6.21	23,788.55	1.06	2.20
	105	6.24	27,726.87	1.00	2.10
5	120	6.35	30,607.93	0.99	1.95
	129	6.39	31,550.66	0.98	1.82
6	144	6.42	33,563.88	0.97	1.79
	153	6.44	35,682.88	0.96	1.74
7	168	6.46	36,744.49	0.95	1.70
	177	6.47	37,878.85	0.95	1.68
8	192	6.50	37,993.88	0.95	1.64
	201	6.53	36,259.91	0.95	1.64
9	216	6.53	35,251.10	0.95	1.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวมธุรส จันทร์ศุภมงคล เกิดวันที่ 21 ธันวาคม 2518 ที่จังหวัดกรุงเทพฯ สำเร็จการศึกษาระดับวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาพืชสวน ภาควิชาเทคโนโลยีการผลิตพืช คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ปีการศึกษา 2539 และเข้าศึกษาต่อในระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ตั้งแต่ปีการศึกษา 2540 จนถึงปีการศึกษา 2543

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้