บทที่ 1

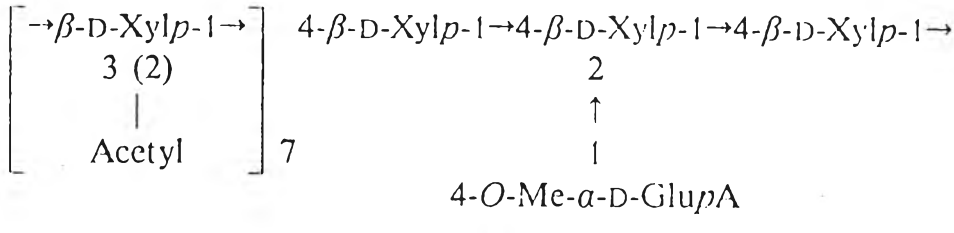
บทนำ

ผนังเซลล์พืชซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนหลักในธรรมชาติ ประกอบด้วยองค์ประกอบหลัก 3 ชนิด ชนิดแรกคือ เซลลูโลส (cellulose) เป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลกลูโคส เชื่อมต่อกันด้วยพันธะบีตา-1,4-ไกลโคซิดิก (β-1,4glycosidic) ที่เป็นสายโซ่ตรง มีสูตรทั่วไปคือ $(C_6H_{10}O_5)n$ พบในปริมาณ 30-50 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักแห้ง ชนิดที่สองคือ เฮมิเซลลูโลส เป็นโพลิแซคคาไรด์ซึ่งเป็นโพลิเมอร์ของน้ำตาลเพนโตส และ/หรือ น้ำตาลเฮกโซส ได้แก่ กลูแคน (glucan) , แมนแนน(mannan) และไซแลน (xylan) ซึ่งจะพบไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก ชนิดสุดท้ายคือ ลิกนิน (lignin) เป็นสารประกอบเชิงซ้อนประเภท พอลิฟีโนลิก (polyphenolic) ซึ่งมักห่อหุ้มชั้นเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสเอาไว้ (Timell, 1967)

ไซแลนเป็นองค์ประกอบหลักของเฮมิเซลลูโลส พบได้ในธรรมชาติ ทั้งในไม้เนื้ออ่อน ไม้เนื้อแข็ง ในผนังเซลล์ชั้นแรกของพืชใบเลี้ยงเดี่ยว วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เช่น ฟางข้าว เปลือกไม้ ซังข้าวโพด ชานอ้อย เปลือกเมล็ดทานตะวัน (Magee and Korasic, 1985) และในธัญพืชต่างๆ (Nakajima et al., 1984) นอกจากนี้ยังสามารถพบไซแลนได้ในวัสดุเหลือทิ้งในระหว่างกระบวนการลอกเนื้อไม้เพื่อทำเยื่อกระดาษ (pulping) หรือจากโรงสีข้าว (Biely, 1985a) ไซแลนที่พบจากแหล่งต่างกัน จะมีปริมาณและโครงสร้างแตกต่างกันไปตามแหล่งที่พบ ในไม้เนื้อแข็งพบว่ามีไซแลนมากถึง 30-35 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักแห้ง (Ward and Moo-Young, 1985) ในพืชชั้นสูงบางชนิดและในวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร พบว่ามีไซแลนอยู่ 20-40 เปอร์เซนต์ ของน้ำหนักแห้ง (Saddler et al., 1983) ไซแลนพบมากในผนังเซลล์พืชจำพวกไม้ดอกประเภทใบเลี้ยงคู่แต่พบน้อยในพืชจำพวกสนคือพบประมาณ 15-30 และ 7-12 เปอร์เซนต์ของน้ำหนักแห้งตามลำดับ (Aspinall, 1980)

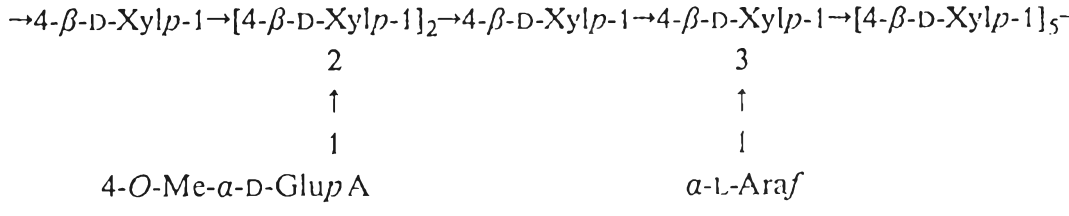
ลักษณะโครงสร้างของไซแลน

ไซแลนเป็นโพลีแซคคาไรด์ของน้ำตาลดี-ไซโลส (D-xylose) เชื่อมกันด้วยพันธะ บีตา-1,4-ไซโลซิดิก (1,4 xylosidic) เป็นสายหลักและมีโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆหรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวมาเชื่อมเป็นสายโซ่กิ่ง ยกเว้นไซแลนในพืชบางชนิด เช่น หญ้าเอสพาโต (esparto grass : *Stipa tenacissima*) (Chanda et al., 1950) พบว่าเป็นไซแลนที่ไม่มีกิ่ง ซึ่งกิ่งของไซแลนอาจประกอบด้วย หมู่อะซิทิล (acetyl) , อะราบิโนซิล (arabinosyl), กลูคูโรนิล (glucuronyl), หรือกาแลคโตซิล (galactosyl) ไซแลนที่พบในไม้เนื้อแข็งเป็นกลูคูโรโนไซแลน (glucuronoxylan) มีสายหลักประกอบด้วย บีตา-ดี-ไซโลไพราโนส (β-D-xylopyranose) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ 1,4-ไซโลซิดิกและมีสายโซ่กิ่งประกอบด้วย 4-โอ-เมธิล-แอลฟา-ดี-กลูคูโรนิค แอซิค (4-*O*-methyl-α-D-glucuronic) เป็นองค์ประกอบประมาณ 10 เปอร์เซนต์ เชื่อมต่อด้วยพันธะ แอลฟา ในส่วนกลูคูโรนิคจะจับกับคาร์บอนในตำแหน่งที่ 2 ของน้ำตาลไซโลสในสายโซ่หลัก และในส่วนโอ-อะซิทิล หรือแอลฟา-แอล-อะราบิโนฟิวราโนซิล (α-L-arabinofuranosyl) จะจับกับคาร์บอนในตำแหน่งที่ 3 ของน้ำตาลไซโลสในสายโซ่หลักหรืออาจมียูโรนิล (uronyl) เป็นสายโซ่กิ่ง มีอัตราส่วนของน้ำตาลไซโลสต่อกรดยูโรนิค อยู่ในช่วง 3:1 ถึง 20:1 แต่ปกติแล้วอัตราส่วนมักอยู่ในช่วง 7:1 ถึง 12:1 จำนวนหน่วยของน้ำตาลไซโลสที่มาเชื่อมต่อกัน (degree of polymerization) อยู่ในช่วง 150-200 หน่วย ดังรูปที่ 1



รูปที่ 1 ลักษณะโครงสร้างของไซแลนในไม้เนื้อแข็ง (Ericksson, Blanchette and Ander, 1990)

ไซแลนที่พบในไม้เนื้อออนส่วนใหญ่จะเป็น อะราบิโน-4-โอ-เมธิล-กลูคูโรโนไซแลน โครงสร้างหลักประกอบด้วยสายหลักของน้ำตาลไซโลส และมีสาขาเชื่อมด้วยพันธะแอลฟาของกรด 4-โอ-เมธิล-ดี-กลูคูโรนิคและแอล-อะราบิโนฟิวราโนส อัตราส่วนของไซโลสต่อกรดยูโรนิคแตกต่างกันในช่วง 5:1 ถึง 7:1 ส่วนปลายรีดิวซ์อาจเป็นแรมโนซิล (rhamnosyl), กาแลคโตโรโนซิล (galacturonosyl) หรือไซโลซิล (xylosyl) (Casey, 1980 ; Anderson et al., 1983 ; McNeil et al., 1983) ดังรูปที่ 2



รูปที่ 2 ลักษณะโครงสร้างของไซแลนในไม้เนื้ออ่อน (Ericksson et al., 1990)

องค์ประกอบหลักของไซแลนได้แก่น้ำตาล ดี-ไซโลส มีสูตรเคมี $C_5H_{10}O_5$ มวลโมเลกุล 150.13 มักไม่พบในรูปอิสระ เป็นสารที่ให้รสหวาน จุดหลอมเหลว 144-145 องศาเซลเซียส น้ำตาลดี-ไซโลสสามารถนำมาเป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารที่มีประโยชน์มากมาย เช่น โปรตีนเซลล์เดี่ยว, เชื้อเพลิงเคมี เอธานอลและไซลิทอลเป็นต้น (Biely,1985a ; Biswas, Mishra and Nanda 1988 ; Neale,Scopes and Kelly,1988 ; Kotter and Ciriary, 1993)

<u>การย่อยสลายไซแลน</u>

การย่อยสลายไซแลนให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว สามารถย่อยสลายโดยการใช้สารเคมีการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ หรือใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน (Tsao and Chiang, 1983)

1. การย่อยสลายไซแลนด้วยสารเคมี

การย่อยสลายไซแลนด้วยสารเคมีมักใช้ในอุตสาหกรรมการฟอกเยื่อกระดาษจากไม้เนื้อแข็ง โดยใช้วิธีการฟอกเยื่อกระดาษด้วยด่าง (alkaline pulping) หรือการฟอกเยื่อกระดาษด้วยสารซัลไฟท์ (sulfite pulping) สารเคมีที่ใช้ในกระบวนการเหล่านี้ได้แก่ โพลีซัลไฟด์ (polysulfide) , ไฮโดรเจน ซัลไฟด์ (hydrogen sulfide), แอนทราควิโนน (antraquinone) และโซเดียมบอโรไฮไดร์ด (sodium borohydride) ปฏิกิริยาเกิดที่อุณหภูมิสูง คืออุณหภูมิไม่ต่ำกว่า 150 องศาเซลเซียส โอลิโก-แซคคาไรด์ที่ได้จากกระบวนการนี้มีจำนวนหน่วยของน้ำตาลไซโลสเชื่อมกันอยู่ประมาณ 40 หน่วย (Casey, 1980) ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้จะรุนแรงและไม่จำเพาะเจาะจง นอกจากนี้ยังทำให้เกิดสารพิษ เช่น เฟอฟูรัล ซึ่งเป็นพิษเมื่อนำไปใช้เตรียมเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ (Paturan, 1989) และยังต้องใช้อุปกรณ์ที่สามารถทนต่อสารเคมีที่ความเข้มข้นสูงและทนอุณหภูมิสูงได้ (Woodward, 1987; Parisi, 1989)

2. การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์

การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์ เป็นปฏิกิริยาที่มีความจำเพาะสูงกว่าการย่อยสลายโดยใช้สารเคมี ใช้ภาวะในการย่อยสลายที่เป็นกลาง ไม่ก่อให้เกิดสารเคมีที่ตกค้าง ไม่ทำให้เกิดสารพิษ ซึ่งจะทำให้นำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารอื่นๆ ต่อไป (Biely,1985a) ซึ่งเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะ บีตา-1,4 ของสายหลัก มีอยู่ 2 ชนิดใหญ่ๆ คือ

2.1 เอนไซม์ เอนโด-1,4-บีตา-ดี-ไซแลเนส (endo-1,4-β-D-xylanase) หรือ 1,4-บีตา-ดี-ไซแลน-ไซแลโนไฮโดรเลส (1,4-β-D-xylan-xylanohydrolase : EC 3.2.1.8) เอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยสลายพันธะ 1,4-บีตา-ดี-ไซโลซิดิก ซึ่งเป็นส่วนโครงสร้างหลักของไซแลนแบบสุ่ม กระบวนการที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า กลไกแบบเอนโด (endo-mechanism) ภายหลังจากการย่อยสลายแล้วจะได้ไซโลสและโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆ เป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Lee, Lowe, and Zeikus, 1993)

2.2 เอนไซม์ 1,4-บีตา-ดี-ไซโลซิเดส(1,4-β-D-xylosidase) หรือ 1,4-บีตา-ดี-ไซแลโนไฮโดรเลส (1,4-β-D-xylanohydrolase : EC 3.2.1.37) เป็นเอนไซม์ที่จำเพาะในการย่อยสลายไซแลนอย่างสมบูรณ์ (Ericksson, Blanchette and Ander, 1990) เอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยสลายพันธะ 1,4-บีตา-ดี-ไซโลไพราโนไซด์ ในโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆ ทีละ 1 หน่วยจากปลายสายด้านนอนรีดิวซ์ (non-reducing) กระบวนการที่เกิดขึ้นนี้เรียกว่า กลไกแบบเอคโซ (exo-mechanism) ภายหลังจาก

การย่อยสลายแล้วจะได้น้ำตาลไซโลส (Dekker and Richard, 1976)

นอกจากนี้ยังมีเอนไซม์ชนิดอื่นๆที่ช่วยในการย่อยสลายไซแลนให้เกิดอย่างสมบูรณ์ เช่น

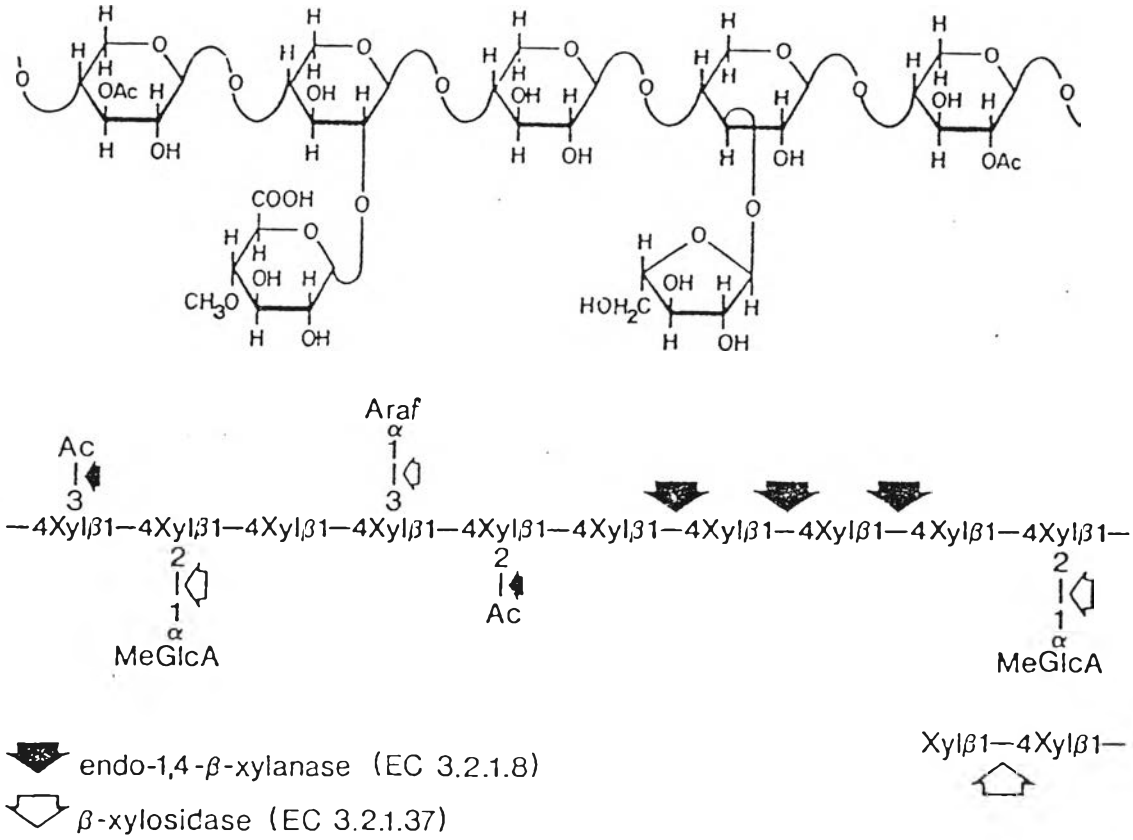
: เอนไซม์ แอลฟา-แอล-อะราบิโนฟิวราโนซิเดส (α-L-arabinofuranosidase : EC 3.2.1.55) ย่อยสลายพันธะกิ่งของไซแลนที่เป็นหมู่นอน-รีดิวซ์ แอลฟา-แอล-อะราบิโนฟิวราโนซิลของแอลฟา-แอลอะราบิโนฟิวราโนไซด์, อะราบิแนน, อะราบิโนไซแลน และอะราบิโนกาแลคแทน (International Union Biochemistry, 1984) ซึ่งมักเชื่อมกับสายหลักของ บีตา-1,4-ไซโลไพราโนซิล ด้วยพันธะแอลฟา-1,3 ได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นน้ำตาลไซโลส รวมกับน้ำตาลที่เป็นพันธะกิ่ง (Aspinall, 1980)

: เอนไซม์ 1,2-แอลฟา-ดี-กลูคูโรนิเดส (1,2-α-D-glucuronidase : EC 3.2.1) ย่อยสลายไซโลโอลิโกเมอร์ส่วนที่เป็นกรด ได้แก่ 4-โอ-เมธิลกลูคูโรนิค แอซิค ซึ่งมักเชื่อมกับสายหลักด้วยพันธะแอลฟา -1,2 ให้หลุดออกมา เอนไซม์นี้จำเป็นในการย่อยสลายไซแลนที่ได้จาก birch wood เนื่องจากไซแลนจากแหล่งนี้จะมีสาขาที่เป็น 4-โอ-เมธิลกลูคูโรนิค และโอ-อะซิติล อยู่จำนวนมาก (Puls, Schmirt, and Granzow, 1987)

: เอนไซม์ อะเซติล (ไซแลน) เอสเทอเรส [acetyl (xylan) esterase: EC 3.1.1.6] ย่อยสลายพันธะบีตา-1,2 และบีตา-1,3 ที่เชื่อมหมู่อะเซติลกับสายหลัก หมู่อะเซติลที่พบในไซแลน มักได้แก่ อะเซติล-แมนโนส, อะเซติล-กลูโคส, อะเซติล-มอลโทส และอะเซติล-เซลโลไบโอส (Frohwein, Zori, and Leibowiz, 1963) ให้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดอะซิติก (Reese, Lola and Parrish, 1969)

: เอนไซม์ แอลฟา-แอล-ฟูโคซิเดส (α-L-fucosidase) ย่อยสลายไซโลกลูแคนและแรมโน-กาแลคโตโรแนน (rhamnogalacturonans) จากปลายสาย แอล-ฟูโคไซด์

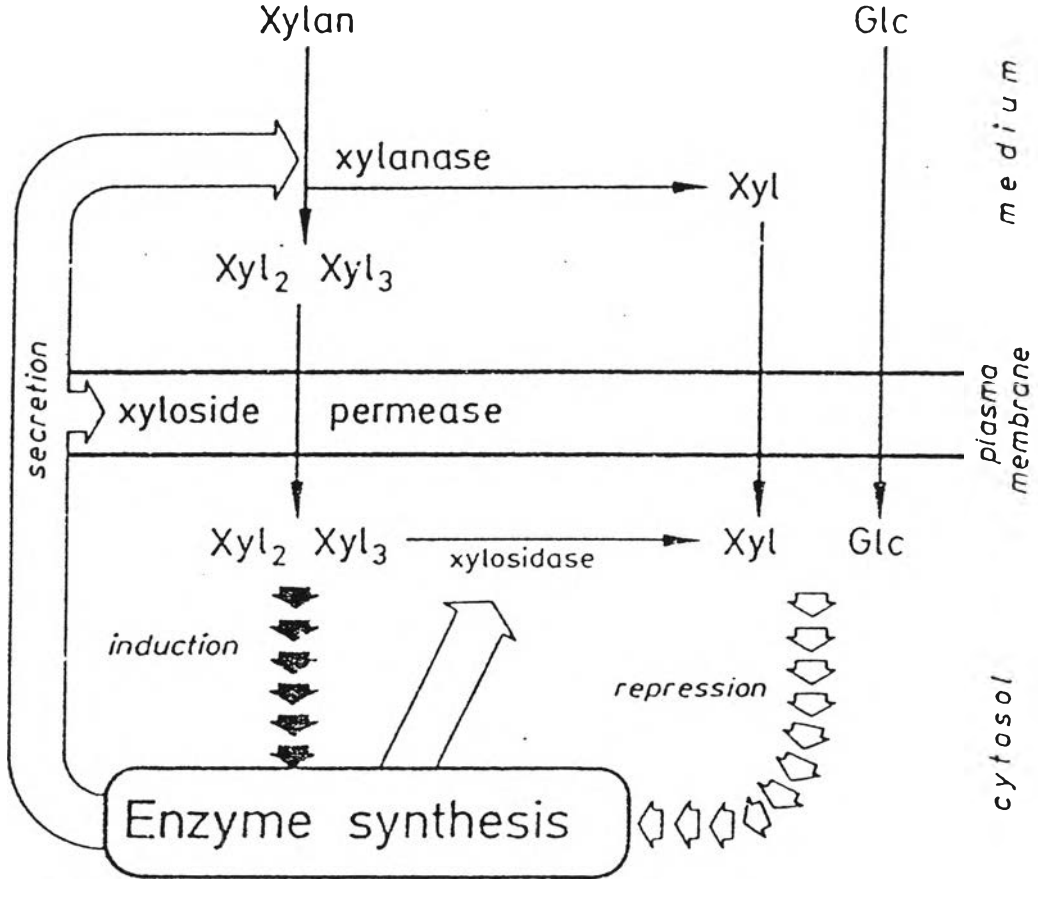
จากเอนไซม์ในกลุ่มย่อยสลายไซแลนทั้งหมดที่ได้กล่าวมาแล้ว สามารถแสดงแผนภาพรวม การทำงานของเอนไซม์ในกลุ่มนี้เพื่อย่อยสลายโครงสร้างของไซแลนได้ ดังแสดงในรูปที่ 3



รูปที่ 3 การย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายไซแลน (Biely, 1985a)

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

Biely และ Petrakova (1985) ศึกษาการย่อยสลายไซแลนด้วยเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายไซแลนจากยีสต์ *Cryptococcus albidus* พบว่าเชื้อนี้สามารถสร้างเอนไซม์ไซแลเนสและบีตา-ไซโลซิเดส โดยปลดปล่อยไซแลเนสออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยไซแลนให้เป็นไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้นๆ จากนั้นใช้กระบวนการแอคทีพ ทรานสปอร์ต นำโอลิโกแซคคาไรด์นั้นเข้าภายในเซลล์ ต่อจากนั้นจะเป็นการย่อยสลายโดยบีตา-ไซโลซิเดสในเซลล์ ซึ่งจะได้น้ำตาลไซโลสที่สามารถเปลี่ยนไปเป็นแหล่งพลังงานเพื่อใช้ในการเจริญต่อไป กระบวนการย่อยสลายไซแลนโดย *C. albidus* แสดงได้ในรูปที่ 4



รูปที่ 4 กระบวนการย่อยสลายไซแลนโดย *Cryptococcus albidus* (Biely and Petrakova, 1985)

Glc แทน ดี-กลูโคส

Xyl แทน ดี-ไซโลส

Xyl_2 แทน ไซโลไบโอส

Xyl_3 แทน ไซโลไตรโอส

บีตา-ไซโลซิเดส จัดเป็นเอนไซม์กลุ่มย่อยสลายไซแลนชนิดหนึ่งที่มีความสำคัญ ซึ่งเมื่อทำงานร่วมกับไซแลเนสจะสามารถย่อยไซแลน ให้ไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย

<u>แหล่งของบีตา-ไซโลซิเดส</u>

บีตา-ไซโลซิเดสพบได้ในสิ่งมีชีวิตหลายชนิดเช่น แบคทีเรีย แอคติโนมัยสีท ยีสต์ รา โปรโตซัว พืช ผลไม้เช่น ผลอะโวกาโด (*Persea americana*) สัตว์ทะเล เช่น *Patnopectin*, หอยกาบคู่ (*Charonoa lampas*) และแมลง (Fukuda, Muramatsu and Egami,1969 ; Reese, Maguire, and Parrish 1973 ; Pou-Llinas and Driguez, 1987 ; Ball and McCarthy, 1989 ; O'Neill, Albersheim, and Parvill, 1989 ; Nanmori et al., 1990 ; Takagaki et al., 1990 ; Ronen et al., 1991 ; Smith and Wood, 1991) บีตา-ไซโลซิเดสที่นิยมศึกษามักมาจากจุลินทรีย์ เนื่องจากสามารถเพาะเลี้ยงได้ง่ายและเจริญได้อย่างรวดเร็ว จุลินทรีย์ส่วนใหญ่มักสร้างและเก็บเอนไซม์ไว้ภายในเซลล์ (intracellular enzyme) แต่มีจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ที่สร้างและปลดปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (extracellular enzyme) ตัวอย่างสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างบีตา-ไซโลซิเดส แสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ตัวอย่างสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่สามารถสร้างบีตา-ไซโลซิเดส

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus awamori	Tenkanen และคณะ, 1993.
Aspergillus awamori AANTG 19	Smith และ Wood, 1991a.
Aspergillus foetidus	Biely และ Poutanen, 1989.
Aspergillus fumigatus	Lindner, Stulket และ Hecker, 1994.
Aspergillus fumigatus Fresenius	Kitpreechavanich และคณะ, 1992.
Aspergillus niger	John, Schmidt และ Schmidt, 1979.
Aspergillus nige NCIM 1207r	Gokhale, Puntambekar และ Deobagkar, 1986.
Aspergillus niger 15	Rodionova, Tavobilov และ Bezborodov, 1983.
Aspergillus ochraceus	Biswas และคณะ 1987.
Aspergillus oryzae	Tenkanen และคณะ, 1993.
Aspergillus terreus	Biely และ Poutanen, 1989.

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Aureobasidium pullulans	Takanen และคณะ, 1993.
Bacillus circulan	Ratto และคณะ, 1992.
Bacillus stearothermophilus	Nanmori และคณะ, 1990.
Bacillus subtilis	Lindner และคณะ, 1994.
Bacteroides xylanoyticus	Schyns และ Stams, 1992.
Butyrivibrio fibrisolvens	Utt และคณะ, 1991.
Cellulomonas uda	Rapp และ Wagner, 1986.
Chaetomium trilaterate	Uziie, Matsuo และ Yasui, 1985.
Clostridium acetobutylicum ATCC 824	Lee และ Forsberg, 1987.
Clostridium stercorarium	Wolfgang และคณะ, 1990.
Cryptococcus albidus	Biely และคณะ, 1980.
Dictyogiomus sp.	Ratto และคณะ, 1994.
Emericella niduluns	Matsuo และ Yashi, 1984b.
Fibrobacter succinogenes	Smith และ Forsberg, 1991.
Humicola lanuginosa	Kitpreechavanich, Hayashi และ Nagai, 1984.
Neocallimastix frontalis	Hebraud และ Fevre, 1990.
Neurospora crassa	Deshphande และคณะ, 1985.
Penicillium funiculsum	Mishra, Seeta และ Rao, 1985.
Penicillum wortmanni	Win, Matsuo และ Yasui, 1987.
Penicillum wortmanni IFO 7237	Matsuo และคณะ, 1987.
Phanerochaete chrysosporium	Copa-Patino, Kim และ Broda, 1993.
Pullularia pullulans	Pou-Llinas และ Driguez, 1987.
Rhodobacter marinus	Dahlberg, Holst และ Kristjanson, 1993.
Scierotinia scierotiorum	Riou, Freyssint และ Fevre, 1991.
Shizophyllum commune	Tenkanen และคณะ, 1993.
Streptomyces lividans 1326	Kluepfel และคณะ, 1986.

ตารางที่ 1 (ต่อ)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง
Streptomyces olivochromogens	Tenkanen และคณะ, 1993.
Streptomyces sp.	Nakanishi และคณะ, 1987.
Streptomyces sp. EC 1	Godden และคณะ, 1989.
Thermoanaerobacter ethanolyticus	Shao และ Wiegel, 1992.
Thermoanaerobacterium saccharolyticum	Lee, และคณะ, 1993.
Thermoascus aurantiacus	Gomes ,Gome และ Steiner, 1994.
Thermomonospora fusca	McCarthy และ Bachmann, 1992.
Thermomonospora strain LL	Ristroph และ Humphreyt, 1985.
Thermomyces lanuginosa	Gomes และคณะ, 1993.
Trichoderma lignorum	Defaye และคณะ, 1985.
Trichoderma reesei	Tenkanen และคณะ, 1993.
Trichoderma viride	Matsuo และ Yasui, 1984b.

กรรณิการ์ ดวงมาลย์ (2537) ได้แยก *Streptomyces* spp. ที่ผลิตบีตา-ไซโลซิเดสจากแหล่งดินในประเทศไทยพบว่า *Streptomyces* sp. 43-4 เป็นสายพันธุ์ที่สามารถสร้างบีตา-ไซโลซิเดสได้สูงสุดและมีความคงที่ในการสร้างเอนไซม์เมื่อเปรียบเทียบกับ *Streptomyces* sp. สายพันธุ์อื่นที่แยกได้ในภาวะการตรวจสอบเดียวกัน โดยที่ภาวะคัดแยกเชื้อ *Streptomyces* sp. 43-4 ผลิตบีตา-ไซโลซิ-เดสได้ 0.50 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ซึ่งมี 127 สายพันธุ์ให้บีตา-ไซโลซิเดสในช่วง 0-0.02 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน 47สายพันธุ์ ให้บีตา-ไซโลซิเดสในช่วง 0.02-0.20 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน และ 11 สายพันธุ์ให้บีตา-ไซโลซิเดสในช่วง 0.20-0.40 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน นอกจากนั้นยังได้ศึกษาการผลิต บีตา-ไซโลซิเดสโดย *Streptomyces* sp. 43-4 ในขวดเขย่า พบว่า *Streptomyces* sp. 43-4สามารถสร้างบีตา-ไซโลซิเดสในอาหารที่มีไซแลนเป็นแหล่งคาร์บอนและยังคงสร้างบีตา-ไซโลซิเดสได้เมื่อมีกากเมล็ดฝ้ายหรือเปลือกข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอน แต่กลูโคสและไซโลสกดการสร้างบีตา-ไซโลซิเดส ผลการทดลองยังพบว่าการใช้กากเมล็ดฝ้ายที่ผ่านการแช่ด่าง 4 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับเปลือกข้าวโพดบด 3 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถทดแทนไซแลนได้โดยให้แอคติวิตี 0.77 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ส่วนแหล่ง

ไนโตรเจนพบว่า 1 เปอร์เซนต์ไฮโดรไลเสทของกากถั่วเหลือง(น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่มีเปอร์เซนต์ไนโตรเจนทั้งหมดเท่ากับ 0.4 สามารถทดแทน คอร์นสตีพ ลิเคอร์ และโพลีเพปโตนได้โดยให้แอคติวิตี 0.74 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ส่วนการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิด อนินทรียสาร พบว่าการใช้ยูเรีย 0.05 เปอร์เซนต์ หรือแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05-0.15 เปอร์เซนต์ จุลินทรีย์ก็สามารถสร้างเอนไซม์ได้ แต่ระดับเอนไซม์ที่สร้างได้ยังไม่สูงเท่ากับการใช้ 1 เปอร์เซนต์ ไฮโดรไลเสทของกากถั่วเหลืองคือให้แอคติวิตี 0.67 และ 0.63 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ สำหรับเกลือแร่ เช่น ไดโพแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต แมกนีเซียมซัลเฟต โพแทสเซียมคลอไรด์ และเฟอรัสซัลเฟต พบว่ามีผลเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างเอนไซม์ได้บ้างถ้าเติมในปริมาณที่เหมาะสม แต่ถ้ามีปริมาณมากเกินไปก็จะทำให้การสร้างเอนไซม์ลดลงได้เช่นกัน การสร้างบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Streptomyces* sp. 43-4 สัมพันธ์กับการเจริญของจุลินทรีย์ (growth associate) ซึ่งจากการเลี้ยง *Streptomyces* sp. 43-4 โดยมีแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมดังกล่าวในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 7.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เชื้อสามารถสร้างบีตา-ไซโลซิ-เดสได้ 1.53 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน แอลฟา-แอล-อะราบิโนฟิว-ราโนซิเดส 1.58 หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน และยังสร้างไซแลเนส 9.4 หน่วยต่อมิลลิลิตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อเลี้ยงเป็นเวลา 4 วัน เมื่อเปรียบเทียบแอคติวิตีของบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Streptomyces* sp. 43-4 กับจุลินทรีย์อื่นๆที่สามารถสร้างบีตา-ไซโลซิเดสได้พบว่า *Streptomyces* sp. 43-4 จัดว่ามีประสิทธิภาพสูงในการสร้างเอนไซม์นี้ ดังในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 เปรียบเทียบแอคติวิตีของบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Streptomyces* sp. 43-4 กับจุลินทรีย์อื่นๆที่สามารถสร้างบีตา-ไซโลซิเดสได้

สายพันธุ์จุลินทรีย์	แอคติวิตีจำเพาะ (หน่วยต่อมิลลิกรัมโปรตีน)	เอกสารอ้างอิง
Streptomyces sp. 43-4	1.53	กรรณิการ์ ดวงมาลย์, 2538.
Aspergillus awamori	0.03	Smith และ Wood, 1991b.
Aspergillus awamori	2.88	Tenkanen และคณะ, 1993.
Aspergillus foetidus	4.40	Biely และ Poutanen, 1989
Aspergillus fumigatus	0.30	Biely และ Poutanen, 1989.

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	แอคติวิตีจำเพาะ (หน่วยต่อ มิลลิกรัมโปรตีน)	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus fumigatus	0.50	Viikari และคณะ, 1991.
Aspergillus fumigatus	0.18	Kitpreechavanich และคณะ, 1986.
Aspergillus niger	0.10	John และคณะ, 1979.
Aspergillus nider 15	0.18	Rodionova และคณะ, 1983.
Aspergillus oryzae	2.63	Biely และ Poutanen, 1989.
Aspergillus oryzae	3.50	Viikari และคณะ, 1991.
Aspergillus terreus	0.43	Biely และ Poutanen, 1989.
Aureobasidium pullulans	0.30	Tenkanen และคณะ, 1993.
Aureobasidium pullulans	0.90	Dobberstein และ Emeis, 1991.
Bacillus circulans	2.74	Rotto และคณะ, 1992.
Clostridium acetobutyricum ATCC 824	0.11	Lee และ Forsberg, 1987.
Cryptococcus albidus	0.02	Bielv, Vrsanska และ Kratky, 1980.
Emericella nidulans	0.10	Matsuo และ Yashi, 1984a.
Fibrobacter succinogenes	0.06	Smith และ Forsberg,1991.
Neuspora crassa	0.01	Desphande และคณะ, 1985.
Penicillium wortmanni IFO 7237	4.80	Matsuo และคณะ, 1987.
Shizophyllum commune	0.06	Tenkanen และคณะ, 1993.
Streptomyces lividans 1326	0.37	Kluepfel และคณะ, 1986.
Streptomyces olivochromogenes	0.06	Tenkanen และคณะ, 1993.
Thermomonospora fuscar	0.56	Bachmann และ McCarthy, 1989.
Thermomyces langinosus	0.01	Gomes และคณะ, 1993.

ตารางที่ 2 (ต่อ)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	แอคติวิตีจำเพาะ (หน่วยต่อ มิลลิกรัมโปรตีน)	เอกสารอ้างอิง
Trichoderma reesei	0.66	Poutanen และ Puls, 1988.
Trichoderma reesei	0.64	Tankanen และคณะ, 1993.
Trichoderma viride	0.44	Matsuo และ Yashi, 1984b.

นอกจากรายงานเกี่ยวกับความสามารถในการสร้างบีตา-ไซโลซิเดสโดยจุลินทรีย์ชนิดต่างๆแล้ว ยังมีรายงานหลายฉบับศึกษาการทำเอนไซม์ดังกล่าวให้บริสุทธิ์โดยมีขั้นตอนต่างๆกัน เช่น

การใช้เกรเดียนท์ของ pH ในขั้นตอนการชะโปรตีนออกจากคอลัมน์ โดย Rodionova และคณะ (1983) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aspergillus niger* 15 ให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วยเอธานอล นำไปผ่านคอลัมน์เซฟาเด็กซ์ จี-50 ขนาด 7 x 42 เซนติเมตร และคอลัมน์ดีอี-52 เซลลูโลส (DE-52 cellulose) ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์เส้นตรงของ pH ในช่วง 5.8-4.8 ทำให้เข้มข้นโดยการระเหยแห้ง (evaporator) ผ่านคอลัมน์เซฟาเด็กซ์ เอสพี ซี-50 (Sephadex SP C-50) ขนาด 2 x 20 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์เส้นตรงของ pH ในช่วง 3.8-4.8 และผ่านคอลัมน์เซฟาเด็กซ์ จี-200 ขนาด 1.8 x 138 เซนติเมตร พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้ว มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 199 เท่า เหลือแอคติวิตี 42.5 เปอร์เซนต์

การใช้ขั้นตอนคอลัมน์อิเลคโตรโฟริซิส เช่น Matsuo และ Yasui (1984b) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิ-เดสให้บริสุทธิ์จาก *Trichoderma viride* โดยการตกตะกอนน้ำเลี้ยงเชื้อปริมาตร 10 ลิตร ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 80 เปอร์เซนต์ นำมาผ่านคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเด็กซ์ จี-25 (DEAE-Sephadex G-25) ขนาด 3.5 x 45 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์ของโซเดียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0-500 มิลลิโมลาร์ ทำให้เข้มข้นโดยอัลตราฟิลเตรชันผ่านแผ่นกรอง พีเอ็ม 10 (PM 10 membrane) จากนั้นนำมาผ่านคอลัมน์อิเลคโตรโฟริซิสในไบโอเจล พี-100 (Biogel P-100) ขนาด 4.5x80 เซนติเมตร แรงดันไฟฟ้า 820 โวลต์ นาน 29 ชั่วโมง จากนั้นนำมาผ่านคอลัมน์

ไบโอเจล พี-100 ขนาด 3.5x45 เซนติเมตร พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 24.7 เท่า เหลือแอคติวิตี 25.48 เปอร์เซนต์

การใช้ขั้นตอนแอฟฟินิตี โครมาโตรกราฟี เช่น Kasumi และคณะ (1987) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Bacillus pumilus* ให้บริสุทธิ์ โดยทำให้เซลล์แตกด้วยสเตรพโตมัยซินแล้วตกตะกอนเอนไซม์ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 55-75 เปอร์เซนต์ ทำแอฟฟินิตีโครมาโตรกราฟีโดยผ่านคอลัมน์ ซีเฮช-เซฟาโรส 4 บี (CH-Sepharose 4B) แล้วผ่านไฮโดรโฟบิก โครมาโตรกราฟี โดยใช้คอลัมน์ เซฟาโรส ซีแอล 6 บี ชะด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 25-0 เปอร์เซนต์ ทำให้เข้มข้นโดยอัลตราฟิลเตรชันผ่านแผ่นกรองขนาด พีเอ็ม-10 และตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 80 เปอร์เซนต์ พบว่าเอนไซม์สูญเสียแอคติวิตีอย่างมากในระหว่างกระบวนการทำให้บริสุทธิ์ พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 30 เท่า เหลือแอคติวิตี 33.0 เปอร์เซนต์

การใช้ไฮดรอกซีอะพาไทด์ คอลัมน์ เช่น Kitpreechavanich, และคณะ (1986) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aspergillus fumigatus* ให้บริสุทธิ์โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 80 เปอร์เซนต์ ผ่านคอลัมน์เซฟาคริล เอส-300 (Sephacryl S-300) ขนาด 2.5x80 เซนติเมตร ผ่านคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาโรส ซีแอล-6บี ขนาด 2.0x35 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์ของโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-400 มิลลิโมลาร์ ผ่านลงในคอลัมน์ไฮดรอกซีอะพาไทด์ (hydroxyapatite) ขนาด 0.9x18 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเพิ่มความเข้มข้นของฟอสเฟต บัฟเฟอร์ตั้งแต่ 0-300 มิลลิโมลาร์ พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 90.1 เท่า เหลือแอคติวิตี 2.90 เปอร์เซนต์

Hudson และคณะ (1991) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสให้บริสุทธิ์โดยเอนไซม์นี้ได้จากการโคลนยีนจาก *Caldocellum saccharolyticum* ซึ่งเป็นยีสต์ที่ทนอุณหภูมิสูงและเจริญได้โดยไม่ต้องการอากาศและยีนนี้แสดงออกใน *Escherichia coli* นำเซลล์มาทำให้แตกด้วย 1 เปอร์เซนต์ Triton X-100 แล้วนำส่วนน้ำใสมาผ่านคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาโรส ขนาด 30x7.5 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์เส้นตรงของโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-1000 มิลลิโมลาร์ ทำเอนไซม์ให้เข้มข้นโดยอัลตราฟิลเตรชันและไดอะไลส์ ผ่านลงในคอลัมน์ ซีเอ็ม-เซฟาโรส ขนาด 25x5 เซนติเมตร คอลัมน์ ทีเอสเค แฟรกโตเจล เฮช ดับบลิว 55 และคอลัมน์ ไบโอเจล เฮชพีที ไฮดรอกซีอะพาไทด์ ขนาด 2.5x16 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์เส้นตรง

ของโพแทสเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 20-500 มิลลิโมลาร์ พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 550 เท่า เหลือแอคติวิตี 4.30 เปอร์เซนต์

การใช้ขั้นตอนคอลัมน์อิเลคโตรโฟคัสซิง เช่น Matsuo และคณะ (1987) ศึกษาบีตา-ไซโลซิเดส 4 ชนิดจาก *Penicillium wortmanni* ทำให้บริสุทธิ์โดยนำน้ำเลี้ยงเชื้อมาแยกเอนไซม์จากโปรตีนอื่นๆ โดยการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันผ่านแผ่นกรอง ยูเฮชพี-150 (UHP-150) และยูเค-10 (UK-10) ตกตะกอนด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 60 เปอร์เซนต์ (ปริมาตร/ปริมาตร) นำมาผ่านคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเด็กซ์ ขนาด 4x50 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์ของโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-300 มิลลิโมลาร์ นำมาผ่านคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเด็กซ์ ขนาด 2x30 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์ของโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-300 มิลลิโมลาร์ ได้ลำดับส่วนที่มีแอคติวิตีของบีตา-ไซโลซิเดส 2 ลำดับส่วน ลำดับส่วนแรกนำมาผ่านคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเด็กซ์ เอ-25 และคอลัมน์อิเลคโตรโฟคัสซิง โดยมี Pharmalyte pH 2.5-5.0 เป็นตัวกลาง (carrier) ที่แรงดันไฟฟ้า 800 โวลต์ นาน 40 ชั่วโมง ตามลำดับ ลำดับส่วนที่ 2 นำมาผ่านคอลัมน์อิเลคโตรโฟคัสซิง โดยมี Servalyt pH 3.0-5.0 เป็นตัวกลาง แรงดันไฟฟ้า 800 โวลต์ นาน 40 ชั่วโมง สามารถแยกได้บีตา-ไซโลซิเดส 4 ชนิดที่มีค่า pI 3.7, 4.28, 4.6 และ 4.8 ตามลำดับ มีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 4.58, 8.33, 12.81 และ 6.35 เท่า มีแอคติวิตีเหลืออยู่ 3.2, 4.3, 19.8 และ 8.6 เปอร์เซนต์

การใช้วิธี Fast Protein Liquid Chromatography เช่น Bachmann และ McCarthy (1989) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสที่ทนอุณหภูมิสูงซึ่งแยกได้จาก *Thermomonospora fusca* ให้บริสุทธิ์ โดยทำในเซลล์แตกโดยใช้คลื่นเสียง นำส่วนใสมาผ่าน Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) โดยผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุลบโมโน คิว เฮทอาร์ 5/5 (Mono Q HR 5/5) ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์ของโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-1000 มิลลิโมลาร์ นำมาผ่านคอลัมน์ ซูเพอโรส 12 เฮชอาร์ 10/30 (Superose 12 HR 10/30) พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 42.72 เท่า เหลือแอคติวิตี 95 เปอร์เซนต์

Nanmori และคณะ (1990) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสที่ทนอุณหภูมิสูงจาก *Bacillus sterothermophilus* ให้บริสุทธิ์ โดยตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 35 เปอร์เซนต์ ละลายตะกอนในบัฟเฟอร์ แล้วผ่านลงในคอลัมน์ โตโยเพิร์ล เฮช ดับบริว-65 (Toyopearl HW-65) ขนาด 2.5x33.5 ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์ด้วยสารละลายแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 35-0 เปอร์เซนต์ นำมาผ่านคอลัมน์ เซฟาคริล เอส-200 (Sephacryl S-200) ขนาด 2.70x120 เซนติเมตร

และคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุลบโดยวิธี Fast Protein Liquid Chromatography (FPLC) โดยผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุลบโมโน คิว เฮทอาร์ 5/5 (Mono Q HR 5/5) ขนาด 0.5x5.0 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์เส้นตรงของโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-500 มิลลิโมลาร์ พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 72.50 เท่า เหลือแอคติวิตี 16.10 เปอร์เซนต์

การใช้คอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุบวก เช่น Poutanen และ Puls (1988) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสให้บริสุทธิ์จาก *Trichoderma reesei* โดยการทำเจลฟิลเตรชันผ่านคอลัมน์เซฟาเด็กซ์ จี-25 ขนาด 1.13x40 เซนติเมตร จากนั้นนำมาผ่านคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุบวก ซีเอ็ม-เซฟาโรส เอฟเอฟ (CM-Sepharose FF) ขนาด 5.0x10.0 เซนติเมตร และคอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุบวก ดีอีเออี เซฟาโรส เอฟเอฟ ขนาด 1.50x50 เซนติเมตร พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 42.72 เท่า

การใช้คอลัมน์แลกเปลี่ยนประจุลบ เช่น Takagaki และคณะ (1990) ศึกษาการทำบีตา-ไซโล-ซิเดสจาก *Patnopecten* sp. ให้บริสุทธิ์โดยตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 50-70 เปอร์เซนต์ ผ่านลงในคอลัมน์เซฟาคริล เอส-200 (Sephacryl S-200) ขนาด 2.20x100 เซนติเมตร และคอลัมน์ดีอีเออี-เซฟาเซล (DEAE-Sephacel) ขนาด 2.20x21 เซนติเมตร ชะโปรตีนที่จับกับคอลัมน์โดยเกรเดียนท์เส้นตรงของโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0-600 มิลลิโมลาร์ พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 375 เท่า เหลือแอคติวิตี 4 เปอร์เซนต์

Chinen และคณะ (1982) ศึกษาการทำบีตา-ไซโลซิเดสจากพืช *Saccharum officinarum* L. ให้บริสุทธิ์โดยตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต โครมาโตรกราฟีผ่านคอลัมน์ ดีอีเออี-เซลลูโลส และ พี-เซลลูโลส เซฟาเด็กซ์ จี-200 พบว่าเอนไซม์ที่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์แล้วมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 165 เท่า เหลือแอคติวิตี 43 เปอร์เซนต์

นอกจากรายงานเกี่ยวกับการทำบีตา-ไซโลซิเดสให้บริสุทธิ์แล้ว ยังมีรายงานการศึกษาสมบัติของเอนไซม์บริสุทธิ์มากมายดังนี้

น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์

จากหลายรายงานดังแสดงในตารางที่ 3 พบว่าบีตา-ไซโลซิเดสจากจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ มีความแปรผันในน้ำหนักโมเลกุลและยังประกอบด้วย จำนวนหน่วยย่อยต่างๆกัน

ตารางที่ 3 น้ำหนักโมเลกุลของบีตา-ไซโลซิเดสจากแหล่งต่างๆ

แหล่งของเอนไซม์	น้ำหนักโมเลกุล (ดาลตัน)	จำนวนหน่วยย่อยและน้ำหนักโมเลกุล (ดาลตัน)	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus awamori	110,000	-	Kormelink และคณะ ,1993.
Aspergillus fumigatus	360,000	4 หน่วยย่อย 90,000 เท่ากัน	Kitpreechavanich และคณะ, 1986.
Aspergillus niger	78,000	-	John และคณะ,1979
Aspergillus niger	>200,000	-	Claeyssens และคณะ, 1970.
Aspergillus niger 15	253,000	2 หน่วยย่อย 122,000 เท่ากัน	Rodionova และคณะ, 1983.
Bacillus pumilus	130,000	2 หน่วยย่อย 70,000 เท่ากัน	Kersters-Hilderson และคณะ, 1969.
Bacillus stearothermophilus	150,000	2 หน่วยย่อย 75,000 เท่ากัน	Nanmori และคณะ, 1990.
Caldocellum saccharolyticum	53,000	-	Hudson และคณะ, 1991.
Chaetomium trilaterate	240,000	2 หน่วยย่อย 118,000 เท่ากัน	Uziie และคณะ, 1985.
Clostridium acetobutyricum ATCC 824	224,000	3 หน่วยย่อย 85,000 1 หน่วยย่อย และ 63,000 2 หน่วยย่อย	Lee และ Forsberg, 1987.

ตารางที่ 3 (ต่อ)

สายพันธุ์จุลินทรีย์	น้ำหนักโมเลกุล (ดาลตัน)	จำนวนหน่วยย่อย และน้ำหนักโมเลกุล(ดาลตัน)	เอกสารอ้างอิง
Clostridium stercorarium	220,000	4 หน่วยย่อย 57,000 เท่ากัน	Sakka และคณะ, 1992.
Emericella nidulans	240,000	2 หน่วยย่อย	Matsue และ Yashi, 1984a.
Patnopectin sp.	78,000	-	Takagaki และคณะ,1990.
Penicillium wortanii	100,000	-	Deleyn และคณะ, 1978.
Pichia stipatis	34,000	-	Ozcan, Kotter และ Ciriacy, 1991.
Thermomonospora fusca 15	168,000	3 หน่วยย่อย 56,000 เท่ากัน	Bechman และ McCarthy, 1989.
Trichoderma reesei	100,000	-	Poutanen และ Puls, 1988.
Trichoderma viride	101,000	-	Matsuo และ Yashi, 1984.
Thermoanaerobacter ethanolicus	165,000	2 หน่วยย่อย 85,000 เท่ากัน	Shao และ Wiegel, 1992.

- หมายถึง ไม่มีรายงานไว้

นอกจากนี้ยังพบว่าในจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งอาจสร้างบีตา-ไซโลซิเดสได้หลายชนิด เช่น *Penicillium wortmanni* IFO 7237 สร้างบีตา-ไซโลซิเดสได้ถึง 4 ชนิด ที่มีน้ำหนักโมเลกุลโดยประมาณจากคอลัมน์ เซฟาเด็กซ์ จี-200 ต่างๆกันคือ 110,000 , 195,000, 210,000 และ 180,000 ดาลตัน และเมื่อประมาณจาก โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต โพลิอะคริลาไมด์เจลอิเลคโตรโฟรีซิส พบว่าชนิดที่ 1 มีน้ำหนักโมเลกุล 115,000 ชนิดที่ 2, 3 และ 4 ประกอบด้วย 2 หน่วยย่อยที่มีน้ำหนักโมเลกุลเท่ากันคือ 105,000, 101,000 และ100,000 ตามลำดับ (Matsuo et al. ,1987)

ความจำเพาะต่อซับสเตรท

รายงานหลายฉบับเช่น Rodionova และคณะ (1983) ; Matsuo และ Yashi (1984b) ; Van Doorslaer, Kersters-Hilderson และ De Bruyne (1985) ; Poutanen และ Puls (1988) เป็นต้น พบว่า บีตา-ไซโลซิเดสมีแอคติวิตีสูงสุดต่อไซโลไบโอส และไม่สามารถย่อยสลายไซแลน, เซลโลไบโอส (cellobiose) (Kitpreechavanich et al., 1986) คาร์บอกซีเมธิล เซลลูโลส (Lee and Forsberg, 1987) หรือในจุลินทรีย์บางชนิดพบว่ามีแอคติวิตีต่อไซแลนเพียงเล็กน้อย เช่น บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Clostridium acetobutyricum* ATCC 824 สำหรับความสามารถในการย่อยสลายไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ พบว่าบีตา-ไซโลซิเดสสามารถย่อยสลายไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีไซโลสเชื่อมต่อกัน 2-6 หน่วย (Lee and Forsberg, 1987) และแอคติวิตีของเอนไซม์ลดลงตามความยาวของสายไซโล-โอลิโกแซคคาไรด์ที่เพิ่มขึ้น เช่น พบว่าบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Trichoderma viride* สามารถย่อยสลายไซโลไบโอสได้มากกว่า ไซโลไตรโอส ไซโลเตตระโอสและไซโลเพนตะโอส ตามลำดับ (Matsuo and Yasui, 1984b) ส่วนบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Emericella nidulans* สามารถย่อยสลายไซโลไบโอสได้มากกว่าไซโลไตรโอสและไซโลเพนตะโอส ตามลำดับ (Matsuo and Yashi, 1984a)

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดส

อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดสขึ้นกับแหล่งของเอนไซม์ จุลินทรีย์ส่วนใหญ่สร้างบีตา-ไซโลซิเดสที่มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ในช่วง 45-55 องศาเซลเซียส แต่ถ้าเป็นเอนไซม์จากจุลินทรีย์ที่ชอบหรือทนอุณหภูมิสูง ก็จะสร้างเอนไซม์ที่ทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงและเสถียรต่ออุณหภูมิสูง เช่น บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aureobasidium pullulans* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ 80 องศาเซลเซียส (Dobbrestein and Emeis, 1991) บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Thermoascus aurantiacus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ 75 องศาเซลเซียส (Ratto et al., 1994) บีตา-ไซโลซิเดสที่สร้างจาก *Bacillus sterothermophilus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานที่ 70 องศาเซลเซียส (Nanmori et al., 1990) หรือบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Thermoanaerobacter ethanolyticus* มีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานในช่วง 65-82 องศาเซลเซียส (Shao and Wiegel, 1992)

ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดส

ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดสที่สร้างจากจุลินทรีย์แต่ละชนิดก็แตกต่างกันไป ส่วนใหญ่จะค่อนข้างเป็นกรดถึงกลางโดยจะอยู่ในช่วง 3.5-7.0 เช่นบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Cellulomonas uda* มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการทำงานในช่วง 5.4-6.1 (Rapp and Wagner, 1986) บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aspergillus niger* มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการทำงานในช่วง 6.7-7.0 (John et al.,1979) บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Rhodobacter marinus* มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการทำงาน 7.1 (Dahlberg et al., 1993) ยกเว้นจุลินทรีย์บางสายพันธุ์ เช่น *Thermomonospora fusca* สร้างบีตา-ไซโลซิเดสที่มีความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการทำงานในช่วง 5.0-9.0 (Bechmann and McCarthy, 1989)

ตารางที่ 4 แสดงตัวอย่างสมบัติของบีตา-ไซโลซิเดสจากแหล่งต่างๆ ในแง่ความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์และค่าความจำเพาะของเอนไซม์ต่อพารา-ไนโตรฟีนิล บีตา-ดี-ไซโลไพราโนไซด์ ซึ่งเป็นซับสเตรทสังเคราะห์ทำหน้าที่แทนไซโลไบโอส

ตารางที่ 4 สมบัติของบีตา-ไซโลซิเดสจากแหล่งต่างๆ

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	Km ต่อพารา-ไนโตรฟีนิล บีตา-ดี ไซโลไพราโนไซด์ (มิลลิโมลาร์)	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus awamori	6.5	70	3.00	Kormelink และคณะ, 1993.
Aspergillus fumigatus	4.5	75	0.08	Yasui และคณะ, 1989.
Aspergillus fumigatus	4.5	75	2.00	Kitpreechavanich และคณะ, 1986.
Aspergillus niger	6.7-7.0	42	0.22	John และคณะ, 1979.

ตารางที่ 4 (ต่อ)

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	Km ต่อพารา-ไนโตรฟีนิล บีตา-ดี ไซโลไพราโนไซด์ (มิลลิโมลาร์)	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus niger	-	-	0.38	Oguntimein และ Reilly, 1980.
Aspergillus niger	3.0-4.0	-	-	Takanishi และคณะ, 1973.
Aspergillus niger 15	3.8-4.0	70	0.23	Rodionova และคณะ, 1983.
Aureobasidium pullulans	4.5	80	-	Dobberstein และ Emis, 1991.
Bacillus pumilus	7.0	-	2.4	Kersters-Hilderson และคณะ, 1969.
Bacillus sterothermophilus	6.0	70	1.20	Nanmori และคณะ, 1990.
Caldocellum saccharolyticum	5.7	70	10.0	Hudson และคณะ, 1991
Cellulomonas uda	5.4-6.1	43-45	-	Rapp และ Wagner, 1986.
Chaetomium trilaterale	4.0-5.0	45	-	Uziie และคณะ, 1985.
Clostridium acetobutylicum ATCC 824	6.0-6.5	45	3.70	Lee และ Forsberg, 1987.
Clostridium acetobutylicum	6.0-6.5	45	3.7	Bahl และคณะ, 1982.
Clostridium stercorarium	5.0-10.0	65	2.50	Sakka และคณะ, 1992.
Emericella nidulans	4.5-5.0	55	6.60	Matsuo และ Yasui,1984a.
Neurospora crassa	4.5-5.0	55	0.05	Desphande และคณะ, 1985.
Patnopecten sp.	4.0	-	6.60	Takagaki และคณะ, 1990.

ตารางที่ 4 (ต่อ)

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสม	อุณหภูมิที่เหมาะสม (องศาเซลเซียส)	Km ต่อพารา-ไนโตรฟีนิล บีตา-ดี ไซโลไพราโนไซด์ (มิลลิโมลาร์)	เอกสารอ้างอิง
Pennicilium wortmanni	3.3-4.0		0.12	Deleyn และคณะ, 1982.
Rhodobacter marinus	7.1	65	-	Dahlberg, Holst และ Kristjaman, 1993.
Streptomyces sp.	6.5	45	-	NaKanishi, Yokotsuka และ Yasui, 1987.
Thermoanaerobacter ethanolyticus	5.0-5.2	65-82	-	Shao และ Wiegai, 1992.
Thermoascus aurantiacus	5.0	75	-	Ratto และคณะ, 1994.
Thermomonospora fusca	5.0-9.0	40-60	0.89	Bachmann และ McCarthy, 1989.
Thermomonospora strain LL	6.5	70	0.82	Ristroph และ Humphreyt, 1985.
Trichoderma reesei	4.0	60	0.08	Poutanen และ Puls, 1988.
Trichoderma reesei QM 9414	4.0-5.0	55-60	1.02	Dekker, 1983.
Trichoderma viride	3.5	55	5.80	Matsuo และ Yashi,1984b.

- หมายถึง ไม่ได้รายงานไว้

สารยับยั้งการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดส

ไซโลสเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้ายที่ได้จากการย่อยสลายไซโลโอลิโกแซคคาไรด์ โดยบีตา-ไซโลซิเดส มีรายงานว่าไซโลสเป็นสารยับยั้งการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดสแบบแก่งแย่ง ดังตารางที่ 5

ตารางที่ 5 ความสามารถของไซโลสในการยับยั้งการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดสจากแหล่งต่างๆ

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	Ki ต่อไซโลส (มิลลิโมลาร์)	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus fumigatus	4.50	Kitpreechavanich และคณะ, 1986.
Aspergillus niger	200.00	Oguntimcin และ Reilly, 1980.
Aspergillus niger 15	2.90	Rodionova และคณะ, 1983.
Caldocellum saccharolyticum	40.0	Hudson และคณะ, 1991.
Cellulomonas uda	650.00	Rapp และ Wagner, 1986.
Thermomonospora fusca 15	19.10	Bechmann และ McCarthy, 1989.
Trichoderma reesei QM 9414	11.00	Dekker, 1983.
Trichoderma reesei	2.40	Poutanen และ Puls, 1988.

นอกจากนั้นอิออนโลหะหลายชนิดยังมีผลยับยั้งการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดสโดยความสามารถในการยับยั้งการทำงานขึ้นกับชนิดและความเข้มข้นของอิออนโลหะ เช่น ปรอท (Hg^{2+}), เงิน (Ag^{2+}),ทองแดง (Cu^{2+}), ตะกั่ว (Pb^{2+}) และเหล็ก (Fe^{3+}) สามารถยับยั้งการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดส เช่น บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aspergillus awamori* ถูกยับยั้งการทำงานอย่างรุนแรงด้วยอิออนของปรอท, ตะกั่วและทองแดงที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (Kormelink et al., 1993)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aspergillus fumigatus* ถูกยับยั้งการทำงานอย่างรุนแรงด้วยอิออนของปรอท, เหล็ก, ทองแดง, พารา-คลอโรเมอคิวริเบนโซเอท (*p*-chloromercuribenzoate) และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟตที่ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ (Kitpreechavanich et al., 1986)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Cladocellum saccharolyticum* ถูกยับยั้งการทำงานอย่างรุนแรงด้วยอิออนของเงิน, ปรอท, แคดเมียม, ทองแดง, แมงกานีส, สังกะสี, โคบอล, โพแทสเซียมและนิเกิล

ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ส่วนพารา-คลอโรเมอคิวริเบนโซเอท ที่ความเข้มข้น 0.05 มิลลิโมลาร์ กลีเซอรอล ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต ที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์ (Hudson et al., 1991)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Cellulomonas uda* ถูกยับยั้งการทำงานอย่างรุนแรงด้วยพารา-คลอโรเมอคิวริเบนโซเอท และเอธิล เมอคิวริไธโอซาลิไซเลท (ethyl mercurithiosalicylate) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (Rapp and Wagner, 1986)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Chaetomium trilaterate* ถูกยับยั้งการทำงานอย่างรุนแรงด้วยอิออนของปรอท, เอ็น-โบรโมซัคซินิไมด์ (N-bormosuccinimide), กลูเคียวโรโน 1,5-แลคโตน (glucorono 1,5-lactone) และ โนจิริมัยซิน (nojirimycin) ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (Uziie et al., 1985)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Emericella nidulans* ถูกยับยั้งการทำงานอย่างรุนแรงด้วยอิออนของปรอท, พารา-คลอโรเมอคิวริเบนโซเอทและโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (Matsue and Yashi, 1984a)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Petnopecten* sp. ถูกยับยั้งการทำงานอย่างรุนแรงด้วยอิออนของเหล็ก,ทองแดง, เงินและปรอทที่ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (Takagaki et al., 1990.)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Thermomonospora fusca* ถูกยับยั้งการทำงานด้วยอิออนของเกลือโซเดียม (Bachmann and McCarthy, 1989)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Trichoderma viride* ถูกยับยั้งการทำงานด้วยอิออนของปรอท และพารา-คลอโรเมอคิวริเบนโซเอท ที่ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (Matsue and Yasui, 1984b)

แต่อิออนของโลหะบางชนิดและสารเคมีบางชนิดไม่มีผลต่อการทำงานของบีตา-ไซโลซิเดส เช่น อิออนของ แมกนีเซียม (Mg^{2+}),แคลเซียม(Ca^{2+}), ตะกั่ว (Pb^{2+}), แมงกานีส (Mn^{2+}), โคบอลท์ (Co^{2+}), สังกะสี (Zn^{2+}), ดีบุก (Sn^{2+}), แบเรียม (Ba^{2+}), อะลูมิเนียม (Al^{3+}) หรือ โซเดียมโดเดซิลซัลเฟต และ EDTA เป็นต้น เช่นบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aspergillus fumigatus* ไม่ถูกยับยั้งการทำงานด้วยอิออนของลิเทียม (Li^{+}), แมกนีเซียม, แคลเซียม, แมงกานีส, โคบอล, นิเกิล(Ni^{+}), สังกะสี, ดีบุกและแบเรียม ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ (Kitpreechavanich et al., 1986)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Aspergillus awamori* ไม่ถูกยับยั้งการทำงานด้วยอิออนของแคลเซียม, ตะกั่ว, เงิน, โพแทสเซียม, ปรอท, แมกนีเซียม ,ไดไธโอธริอีทอลและ EDTA ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (Kormelink et al., 1993)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Caldocellum saccharolyticum* ไม่ถูกยับยั้งการทำงานด้วยอิออนของเหล็กและไอโอดีนความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ ไดไธโอธริอีทอลความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลาร์ อิออนของแคลเซียม, ลิเทียมและแมกนีเซียมความเข้มข้น 3 มิลลิโมลาร์ โซเดียมไซยาไนท์ (NaCN), โซเดียมไนไตรท (NaN_3), โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$), โซเดียมบอเรท (NaBr), โซเดียมฟลูโอไรด์ (NaF) ,

EDTA และ2-เมอแคปโตเอธานอล ความเข้มข้น 5 มิลลิโมลาร์ อิออนของโซเดียมความเข้มข้น 9 มิลลิโมลาร์ กลูโคสและไซลิทอล ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ (Hudson et al.,1991)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Chaetomium trilaterate*. ไม่ถูกยับยั้งการทำงานด้วย อิออนของแคลเซียม, แคดเมียม, ซีเซียม, ตะกั่ว, อะลูมิเนียม, แมงกานีส, พารา-คลอโรเมอคิวริเบนโซเอท, กรดไอโอโดอะซิติท, โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตและ EDTA ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (Uziie et al., 1985)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Petnopecten* sp. ไม่ถูกยับยั้งการทำงานด้วยอิออนของ แมกนีเซียม, โซเดียม, โพแทสเซียม, ไดไธโอธริอีทอล, และ EDTA ความเข้มข้น 10 มิลลิโมลาร์ (Takagaki et al., 1990.)

บีตา-ไซโลซิเดสจาก *Trichoderma viride* ไม่ถูกยับยั้งการทำงานด้วย อิออนของแคลเซียม, แมงกานีส, โคบอล, ทองแดง, เหล็ก, แบเรียม, โซเดียมโดเดซิลซัลเฟตและ EDTA ความเข้มข้น 1 มิลลิโมลาร์ (Matsuo and Yasui, 1984b)

<u>ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิของบีตา-ไซโลซิเดส</u>

โดยทั่วไปแล้วบีตา-ไซโลซิเดสที่สร้างจากจุลินทรีย์จะมีความเสถียรต่อความเป็นกรดด่างในช่วงแตกต่างกันไป และเสถียรต่ออุณหภูมิไม่สูงนัก ดังตารางที่ 6

ตารางที่ 6 ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่างและอุณหภูมิของบีตา-ไซโลซิเดสจากแหล่งต่างๆ

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเสถียรต่อกรดด่าง	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตี 50เปอร์เซนต์ (°C)	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตี 100 เปอร์เซนต์ (°C)	เอกสารอ้างอิง
Aspergillus fumigatus	2.0-8.0	-	60, 20 นาที	Yasui และคณะ, 1989.
Aspergillus fumigatus	-	-	65, 30 นาที	Kitpreechavanich, Hayashi และ Nagai, 1986.
Aspergillus niger	4.0-7.0	-	-	Takanishi และคณะ, 1973.
Aspergillus niger 15	2.2-8.0	-	50, 1ชั่วโมง	Rodionova, Tavobilov และ Bezborodov, 1983.
Aureobasidium pullulans	2.0-9.5	-	75, 1 ชั่วโมง	Dobberstein และ Emis, 1991.
Bacillus sterothermophilus	6.0-8.0	-	80, 1 ชั่วโมง	Nanmori และคณะ, 1990.
Caldocellum saccharolyticum	7.5-9.0	65, 4.85 ชั่วโมง 70, 40 นาที	-	Hudson และคณะ, 1991
Cellulomonas uda	-	60, 2 นาที	-	Rapp และ Wagner, 1986.
Chaetomium trilaterale	4.0-11.0	-	-	Uziie, Matsue และ Yasui, 1985.
Clostridium acetobutylicum ATCC 824	6.0-8.0	-	-	Lee และ Forsberg, 1987.

ตารางที่ 6 (ต่อ)

สายพันธุ์ของจุลินทรีย์	ความเสถียรต่อกรดด่าง	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตี 50เปอร์เซนต์ (°C)	อุณหภูมิที่เสียแอคติวิตี 100 เปอร์เซนต์ (°C)	เอกสารอ้างอิง
Clostridium stercorarium	5.0-10.0	-	-	Sakka และคณะ, 1992.
Emericella nidulans	4.0-6.0	45 และ 50, 30 นาที	65, 30 นาที	Matsuo และ Yasui, 1984a.
Patnopecten sp.	-	-	4, 2 สัปดาห์	Takagaki และคณะ, 1990.
Streptomyces sp.	6.0-9.0	4, 3-5 วัน	55, 30 นาที	Nakanishi, Yokotsuka และ Yasui, 1987.
Thermoanaerobacter ethanolyticus	5.0-8.0	86, 15 นาที	-	Shao และ Wiegel, 1992.
Thermoascus aurantiacus	4.0-6.0	70, 5 วัน	-	Ratto และคณะ, 1994.
Thermomonospora fusca	6.0-8.0	65, 8 ชั่วโมง 70,1.5ชั่วโมง	25, 72 ชั่วโมง	Bachmann และ McCarthy, 1989.
Thermomonospora strain LL	5.0-8.0	65, 5 ชั่วโมง	-	Ristroph และ Humphreyt, 1985.
Trichoderma reesei	3.0-6.0	-	60, 1วัน	Poutanen และ Puls, 1988.
Trichoderma reesei QM 9414	2.5-6.0	50, 1 ชัวโมง	-	Dekker, 1983.
Trichoderma viride	3.0-4.0	-	75, 30 นาที	Matsuo และ Yashi,1984b.

- หมายถึง ไม่มีรายงานไว้

สำหรับงานวิจัยนี้จะรายงานการทำให้บริสุทธิ์และศึกษาสมบัติของบีตา-ไซโลซิเดสจาก *Streptomyces* sp. 43-4 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากแหล่งดินในประเทศไทย และได้มีการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการสร้างบีตา-ไซโลซิเดสโดยจุลินทรีย์ดังกล่าว (กรรณิการ์ ดวงมาลย์, 2537) แต่ยังไม่มีรายงานการศึกษาสมบัติของเอนไซม์บริสุทธิ์