

บทที่ 1

บทนำ



1.1 โปรติเอส (Protease)

โปรติเอส (protease) คือ เอนไซม์ที่ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน โดยย่อยโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ให้เป็นเปปไทด์สายสั้นหรือได้กรดอะมิโน โปรติเอสมีชื่อเรียกสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส (peptidase) โปรติเนส (proteinase) เปปไทด์ไฮโดรเลส (peptide hydrolase) และโปรติโอไลติกเอนไซม์ (proteolytic enzyme) โปรติเอสที่ได้จากพืชได้แก่ ปาเปน (papain) จากมะละกอ โบรมิเลน (bromelain) จากสับปะรด มักใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่นทำให้เนื้อสัตว์นุ่ม ทำให้เบียร์ใส และหมักน้ำปลา ใช้ในอุตสาหกรรมยาโดยเป็นส่วนประกอบในยาช่วยย่อย ในยารักษาแผลเป็นและแผลไฟไหม้ และอุตสาหกรรมทางเคมี เช่น การทอผ้า และฟอกหนัง เป็นต้น (Godfrey และ Reichelt, 1983) โปรติเอสที่สกัดจากสัตว์ได้แก่ สารสกัด rennet จากกระเพาะลูกวัว Pancreatin จากตับอ่อนและ Pepsin จากกระเพาะสุกร มักใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร เช่นการผลิตเนยแข็ง (Ward, 1985) ส่วนโปรติเอสจากจุลชีพที่มีใช้ในทางอุตสาหกรรมมากเป็นอันดับหนึ่งได้แก่ แอลคาไลโนโปรติเอสจากเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus lichiformis*, *Esacillus subtilis* และ *Alkalophilic Bacillus* ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมการผลิต ผงซักฟอก เอนไซม์จากจุลชีพที่มีปริมาณการใช้รองลงมา ได้แก่ โปรติเอสจากรา *Muco.spp.* และ *Aspergillus oryzae* ซึ่งใช้ในอุตสาหกรรมการผลิตอาหาร (Ward, 1983 ; Aunstrup. 1980) จากข้อมูลในตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าโปรติเอสจากแหล่งต่าง ๆ ที่ผลิตในเชิงพาณิชย์ทั่วโลกในปี 1981 มีปริมาณการใช้โปรติเอสจากจุลชีพมีสัดส่วนแบ่งในตลาดประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของเอนไซม์จากจุลชีพทั้งหมด ถ้าพิจารณาปริมาณการขายเอนไซม์โปรติเอสจากจุลชีพทั่วโลกในปี 1981 พบว่ามีค่าประมาณ 120 ล้านดอลลาร์สหรัฐอเมริกา ขณะที่โปรติเอสจากสัตว์และพืชมียอดขายประมาณ 60 ล้านดอลลาร์สหรัฐอเมริกา (Ward, 1983)

ตารางที่ 1 ข้อมูลเชิงพาณิชย์ของโปรติเอสทั่วโลกในปี 1981 (Ward, 1983)

Enzyme	Millions of Dollars	Market share of microbial protease	
		Microbial enzyme (%)	Total enzyme (%)
Bacterial alkaline proteases	90	37	30
Microbial rennet	18	7	6
Other microbial proteases	10	4	3.5
Animal rennet	18	-	11
Other animal proteases	8	-	2.5
Plant proteases	33	-	11
All other microbial enzymes (non-proteolytic)	125	52	41
Total	302	100	100

โปรติเอส สามารถจำแนกตามลักษณะหลัก ๆ ได้ 2 ประเภทคือ การจำแนกตามลักษณะของสับสเตรตและการจำแนกตามบริเวณที่เข้าทำปฏิกิริยา

การจำแนกโปรติเอสตามลักษณะของสับสเตรตมี 2 ชนิด (Dalling .1972) คือ

1. proteinase ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของสายโปรตีน ที่มีขนาดใหญ่ให้เป็นเปปไทด์สายสั้น ๆ
2. peptidase ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์สายสั้นให้มีขนาดเล็กลงหรือกรดอะมิโน

การจำแนกโปรติเอสตามบริเวณที่เข้าทำปฏิกิริยาออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. proteinases หรือ endopeptidases

ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์อย่างอิสระภายในสายโปรตีน แบ่งเป็น 4 กลุ่มย่อยตามบริเวณเร่ง (active site) คือ

1.1 serine proteinases เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีกรดอะมิโน ซีรีน และฮิสติดีน อยู่ในบริเวณเร่งเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ chymotrypsin family, trypsin, elastase, thrombin และ subtilisin เอนไซม์เหล่านี้มีสมบัติเหมือนกันคือ ถูกยับยั้งโดย DFP (diisopropyl phosphorofluoridate) ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับหมู่ไฮดรอกซิลของเรสิดิวซีรีน (serine residue) ในบริเวณเร่งของเอนไซม์ นอกจากนี้ยังพบว่า มีหมู่อิมิดาโซล (imidazole) ในบริเวณเร่งด้วย เอนไซม์นี้เป็นพวก alkaline protease ที่มีช่วง pH ที่เหมาะต่อการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ประมาณ 7-11

1.2 cysteine proteinases หรือ sulfhydryl proteases เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีกรดอะมิโนซิสเตอีนอยู่ในบริเวณเร่ง เอนไซม์กลุ่มนี้สกัดได้จากพืชชั้นสูงโดยที่มีการศึกษามากคือ papain จากยางมะละกอ ficin จากมะเดื่อ bromelain จากสับปะรด และยังสามารถสกัดได้จากจุลินทรีย์บางชนิด เช่น *Streptococcus protease* เอนไซม์กลุ่มนี้บางครั้งเรียกว่า "sulfhydryl proteases" เป็น neutral protease มี pH ที่เหมาะแก่การเร่งปฏิกิริยาในช่วง 6-7.5

1.3 aspartic proteinases เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีกรดอะมิโน แอสปาร์เทต อยู่ในบริเวณเร่ง พบใน eukaryotes เช่น pepsin ทำหน้าที่ย่อยโปรตีนในกระเพาะอาหารของสัตว์ชั้นสูงบางครั้งเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่า acid-proteinases สามารถเร่งปฏิกิริยาได้ดีในช่วง pH ต่ำ ๆ

ประมาณ 2-4 ตัวอย่างเช่น เอนิน เปปซินและสามารถถูกยับยั้งโดย carboxyl blocking reagents ในบางครั้ง จึงเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ว่า carboxyl proteinases

1.4 metallo proteinases เอนไซม์ในกลุ่มนี้มีอ็อกอนของโลหะอยู่ที่บริเวณเร่ง (active site) ตัวอย่างเช่น Thermolysin มีอ็อกอนของสังกะสี (Zn^{2+}) ที่บริเวณเร่ง pHที่เหมาะสมต่อการเร่งปฏิกิริยา ประมาณ 7 และถูกยับยั้งโดย metal-chelating agents เช่น EDTA และ o-phenanthroline (1,10-phenanthroline) เป็นต้น

2. Peptidases หรือ exopeptidases

เอนไซม์กลุ่มนี้ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะเปปไทด์จากปลายสายโปรตีน เป็นเอนไซม์กลุ่มใหญ่ที่มีแอกติวิตีและหน้าที่มากมาย ส่วนใหญ่เป็น metallo-enzymes มีความเสถียรน้อยกว่า endopeptidases และจะเรียกชื่อตามลำดับสเตรท เช่น di-peptidases tri peptidases เป็นต้น บางทีเรียกเป็น dipeptidylpeptidases การแบ่งเอนไซม์ในกลุ่มนี้มักแบ่งตามความจำเพาะเจาะจงต่อลำดับสเตรท ดังนี้

2.1 aminopeptidases เอนไซม์นี้จะตัด α -aminoacyl-1-residue ทางด้านปลาย N ของสายเปปไทด์ออกไป อาจเรียกเอนไซม์กลุ่มนี้ได้ว่า α -aminoacylpeptide hydrolase ในอดีต ชื่อของ aminopeptidases มักมีตัวอักษรต่อท้าย เช่น aminopeptidases M เป็นต้น ต่อมาเปลี่ยนเป็นการเรียกตามหลังเรซิดิวที่มีอัตราการเกิด hydrolysis สูง เช่น alanyl aminopeptidases ซึ่ง หมายถึงเอนไซม์ที่จะสลายพันธะเปปไทด์ด้านปลาย N ที่มี alanyl residue

2.2 dipeptidylpeptidases และ tripeptidylpeptidases เป็นเอนไซม์ที่ตัดกรดอะมิโนทางด้านปลาย N ของสายเปปไทด์ออกในรูป dipeptide หรือ tripeptidylpeptidases การเรียกชื่อของเอนไซม์ในกลุ่มนี้จะใช้เลขโรมันหรือตำแหน่งที่พบภายในเซลล์เป็นตัวบอกรหัสของเอนไซม์ เช่น peptidyl dipeptidase I

2.3 carboxypeptidases เป็นเอนไซม์ที่ตัดบางส่วนของสายเปปไทด์ทางด้านปลาย C ออกไป เช่น arginine carboxypeptidases จะตัด arginine ออกจากสายเปปไทด์ได้เร็วกว่ากรดอะมิโนชนิดอื่น ๆ

2.4 peptidylpeptidase เอนไซม์กลุ่มนี้จะตัดกรดอะมิโนทางด้านปลาย C ของสายเปปไทด์ออกในรูป dipeptide เช่น cathepsin B เป็นต้น ในการเรียกชื่อของเอนไซม์กลุ่มนี้ จะนิยมใช้อักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่มากกว่าเลขโรมัน

2.5 dipeptidases และ tripeptidases เอนไซม์ทั้งสองนี้ต้องการหมู่ α -amino อิสระ หรือ α - carboxyl อิสระในลำดับสเตรทที่มีความจำเพาะเจาะจงต่อ dipeptides และ tripeptides ตามลำดับ

2.6 Omega peptidases เป็นกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ตัดบางส่วนของด้านปลายเปปไทด์ออกจากสารเปปไทด์โดยส่วนที่จะถูกตัดออกไปนี้จะมีลักษณะสำคัญคือ ไม่มีหมู่ α -amino อิสระ หรือ α -carboxyl อิสระ เช่น หมู่ pyroglutamyl เป็นต้น และส่วนที่ถูกตัดนี้เชื่อมกับสายเปปไทด์ด้วยพันธะที่ไม่ใช่พันธะเปปไทด์

โปรติเอสที่พบในพืช (Dalling,1972) ได้แก่ โบรมิเลน (bromelain) พบมากในเหง้าของ สับปะรด ปาเปน (papain) พบมากในยางมะละกอ ฟิคซิน (ficin)พบมากในงผลมะเดื่อ แอคตินิดิน (actinidin)พบในchinese hooseberry ซึ่งเป็น cysteine proteinase ที่มีความใกล้เคียงกับปาเปน และเป็น acidic proteinase คิวเคอร์บิท (cucurbit) พบใน Cucumis utilis:simus ในระยะผลสุก งอม และอกาเวน (agavain) พบในวงศ์ป่านศรนารายณ์

1.2 พืชในวงศ์ป่านศรนารายณ์ (Agavaceae)

พืชในวงศ์ป่านศรนารายณ์เป็นพืชเส้นใยชนิดหนึ่งที่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในพื้นที่ที่มีสภาพดินไม่เหมาะสมกับการเกษตรกรรม เช่น พื้นที่ทรายแถบชายทะเล ดินทางภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทยหรืออาจกล่าวได้ว่าเป็นพืชที่สามารถขึ้นได้ในดินแทบทุกชนิด ยกเว้นบริเวณที่มีน้ำท่วมขัง พืชตระกูลนี้มีลักษณะใกล้เคียงกับพวก Liliaceae (สับปะรด) ทนแล้งได้เป็นอย่างดี (เป็นพืชพวก Xerophyte) ดังนั้นบริเวณที่มีปริมาณน้ำฝนตกเฉลี่ย 250-375 มิลลิเมตรต่อปี พืชในวงศ์นี้ก็สามารถเจริญเติบโตได้ นอกจากนี้ยังไม่พบโรคและศัตรูพืชมากนัก พืชในวงศ์นี้จึงไม่ต้องการการดูแลรักษามากนัก ทำให้ต้นทุนในการปลูกต่ำสำหรับเกษตรกรที่ปลูกเพื่อขายเส้นใย

สมิตราและคณะ (2532) สํารวจพบว่าพืชในวงศ์ป่านครนารายณ์มีขึ้นตามธรรมชาติได้ทั่วไปในบางอำเภอของจังหวัดนครราชสีมาและจังหวัดชัยภูมิ ที่พบได้แก่ *Agave fourcroydes*, *Furcraea gigantea* เป็นต้น พืชวงศ์ป่านครนารายณ์ โดยปกติจะพบมีหนามแหลมขนาดเล็กที่ขอบใบ และมีขนาดใหญ่ที่ปลายปลายใบ จากการศึกษาสํานวนวิทยาของพืชวงศ์ป่านครนารายณ์ในประเทศไทยของสมิตราและคณะ ซึ่งได้ทำการจำแนกได้เป็น 5 ชนิด คือ *Agave sisalana*, *Agave fourcroydes*, *Agave perrine*, *Agave angustifolia* และ *Furcraea gigantea*

พันธุ์ป่านครนารายณ์ที่ให้เส้นใย

พืชในตระกูลนี้มีอยู่กว่า 300 ชนิดด้วยกัน บางชนิดนิยมปลูกเพื่อเป็นไม้ประดับ เช่น *Agave americana* แต่ชนิดที่ปลูกเพื่อนำเส้นใยมาใช้ประโยชน์โดยทั่วไปมีอยู่ 3 ชนิดกล่าวคือ

1. *Agave sisalana* ป่านไซซาลเป็นชนิดที่ให้เส้นใยดี ไม่มีหนามที่บริเวณขอบของใบ ปริมาณเส้นใยมาก
2. *Agave fourcroydes* มีชื่อสามัญโดยทั่ว ๆ ไปว่า ป่านยูคาตาน หรือ เฮนนิกวิน ลักษณะคล้ายคลึงกับชนิดแรก แต่มีหนามบริเวณขอบใบ ใบค่อนข้างหนาสีเทาเข้ม น้ำหนักมาก ปริมาณและคุณภาพเส้นใยด้อยกว่าชนิดแรก
3. *Agave cantala* มีชื่อสามัญว่า ป่านมาเกียเป็นชนิดที่ไม่นิยมปลูกกัน ปริมาณเส้นใยที่ให้น้อย คุณสมบัติของเส้นใยก็ด้อยกว่า

1.3 ประโยชน์ของป่านครนารายณ์

เส้นใยป่านครนารายณ์เป็นเส้นใยชนิดแข็งเหนียวและคมมาก ดังนั้นจึงนำไปแปรสภาพเป็นผลิตภัณฑ์ที่ใช้ในงานหนัก (วรวิฑูมิ, 2535) เช่น ใช้ทำเชือกสมอเรือ ผลิตเชือกขนาดใหญ่ใช้ลากจูงเรือ ผลิตเชือกมัดของ ใช้ทำกระสามป่านบรรจุเมล็ดพืช ใช้ผสมคอนกรีตอัดแรง ใช้ทำอุปกรณ์ขัดเงาโลหะหรือลูกบัพ (buff) ใช้เป็นฐานชั้นล่างของพรมปูพื้น ใช้ในงานหัตถกรรม เช่น กระเป๋าถือ รองเท้า หมวก แล็บัดยุง เป็นต้น

นอกจากการใช้เส้นใยโดยตรงในโรงงานอุตสาหกรรมแล้วเศษเหลือที่ได้ยังนำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น ๆ ได้อีก เช่น

- เศษเนื้อของใบป่านศรนารายณ์ที่ได้จากการขูดเส้นใยใช้แทนปุ๋ยพืชสดใส่ลงในแปลงที่ปลูกป่านได้โดยตรงหรือจะทำให้แห้งแล้วเผาก่อนก็ได้ถ้าถ่านที่มีเปอร์เซ็นต์ของธาตุอาหารสูงประมาณ 80 % ของถ่านจะเป็นพวกโลม์คาร์บอเนต (Carbonate of lime) 11% เป็นโพแทสเซียมคาร์บอเนต และ 4% เป็นโลม์ฟอสเฟต

- นำไปทำกระดาษชนิดพิเศษที่แข็งกว่ากระดาษทั่วไป สำหรับกรณีนี้ไม่เพียงแต่เศษเนื้อเยื่อจากใยเท่านั้น ยังสามารถใช้เนื้อเยื่อจากลำต้นของป่านได้ด้วย

- นำไปเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์ โดยการหมักเศษเนื้อเยื่อด้วยจุลินทรีย์ โดยแอลกอฮอล์ที่ได้เป็นเอทานอลและจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในกระบวนการหมัก ได้แก่ ยีสต์พวก *Saccharomyces* sp. และแบคทีเรียพวก *Zymomonas* sp.

- นำไปสกัดเพื่อสังเคราะห์สารเคมีอื่นๆ ส่วนใหญ่จะได้กรดออกซาลิก (oxalic acid) และขี้ผึ้งคาร์นัวบา (camauba wax)

- นำไปเลี้ยงสัตว์โดยทำแห้งแล้วนำไปผสมกับอาหารอื่น เนื่องจากมีน้ำตาลมากจึงใช้เลี้ยงสัตว์ได้ดี

- เส้นใยมีพวกขี้ผึ้งบางชนิดอยู่ จึงมีการนำไปใช้ในการขัดถูโลหะเพื่อให้เกิดเงา

1.4 การศึกษาโปรตีนในป่านศรนารายณ์

มีรายงานการศึกษาโปรตีนในสายพันธุ์ *Agave sisalanus* (Tipton, 1964 a&b) และในสายพันธุ์ *Agave americana variegata* (du Toit, 1974 จากส่วนสกัดจากใบของ *A. sisalanus* สามารถแยกโปรตีนได้ 5 components ที่มีแอกติวิตีในการย่อยเคซีน โดยใช้คอลัมน์ DEAE-cellulose และ Sephadex G-100 ทั้ง 5 components มีขนาดน้ำหนักโมเลกุลใกล้เคียงหรือเล็กกว่า hemoglobin (B - F) และ 4 componets (B, C, E, F) ที่มีขนาดเล็กกว่า haemoglobin สามารถแสดง amidase activity คือสามารถย่อย α -benzoyl-L-arginine amide เมื่อศึกษาด้วยการดูการย่อยเคซีนพบว่า component B, E และ F มี pH ที่เหมาะสมอยู่ในช่วง 6 - 7.5 ในขณะที่ component C และ D มี pH ที่เหมาะสมสองช่วงคือ ประมาณ 5 และ 7 ส่วน component C, D, E

และ F ต้องการ metal ion เพราะถูกยับยั้งได้ด้วย EDTA, o-phenanthroline, NaCN และ N-ethylmaleimide นอกจากนี้ component C, D, E และ F ยังมีกรดอะมิโนที่รบกวนการเร่งปฏิกิริยา เพราะถูกยับยั้งได้ด้วย di-isopropylphosphorofluoridate และไม่สามารถยับยั้ง component ได้เลย เมื่อใช้ cystein, p-chloromercuribenzoate และ mercaptoethanol แสดงว่าไม่มี thiol group ใน active site โดย component B ไม่มีสารตัวใดสามารถยับยั้งได้เลย (Tipton, 1964) และจากการทำให้บริสุทธิ์ของ components ที่มีขนาดน้ำหนักโมเลกุล 52,000 ดาลตัน และสามารถตกผลึกได้ มีแอกติวิตีจำเพาะเพิ่มขึ้น 14.3 เท่าของ crude enzyme เมื่อใช้ α -benzoyl-L-arginine amide เป็นสับสเตรท และเป็น 5.46 เท่า เมื่อใช้เคซีนเป็นสับสเตรท ได้ผลผลิตประมาณ 8-12.6 % โปรตีนนี้จะไม่เสถียรในสภาพสารละลายจะเกิดย่อยตัวเองให้มีขนาดเล็กลง จะเสถียรในรูปผลึกที่ 4 ° C และให้ชื่อโปรตีนนี้ว่า Agavain และในการศึกษาโปรตีนจากสายพันธุ์ *A. americana variegata* (Du Toit, 1974) เมื่อนำมาทำให้บริสุทธิ์ (โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต, ผ่านคอลัมน์ DEAE- Sephadex, CM-Sephadex, Sephadex G-200 และ Sephadex G-75 ตามลำดับ) ได้ความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 565 เท่า ให้ผลผลิต 39.5% ให้แอกติวิตีจำเพาะ 0.44 ยูนิตต่อมิลลิกรัม โปรตีน มีคุณสมบัติเป็น โกลโคโปรตีน มีคาร์โบไฮเดรตอยู่ 8-10 % โปรตีนจากสายพันธุ์นี้มีน้ำหนักโมเลกุล 57,000 ดาลตัน มีค่า pI = 5.2 และสามารถย่อย เคซีน hemoglobin และ BSA ได้ดีเรียงตามลำดับ มีค่า pH เหมาะสมในการทำงานที่ 7.2 -8 และสามารถถูกยับยั้งปฏิกิริยาด้วย TosPheCH₂Cl จึงเป็นโปรตีนชนิด serine alkali protease นอกจากนี้ยังมี esterolytic activity สูงเนื่องจากสามารถย่อย Cbz-Tyr-ONp และ Ac-Tyr-OEt ได้ดีเมื่อใช้ Cbz-Tyr-ONp เป็นสับสเตรท ค่า $K_m = 0.0345$ mM และ $V_{max} = 1.24$ mol substrate/mol enzyme /sec โปรตีนนี้ไม่ต้องการ metal ion ในการเกิดปฏิกิริยา

1.5 มุลเหตุจูงใจในงานวิจัย

จากงานวิจัยต่าง ๆ ในปัจจุบัน มีแนวโน้มว่าในอนาคตจะสามารถนำเอ็นไซม์ไปใช้ในกิจกรรมได้หลายชนิดอย่างกว้างขวางยิ่งขึ้น เช่น การใช้แทนเรนฟอสฟอรัสติก เป็นต้น

ปัจจุบันนอกจากได้มีการส่งเสริมการปลูกป่านศรนารายณ์และให้ประโยชน์อย่างครบวงจร ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือแล้วยังมีโครงการส่งเสริมให้ปลูกป่านศรนารายณ์ในนิคมสร้างตนเอง จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ตามพระราชประสงค์ (กระบวน, 2532) และเนื่องจากประเทศไทยมีการนำเข้า เอนไซม์เป็นจำนวนมากดังข้อมูลตารางที่ 2 ดังนั้นถ้าสามารถลดปริมาณนำเข้าเอนไซม์ ก็จะช่วยลด การสูญเสียจำนวนเงินที่นำเข้าได้ งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์ที่จะทำการศึกษา การใช้ประโยชน์จาก ส่วนที่เป็นน้ำของป่านศรนารายณ์โดยนำน้ำคั้นจากป่านซึ่งเป็นส่วนที่เหลือทิ้งมาทำการแยกโปรตีนให้บริสุทธิ์และศึกษาสมบัติเฉพาะของเอนไซม์นี้เพื่อที่ว่าอาจได้เอนไซม์ที่มีสมบัติเหมาะใน อุตสาหกรรมบางอย่างและอาจใช้ทดแทนเอนไซม์ที่ใช้อยู่เดิมในเชิงพาณิชย์ เช่น โรงงานเบียร์ หรือ ใช้เอนไซม์นี้ในโรงงานผลิตเนื้อสัตว์ เป็นต้น

ตารางที่ 2 การนำเข้าเอนไซม์ของประเทศในระหว่างปี 1991-1997

ปี ค.ศ.	มูลค่าการนำเข้า	
	ปริมาณ (ล้านตัน)	จำนวนเงิน (ล้านบาท)
1991	1.27	136
1992	1.28	204
1993	1.60	250
1994	2.18	275
1995	2.12	334
1996	2.11	367
1997	1.64	296

1.6 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1. ศึกษาวิธีการทำให้บริสุทธิ์ของโปรตีนจาก *Agave sisalana*
2. ศึกษาสมบัติทางกายภาพเคมี และจลนศาสตร์ของโปรตีน
3. ศึกษาความจำเพาะของโปรตีนจาก *Agave sisalana* ที่แยกได้ในการย่อยสลายพันธะเปปไทด์ของโปรตีน
4. ศึกษาชนิดและความสำคัญของสารและโลหะต่อแอกติวิตีของเอนไซม์