



บทที่ 4

การอภิปรายและสรุปผลการวิจัย

จากการคัดเลือกราจากตัวอย่างดินแหล่งต่าง ๆ ในประเทศไทยจำนวน 240 สายพันธุ์ โดยใช้อาหารแข็งที่เติมเดกซ์แทรน พบเชื้อที่สามารถสร้างเอนไซม์เดกซ์-แทรนเนสทั้งสิ้น 22 สายพันธุ์ ในจำนวน 22 สายพันธุ์นี้ รา Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 ซึ่งเป็นราที่ปนเปื้อนในภาควิชาจุลชีววิทยา สามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์-แทรนเนสสูงสุด

เอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่สร้างโดย Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 นี้เป็นเอนไซม์ที่ถูกปลดปล่อยออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของผู้วิจัยกลุ่มอื่น (28 ,30 ,35) การสร้างเอนไซม์โดย Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 พบว่าถูกเหนี่ยวนำโดยสับสเตรทของตัวเอนไซม์เอง คือ เดกซ์แทรนเท่านั้น (Inducible) ในขณะที่น้ำตาลชนิดอื่น ๆ เช่น กลูโคสไม่มีผลต่อการชักนำ ถึงแม้มีผู้รายงานว่าน้ำตาล isomaltose สามารถชักนำการสร้างเอนไซม์นี้ (22) ก็ตาม เมื่อทดลองใช้น้ำตาลนี้มาเสริมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่สร้างต่ำมากเมื่อเทียบกับการใช้เดกซ์แทรน คือ สามารถสร้างได้เพียง 27 หน่วยต่อมล. ของน้ำเลี้ยงเชื้อ เมื่อเทียบกับ 42 หน่วยต่อ มล. ของน้ำเลี้ยงเชื้อเมื่อเลี้ยงด้วยเดกซ์แทรนเพียงอย่างเดียว นอกจากชนิดของน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนแล้ว ขนาดของเดกซ์แทรนก็พบว่ามีผลต่อแอกติวิตีของเอนไซม์ด้วย Fukumoto (30) ได้รายงานว่าในสารเดกซ์แทรนที่มีจำนวนหน่วยกลูโคสสิ้นในรูป ไดเมอร์ หรือ โอลิโกเมอร์จะชักนำการสร้างเอนไซม์ได้ไม่ดีเท่ากับเมื่อใช้โพลิเมอร์ จากผลการทดลองก็พบว่าเดกซ์แทรนขนาดน้ำหนักโมเลกุล $3-50 \times 10^5$ ชนิด industrial grade เป็นเดกซ์แทรนที่ชักนำการสร้างเอนไซม์ได้ดีที่สุดคือ 42 หน่วยต่อมล. เมื่อเปรียบเทียบกับเดกซ์แทรนที่มีขนาดโมเลกุลน้อยกว่า เช่น เดกซ์แทรนน้ำหนักโมเลกุล 10,000 สามารถให้การผลิตเอนไซม์เพียง 6.5 หน่วยต่อมล. ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Fukumoto ที่ว่าเดกซ์แทรนที่มีจำนวนหน่วยของกลูโคส (degree of polymerization) สูงจะเป็นตัวชักนำการสร้างเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้ดี (30)

จากการศึกษาเบื้องต้นถึงสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส โดยรา Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 นี้ โดยนำสูตรอาหารต่าง ๆ ที่มีผู้รายงานไว้ (30, 35, 36) มาทดลองเลี้ยง เชื่อกันว่า สูตรอาหารของ Fukumoto (30) เป็นสูตรอาหารตั้งต้นที่เหมาะสมสำหรับราสายพันธุ์นี้จึงได้คัดเลือกไว้เป็นสูตรอาหารตั้งต้นสำหรับการปรับปรุงให้เหมาะสมต่อไป

การปรับปรุงสูตรอาหารที่เหมาะสมเริ่มด้วยการหาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม ซึ่งได้แก่ เดกซ์แทรนที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง ขึ้นต่อไปคือการเลือกแหล่งไนโตรเจน หลังจากทดลองหาแหล่งไนโตรเจน ทั้งที่อยู่ในรูปของอินทรีย์และอนินทรีย์ไนโตรเจน พบว่า NaNO_3 และ KNO_3 ให้ผลดีที่สุดขณะที่เกลือแอมโมเนียม และสารอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น เปปโตน สารสกัดจากยีสต์ หรือ corn steep liquor กลับลดผลผลิตของเอนไซม์ จะเห็นได้ว่าราแต่ละชนิดจะมีลักษณะชอบแหล่งของไนโตรเจนต่าง ๆ กัน ในการสร้างเอนไซม์ ดังเช่นรายงานของ Fukumoto (30) รายงานว่า NaNO_3 หรือ เปปโตน เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีของ Aspergillus carneus สารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนเช่น เปปโตน, corn steep liquor พบว่าเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีของ P. luteum ATCC 9644 (28) ในการทดลองนี้ได้นำกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นผลผลิตทางเกษตรมาทดลองใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าไม่สามารถเพิ่มปริมาณเอนไซม์ได้ อีกทั้ง NaNO_3 ก็เป็นสารที่มีราคาต่ำและใช้เพียงปริมาณ 0.2% ที่ใช้ จึงได้เลือกใช้ NaNO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจนต่อไป

เมื่อศึกษาถึงผลของเกลือแร่ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อจากสูตรอาหารของ Fukumoto (30) ต่อการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 พบว่าหากไม่เติมเกลือแร่เหล่านี้ลงในอาหาร จะทำให้การผลิตเอนไซม์ลดต่ำลงจากปกติมากโดยเฉพาะ K_2HPO_4 และ KCl จะมีผลต่อแอกติวิตีของเอนไซม์มากที่สุด สำหรับ FeSO_4 หากลดลงจากสูตรของ Fukumoto ครั้งหนึ่งจะให้ผลค่อนข้างดีต่อการผลิตเอนไซม์ และมีรายงานว่าเกลือแร่บางชนิดได้แก่ CoCl_2 , CuSO_4 , MnSO_4 และ BaCl_2 ที่ความเข้มข้น $1.0-2.0 \times 10^{-6}$ โมลาร์ สามารถกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของราบางสายพันธุ์ได้ (31, 37, 38) เมื่อได้นำเกลือแร่เหล่านี้มาทดสอบผลต่อการเพิ่มผลผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส พบว่าเกลือแร่เหล่านี้มีผลทำให้การสร้างเอนไซม์ลดต่ำลงนอกจากนั้นจากการทดสอบผลต่อแอกติวิตีของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสจากเชื้อ Penicillium sp. ก็พบว่าเกลือแร่เหล่านี้ไม่มีผลเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์เช่นกัน ทั้งนี้อาจเนื่องจากเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่นำมาหาแอกติวิตีนี้เป็นเอนไซม์จากน้ำเลี้ยงเชื้อ (crude enzyme) ซึ่งอาจมีเกลือแร่ต่าง ๆ เพียงพอแล้ว อย่างไรก็ตามในบัจจุบันยังไม่มีรายงานใดแสดงว่ามีเกลือแร่ชนิดใดที่สามารถกระตุ้นการสร้างเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้ โดยบัจจุบันที่สำคัญสำหรับการผลิตเอนไซม์

จะขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอน อันได้แก่ เดกซ์แทรน และแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมมากกว่า (28 ,30)

สำหรับการศึกษาสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 นี้ พบว่าความเป็นกรดต่าง เริ่มต้นที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์ อยู่ที่ความเป็นกรดต่าง เริ่มต้น 6.0 ซึ่งเป็นช่วงความเป็นกรดต่างที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อราโดยทั่วไป ตามรายงานของผู้วิจัยกลุ่มอื่น ๆ เช่น Fukumoto (28) และ Madhu (40) ยกเว้นเชื้อ Fusarium moniliforme (35) ซึ่งมีรายงานว่าที่ความเป็นกรดต่างเริ่มต้น 8.0 จะเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างเอนไซม์ เดกซ์แทรนเนส

เนื่องจากอุณหภูมิเป็นปัจจัยสำคัญต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และการผลิตเอนไซม์ ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงได้ศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์ เดกซ์แทรนเนส ซึ่งผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิห้อง หรือช่วงอุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส เป็นช่วงที่เหมาะสมสำหรับการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อสายพันธุ์นี้ แต่หากอุณหภูมิสูงเกินกว่า 40 องศาเซลเซียส แล้วจะมีผลต่อการผลิตเอนไซม์อย่างมาก โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสนั้น เชื้อไม่สามารถเจริญได้ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อรานี้จัดเป็นพวก mesophile จึงไม่สามารถเจริญในที่อุณหภูมิสูงได้ เช่นเดียวกับเชื้อราอื่น ๆ ที่ได้มีรายงานไว้ว่าจะผลิตเอนไซม์ได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หรือใกล้เคียง (26,28,30,33,34,40,43)

ความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญกับการผลิตเอนไซม์ เดกซ์แทรนเนส

พบว่า เชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 นี้ สามารถให้การเจริญได้สูงสุดในช่วง 36-40 ชั่วโมงของการเลี้ยงเชื้อ หลังจากนั้นแล้วการเจริญของเชื้อจะเริ่มลดลงอย่างช้า ๆ แต่หลังจากทำการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 8 วันแล้ว การเจริญจะลดลงอย่างรวดเร็ว ในขณะที่ปริมาณเอนไซม์ เดกซ์แทรนเนสจะเพิ่มขึ้นจนสูงสุดในวันที่ 6 หลังจากนั้นแล้วจะเริ่มลดลงเล็กน้อย เมื่อได้ทำการตรวจสอบปริมาณโปรตีนในน้ำเลี้ยงเชื้อแล้วพบว่าปริมาณโปรตีนมีความสัมพันธ์กับปริมาณเอนไซม์ เดกซ์แทรนเนส สำหรับค่าความเป็นกรดต่างในน้ำเลี้ยงเชื้อตลอดการทดลองพบว่าไม่ได้มีการเปลี่ยนแปลงมากนัก โดย pH จะลดลงจาก 6.0 เป็น 5.5 ในช่วง 3 วันแรกของการเลี้ยงเชื้อ จากนั้นค่า pH จะเริ่มสูงขึ้นเล็กน้อยเป็น 6.0 - 7.5 ในช่วงหลัง ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ตรวจหาในน้ำเลี้ยงเชื้อนั้นพบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ จะเกิดขึ้นสูงมากในช่วง 36 ชั่วโมงแรก และจะลดลงอย่างรวดเร็ว ทั้งนี้เนื่องจากในช่วงแรกของการเลี้ยงเชื้อ ราต้องสร้างเอนไซม์ เดกซ์แทรนเนสมาย่อยเดกซ์แทรนให้อยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเล็ก ๆ เพื่อให้เป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญของเซลล์ จนเมื่อ

ปริมาณน้ำตาลลดลงในช่วงกลางของการเลี้ยงเชื้อ เชื้อจึงต้องสร้างเอนไซม์เพิ่มขึ้นอีก ทำให้ตรวจพบเอนไซม์ได้มากในช่วงวันหลัง ๆ อย่างไรก็ตามเมื่อวิเคราะห์ถึงความสัมพันธ์ของการเจริญ (ในรูปน้ำหนักเซลล์แห้ง) และการสร้างเอนไซม์ของเชื้อ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 แล้วพบว่า การสร้างเอนไซม์สูงสุดมิได้เกิดขึ้นในช่วงเดียวกันกับที่มีการเจริญสูงสุด โดยพบว่าช่วงที่มีเอนไซม์สูงสุดในน้ำเลี้ยงเชื้อ จะเป็นช่วงหลังของการเจริญเติบโตซึ่งอาจมีสาเหตุเนื่องมาจากการสลายตัวของเซลล์ในช่วง late stationary หรือช่วง death phase ทำให้เอนไซม์ถูกปลดปล่อยออกมาสู่น้ำเลี้ยงเชื้อภายนอกได้มาก จึงสามารถตรวจพบเอนไซม์ได้ในปริมาณที่สูงในช่วงวันที่ 6 แต่เนื่องจากเอนไซม์ที่นำมาตรวจสอบแอกติวิตีนี้เป็นเอนไซม์ที่นำมาจากน้ำเลี้ยงเชื้อโดยตรงไม่ได้ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ก่อน จึงไม่สามารถทำนายโดยค่าแอกติวิตีจำเพาะได้อีกประการหนึ่งหากเอนไซม์ที่พบสูงในช่วงหลังนั้น เกิดจากการสลายตัวของเซลล์ (lysis) แล้วอาจเป็นไปได้ว่าเอนไซม์นี้อาจเป็นอีกรูป (form) หนึ่งของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสคืออยู่ในรูป nascent form ก็ได้ อีกประเด็นหนึ่งก็คือว่า พบเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่อาจอยู่รูป cell bound ดังรายงานของ Zevenhuizen (19) เมื่อเกิดการสลายของเซลล์ เอนไซม์นี้จึงถูกปลดปล่อยออกมา ด้วยเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้สามารถตรวจพบปริมาณของเอนไซม์ได้สูงในช่วงหลังของการเจริญเติบโต สำหรับระยะเวลาที่เชื่อว่าในรายงานต่างๆ ใช้ผลิตเอนไซม์สูงสุด ได้แสดงไว้ในตารางที่ 12

ในการศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสจากการตรวจหาช่วงที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสจากเชื้อ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 พบว่าเอนไซม์สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิ 35-55 องศาเซลเซียส โดยประสิทธิภาพการทำงานจะสูงสุดที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และมีความเสถียรต่ออุณหภูมิได้ดีในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 60 องศาเซลเซียส หากอุณหภูมิสูงไปกว่านี้แล้วความเสถียรของเอนไซม์จะลดลงอย่างรวดเร็ว

สำหรับความเป็นกรดต่าง ๆ ที่เหมาะสม พบว่าเอนไซม์สามารถทำงานได้ดีในบัฟเฟอร์ชนิดต่าง ๆ คือ acetate, phosphate และ citrate-phosphate buffer โดยชนิดของบัฟเฟอร์ไม่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ หากสามารถปรับความเป็นกรดต่างให้อยู่ในช่วงที่เหมาะสมได้ แอกติวิตีของเอนไซม์จะสูงสุดที่ pH 5.5 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานคุณสมบัติของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสจากราชนิดอื่น ๆ ดังแสดงในตารางที่ 13 สำหรับความเข้มข้นบัฟเฟอร์นั้นพบว่า เอนไซม์จะทำงานได้ดีจนถึงความเข้มข้น 0.3 โมลาร์ เมื่อทดสอบกับอะซีเตทบัฟเฟอร์ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 0 ถึง 0.5 โมลาร์ และจะมีความเสถียรต่อความเป็นกรดต่างอยู่ในช่วง pH 5 - 8 สำหรับความเข้มข้นของสารละลายบัฟเฟอร์ พบว่าเอนไซม์จะเสถียรจนถึงความเข้มข้นอะซีเตทบัฟเฟอร์ 0.3 โมลาร์ จากนั้นแอกติวิตีจะลดลงอย่างรวดเร็ว



ตารางที่ 12 แสดงสภาวะที่เหมาะสมบางประการในการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส

ชนิดของจุลินทรีย์	เอกสารอ้างอิง	pH เริ่มต้น	อุณหภูมิ (°C)	ระยะเวลาที่ใช้(วัน)
<i>Aspergillus carneus</i>	30	8.5	28 ใน2วันแรก แล้วปรับเป็น 25	6 - 7
<i>A. luchvansis</i>	33	6.0	28	4
<i>Fusarium moniliforme</i>	34	8.0	30	14
<i>P. funiculosum</i>	43	6.0	25 - 28	5
<i>P. luteum</i>	28	6.0	30	5
<i>P. aculeatum</i>	40	6.5	30	5 - 6
<i>Lipomyces starkeyi</i>	26	2.5 - 4.0	25 - 30	70 - 100 ชม.
<i>Penicillium</i> sp. สายพันธุ์ 61	งานวิจัยนี้	6.0	30	6

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Fukumoto (31) ได้รายงานถึงบทบาทของ EDTA ที่ความเข้มข้น 10 mM ว่ามีผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์จากเชื้อ A. carneus ได้บ้าง โดยเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์เป็น 114% และ EDTA ที่ความเข้มข้น 1 mM จะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์จากเชื้อ P. funiculosum (43) ส่วน $MnSO_4$, $CoCl_2$, $CuSO_4$ จะมีผลเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์จากเชื้อ P. funiculosum (56, 57) เมื่อทดลองนำสารต่าง ๆ ที่มีผู้รายงานว่าผลกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เอนไซม์จาก Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 พบว่าไม่มีสารใดสามารถเพิ่มแอกติวิตีของเอนไซม์ขึ้นมาได้มากนัก อีกทั้งยังพบว่า $HgCl_2$ และ $ZnCl_2$ เป็นสารที่มีผลยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อย่างรุนแรง สำหรับ EDTA ที่ความเข้มข้นต่ำกว่า 1 mM นั้นจะมีผลต่อแอกติวิตีเอนไซม์เพียงเล็กน้อยทั้งนี้อาจเนื่องจาก SDS และ EDTA ในปริมาณที่มากเกินไป อาจดึงแร่ธาตุที่จำเป็นต่อการทำงานของเอนไซม์ออก แอกติวิตีของเอนไซม์จึงลดลง การหาค่าคงที่ทางจลนศาสตร์ (Km) ของเอนไซม์เอนไซม์จากเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 ต่อเอนไซม์ T-2000 ได้เท่ากับ 1.6×10^{-5} โมลาร์ ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับค่า Km จากงานวิจัยอื่น ๆ (26, 35, 38, 40) ซึ่งในบางกรณีค่า Km อาจต่ำกว่าค่า Km ที่ได้จาก Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 แต่เนื่องจากขนาดของสับสเตรทที่ใช้คือ เอนไซม์มีน้ำหนักโมเลกุลต่างกัน รวมทั้งสภาวะต่าง ๆ ที่ใช้ทดสอบก็มีความแตกต่างกันด้วย เมื่อคำนึงถึงเหตุนี้แล้วจะพบว่าความจำเพาะต่อสับสเตรทจะไม่ต่างกันมากนัก

ในการหาความจำเพาะของเอนไซม์ต่อการย่อยสลายสับสเตรท โดยทดลองนำโพลีแซคคาไรด์ ชนิดต่างๆมาทำการย่อยด้วยเอนไซม์เอนไซม์จากเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 พบว่าเอนไซม์จะมีความจำเพาะสูงต่อสับสเตรทที่เป็นเอนไซม์ หรืออนุพันธ์ของเอนไซม์ เช่น Sephadex G-100 เท่านั้น โดยเอนไซม์จะไม่ทำการย่อยสลายพันธะ แอลฟา 1,6 ใน สายแยก (branch) ของโพลีเมอร์น้ำตาลกลูโคส เช่น แป้ง, เอนไซม์ทริน, ซึ่งสารโพลีเมอร์เหล่านี้มีพันธะแอลฟา 1,4 เป็นแกนหลัก ซึ่งสอดคล้องกับผลของ Fukumoto (30) ที่รายงานว่าเอนไซม์สามารถย่อยสลายเอนไซม์น้ำหนักโมเลกุลต่ำได้ดีกว่าน้ำหนักรวมสูง และเอนไซม์ไม่สามารถย่อยสลาย พันธะกลูแคนอื่น ๆ อันได้แก่ แป้ง, เอนไซม์ทริน, พูลูลัน (pullulan), อะไมโลเพคติน (amylpectin), waxy maize หรือ cellulose ชนิดต่างๆ สำหรับผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายนั้น จากรายงานของบริษัท Novo น้ำตาล isomaltose และน้ำตาล isomaltotriose เป็นผลิตภัณฑ์หลักที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลาย ซึ่งโดยปกติแล้วเอนไซม์เอนไซม์จากราจะมีการย่อยสลายเป็นแบบ endo- ทำให้ได้น้ำตาลโอลิโกเมอร์ หรือไดเมอร์ของกลูโคสเป็นหลัก (28, 31, 38, 40)

ตารางที่ 13 แสดงสมบัติบางประการของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสจากเชื้อรา

เชื้อรา	เอกสารอ้างอิง	pH ที่เหมาะสม	อุณหภูมิ(°C) ที่เหมาะสม	น.น. โมเลกุล (dalton)	ค่า Km
<u>P. luteum</u>	28	5	50	-	-
<u>P. funiculosus</u> (1)	38	6	-	44,000	0.952×10^{-6} mole
<u>P. funiculosus</u> (2)	43	5.5	55	-	-
<u>P. funiculosus</u> (3)	44	4.1	-	41,000	-
<u>P. aculeatum</u>	40	5-6	50-60	-	55.2×10^{-2} %
<u>F. moniliforme</u>	35	5.5	55	39,000	1.1×10^{-4} mole
<u>L. starkeyi</u>	26	5.0	50	23,000	3×10^{-6} mole/ml
<u>Chaetomium</u> sp.	37	5.5	50-55	77,000	-
<u>A. carneus</u>	31	5.0-5.5	55-60	71,000	-
<u>Penicillium</u> sp. สายพันธุ์ 61	งานวิจัยนี้	5.5	55	-	1.6×10^{-6} mole

ลักษณะเช่นนี้ทำให้เอนไซม์เดิร์ทแทรนเนสจากเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 เหมาะสมกับการนำไปประยุกต์ใช้แก้ปัญหาเดิร์ทแทรนในโรงงานน้ำตาลซึ่งมีอุณหภูมิสูง ทั้งนี้จะเป็นการประหยัดพลังงานที่ไม่ต้องลดอุณหภูมิ (cool down) ของน้ำอ้อยก่อนนำมา treat ด้วยเอนไซม์เดิร์ทแทรนเนสนี้ ถึงแม้ว่า Inkerman (48) เสนอไว้ว่าหากสามารถผลิตเอนไซม์เดิร์ทแทรนเนสที่มีความสามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียสก็จะเป็นประโยชน์มากขึ้น เมื่อนำไปใช้ในกระบวนการผลิตน้ำตาล แต่ในปัจจุบันยังไม่มีเอนไซม์เดิร์ทแทรนเนสจากเชื้อจุลินทรีย์ใด สามารถทำงานได้ในที่อุณหภูมิสูงกว่า 70 องศาเซลเซียสได้เลย

ดังนั้นจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อและการทำงานของเดิร์ทแทรนเนสจากเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 นี้ พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด 42 หน่วยต่อมล. ในขณะที่มีรายงานว่าเชื้อ A. carneus สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงกว่า 100 หน่วยต่อมล. แต่จากผลการศึกษาในรายงานนี้ไม่พบเชื้ออื่นที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงกว่า 40 หน่วยต่อมล. อีกทั้งคุณสมบัติของเดิร์ทแทรนเนสจากเชื้อ Penicillium sp. สายพันธุ์ 61 ที่สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิสูง รวมทั้งความจำเพาะต่อสับสเตรท ($K_m = 1.6 \times 10^{-5} M$ ของเดิร์ทแทรน T-2000) จึงนับได้ว่าเชื้อสายพันธุ์ 61 นี้มีความสามารถผลิตเอนไซม์เดิร์ทแทรนเนสได้ดีควรแก่การพัฒนาเพื่อประยุกต์ให้เข้าสู่ระดับอุตสาหกรรม ซึ่งอาจทำได้โดยทำการศึกษาคูณสมบัติของเอนไซม์เดิร์ทแทรนเนสเพิ่มเติม เช่นคุณสมบัติทางวิทยาเอนไซม์ ตลอดจนการตรึงเอนไซม์สำหรับเป็นแบบจำลอง (model) ก่อนพัฒนาเข้าสู่ระดับขยายส่วน (scale up) อีกทั้งควรพัฒนาวิธีการผลิตเดิร์ทแทรนเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนที่มีราคาถูกขึ้นใช้เอง รวมทั้งปรับปรุงสายพันธุ์นี้ให้สร้างเอนไซม์เดิร์ทแทรนเนสในปริมาณที่สูงยิ่งขึ้น โดยใช้กระบวนการกลายพันธุ์ หรือวิธีการทางวิศวกรรมพันธุศาสตร์เพื่อให้เหมาะสมกับการนำเข้าสู่อุตสาหกรรมต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย