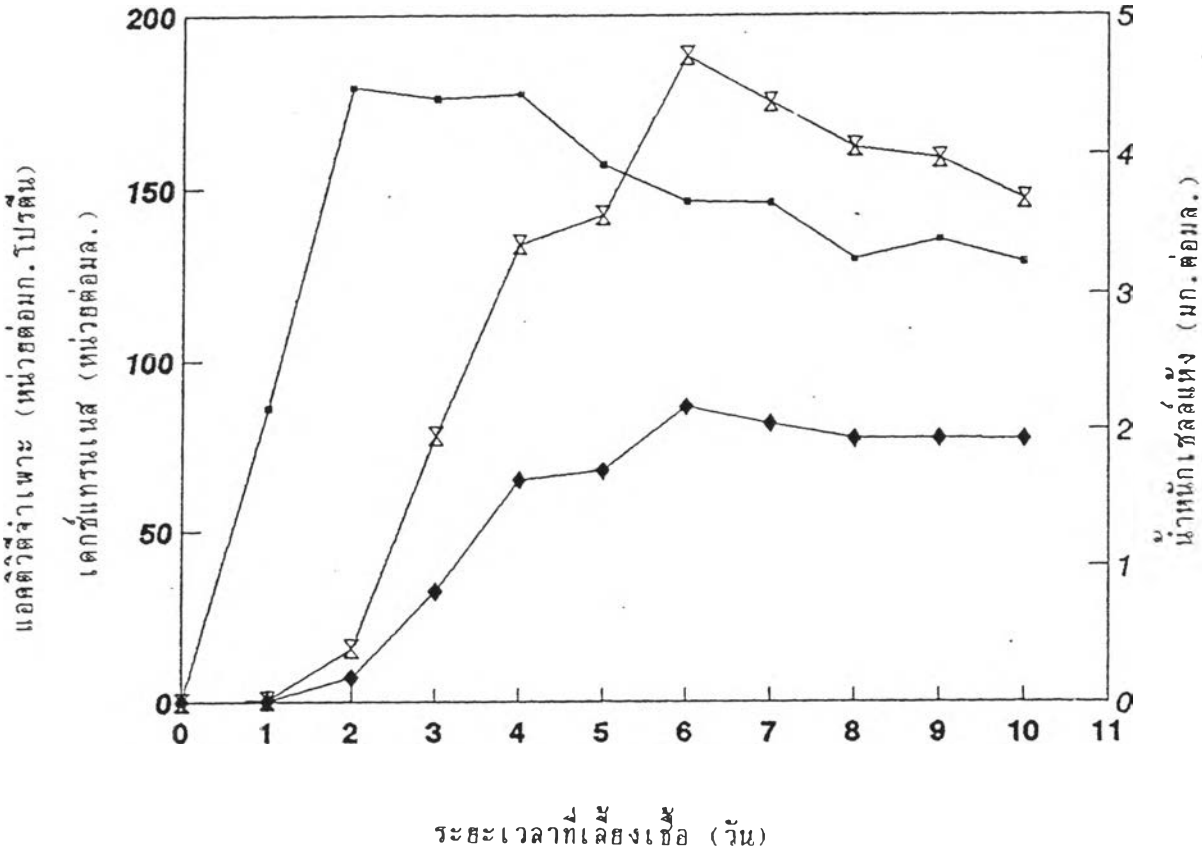
บทที่ 3

ผลการวิจัย

ผลการศึกษา การเจริญ ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะ ของรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

เลี้ยงรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ดั้งต้นที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ ในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ (ภาคผนวก ก) ที่มีเดกซ์แทรน 1% เป็นสารชักนำการสร้างเอนไซม์ ความเป็นกรดด่าง 6.0 ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 ซ) บ่มเขย่าด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที ที่รายงานโดย เอก แสงวิเชียร (2531) ใช้เป็นภาวะมาตรฐาน สำหรับหาความสามารถในการสร้างเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ของราที่คัดเลือกได้หลังจากการกลายพันธุ์ เลี้ยงราสายพันธุ์ดั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เป็นเวลา 10 วัน พบว่ามีการเพิ่มของน้ำหนักแห้ง และ สูงสุดในวันที่ 2 ของการเลี้ยงแล้วจึงเริ่มลดลง ส่วนการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จะมีการเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ในช่วง 1-2 วันแรก แล้วเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว จนให้ค่าสูงสุดในวันที่ 6 ของการเลี้ยงเชื้อ ซึ่งให้ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส 86.46 หน่วยต่อมล.ของน้ำเลี้ยงเชื้อ และให้ปริมาณโปรตีนตลอดจนค่าแอคติวิตีจำเพาะ ดังแสดงในรูปที่ 7



รูปที่ 7 การเจริญ การผลิตเอนไซม์เคกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะ ของรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ (ภาคผนวก ก) ความเป็นกรดด่าง 6.0 ที่อุณหภูมิห้อง (30-35°ซ) อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที (ภาวะมาตรฐาน)

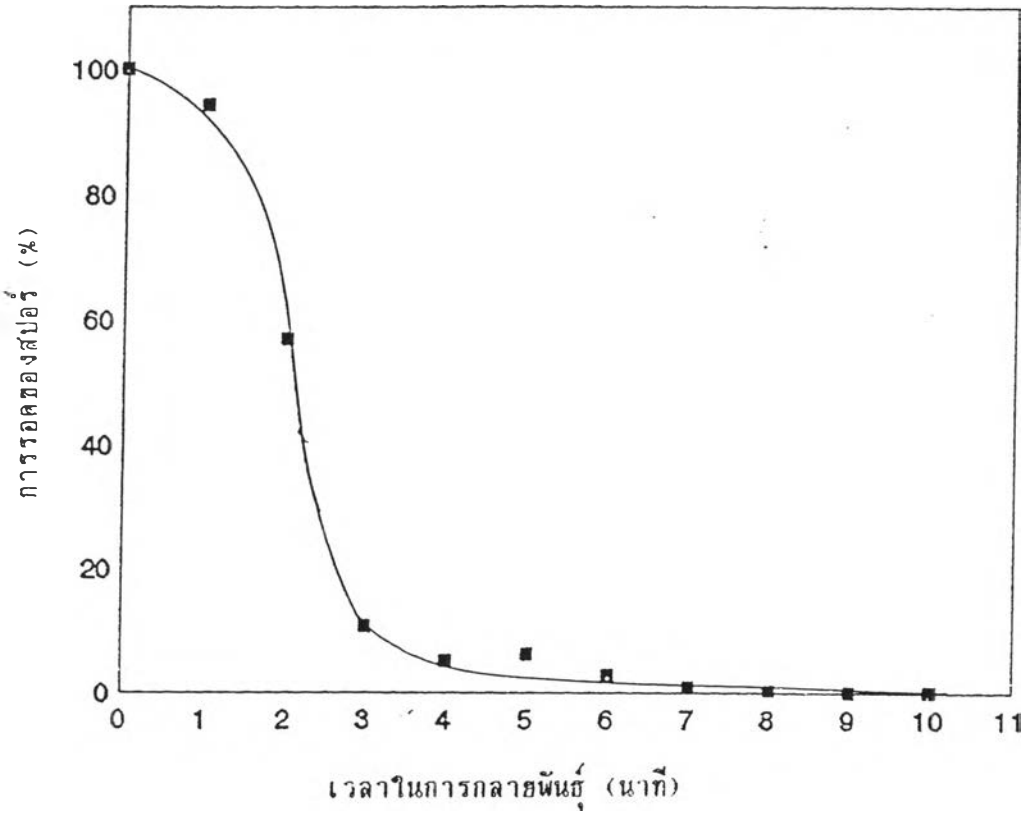
การชักนำการกลายพันธุ์สปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต (UV light)

ชักนำการกลายพันธุ์ของรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 โดยการฉายแสงอุลตราไวโอเลต ที่ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร โดยใช้สปอร์ที่มีอายุ 7 วัน ความหนาแน่นของสปอร์ 1.8×10^3 สปอร์ต่อมล. ตามวิธีการใน บทที่ 2 ข้อ 1 หน้า 23 จากนั้นนำสปอร์ที่ผ่านการฉายแสง มาบ่มเลี้ยงในที่มืดเป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนโคโลนีที่เจริญ (สปอร์ที่รอด) และคำนวณเปอร์เซนต์การรอดของสปอร์ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 1 และรูปที่ 8 ทำการคัดเลือกโคโลนีในช่วงที่มีเปอร์เซนต์การรอดของสปอร์ 0.01 - 5.0 % ซึ่งเป็นช่วงที่เกิดการกลายพันธุ์ที่เหมาะสม พบว่า การฉายแสงอุลตราไวโอเลตนาน 4 - 10 นาที ให้ผลดังกล่าว โดยให้เปอร์เซนต์การรอดของสปอร์ 0.15 - 5.24 %

ตารางที่ 1 จำนวนโคโลนีที่เจริญ (สปอร์ที่รอด) และเปอร์เซนต์การรอด ของสปอร์รา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ภายหลังจากการฉายแสงอุลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ที่เวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	จำนวนโคโลนีที่เจริญเฉลี่ยต่อจาน	เปอร์เซนต์การรอดของสปอร์
0	222.67	100.00
1	210.00	94.30
2	126.67	56.88
3	24.00	10.78
4	11.67	5.24
5	14.00	6.29
6	6.67	2.99
7	2.33	1.05
8	1.00	0.45
9	0.33	0.15
10	0.33	0.15

I16669129



รูปที่ 8 เปอร์เซนต์การรอดของสปอร์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ที่ผ่านการฉายแสงอุลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ที่เวลาต่างๆ

การคัดเลือกราที่ได้จากการกลายพันธุ์สปอร์ของรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 และการเปรียบเทียบการเจริญ การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะระหว่างรากลายพันธุ์และสายพันธุ์ตั้งต้น

1. การคัดเลือกรากลายพันธุ์ ที่มีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสเพิ่มขึ้น ในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ

เมื่อนำสปอร์ของราที่ผ่านการฉายแสงอุลตราไวโอเลต ในช่วงเวลา 4-10 นาที มาทำการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิโดยวิธีกล่องโลหะ (ภาคผนวก ค) ตามวิธีการทดลองในบทที่ 2 ข้อ 1.1 หน้า 24 หลังการบ่มเป็นเวลา 3 วัน นำมาทดสอบบริเวณใสโดยเทราดด้วยเอธานอล 95 % พบว่า จากรากลายพันธุ์ที่ได้ทั้งหมด 310 สายพันธุ์ มี 67 สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิโดยวิธีกล่องโลหะ และเมื่อนำราเหล่านี้ มาคัดเลือกซ้ำโดยใช้จานเพาะเลี้ยงเชื้อตามวิธีการทดลองใน ข้อ 1.2 หน้า 25 พบว่า มีอยู่ 27 สายพันธุ์ ที่ให้ความกว้างของบริเวณใสค่อนข้างคงที่และมากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น

นำราที่ผ่านการคัดเลือกในขั้นปฐมภูมิ มาเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อคัดเลือกในขั้นทุติยภูมิ พบว่า รา 12 สายพันธุ์ มีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้มากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น ดังแสดงในตารางที่ 2

ตารางที่ 2 การคัดเลือกชั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิของราที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ความยาวคลื่น 254 นาโนเมตร ที่เวลา 4 - 10 นาที

เวลาในการฉายแสง (นาที)	จำนวนโคโลนีที่ได้จากการกลายพันธุ์	ผ่านการคัดเลือกชั้นปฐมภูมิ		ผ่านการคัดเลือกชั้นทุติยภูมิ
		ในกล่องโลหะ	ในจานเพาะเลี้ยง	
4	44	11	7	4
6	43	12	6	2
8	83	22	6	4
9	66	13	4	2
10	74	9	4	0
รวม	310	67	27	12

หมายเหตุ จำนวนโคโลนีที่ได้จากการกลายพันธุ์ ได้จากการทดลองหลายครั้งก่อนนำมาทำการคัดเลือก

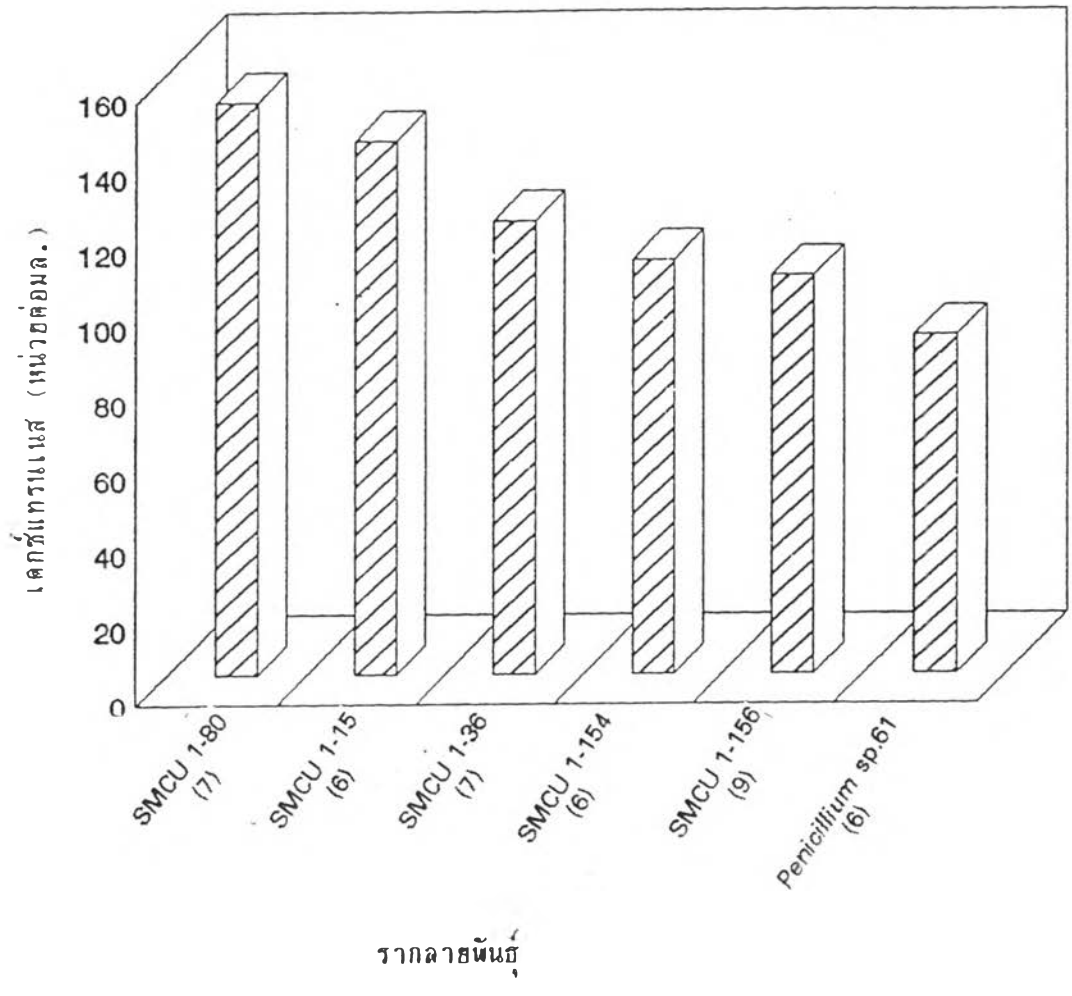
จากรากลายพันธุ์ทั้ง 12 สายพันธุ์ ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว (ตารางที่ 3) พบว่า รากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 สามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ได้สูงที่สุด คือ 152.07 หน่วยต่อมล. ซึ่งคิดเป็น 1.7 เท่าของสายพันธุ์ดั้งต้น ส่วนสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ได้รองลงมา คือ สายพันธุ์ SMCU 1-15 , SMCU 1-36 , SMCU 1-154 และ SMCU 1-156 ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 9 ในการทดลองขั้นต่อไป จะใช้รากลายพันธุ์ SMCU 1-80 สำหรับการกลายพันธุ์ต่อด้วยสารเคมี NTG

2. การเปรียบเทียบการเจริญ การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตี จำเพาะระหว่าง *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 กับ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

ศึกษาการเจริญ การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะของ รากลายพันธุ์เปรียบเทียบกับสายพันธุ์ดั้งต้น โดยเลี้ยงราทั้ง 2 สายพันธุ์ ในอาหารเหลว ปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน พบว่า การเจริญของรากลายพันธุ์ มีอัตราต่ำกว่าสายพันธุ์ดั้งต้น (รูปที่ 10) ส่วนการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ของราทั้ง 2 สายพันธุ์ ในช่วง 2 วันแรกของการเลี้ยงเชื้อ มีค่าไม่แตกต่างกัน แต่หลังจากวันที่ 2 รากลายพันธุ์จะมีการผลิตเอนไซม์ได้มากกว่าสายพันธุ์ดั้งต้น และผลิตได้สูงสุด 152.07 หน่วย ต่อมล. ในวันที่ 7 ของการเลี้ยงเชื้อ คิดเป็น 1.7 เท่าของสายพันธุ์ดั้งต้น (รูปที่ 11) ส่วนค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ (รูปที่ 12) ก็จะให้ลักษณะการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกัน

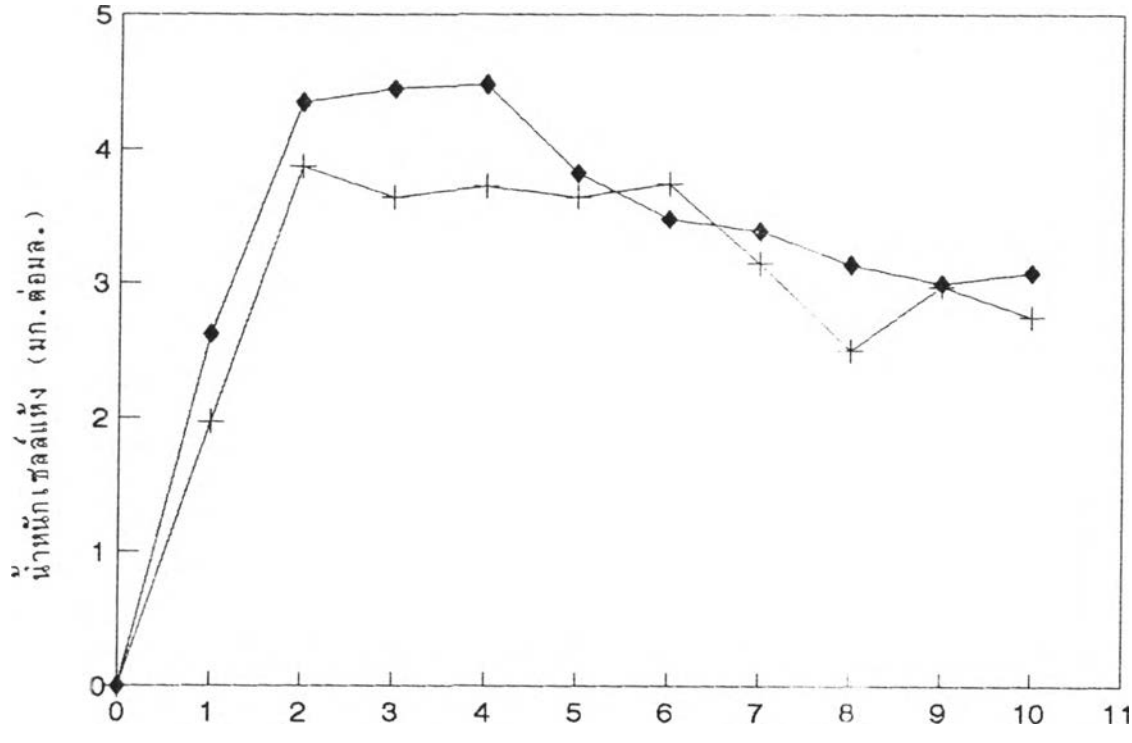
ตารางที่ 3 ความกว้างของบริเวณใส ปริมาณการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และวันที่มีการผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด ของราที่กลายพันธุ์ด้วยแสงอุลตราไวโอเลต ที่ผ่านการคัดเลือกในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ และราสายพันธุ์ดั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

รากลายพันธุ์	ความกว้างของบริเวณใส (เซนติเมตร)	ปริมาณการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส (หน่วยต่อมล.)	วันที่มีการผลิตสูงสุด
SMCU 1-15	1.70	141.70	6
SMCU 1-23	1.80	103.16	8
SMCU 1-36	2.00	120.29	7
SMCU 1-80	2.20	152.07	7
SMCU 1-82	1.90	91.50	7
SMCU 1-83	1.80	104.66	6
SMCU 1-92	2.10	91.07	8
SMCU 1-122	2.00	92.08	9
SMCU 1-154	2.30	109.93	6
SMCU 1-156	1.90	108.00	9
SMCU 1-259	1.70	103.11	7
SMCU 1-280	1.70	91.50	6
Penicillium sp. สายพันธุ์ 61	1.60	89.85	6

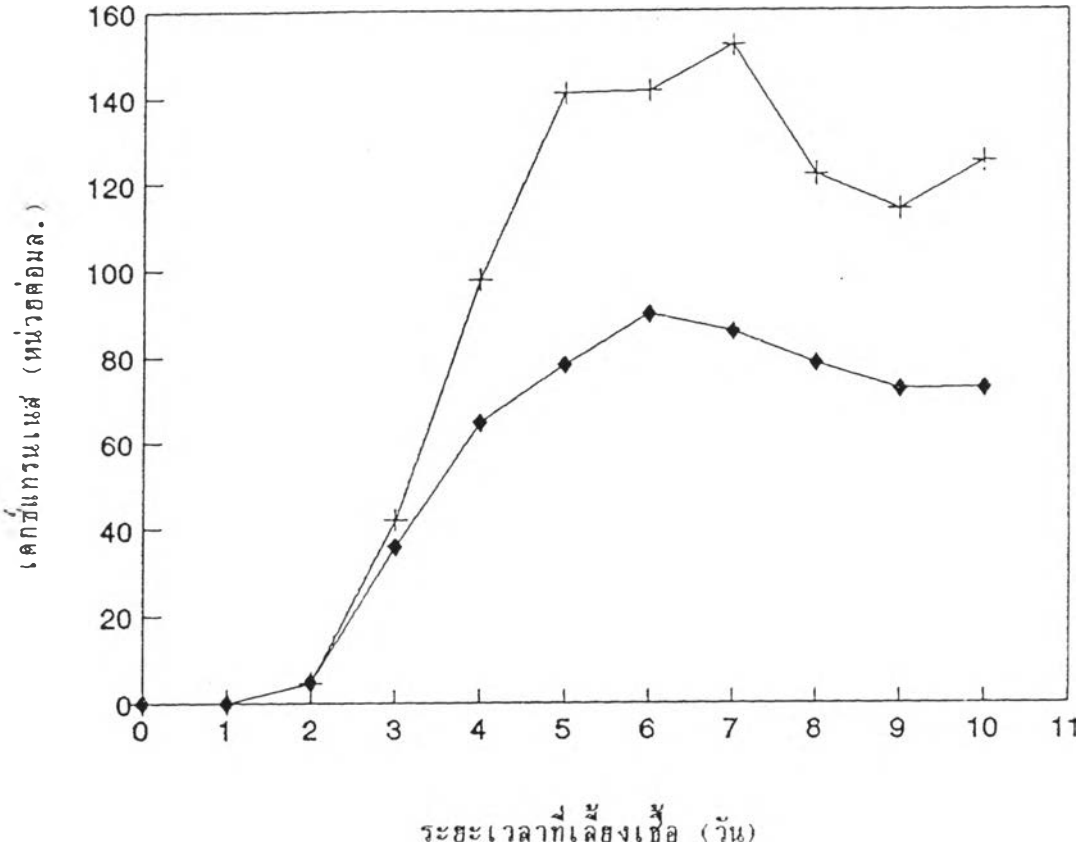


รูปที่ 9 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ของรากลายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว และราสายพันธุ์ดั้งเดิม *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บหมายถึงวันที่มีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสสูงสุด



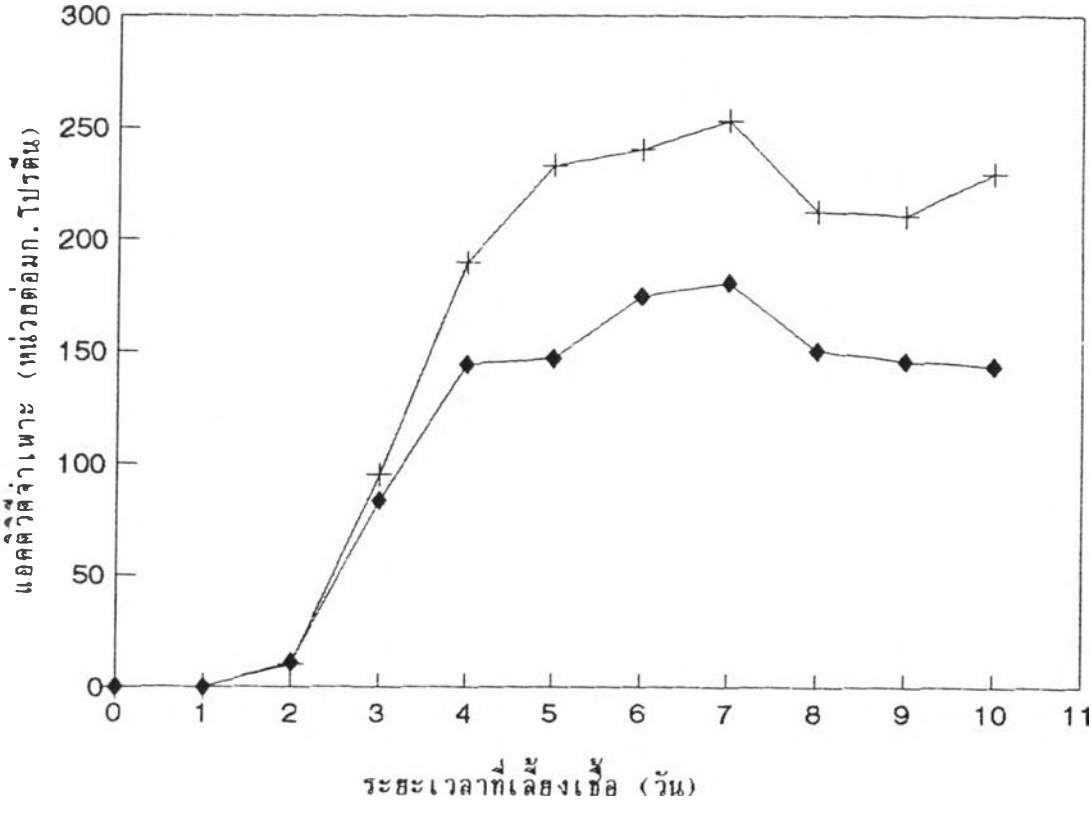
รูปที่ 10 การเจริญของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน



+ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80

◆ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

รูปที่ 11 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน



+ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80

◆ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

รูปที่ 12 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน

การทดสอบความเสถียรของการสร้างเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส โดย *Penicillium* sp, สายพันธุ์ SMCU 1-80

นำสปอร์ของราที่มีการปลูกถ่ายในแต่ละครั้ง มาเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน ตรวจหาปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสในน้ำเลี้ยงเชื้อ ตามวิธีการในข้อ 2 หน้า 21 จากผลการทดลอง พบว่า รากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 เมื่อมีการถ่ายสปอร์และเลี้ยงทดสอบไปจนถึงสัปดาห์ที่ 41 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ลดต่ำลงอย่างมาก จากที่เคยผลิตได้ 152.07 หน่วยต่อมล. ก็กลับลดปริมาณการผลิตเอนไซม์ลงเหลือเพียง 65.14 หน่วยต่อมล. ดังผลในตารางที่ 4 และเมื่อทำการถ่ายสปอร์ และเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวต่อไป จนถึงสัปดาห์ที่ 48 ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่ผลิตได้ก็ไม่เพิ่มขึ้น

การชักนำให้เกิดการกลายพันธุ์สปอร์ของรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 ด้วยสารเคมี NTG (N-methyl-N'-nitro-N-nitrosoguanidine)

นำรา *Penicillium* sp.SMCU 1-80 ซึ่งกลายพันธุ์มาจาก *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 โดยแสงอุลตราไวโอเลต และผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ได้สูงสุด 152.07 หน่วยต่อมล. มากลายพันธุ์ต่อด้วยสารเคมี NTG ตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ 2 หน้า 23 โดยใช้สปอร์อายุ 7 วัน หลังจากกลายพันธุ์ และบ่มเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน นับจำนวนโคโลนีที่เจริญ (สปอร์ที่รอด)และคำนวณเปอร์เซนต์รอดของสปอร์ ดังแสดงผลไว้ในตารางที่ 5 และรูปที่ 13

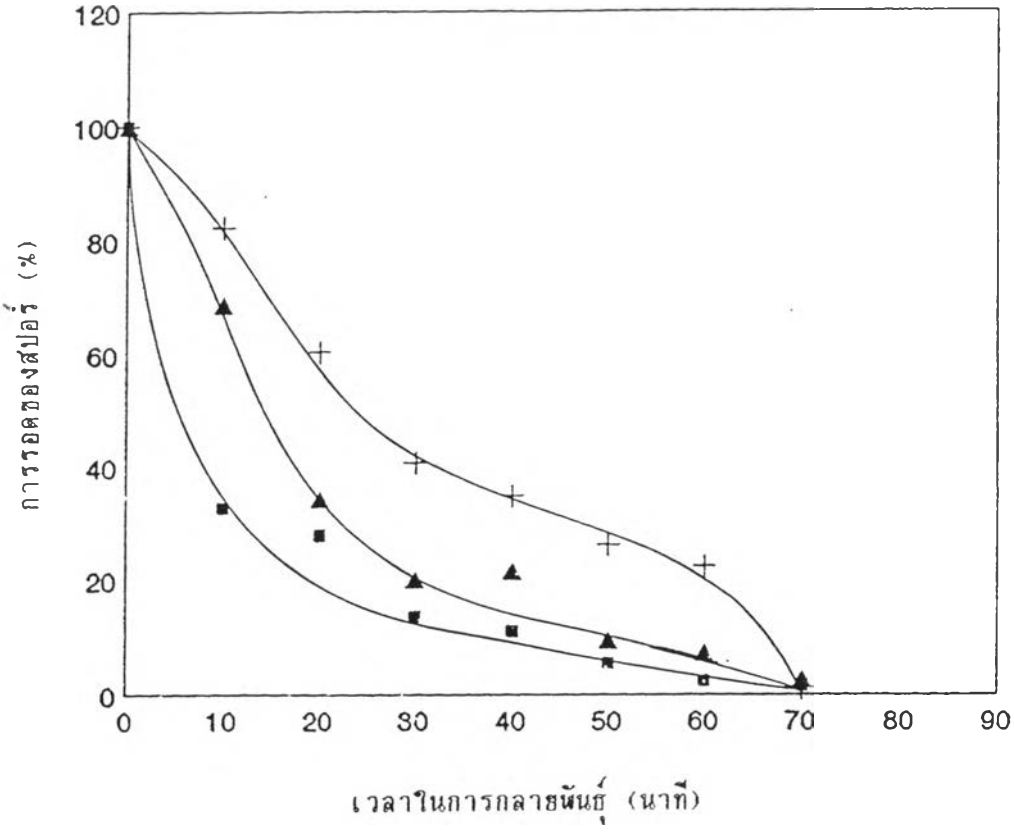
ตารางที่ 4 การทดสอบความเสถียรของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 ในการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และวันที่มีการผลิตเอนไซม์สูงสุด ในช่วงอายุเชื้อต่างๆ กัน

อายุของเชื้อ	ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส (หน่วยต่อมล.)	วันที่ผลิตเอนไซม์สูงสุด
G_1	152.07	7
41 สัปดาห์	65.14	6
42 สัปดาห์	67.56	7
43 สัปดาห์	68.67	6
45 สัปดาห์	69.56	6
48 สัปดาห์	65.01	8

หมายเหตุ เนื่องจากมีการเก็บเชื้อไว้โดยมิได้ถ่ายเชื้อทุกสัปดาห์ จึงรายงานผลเป็นอายุของเชื้อแทนการรายงานเป็นรุ่น

ตารางที่ 5 จำนวนโคโลนีที่เจริญ (สปอร์ที่รอด) และเปอร์เซนต์การรอด ของสปอร์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 หลังจากการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ความเข้มข้น 0.1-0.3 มก.ต่อมล. ที่เวลาต่างๆ

เวลา (นาที)	จำนวนโคโลนีที่เจริญเฉลี่ยต่อจานเมื่อกลายพันธุ์ด้วย NTG ปริมาณต่างๆ (มก.ต่อมล.)			เปอร์เซนต์การรอดของสปอร์เมื่อกลายพันธุ์ด้วย NTG ปริมาณต่างๆ (มก.ต่อมล.)		
	0.1	0.2	0.3	0.1	0.2	0.3
0	283.7	250.4	220.1	100.0	100.0	100.0
10	233.5	172.0	72.2	82.3	68.7	32.8
20	171.7	86.0	61.5	60.5	34.3	28.0
30	115.7	50.5	30.4	40.8	20.1	13.8
40	99.0	54.0	24.6	35.0	21.6	11.2
50	74.7	23.9	12.3	26.3	9.5	5.6
60	63.7	18.5	5.5	22.4	7.4	2.5
70	3.5	6.8	3.7	1.2	2.7	1.7



รูปที่ 13 เปอร์เซนต์การรอดของสปอร์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 ที่ผ่านการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ความเข้มข้น 0.1-0.3 มก.ต่อมล. บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ ที่เวลาต่างๆ

การคัดเลือกเชื้อที่กลายพันธุ์ด้วย NTG พบว่า สารเคมี NTG สามารถทำให้เกิดการกลายพันธุ์ได้ดีที่สุด ในสภาวะที่ให้เปอร์เซนต์รอดของเชื้อระหว่าง 0-50 % ในการทดลองนี้จึงเลือกเอาความเข้มข้นของ NTG เท่ากับ 0.3 มก.ต่อมล. บ่มที่อุณหภูมิ 37 °ซ เป็นเวลา 20-40 นาที ซึ่งเป็นสภาวะที่ให้เปอร์เซนต์รอดของสปอร์อยู่ในช่วงกึ่งกลาง คือ ประมาณ 10 - 30 %

<u>การคัดเลือกราที่กลายพันธุ์จาก *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 ด้วยสารเคมี NTG สำหรับราที่ผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสเพิ่มขึ้นในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ</u>

นำสปอร์ของราที่ผ่านการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG มาทำการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิโดยวิธีกล่องโลหะ (ภาคผนวก ค) ทำการบ่มเป็นเวลา 3 วัน แล้วทดสอบบริเวณใส ด้วยเอธานอล 95 % คัดเลือกราที่มีความกว้างของบริเวณใสมากกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม พบว่า จากรากลายพันธุ์ทั้งหมด 520 สายพันธุ์ สามารถคัดเลือกขั้นปฐมภูมิโดยวิธีกล่องโลหะได้ 116 สายพันธุ์ และเมื่อนำเชื้อราเหล่านี้ มาคัดเลือกซ้ำโดยใช้จานเพาะเลี้ยงเชื้อ พบว่า มี 60 สายพันธุ์ ที่ให้ความกว้างของบริเวณใสค่อนข้างคงที่และมากกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม

เมื่อนำราที่ผ่านการคัดเลือกในขั้นปฐมภูมิ มาเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ซึ่งใช้เป็นวิธีคัดเลือกขั้นทุติยภูมิ พบว่า มี 30 สายพันธุ์ ที่ผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้มากกว่าสายพันธุ์ดั้งเดิม ดังแสดงในตารางที่ 6

รากลายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วทั้ง 30 สายพันธุ์ มีความกว้างของบริเวณใส ปริมาณของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่ผลิตได้ ตลอดจนวันที่มีการผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด ได้แสดงไว้ในตารางที่ 7 โดยพบว่า จากรากลายพันธุ์ทั้งหมด *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 2-80 สามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้สูงที่สุด คือ 112.65 หน่วยต่อมล. ส่วนสายพันธุ์ที่ผลิตเอนไซม์ได้รองลงมา คือ รากลายพันธุ์สายพันธุ์ SMCU 2-17 , SMCU 2-515 , SMCU 2-86 และ SMCU 1-253 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับราดั้งเดิม ดังแสดงในรูปที่ 14

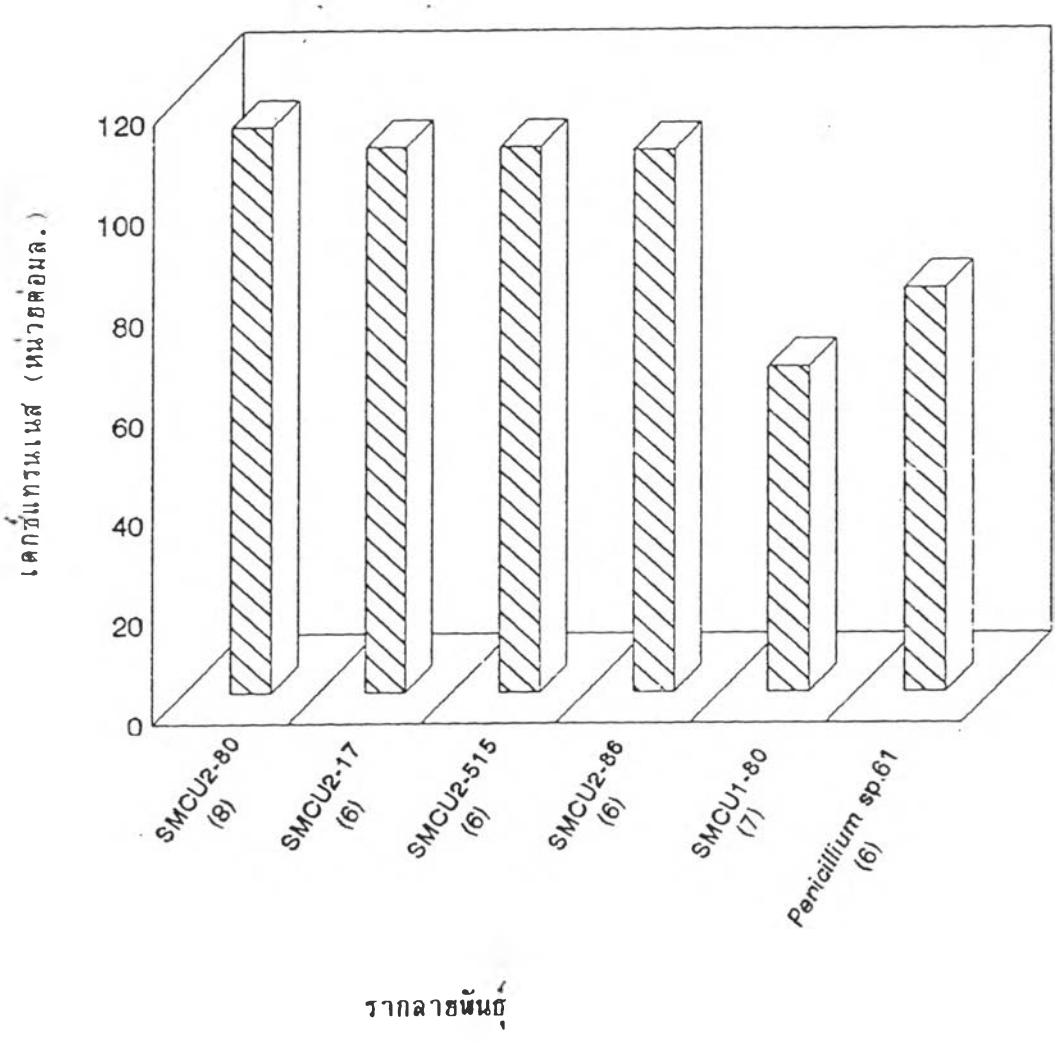
ตารางที่ 6 การคัดเลือกชั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิของราที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 ด้วยสารเคมี NTG

เวลาในการกลายพันธุ์ (นาที)	จำนวนโคโลนีที่ได้จากการกลายพันธุ์	ผ่านการคัดเลือกชั้นปฐมภูมิ		ผ่านการคัดเลือกชั้นทุติยภูมิ
		ในกล่องโลหะ	ในจานเพาะเลี้ยง	
20	200	45	20	12
30	234	47	27	11
40	66	24	13	7
รวม	520	116	60	30

หมายเหตุ จำนวนโคโลนีที่ได้จากการกลายพันธุ์ ได้จากการทดลองหลายครั้งก่อนนำมาทำการคัดเลือก

ตารางที่ 7 ความกว้างของบริเวณใส ปริมาณการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และวันที่มีการผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด ของราก่ลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ที่ผ่านการคัดเลือกในขั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ และราสายพันธุ์ตั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

ราก่ลายพันธุ์	ความกว้างของบริเวณใส (เซนติเมตร)	ปริมาณการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส (หน่วยต่อมล.)	วันที่มีการผลิตสูงสุด
SMCU 2-80	1.50	112.65	8
SMCU 2-17	1.40	108.64	6
SMCU 2-515	1.70	108.64	6
SMCU 2-86	1.80	107.82	6
SMCU 2-253	1.50	105.14	6
SMCU 2-46	1.90	98.76	6
SMCU 2-386	1.60	98.35	6
SMCU 2-6	1.60	98.15	6
SMCU 2-242	1.60	98.15	6
SMCU 2-126	1.70	97.03	8
SMCU 1-80	1.10	65.14	7
Penicillium sp. สายพันธุ์ 61	1.60	80.45	6



รูปที่ 14 ปริมาณการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ของรากลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ที่ผ่านการคัดเลือกแล้ว กับ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 และ *Penicillium* sp.สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน

หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บหมายถึงวันที่มีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสสูงสุด

นำราที่ผ่านการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ที่คัดเลือกได้ ไปกลายพันธุ์ซ้ำด้วยสารเคมี NTG อีกครั้งหนึ่ง โดยใช้สภาวะการกลายพันธุ์ เช่นเดียวกับการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ในครั้งแรก เพื่อกระตุ้นความสามารถในการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสให้เพิ่มมากขึ้น

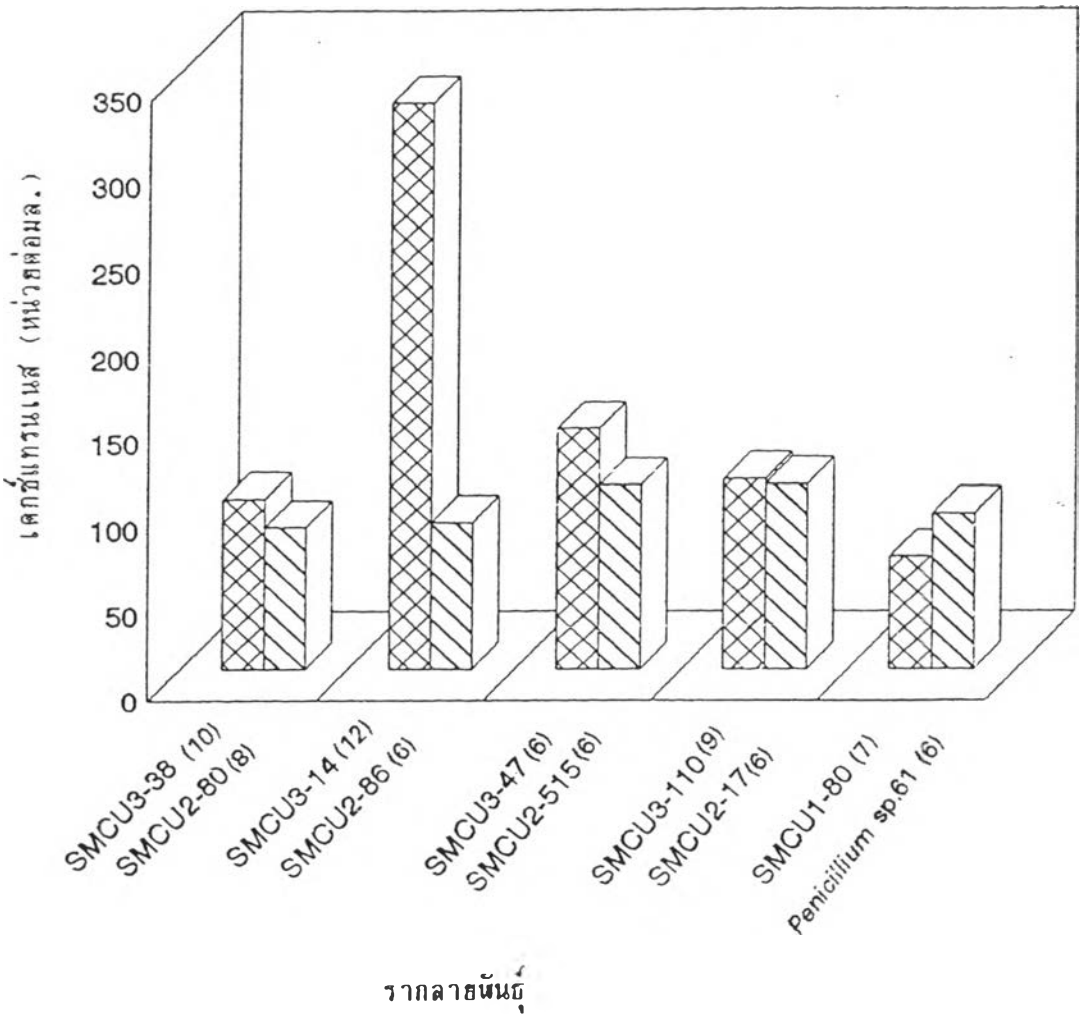
<u>การคัดเลือกราที่ได้จากการกลายพันธุ์สปอร์ของเชื้อรา *Penicillium* sp. ด้วยสารเคมี NTG รอบที่สอง</u>

นำราที่ผ่านการกลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG และสามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้มากที่สุด 4 สายพันธุ์ คือ รากลายพันธุ์ SMCU 2-80 , SMCU 2-86 , SMCU 2-515 และ SMCU 2-17 มากลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG รอบที่สอง โดยใช้สภาวะในการกลายพันธุ์เช่นเดียวกับการกลายพันธุ์ครั้งแรก นำสปอร์ของเชื้อราที่ผ่านการกลายพันธุ์ มาทำการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิตามวิธีการทดลองในบทที่ 2 ข้อ 1 หน้า 24 บ่มเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นจึงนำไปทดสอบการเกิดบริเวณใส ทั้งโดยวิธีกล่องโลหะและในจานเพาะเลี้ยงเชื้อ ผลการคัดเลือกพบว่า จากการกลายพันธุ์ราตั้งต้น 4 สายพันธุ์ ได้เชื้อรากลายพันธุ์รวมทั้งสิ้น 451 สายพันธุ์ และผ่านการคัดเลือกขั้นปฐมภูมิ 145 สายพันธุ์

เมื่อนำราที่ผ่านการคัดเลือกในขั้นปฐมภูมิ มาเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อคัดเลือกราในขั้นทุติยภูมิ พบว่า รากลายพันธุ์ 38 สายพันธุ์ มีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้มากกว่าสายพันธุ์ตั้งต้น ความสามารถในการสร้างเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่ผลิตได้สูงสุด รวมทั้งวันที่มีการผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดของแต่ละสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้ แสดงในตารางที่ 8 และรูปที่ 15 โดยพบว่า รากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ซึ่งกลายพันธุ์มาจากเชื้อรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 2-86 ด้วยสารเคมี NTG ซ้ำ สามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้สูงที่สุด คือ 330.17 หน่วยต่อมล. คิดเป็น 3.81 เท่า ของรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ดังนั้น จึงคัดเลือกรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เพื่อมาศึกษาในขั้นต่อไป

ตารางที่ 8 การคัดเลือกชั้นปฐมภูมิและทุติยภูมิ และคัดเลือกราที่ดีที่สุดของแต่ละสายพันธุ์ดั้งเดิม ปริมาณการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และวันที่มีการผลิตเอนไซม์สูงสุด ของราที่ได้จากการกลายพันธุ์ *Penicillium* sp. ด้วยสารเคมี NTG รอบที่สอง เทียบกับราสายพันธุ์ดั้งเดิม

รากลายพันธุ์ดั้งเดิม	จำนวนโคโลนีที่ได้จากการกลายพันธุ์ด้วย NTG ซ้ำ	จำนวนเชื้อที่ผ่านการคัดเลือก		เชื้อรากลายพันธุ์ที่คัดเลือก	ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส (หน่วยต่อมล.)	วันที่ผลิตเอนไซม์สูงสุด
		ชั้นปฐมภูมิ	ชั้นทุติยภูมิ			
SMCU 2-80	120	23	11	SMCU 3-38	99.22	10
SMCU 2-17	125	42	9	SMCU 3-110	110.77	9
SMCU 2-515	80	53	11	SMCU 3-47	140.28	6
SMCU 2-86	126	27	7	SMCU 3-14	330.17	12
				SMCU 1-80	65.14	7
รวม	451	145	38	*Penicillium* sp.สายพันธุ์61	80.45	6



รูปที่ 15 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ของรากลายพันธุ์ด้วยสารเคมี NTG ซ้ำ ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วกับราสายพันธุ์ตั้งต้นแต่ละสายพันธุ์ รวมทั้ง *Penicillium* sp.สายพันธุ์ SMCU 1-80 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน

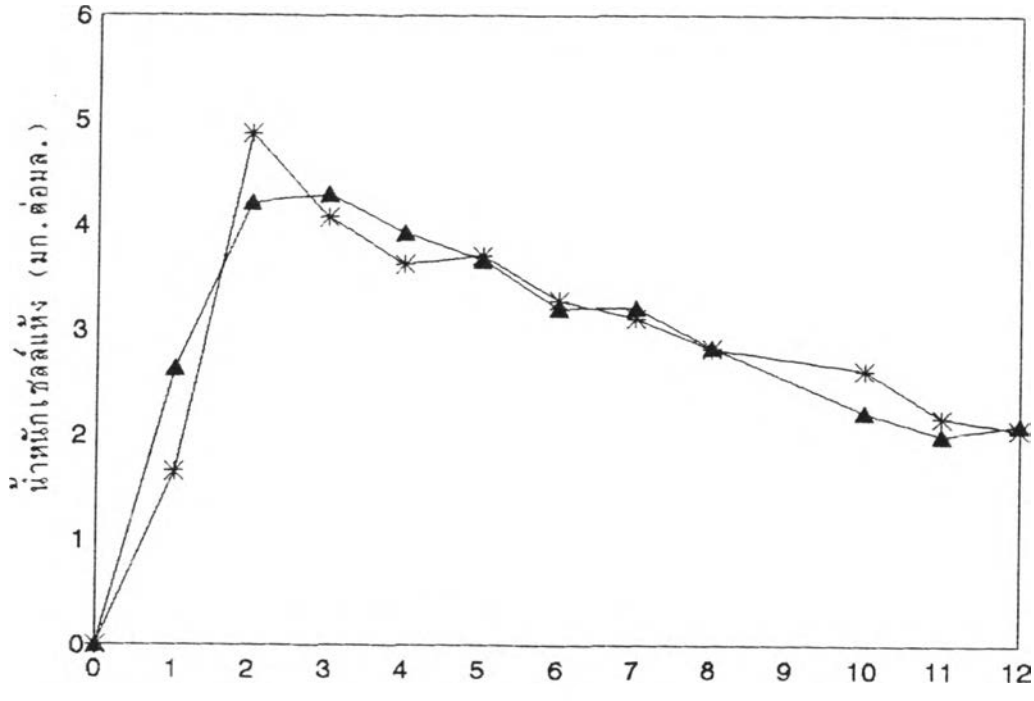
หมายเหตุ ตัวเลขในวงเล็บหมายถึงวันที่มีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสสูงสุด

การเจริญ การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะ ของรากลายพันธุ์ SMCU 3-14 และสายพันธุ์ดั้งต้น

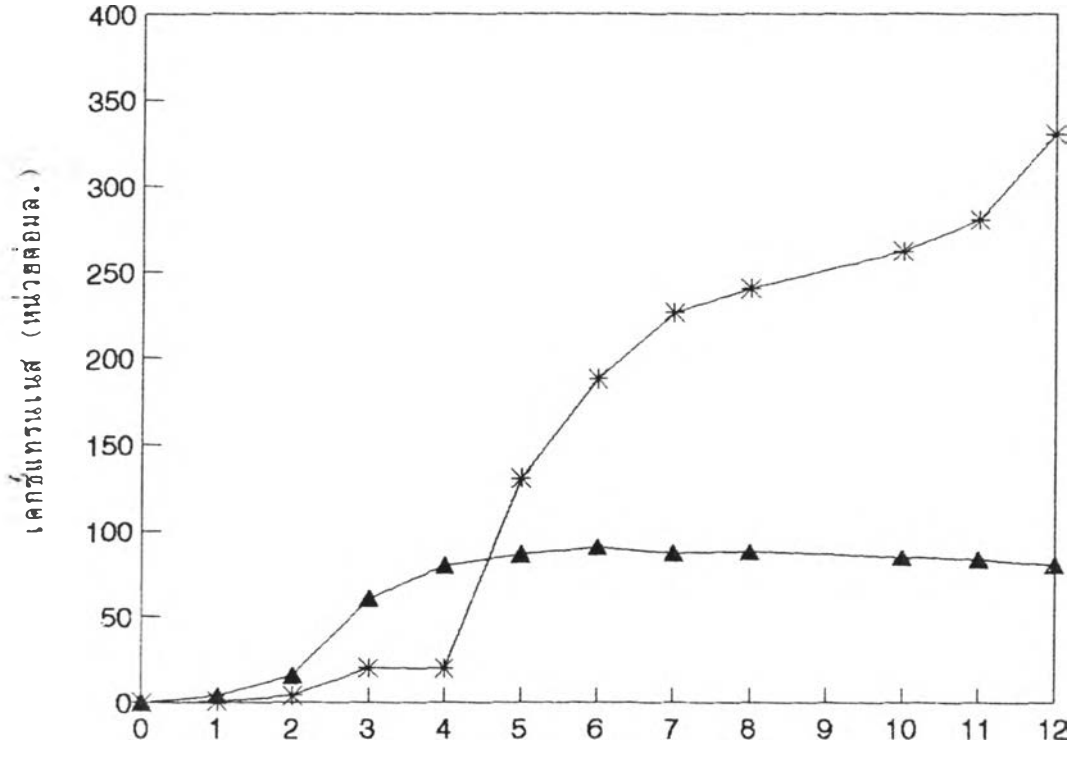
ศึกษาการเจริญ การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เทียบกับสายพันธุ์ดั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 โดยเลี้ยงราทั้ง 2 สายพันธุ์ ในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน พบว่า การเจริญของรากลายพันธุ์ มีอัตราสูงกว่าสายพันธุ์ดั้งต้นเล็กน้อย (รูปที่ 16) ส่วนการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ในช่วง 4 วันแรกของการเลี้ยงเชื้อรากลายพันธุ์จะมีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ต่ำกว่าสายพันธุ์ดั้งต้น แต่หลังจากวันที่ 5 รากลายพันธุ์จะมีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสเพิ่มมากขึ้นอย่างเห็นได้ชัด และผลิตได้สูงสุดในวันที่ 12 ของการเลี้ยงเชื้อ เท่ากับ 330.17 หน่วยต่อมล. คิดเป็น 3.81 เท่าของสายพันธุ์ดั้งต้น (รูปที่ 17) ส่วนค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ ก็จะให้ลักษณะการเปลี่ยนแปลงคล้ายคลึงกัน (รูปที่ 18)

ความเสถียรของต่อการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp, สายพันธุ์ SMCU 3-14

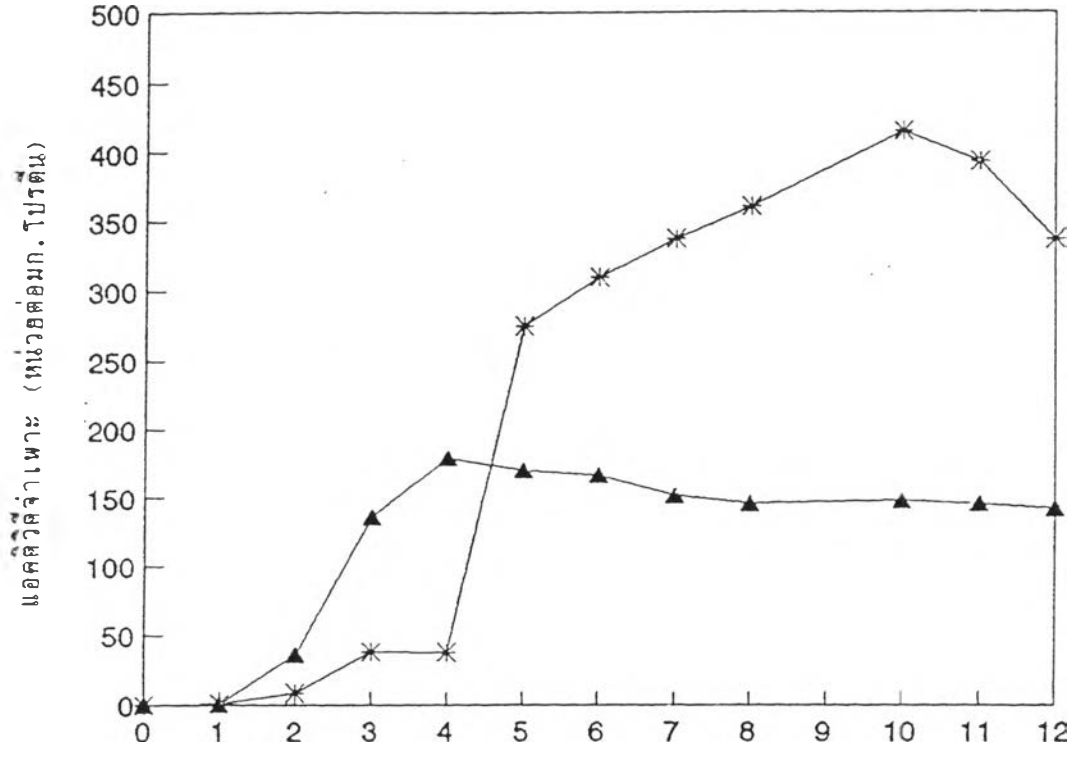
นำรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 มาทดสอบความเสถียร ทำการทดลองตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ 1 หน้า 26 โดยนำสปอร์ของราที่มีการปลูกถ่ายเชื้อในแต่ละครั้ง มาเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน วัดปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์ ทำการปลูกถ่ายเชื้อเป็นจำนวน 20 ครั้ง พบว่า ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่วัดได้ มีการเปลี่ยนแปลงบ้างอยู่ในช่วงระหว่าง 200-350 หน่วยต่อมล. ส่วนค่าแอคติวิตีจำเพาะ มีการแปรผันตามค่าของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ดังรูปที่ 19 แต่อย่างไรก็ตาม ภายหลังการทดสอบความเสถียร พบว่า รากลายพันธุ์ *Penicillium* sp.สายพันธุ์ SMCU 3-14 ก็ยังคงให้ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสค่อนข้างคงที่ แสดงถึงการไม่เกิดการย้อนกลับเป็นสายพันธุ์เดิม



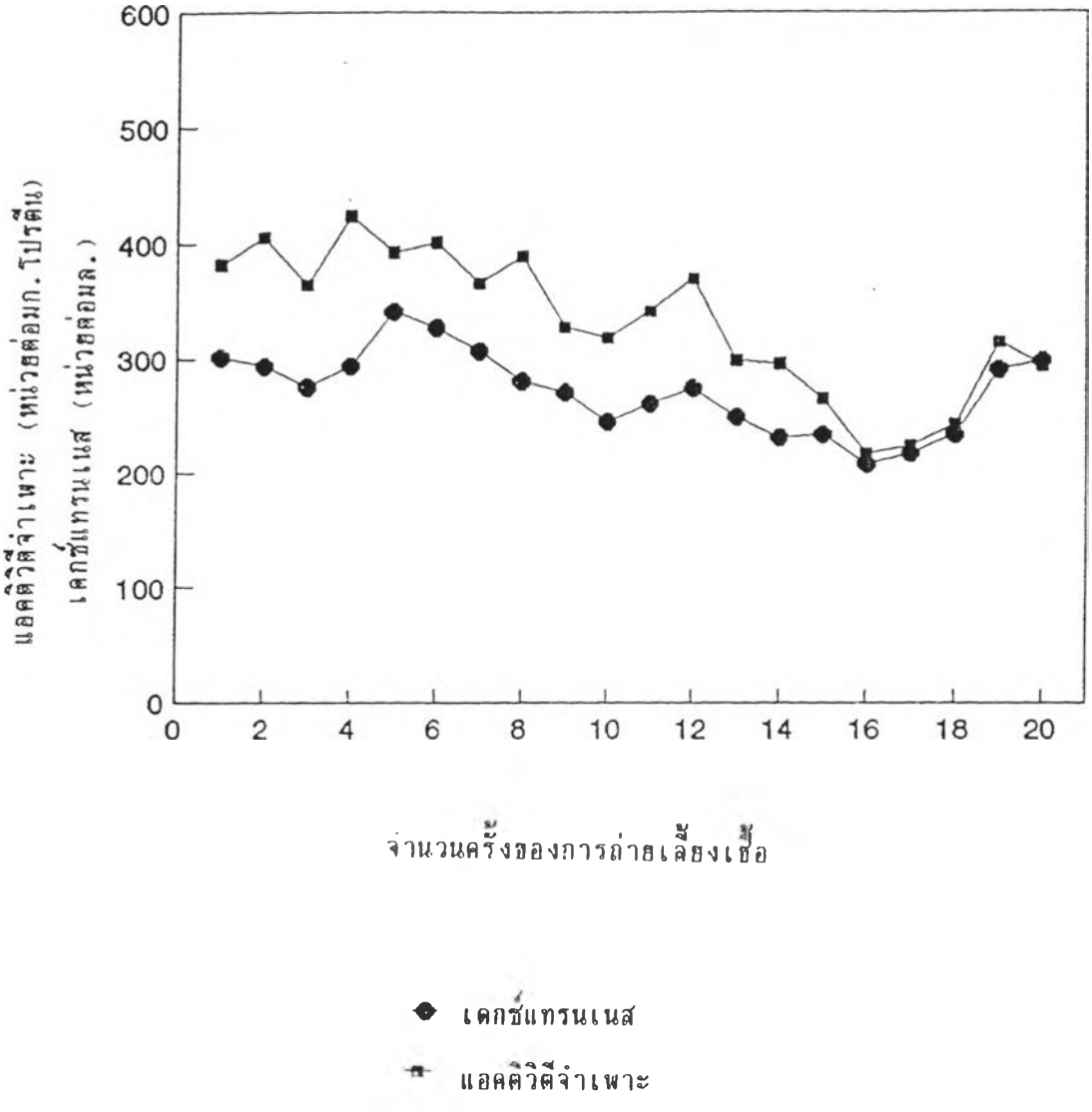
รูปที่ 16 การเจริญของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน



รูปที่ 17 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว ปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน



รูปที่ 18 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน



รูปที่ 19 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะ ในการทดสอบความเสถียรของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน

ลักษณะทางสัณฐานวิทยา (morphology) ของรากลายพันธุ์และสายพันธุ์ดั้งต้น

1. การเปรียบเทียบลักษณะของโคโลนี สีของสปอร์ และความกว้างของบริเวณใส ระหว่างรากลายพันธุ์และสายพันธุ์ดั้งต้น

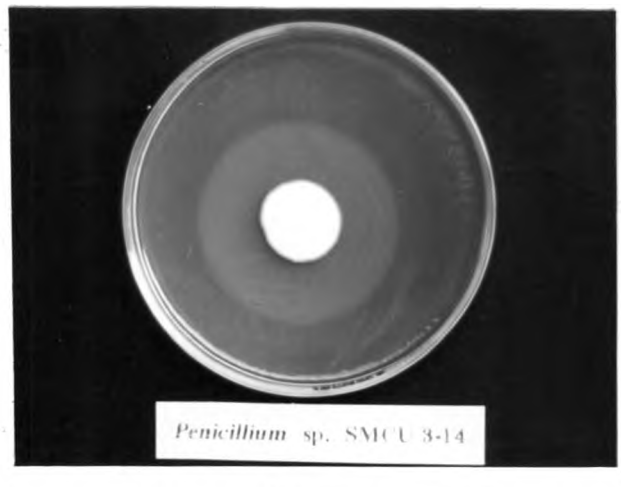
นำราสายพันธุ์ดั้งต้น *Penicillium* sp.สายพันธุ์ 61 และรากลายพันธุ์ที่คัดเลือกแล้ว คือ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 มาจุดลงบนอาหารแข็งที่มีเดกซ์แทรน 1 % ซึ่งปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ บ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วันเปรียบเทียบลักษณะโคโลนีของราทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า รา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 จะมีโคโลนีขนาดใหญ่ กลม เส้นใยฟู มีสีเหลือง เมื่อแก่จะสร้างสปอร์สีเขียวเข้ม ส่วนรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 มีโคโลนีขนาดเล็กกว่า เส้นใยฟูสีขาว สร้างสปอร์สีขาว ในขณะที่รา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 มีลักษณะของเส้นใยเหมือนกับสายพันธุ์ SMCU 1-80 ดังแสดงในรูปที่ 20 เมื่อนำมาตรวจสอบการเกิดบริเวณใสด้วย เอธานอล 95 % พบว่ารากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ให้บริเวณใสมากกว่าราอีกสองสายพันธุ์ ดังแสดงในรูปที่ 21

2. การตรวจสอบลักษณะของสปอร์ภายใต้กล้องจุลทรรศน์

นำราทั้ง 3 สายพันธุ์ มาเลี้ยงบนแผ่นสไลด์ ตามวิธีการ ในบทที่ 2 ข้อ 2.2 หน้า 27 เมื่อบ่มจนเชื้อราเจริญเต็มที่ อายุประมาณ 4 วัน นำมาย้อมด้วยสีย้อม Lacto-phenol cotton blue 1-2 หยด ปิดทับด้วยกระจกปิดสไลด์ ส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า จะพบว่า ลักษณะของก้านชูสปอร์ ในราทั้ง 3 ชนิดมีลักษณะเหมือนกัน แต่สปอร์ของเชื้อรากลายพันธุ์ทั้ง 2 ชนิด จะมีขนาดเล็กกว่าสายพันธุ์ดั้งต้นเล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 22

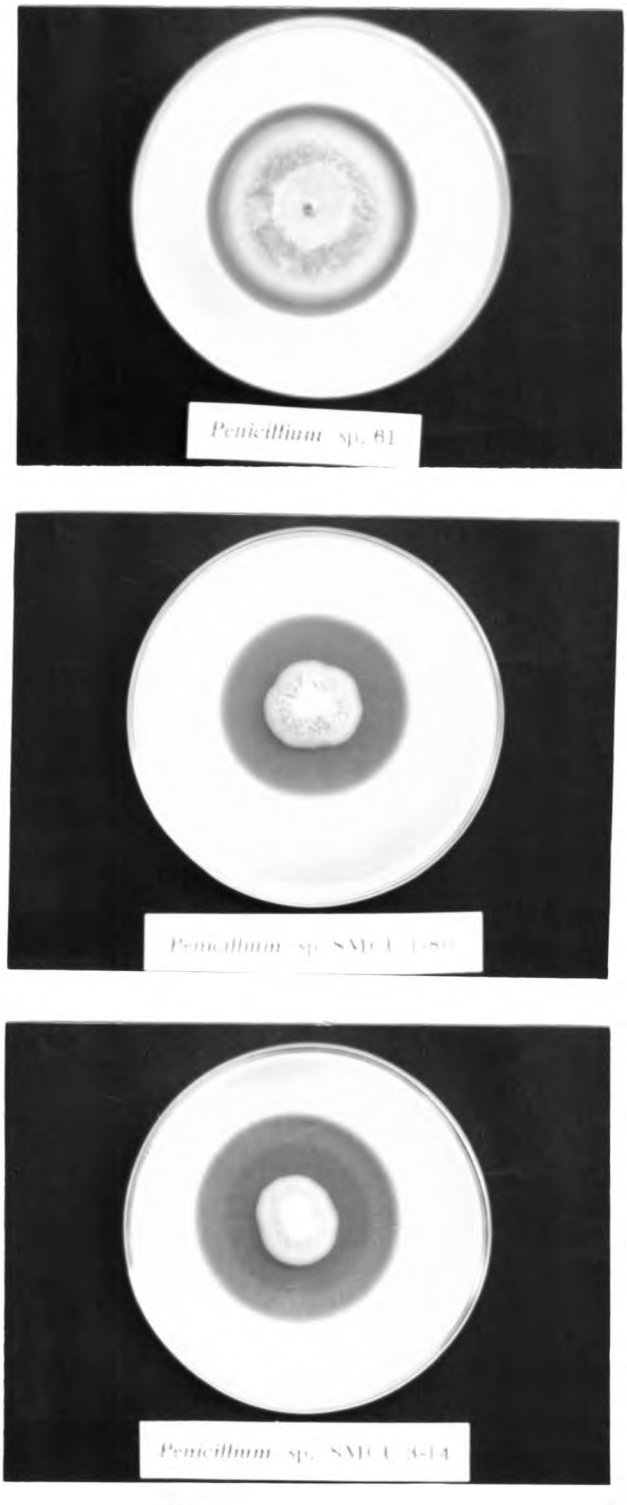
ก

ข



ค

รูปที่ 20 ลักษณะโคโลนีและสีของสปอร์ของราตั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 (ก), รากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 (ข) และ *Penicillium* sp.สายพันธุ์ SMCU 3-14 (ค) เมื่อเลี้ยงบนอาหารแข็งปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน

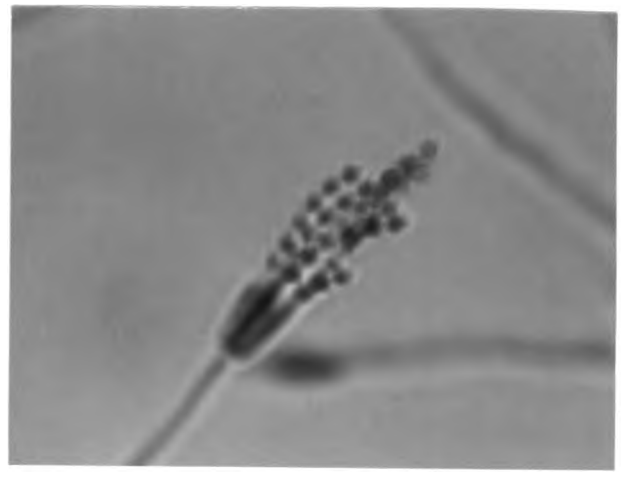


ก

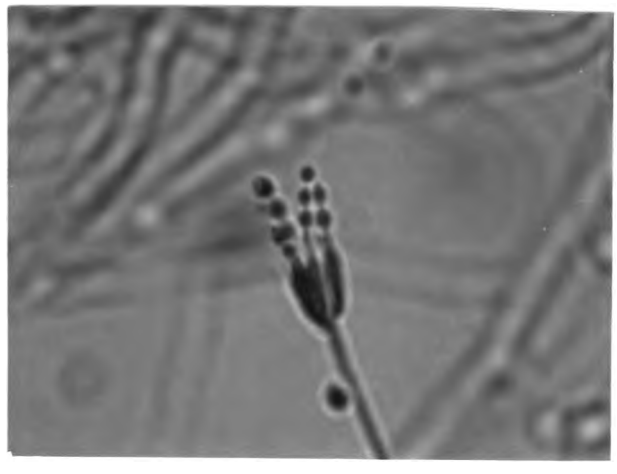
ข

ค

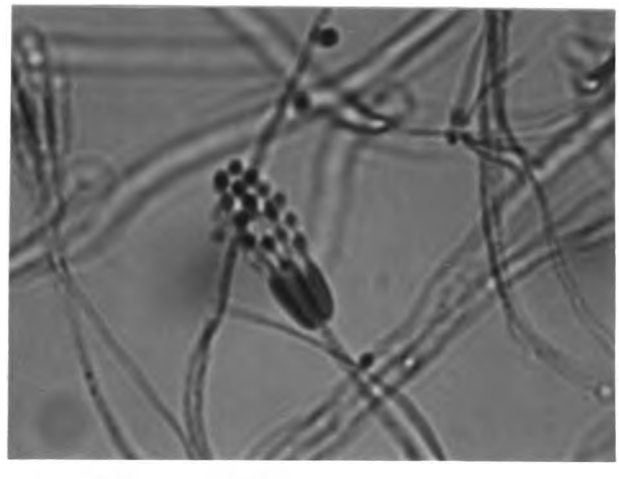
รูปที่ 21 การเกิดบริเวณใส ของราดั้งต้น *Penicillium* sp.สายพันธุ์ 61 (ก), รากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 (ข) และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 (ค) เมื่อเทราดด้วยเอธานอล 95%



ก



ข



ค

รูปที่ 22 ลักษณะของก้านชูสปอร์ของสายพันธุ์ตั้งต้น *Penicillium* sp.สายพันธุ์ 61 (ก), รากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 1-80 (ข) และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 (ค) เมื่อเลี้ยงบนแผ่นสไลด์บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 วัน

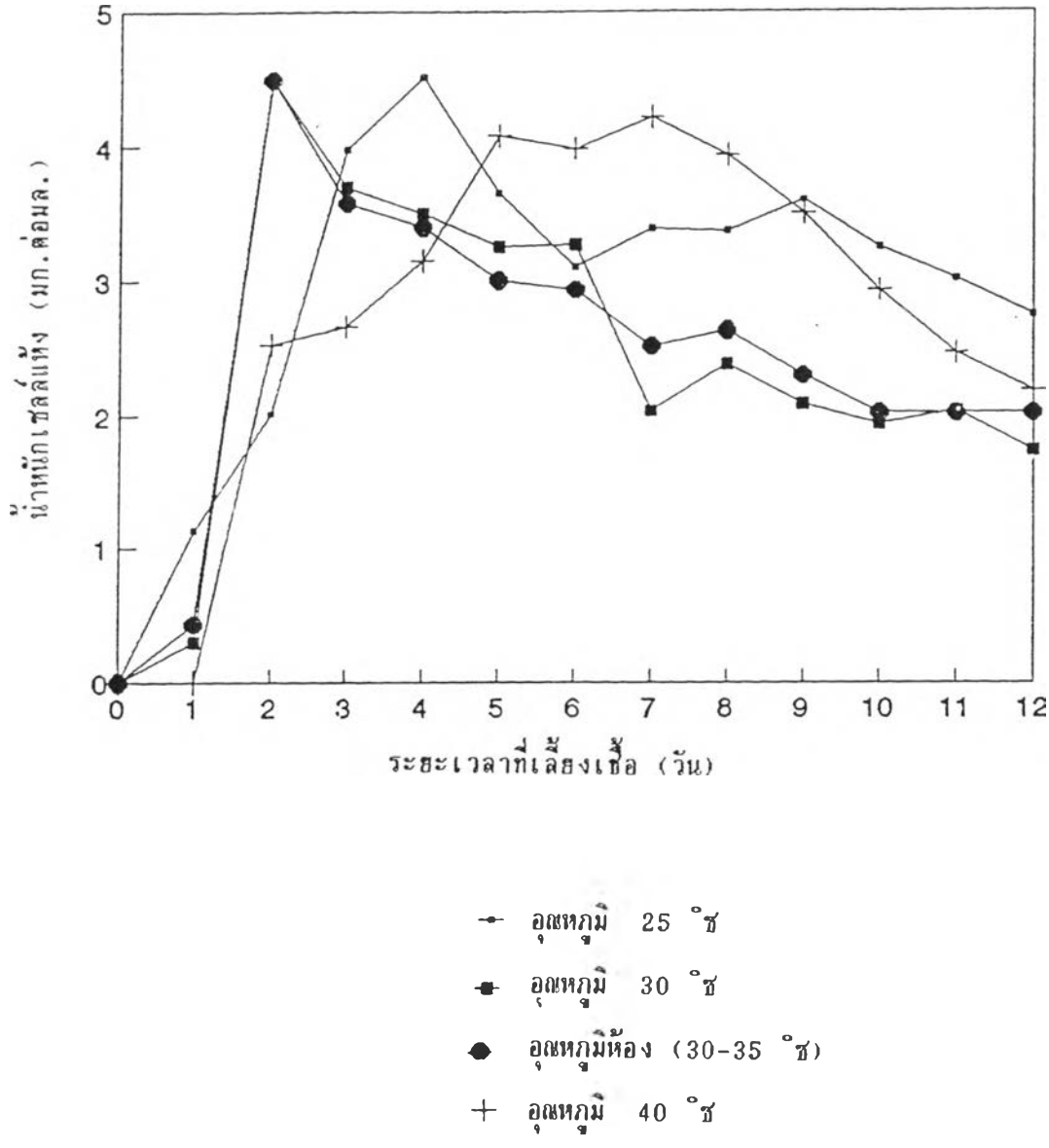
ปัจจัยทางกายภาพต่อการเลี้ยงรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp.สายพันธุ์ SMCU 3-14

1. อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงรากลายพันธุ์ เพื่อผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส

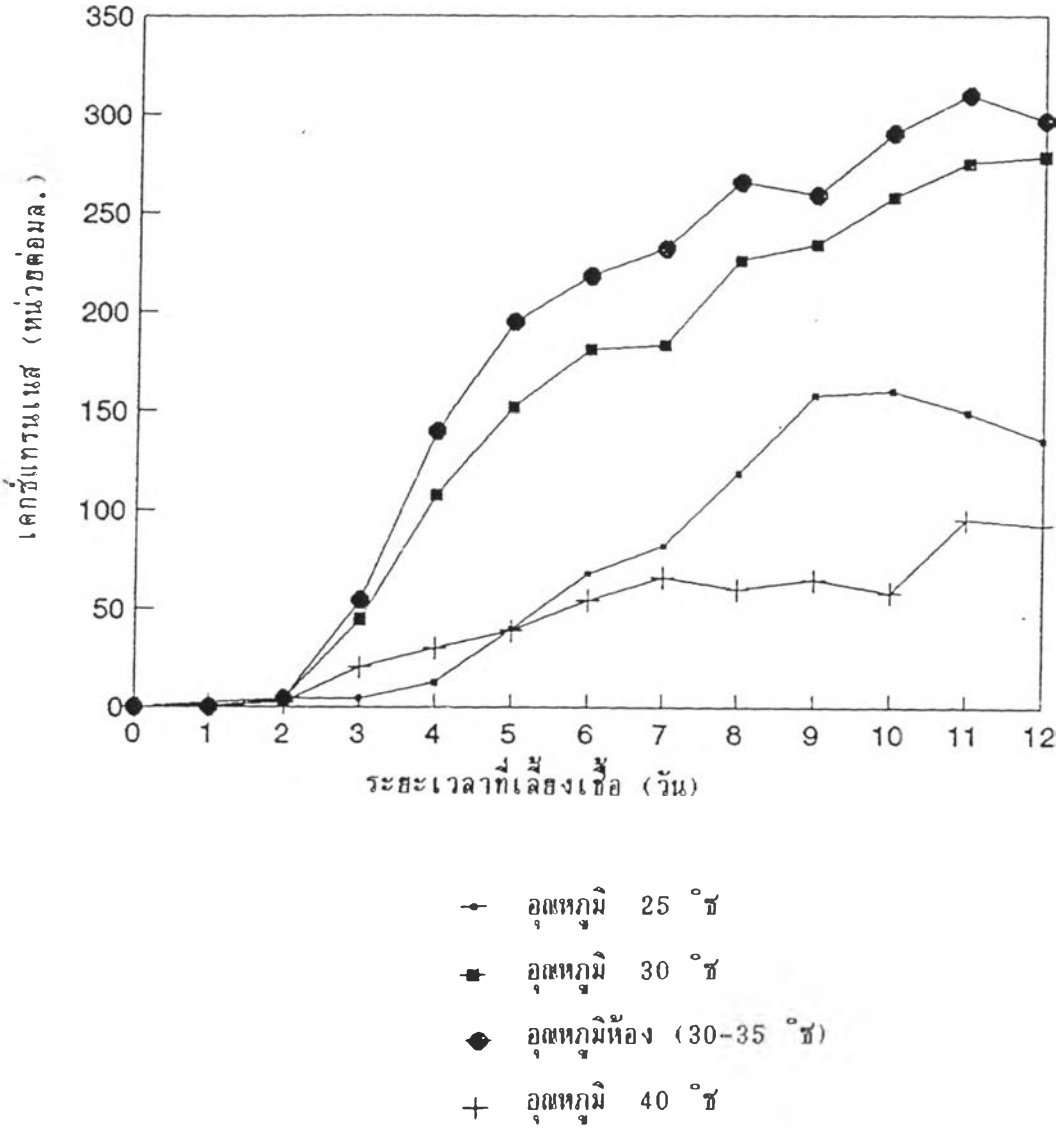
นำรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงเป็น 25 °ซ 30 °ซ อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) และ 40 °ซ พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 °ซ และอุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) รามีอัตราการเจริญสูงสุดในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อ และลดลงในวันต่อมา ส่วนที่อุณหภูมิ 25 °ซ และ 40 °ซ มีอัตราการเจริญต่ำกว่าดังแสดงในรูปที่ 23 ส่วนความสามารถในการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสนั้น ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) พบว่ามีการผลิตเอนไซม์ได้สูงกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ โดยผลิตได้สูงสุดประมาณ 329.722 หน่วยต่อมล. ในวันที่ 11 ของการเลี้ยงเชื้อ ส่วนค่าแอคติวิตีจำเพาะของการเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิห้อง มีค่าสูงกว่าอุณหภูมิอื่นเช่นเดียวกัน แสดงในรูปที่ 24 และ 25 ตามลำดับ ดังนั้นในการทดลองขั้นตอนต่อไป จึงเลือกอุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในการเลี้ยงรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14

2. ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่เหมาะสมต่อการเลี้ยงรากลายพันธุ์เพื่อผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส

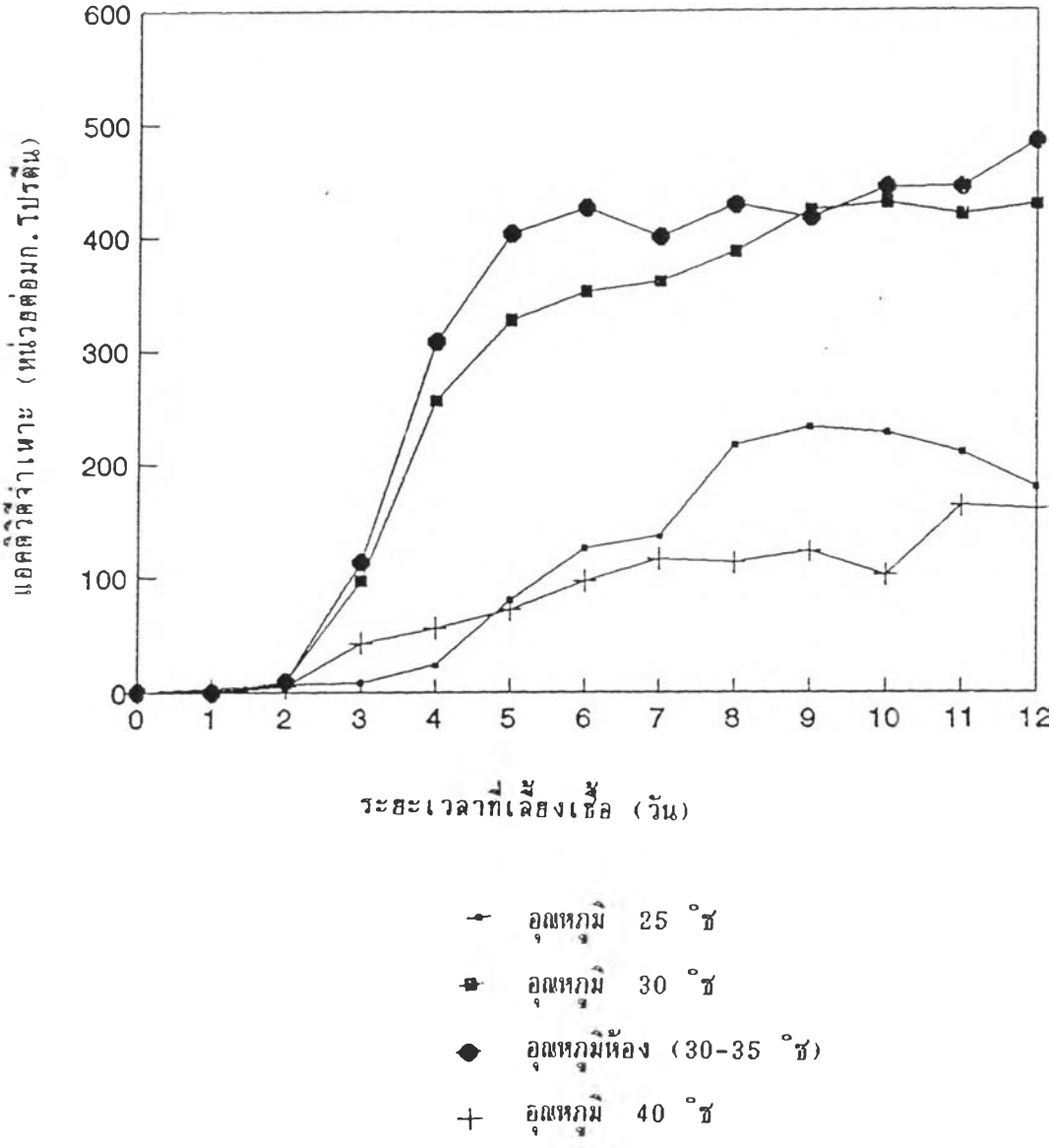
เลี้ยงรากลายพันธุ์ในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 3.0 - 8.0 พบว่าในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นกรด คือในช่วง 3.0 - 6.0 รากลายพันธุ์จะมีอัตราการเจริญดีกว่า ในสภาวะที่อาหารเลี้ยงเชื้อเป็นกลางและด่าง โดยเชื้อราที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดด่าง 3.0 - 6.0 จะมีการเจริญสูงสุดในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อ ขณะที่ราที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเป็นกรดด่าง 7.0 - 8.0 มีอัตราการเจริญสูงสุดในวันที่ 3 ของการเลี้ยงเชื้อ (รูปที่ 26) สำหรับการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดด่าง 4.0 ราจะมีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้ดีที่สุด คือ ผลิตได้สูงสุด 390.54 หน่วยต่อมล.ในวันที่ 11 ของการเลี้ยงเชื้อ



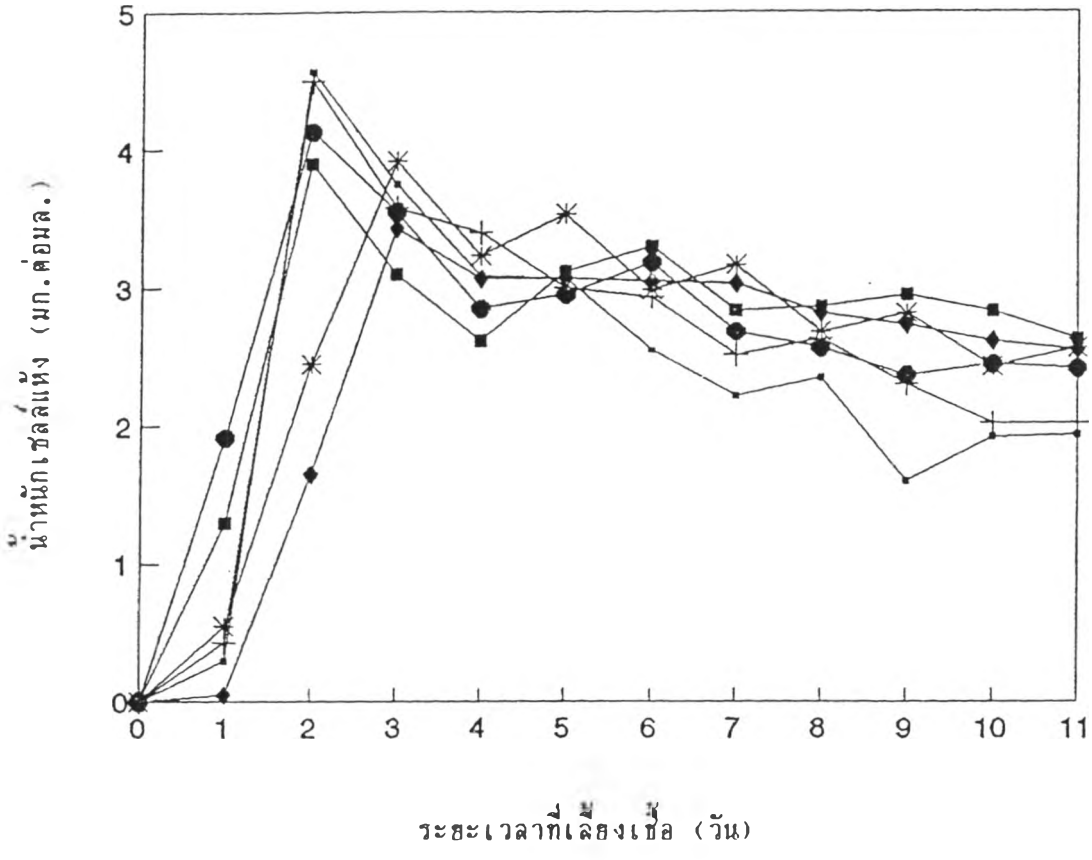
รูปที่ 23 การเจริญของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันอุณหภูมิเป็น 25 °ซ 30 °ซ อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) และ 40 °ซ



รูปที่ 24 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันอุณหภูมิเป็น 25 °ซ 30 °ซ อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) และ 40 °ซ



รูปที่ 25 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันอุณหภูมิเป็น 25 °ซ 30 °ซ อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) และ 40 °ซ



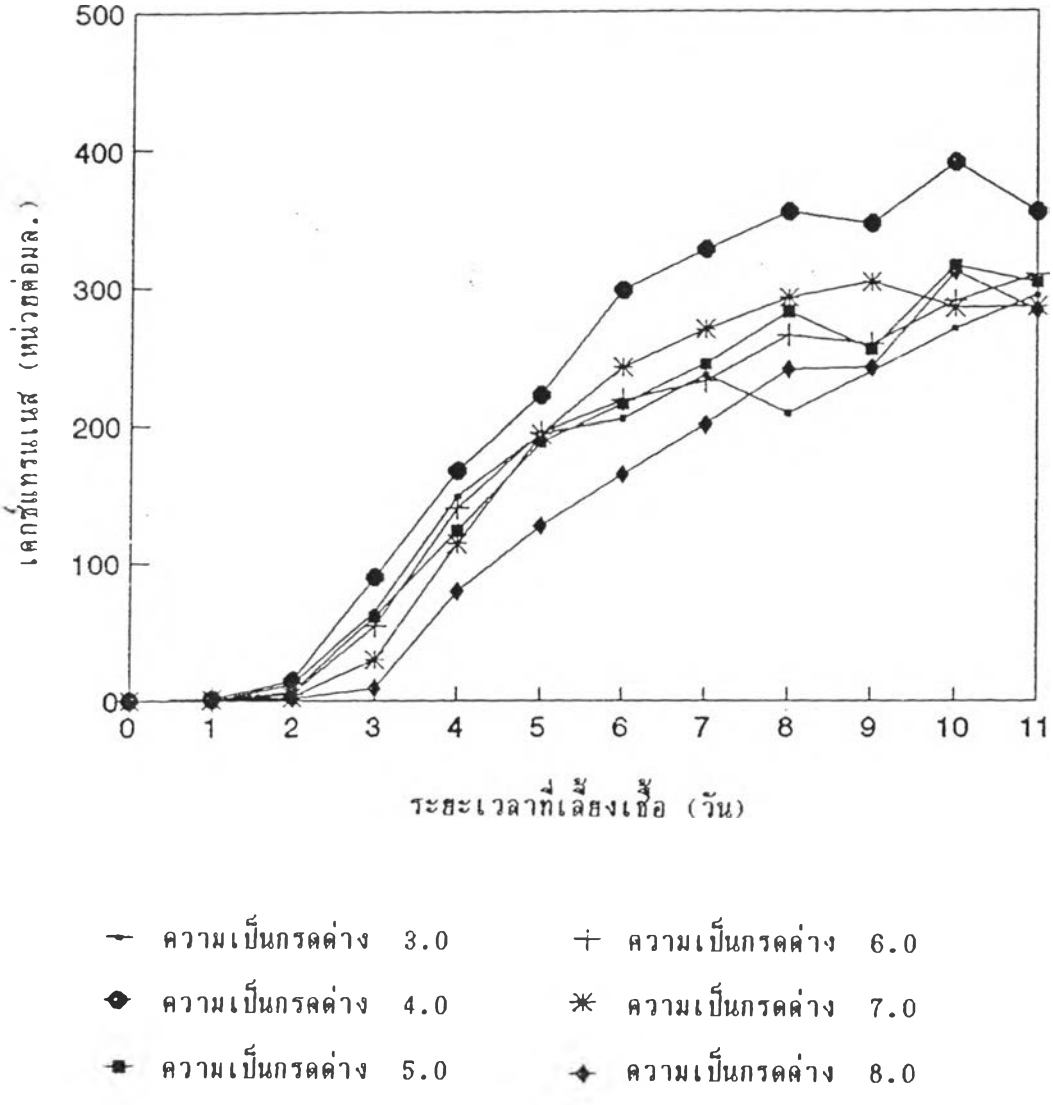
รูปที่ 26 การเจริญของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันความเป็นกรดด่าง 3.0 - 8.0

ส่วนที่ความเป็นกรดด่างอื่นๆ จะมีการผลิตเอนไซม์ได้น้อยกว่า (รูปที่ 27) และพบว่าค่าแอคติวิตีจำเพาะในอาหารเลี้ยงเชื้อทุกค่าของความเป็นกรดด่าง มีค่าใกล้เคียงกัน (รูปที่ 28) จากผลการทดลองในขั้นตอนนี้ จึงเลือกอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเป็นกรดด่าง 4.0 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14

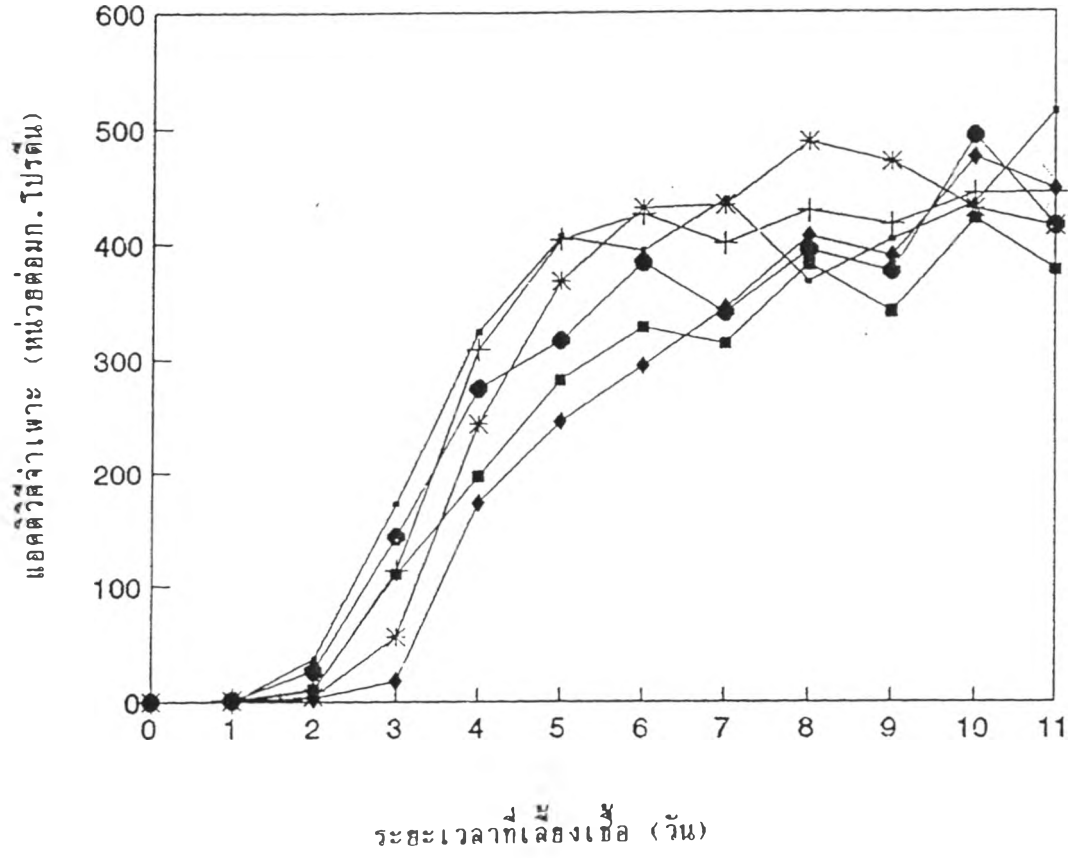
3. ปริมาณเดกซ์แทรนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส เปรียบเทียบระหว่างรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

จากการทดลองเลี้ยงรากลายพันธุ์และสายพันธุ์ดั้งเดิม ในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยลดปริมาณเดกซ์แทรนในอาหารเลี้ยงเชื้อและเพิ่มน้ำตาลกลูโคสทดแทน ตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ 3 หน้า 28 พบว่า *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 มีการเจริญสูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1% กลูโคสเพียงอย่างเดียว ส่วนในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรนปริมาณต่างๆ มีการเจริญใกล้เคียงกัน ดังแสดงในรูปที่ 29 ส่วนในรา *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 มีการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรนปริมาณต่างๆใกล้เคียงกัน ยกเว้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรน 0.75% และกลูโคส 0.25% ที่มีการเจริญช้า (รูปที่ 30)

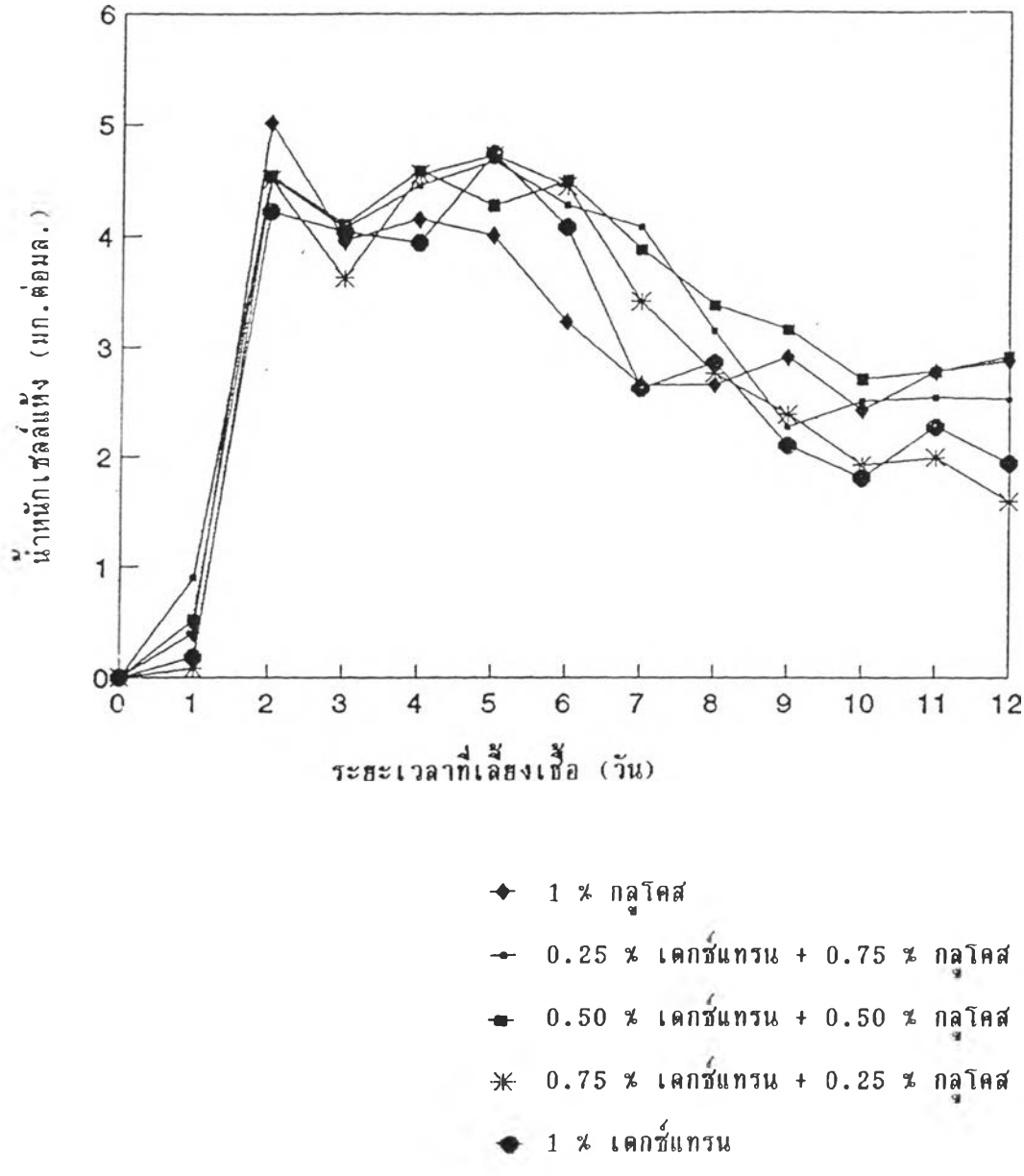
การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส โดยสายพันธุ์ดั้งเดิม พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1 % เดกซ์แทรน จะมีการผลิตเอนไซม์สูงที่สุด ส่วนอาหารที่มีเดกซ์แทรนปริมาณต่ำลง ก็จะมีการผลิตเอนไซม์ต่ำลงตามลำดับ และในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1 % กลูโคส และไม่มีเดกซ์แทรนเลย จะไม่มีการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ดังแสดงในรูปที่ 31 ในขณะที่เชื้อรากลายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้สูงสุดในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1% เดกซ์แทรน ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรน 0.25 - 0.75% สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณใกล้เคียงกัน และในอาหารที่มีแต่ 1 % กลูโคส ไม่มีเดกซ์แทรนเป็นสารชักนำการสร้างเอนไซม์ เชื้อรากลายพันธุ์ผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้ในปริมาณต่ำ ประมาณ 12 หน่วยต่อมล. ในวันที่ 12 ของการเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในรูปที่ 32



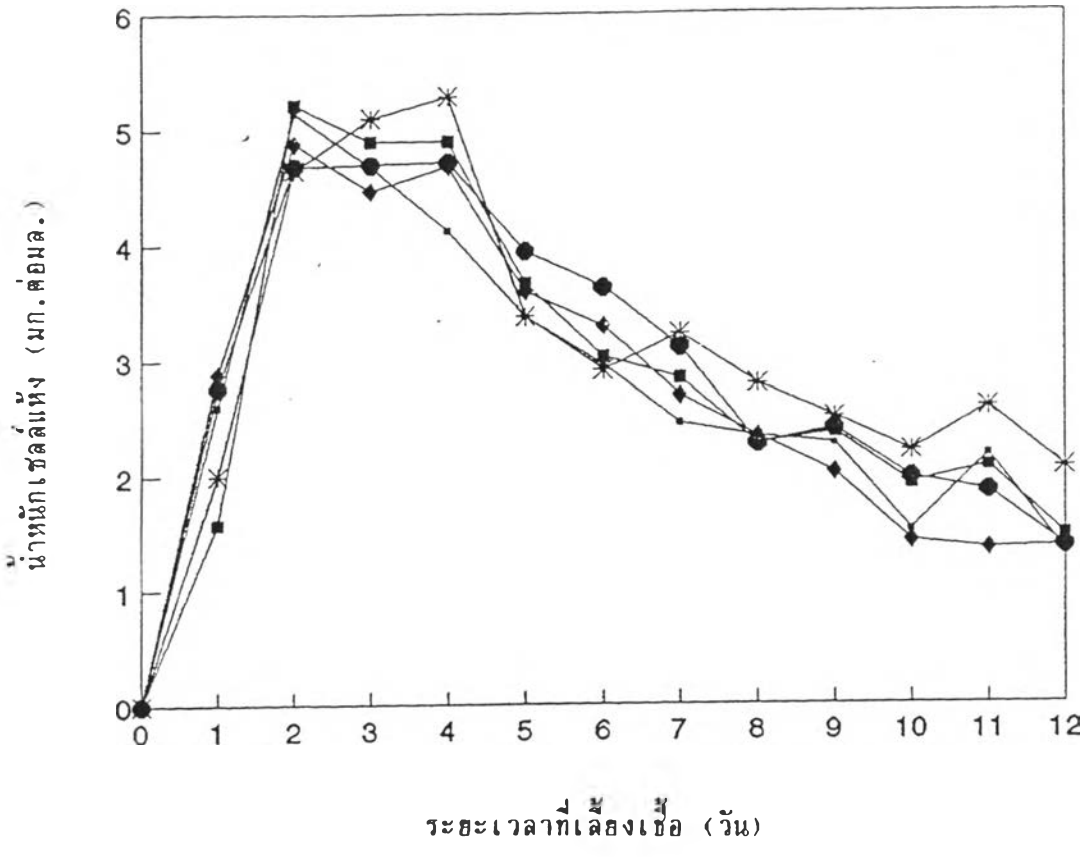
รูปที่ 27 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันความเป็นกรดด่าง 3.0 - 8.0



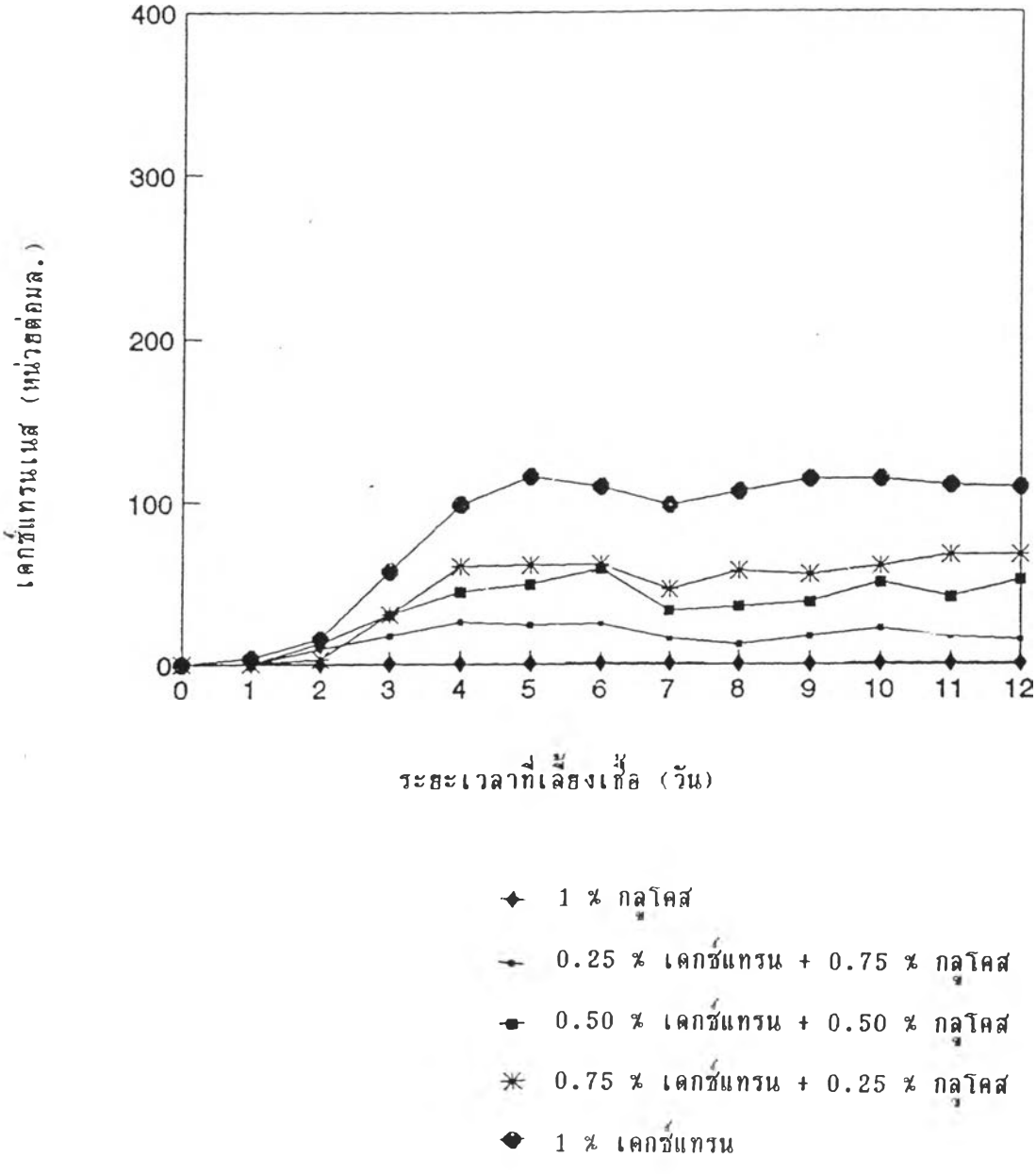
รูปที่ 28 ค่าแอคติวิตี้จำเพาะของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ภายใต้ภาวะมาตรฐาน โดยแปรผันความเป็นกรดด่าง 3.0-8.0



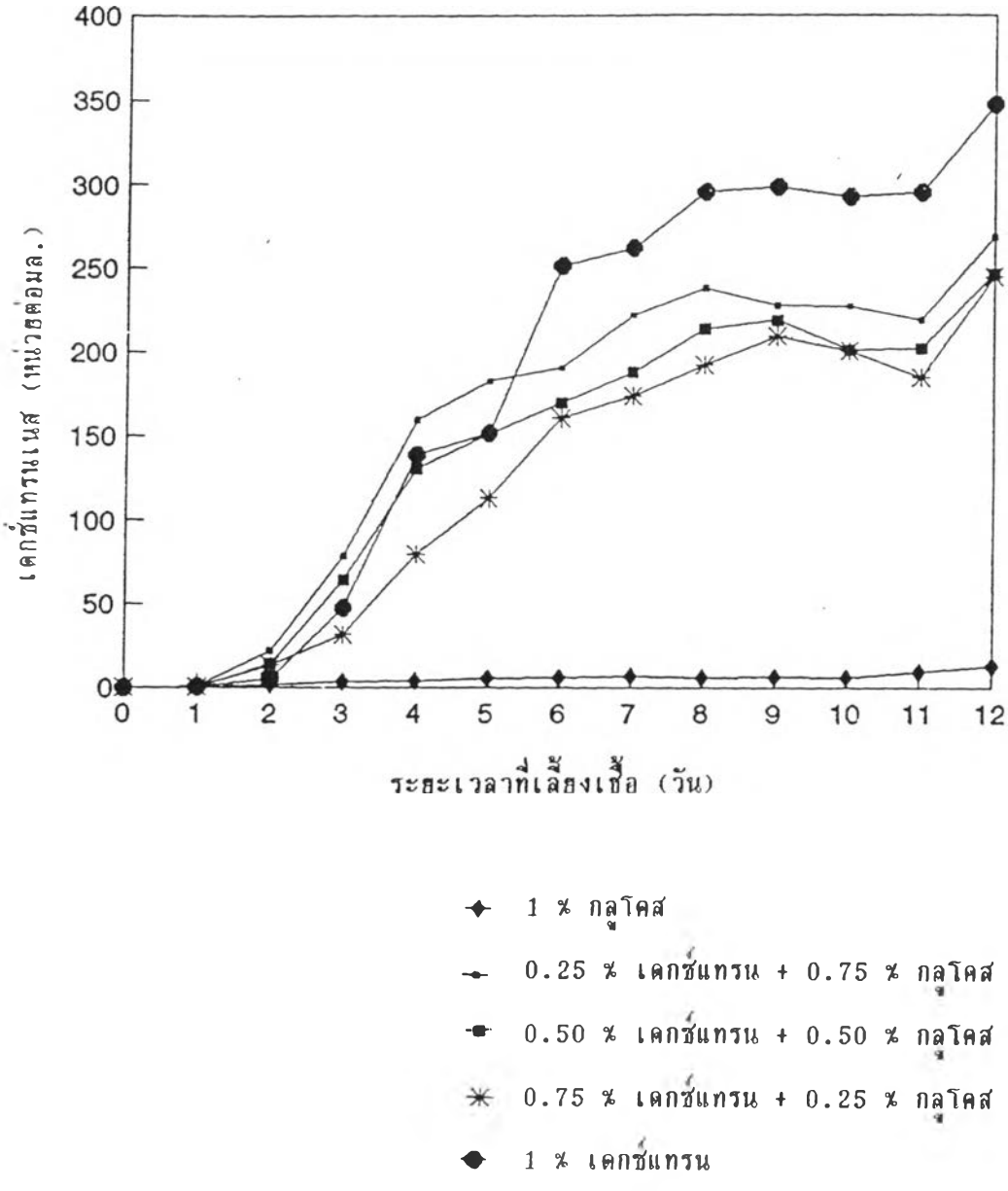
รูปที่ 29 การเจริญของราตั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว ปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ที่มีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคสเป็น 0:1.0, 0.25:0.75, 0.50:0.50, 0.75:0.25 และ 1.0:0 ตามลำดับ ความเป็นกรดด่าง 6.0 ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ)อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที



รูปที่ 30 การเจริญของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ที่มีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคสเป็น 0:1.0, 0.25:0.75, 0.50:0.50, 0.75:0.25 และ 1.0:0 ตามลำดับ ความเป็นกรดด่าง 4.0 ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที



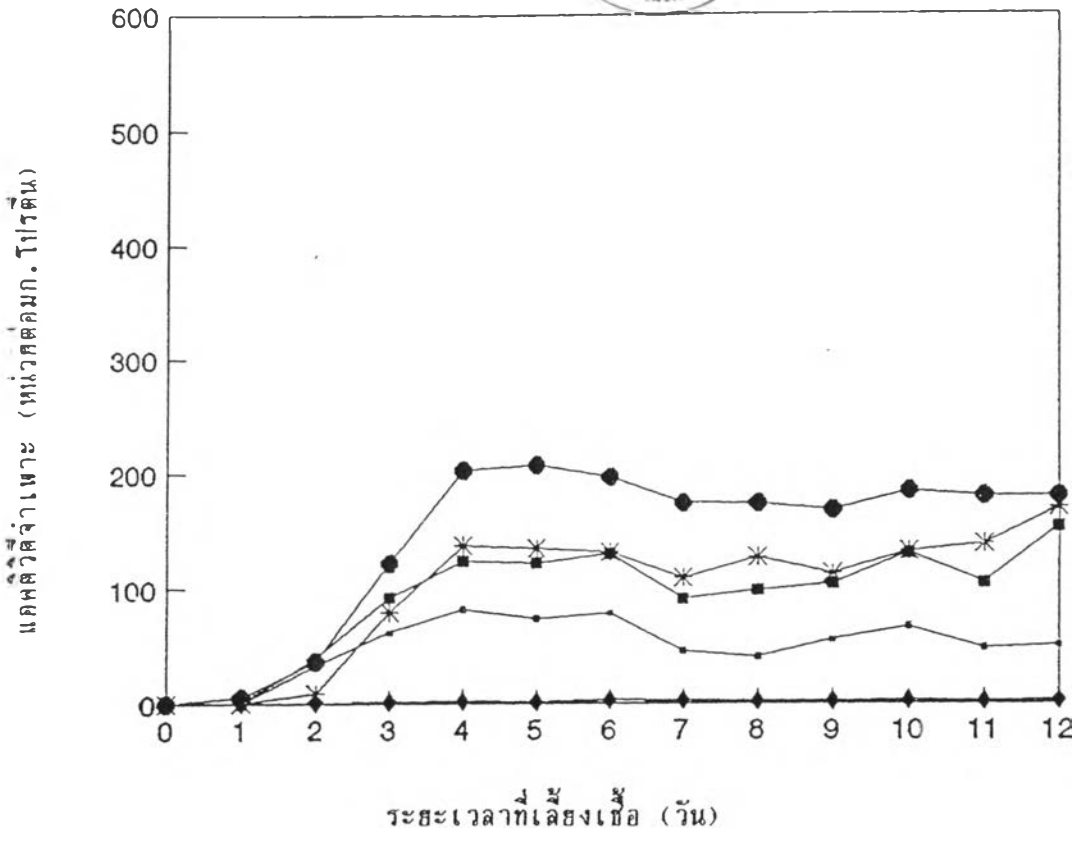
รูปที่ 31 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของราตั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว ปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ที่มีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับรูปที่ 29



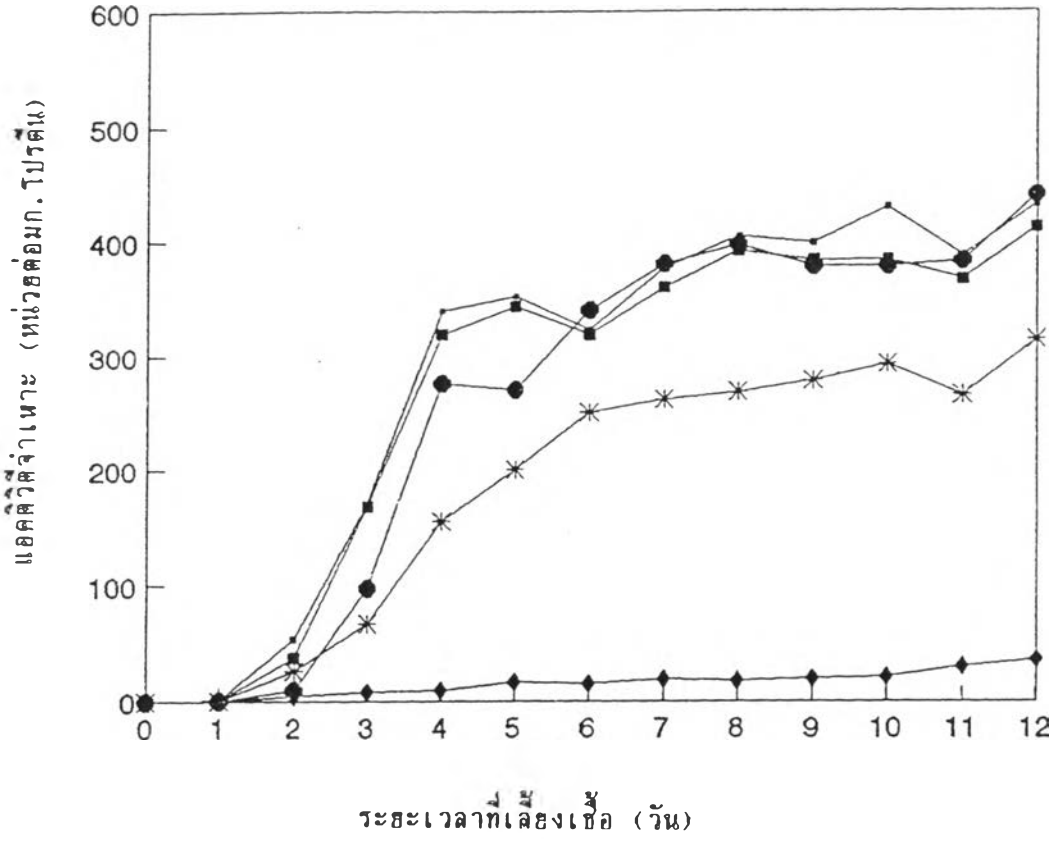
รูปที่ 32 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ที่มีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับรูปที่ 30

ค่าแอคติวิตีจำเพาะ ของราสายพันธุ์ดั้งเดิม มีการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส (รูปที่ 33) ขณะที่ค่าแอคติวิตีจำเพาะของรากลายพันธุ์ จะให้ผลแตกต่างกัน คือเชื้อราที่เจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรน 1 % , 0.50 % และ 0.25 % จะให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะใกล้เคียงกัน แต่ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรน 0.75 % จะให้ค่าแอคติวิตีจำเพาะต่ำกว่าอย่างเห็นได้ชัด และในอาหารที่ไม่มีเดกซ์แทรน จะมีค่าแอคติวิตีจำเพาะตามปริมาณของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ดังแสดงในรูปที่ 34

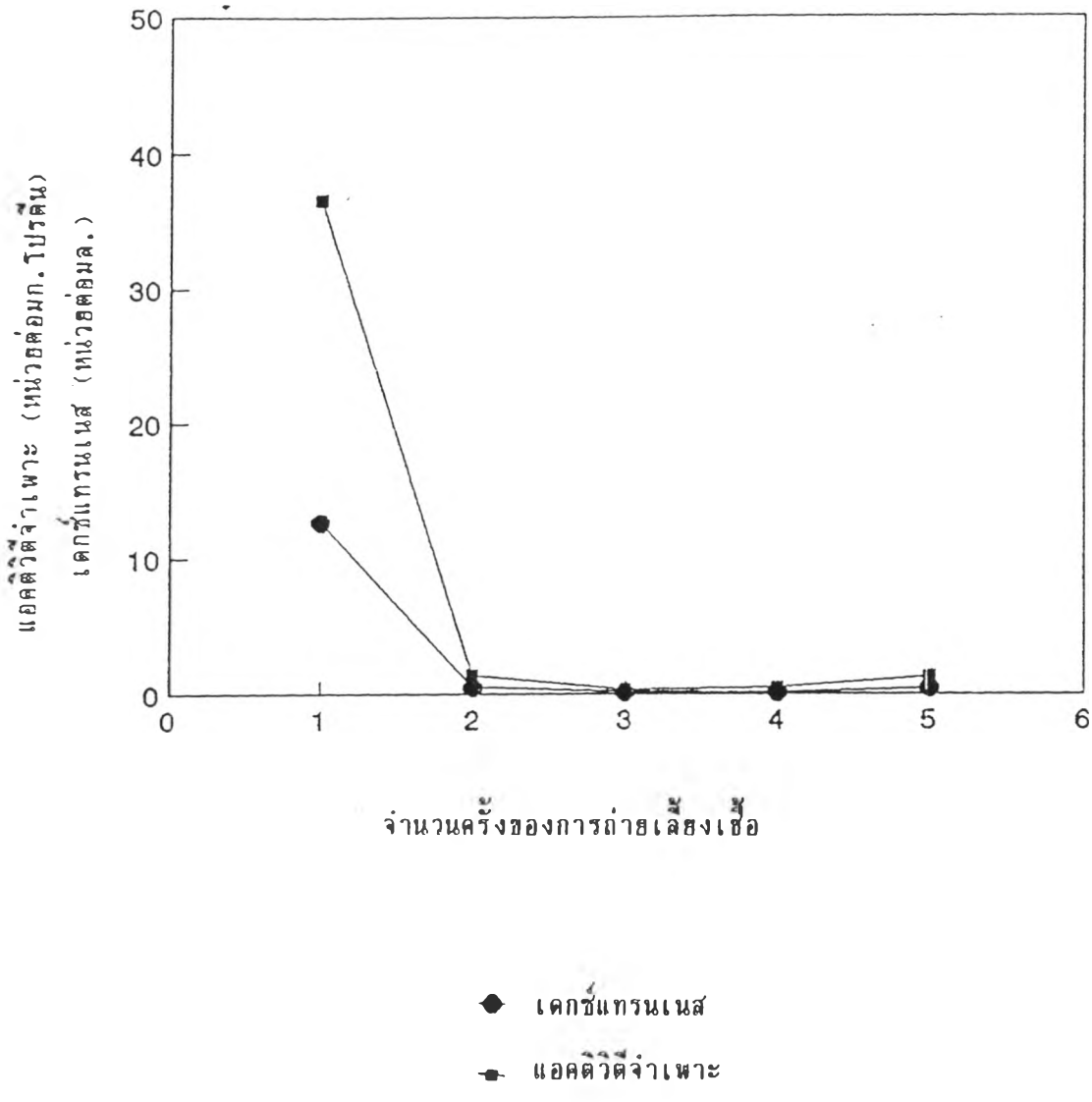
จากผลการทดลองจะเห็นได้ว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรน 1% เหมาะสมที่สุดในการเลี้ยงเชื้อรากลายพันธุ์และสายพันธุ์ดั้งเดิม แต่อย่างไรก็ตาม เชื้อรากลายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้ ในสภาวะที่ไม่มีเดกซ์แทรนเป็นตัวกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ ในขณะที่สายพันธุ์ดั้งเดิมไม่สามารถผลิตเอนไซม์ได้ การศึกษาถึงความสามารถในการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสโดยไม่มีสารชักนำในรากลายพันธุ์ ทำโดยเลี้ยง *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีเดกซ์แทรน ทำการถ่ายเลี้ยงเชื้อเป็นจำนวน 5 ครั้ง วัดปริมาณการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะในทุกรุ่น ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 35 พบว่า การเลี้ยงเชื้อรากลายพันธุ์ในการถ่ายเลี้ยงเชื้อครั้งที่ 1 เท่านั้นที่เชื้อยังสามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณต่ำ หลังจากนั้น ในการถ่ายเลี้ยงเชื้อครั้งที่ 2 - 5 ก็ไม่สามารถผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสได้ ค่าแอคติวิตีจำเพาะที่ได้ ก็แปรผันตามปริมาณเอนไซม์เช่นกัน



รูปที่ 33 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของราตั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ที่มีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยง เช่นเดียวกับรูปที่ 29



รูปที่ 34 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ที่มีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยง เช่นเดียวกับรูปที่ 30



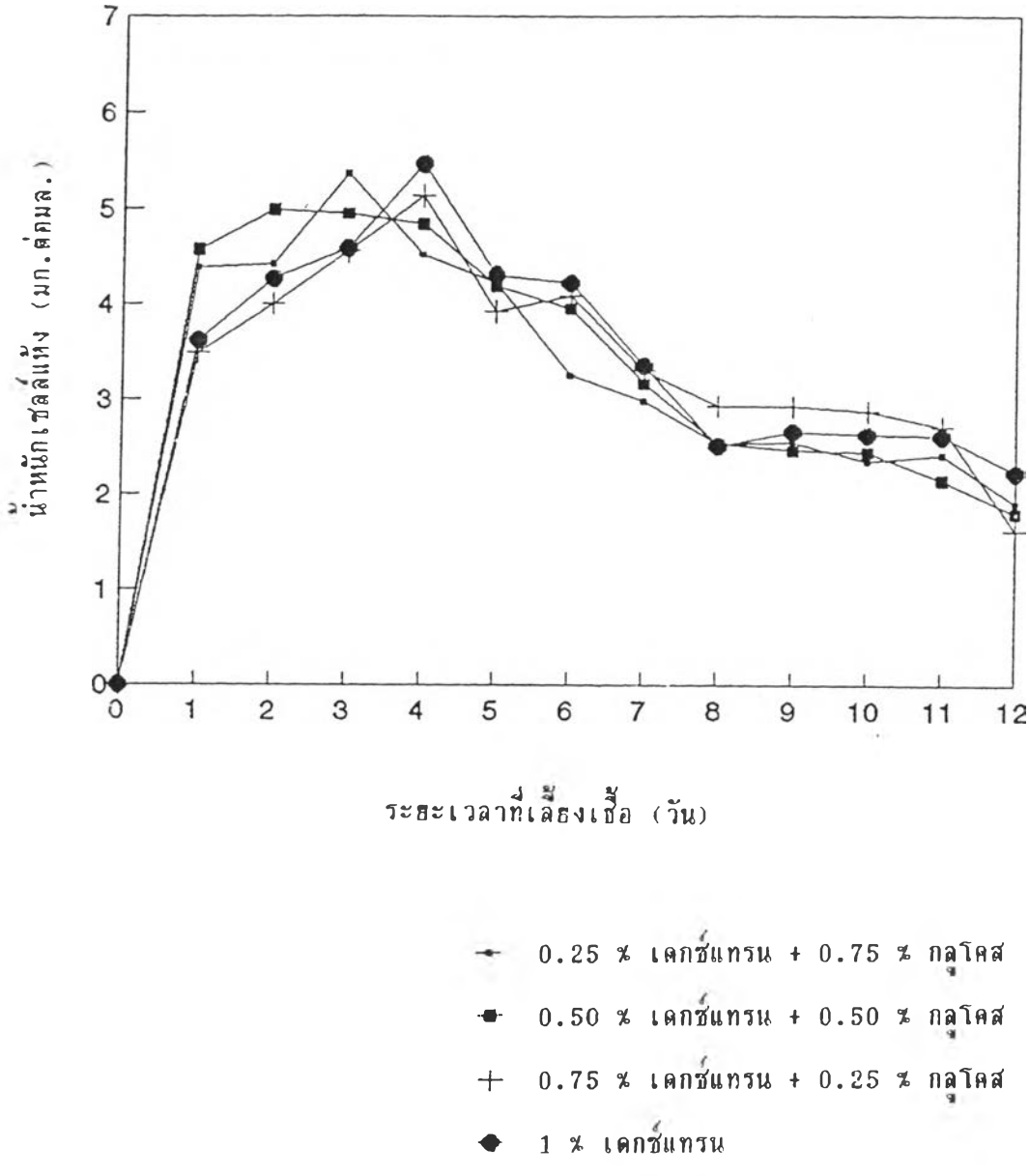
รูปที่ 35 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส และค่าแอคติวิตีจำเพาะ ของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลว ปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ ที่มีน้ำตาลกลูโคส 1 % ความเป็นกรดด่าง 4.0 ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ถ่ายเลี้ยงเชื้อเป็นจำนวน 5 ครั้ง

4. ปริมาณเดกซ์แทรนที่เหมาะสมต่อการกระตุ้นการสร้างเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 และ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61

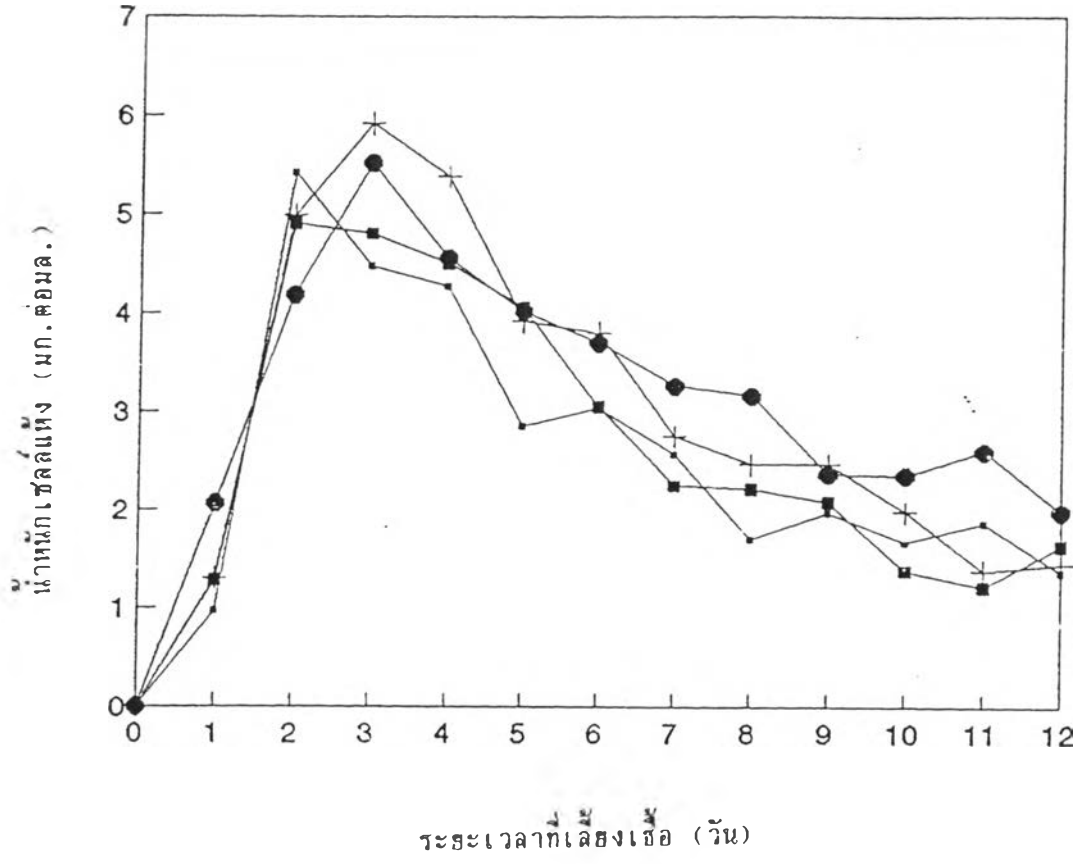
นำราทั้ง 2 สายพันธุ์ มาเลี้ยงในอาหารเหลวที่มี 1 % กลูโคสเพียงอย่างเดียว ถ่ายเลี้ยงเชื้อเป็นจำนวน 5 ครั้ง และนำมาทดสอบการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส โดยเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีสารชักนำปริมาณต่างๆกัน ตามวิธีในข้อ 4 หน้า 28 พบว่า ในสายพันธุ์ตั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 จะมีการเจริญไม่ดีนัก โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรน 0.25 % และ 0.50 % โดยเชื้อมีการเจริญเต็มที่ในวันที่ 2 และวันที่ 3 ของการเลี้ยง ส่วนอาหารที่มีเดกซ์แทรน 0.75 % และ 1 % เชื้อเจริญสูงสุดในวันที่ 4 ดังแสดงในรูปที่ 36 ส่วนรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ก็จะให้ผลการเจริญคล้ายคลึงกัน คือ ในอาหารที่มีเดกซ์แทรน 0.25 % และ 0.50 % มีการเจริญเร็วกว่า โดยเจริญสูงสุดในวันที่ 2 ของการเลี้ยงเชื้อ ส่วนอาหารที่มีเดกซ์แทรน 0.75 % และ 1 % เชื้อเจริญได้ดีที่สุดในวันที่ 3 ดังแสดงในรูปที่ 37

การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส เปรียบเทียบระหว่างราทั้งสองสายพันธุ์ พบว่า สายพันธุ์ตั้งต้น ความสามารถในการผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ขึ้นอยู่กับปริมาณเดกซ์แทรนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในอาหารที่มีเดกซ์แทรนมาก ก็จะสามารถผลิตเอนไซม์ได้มาก แต่อย่างไรก็ตาม การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของสายพันธุ์ตั้งต้น ก็ยังมีปริมาณต่ำกว่าที่เคยผลิตได้ในสภาวะปกติ โดยในการทดลองนี้ สายพันธุ์ตั้งต้นสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดเพียง 66.05 หน่วยต่อมล. ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเดกซ์แทรน 1% ดังแสดงในรูปที่ 38 เปรียบเทียบกับรากลายพันธุ์ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีเดกซ์แทรนปริมาณต่างๆ กัน พบว่า เดกซ์แทรน 1 % ในอาหารเลี้ยงรากลายพันธุ์ ให้ปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสสูงสุด คือ 381.72 หน่วยต่อมล. ส่วนอาหารที่มีเดกซ์แทรนปริมาณต่ำกว่า 1 % ให้ปริมาณเอนไซม์ใกล้เคียงกัน ดังแสดงในรูปที่ 39

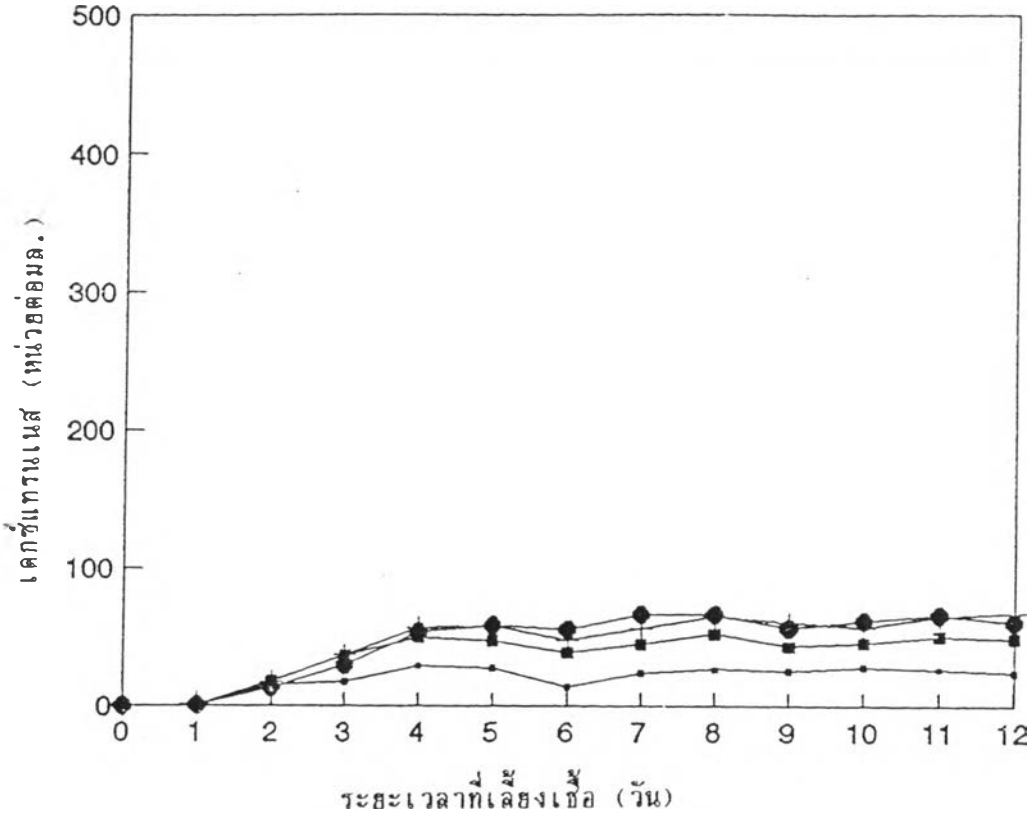
ส่วนค่าแอคติวิตีจำเพาะ ของสายพันธุ์ตั้งต้นและเชื้อรากลายพันธุ์ ให้ผลการเปลี่ยนแปลง ขึ้นอยู่กับปริมาณเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ดังแสดงในรูปที่ 40 และ 41 ตามลำดับ



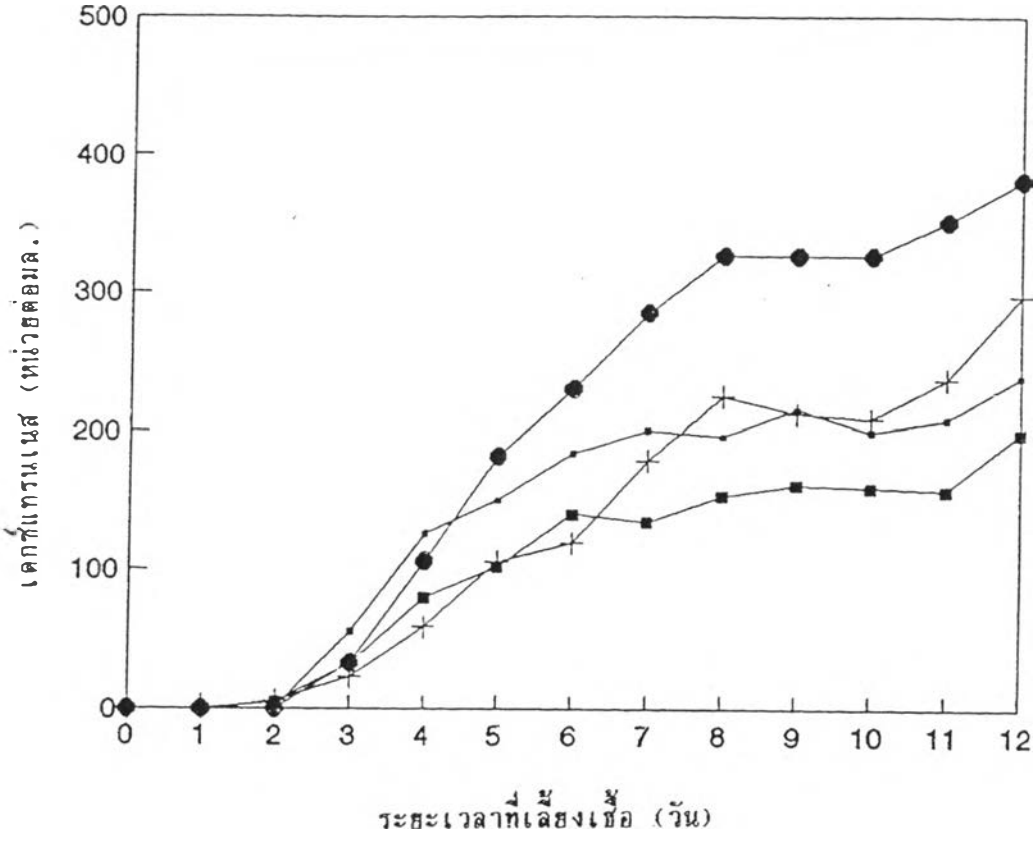
รูปที่ 36 การเจริญของราดั้งต้น *Penicillium* sp.สายพันธุ์ 61 ที่ผ่านการถ่ายเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ไม่มีเดกซ์แทรน 5 ครั้ง เลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อทดสอบผลของเดกซ์แทรนต่อการผลิตเอนไซม์ โดยมีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคสเป็น 0.25:0.75 , 0.50:0.50 , 0.75:0.25 และ 1.0:0 ตามลำดับ ความเป็นกรดด่าง 6.0 ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที



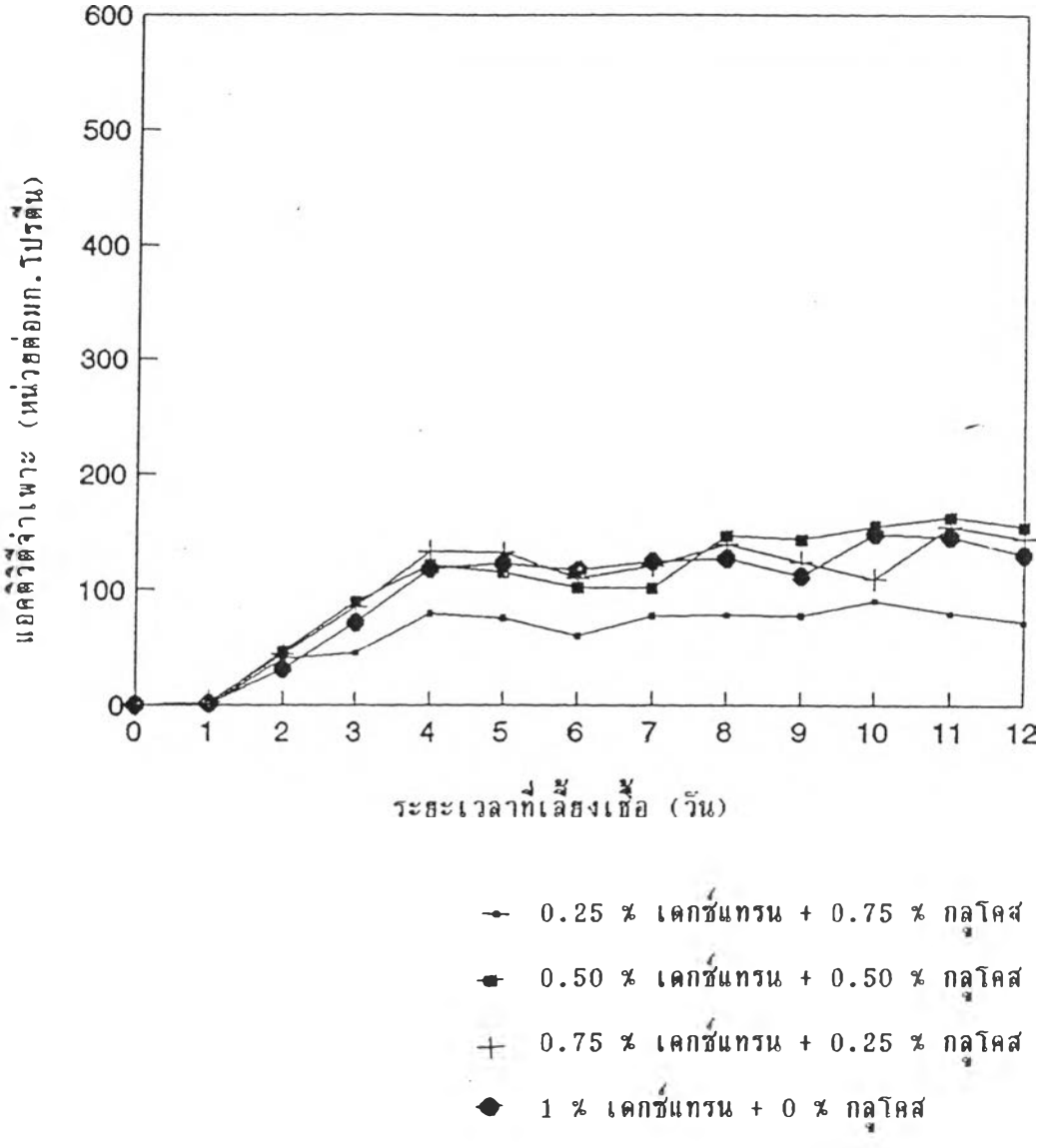
รูปที่ 37 การเจริญของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ที่ผ่านการถ่ายเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ไม่มีเดกซ์แทรน 5 ครั้ง เลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อทดสอบผลของเดกซ์แทรนต่อการผลิตเอนไซม์ โดยมีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคสเป็น 0.25:0.75 , 0.50:0.50 , 0.75:0.25 และ 1.0:0 ตามลำดับ ความเป็นกรดด่าง 4.0 ที่อุณหภูมิห้อง (30-35 °ซ) อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที



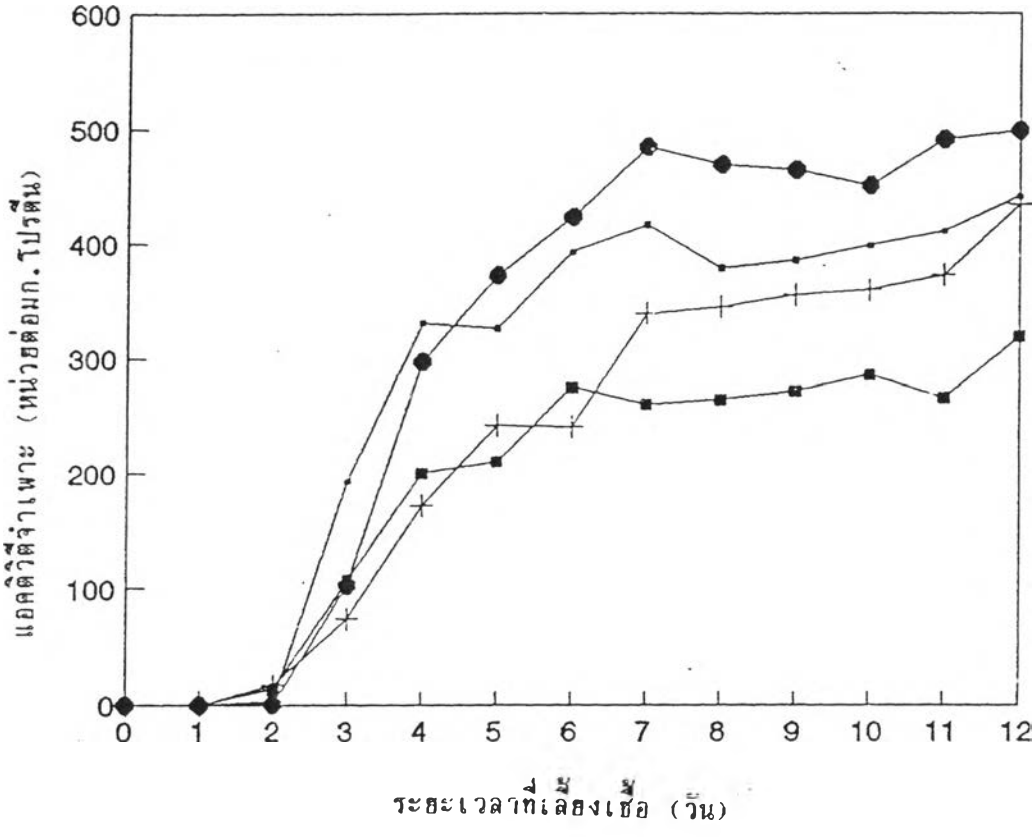
รูปที่ 38 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของราตั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ที่ผ่านการถ่ายเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ไม่มีเดกซ์แทรน 5 ครั้ง เลี้ยงในอาหารเหลว ปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อทดสอบผลของเดกซ์แทรนต่อการผลิตเอนไซม์ โดยมีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยง เช่นเดียวกับรูปที่ 36



รูปที่ 39 การผลิตเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ที่ผ่านการถ่ายเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ไม่มีเดกซ์แทรน 5 ครั้ง เลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อทดสอบผลของเดกซ์แทรนต่อการผลิตเอนไซม์ โดยมีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยง เช่นเดียวกับรูปที่ 37



รูปที่ 40 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของราดั้งต้น *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 ที่ผ่านการถ่ายเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ไม่มีเดกซ์แทรน 5 ครั้ง เลี้ยงในอาหารเหลวปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อทดสอบผลของเดกซ์แทรนต่อการผลิตเอนไซม์ โดยมีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยง เช่นเดียวกับรูปที่ 36



รูปที่ 41 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ที่ผ่านการถ่ายเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ไม่มีเดกซ์แทรน 5 ครั้ง เลี้ยงในอาหารเหลว ปรับปรุงจาก Fukumoto และคณะ เพื่อทดสอบผลของเดกซ์แทรนต่อการผลิตเอนไซม์ โดยมีอัตราส่วนของเดกซ์แทรนต่อน้ำตาลกลูโคส และภาวะการเลี้ยงเช่นเดียวกับรูปที่ 37

สมบัติของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ที่ได้จากรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14

1. อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

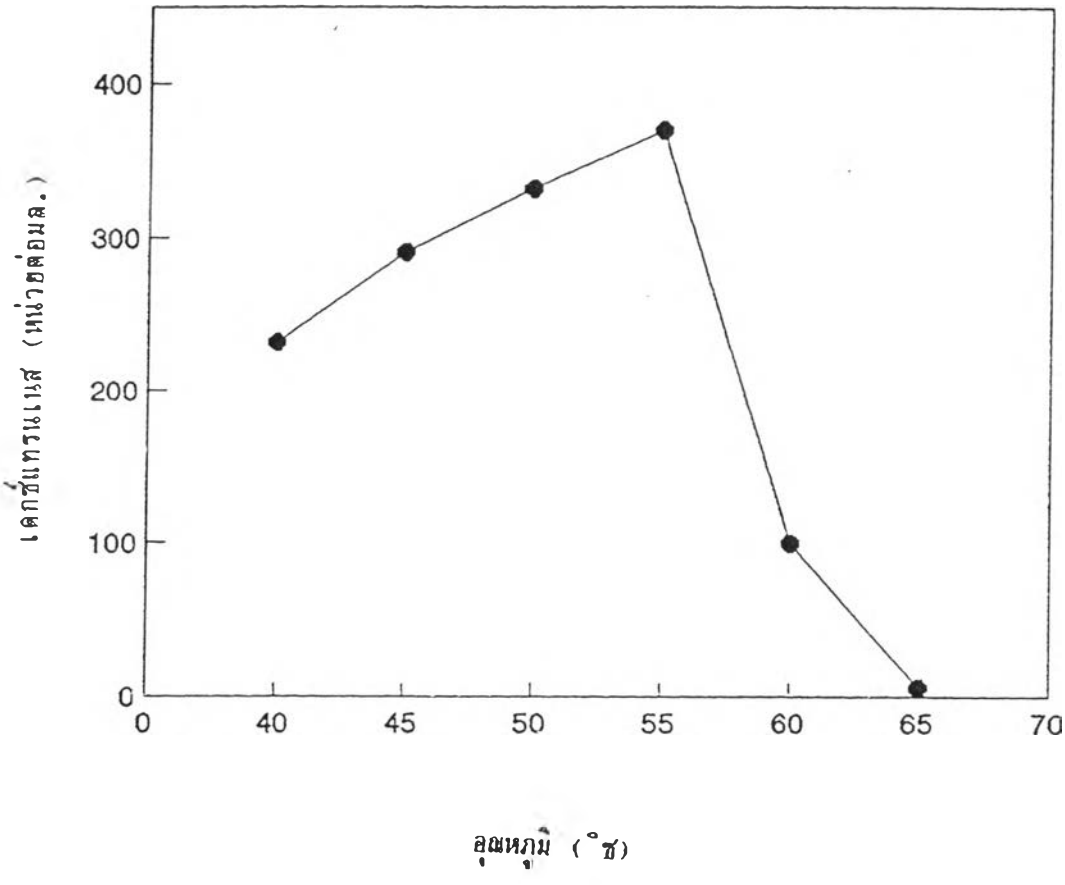
เจือจางเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่ได้จากรากลายพันธุ์ ให้มีความเข้มข้นพอเหมาะทำปฏิกิริยากับสับสเตรท ตามวิธีการในข้อ 2 หน้า 21 แปรผันอุณหภูมิที่บ่มเป็น 40, 45, 50, 55, 60 และ 65 องศาเซลเซียส วัดแอคติวิตีของเอนไซม์ พบว่า ที่อุณหภูมิ 55 °ซ เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ดังแสดงในรูปที่ 42

2. ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

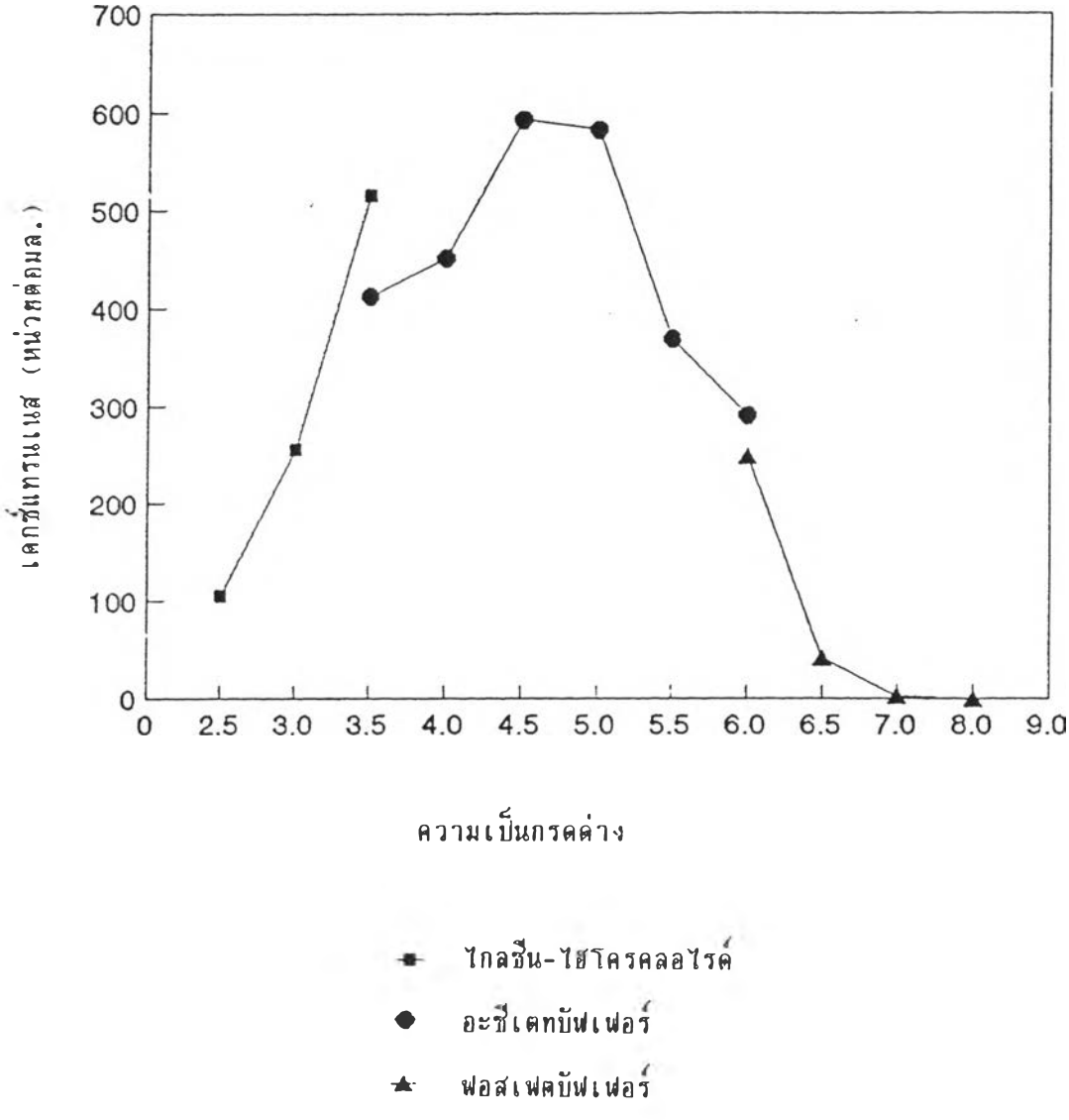
ให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสับสเตรท ในบัฟเฟอร์ที่มีความเป็นกรดด่างแปรผันในช่วงตั้งแต่ 2.5-8.0 ภายใต้ภาวะทดสอบมาตรฐาน แล้ววัดแอคติวิตีของเอนไซม์ พบว่า อะซีเตทบัฟเฟอร์ ความเป็นกรดด่าง 4.5 เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ ดังแสดงในรูปที่ 43

3. ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

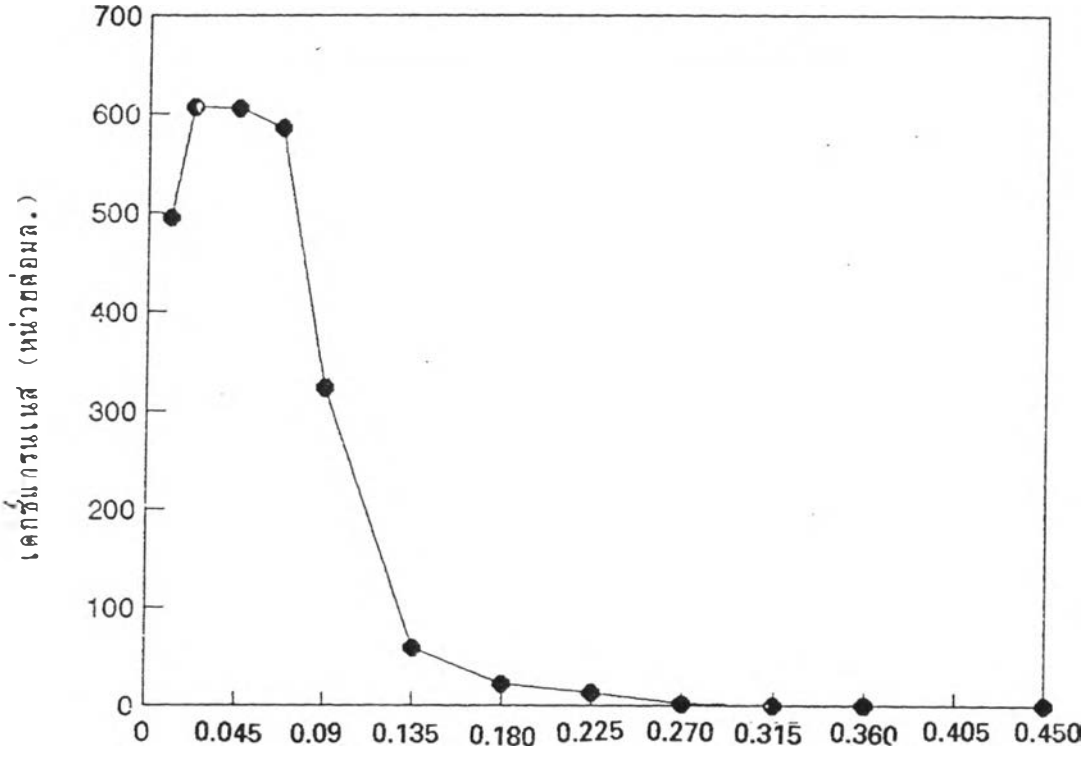
ปรับความเข้มข้นของอะซีเตทบัฟเฟอร์ ความเป็นกรดด่าง 4.5 ให้อยู่ในช่วงตั้งแต่ 0.01 - 0.5 โมลาร์ แล้วให้เอนไซม์ทำปฏิกิริยากับสับสเตรท ในอะซีเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้นต่างๆ ดังกล่าว ภายใต้ภาวะทดสอบมาตรฐาน ทำการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ พบว่า ความเข้มข้นสุดท้ายของบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ อยู่ในช่วง 0.0225 - 0.0675 โมลาร์ แต่หากให้ความเข้มข้นของบัฟเฟอร์เพิ่มขึ้น เอนไซม์จะสูญเสียแอคติวิตีอย่างรวดเร็ว ดังแสดงในรูปที่ 44 ดังนั้นจึงเลือกความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ เพื่อใช้ในการวัดแอคติวิตีของเอนไซม์ โดยจะให้ความเข้มข้นสุดท้ายในปฏิกิริยาเป็น 0.045 โมลาร์



รูปที่ 42 ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14



รูปที่ 43 ผลของความเป็นกรดด่างต่อการทำงานของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากรา กลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14



รูปที่ 44 ผลของความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ต่อการทำงานของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14

4. ความเสถียรของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิ

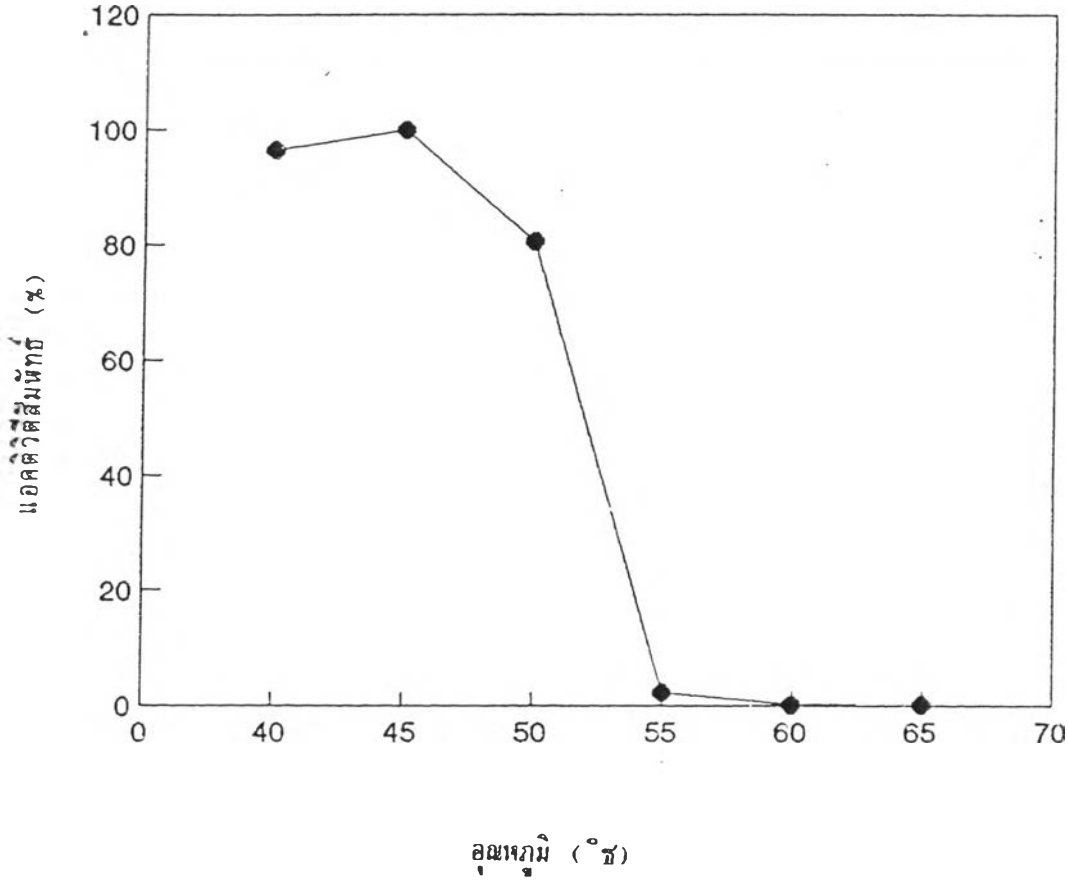
นำเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่เจือจางความเข้มข้นเหมาะ มาบ่มที่อุณหภูมิ 40 45 50 55 60 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที วัดแอคติวิตีของเอนไซม์ภายใต้ภาวะมาตรฐาน เพื่อตรวจสอบความเสถียรของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิ พบว่า เอนไซม์เดกซ์แทรนเนสจากรากลายพันธุ์ SMCU 3-14 มีความเสถียรต่ออุณหภูมิในช่วง 40 - 45 °ซ และมีแอคติวิตีลดลงเหลือ 80 % เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 °ซ แต่จะสูญเสียแอคติวิตีอย่างรวดเร็ว เมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 55 °ซ ดังแสดงในรูปที่ 45

5. ความเสถียรของเอนไซม์ต่อความเป็นกรดด่าง

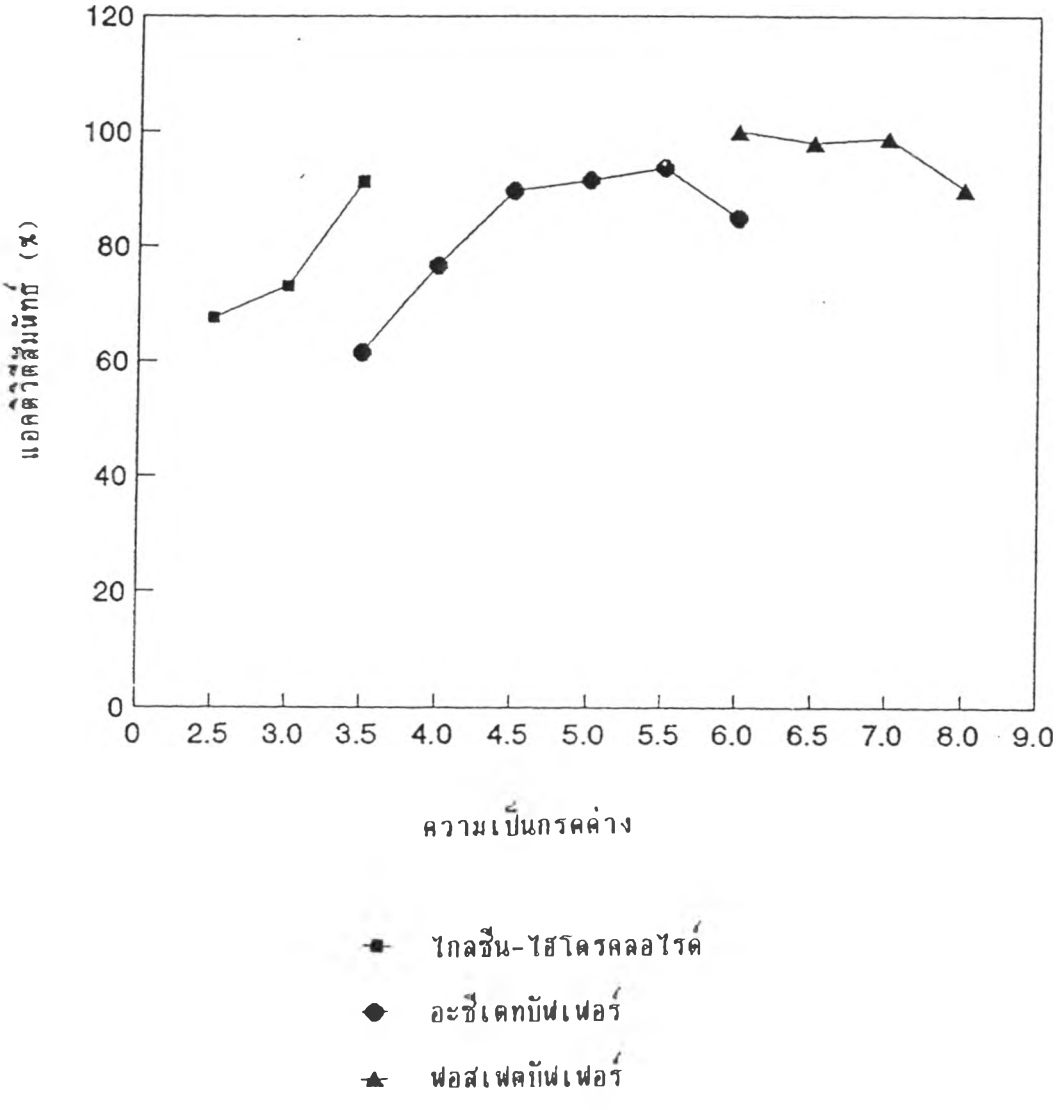
นำเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่เจือจางด้วยบัฟเฟอร์ ที่มีความเป็นกรดด่างในช่วง 2.5 - 8.0 บ่มที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที วัดแอคติวิตีของเอนไซม์ภายใต้ภาวะมาตรฐาน จากการตรวจสอบความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง พบว่า เอนไซม์เดกซ์แทรนเนส มีความเสถียรต่อความเป็นกรดด่างในช่วงค่อนข้างกว้าง คือ 3.5 - 8.0 เป็นช่วงที่แอคติวิตีประมาณ 90 - 100 % ขึ้นอยู่กับชนิดของบัฟเฟอร์ด้วย ดังแสดงในรูปที่ 46

6. ความเสถียรของเอนไซม์ต่อความเข้มข้นของบัฟเฟอร์

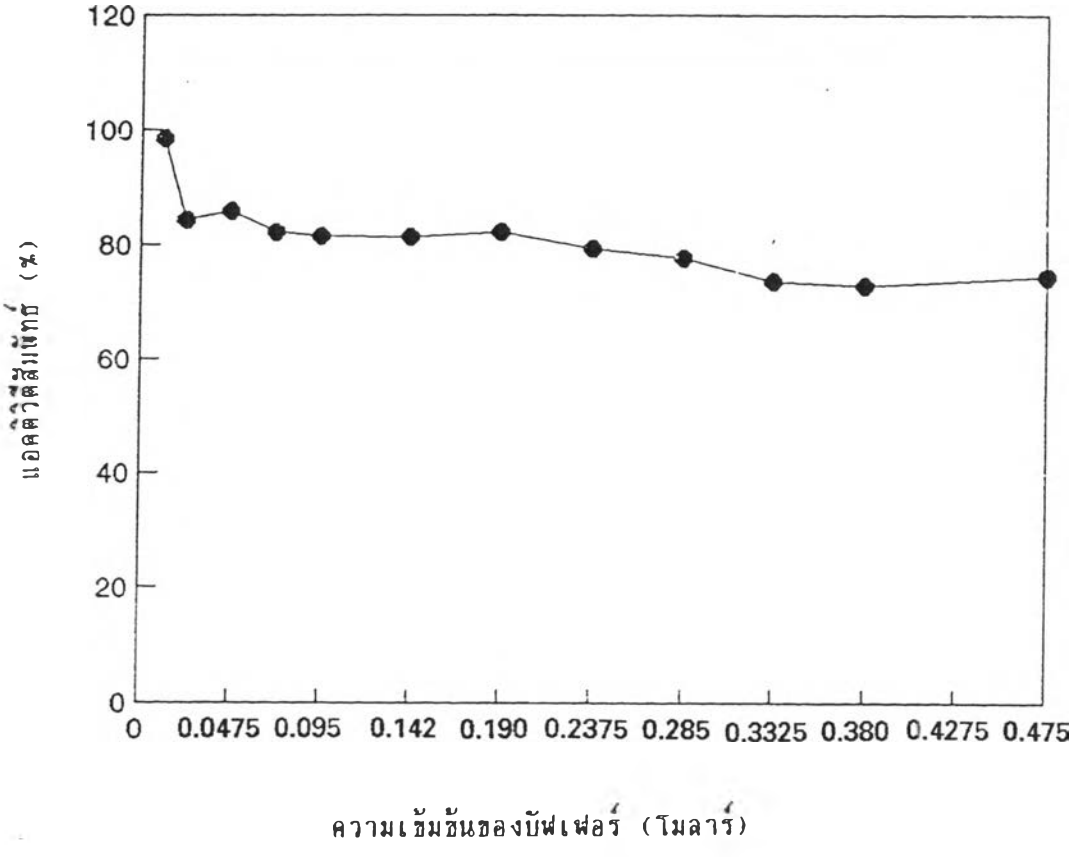
นำเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสที่เจือจางด้วยอะซีเตทบัฟเฟอร์ ที่มีความเป็นเข้มข้นในช่วง 0.01 - 0.5 โมลาร์ บ่มที่อุณหภูมิ 4 °ซ เป็นเวลา 30 นาที วัดแอคติวิตีของเอนไซม์ จากการตรวจสอบความเสถียรต่อความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ พบว่า เอนไซม์เดกซ์แทรนเนส มีความเสถียรต่อความเข้มข้นสุดท้ายของบัฟเฟอร์ในช่วงกว้าง คือ 0.0095 - 0.475 โมลาร์ เป็นช่วงที่เหลือแอคติวิตีประมาณ 80 - 100 % ดังแสดงในรูปที่ 47



รูปที่ 45 ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14



รูปที่ 46 ผลของความเป็นกรดด่างต่อความเสถียรของเอนไซม์เลกซ์แทรนเนส จากราลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14

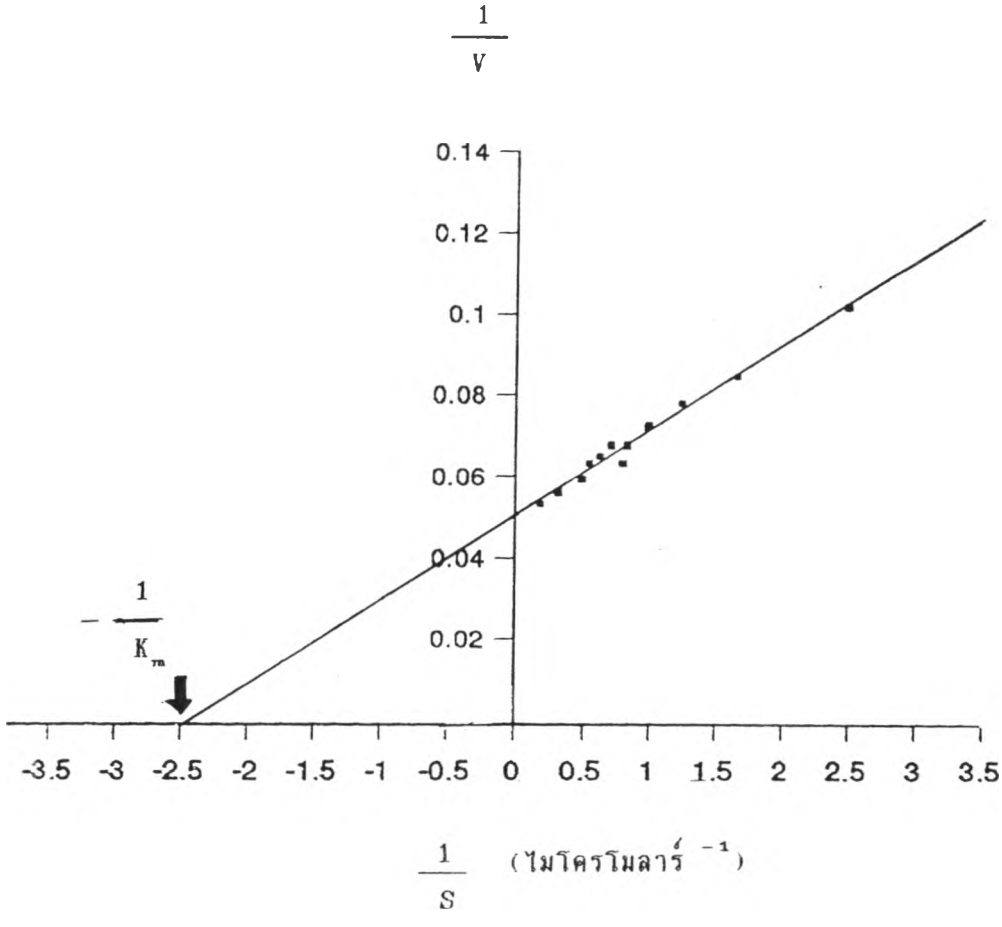


รูปที่ 47 ผลของความเข้มข้นของบัฟเฟอร์ต่อความเสถียรของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากราก
ลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14

7. การหาค่า K_m ของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส

นำเอนไซม์มาทำปฏิกิริยากับสับสเตรทที่ความเข้มข้นต่างๆกัน แปรผันความเข้มข้นตั้งแต่ 0.1 - 5 % เดกซ์แทรน T-2000 วัดแอคติวิตีแล้วนำมาคำนวณเพื่อเขียนกราฟแบบไลน์วีเวอร์เบิร์ก (Lineweaver - Burk plot) จะได้กราฟดังรูปที่ 48 นำมาคำนวณค่า K_m ของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 ได้เท่ากับ 0.408 ไมโครโมลาร์

นำผลการศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากเชื้อรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp.สายพันธุ์ SMCU 3-14 เปรียบเทียบกับคุณสมบัติของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนสจากสายพันธุ์ดั้งเดิม *Penicillium* sp.สายพันธุ์ 61 ซึ่งศึกษาโดย เอก แสงวิเชียร (2531) ได้ผลดังตารางที่ 9



รูปที่ 48 ค่า K_m จากกราฟไลน์วีเวอร์เบิร์ก (Lineweaver - Burk plot.) ของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส จากรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14

ตารางที่ 9 สมบัติของเอนไซม์เดกซ์แทรนเนส ที่ได้จากรากลายพันธุ์ *Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14 และราดั้งเดิม *Penicillium* sp. สายพันธุ์ 61 (ข้อมูลจาก เอก แสงวิเชียร, 2531)

คุณสมบัติของเอนไซม์	เอนไซม์เดกซ์แทรนเนส	
	Penicillium sp. สายพันธุ์ 61	*Penicillium* sp. สายพันธุ์ SMCU 3-14
- อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงาน	55 °ซ	55 °ซ
- ความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการทำงาน	อะซีเตทบัฟเฟอร์ pH 5.0-5.5	อะซีเตทบัฟเฟอร์ pH 4.5-5.0
- ความเข้มข้นสุดท้ายของบัฟเฟอร์ที่เหมาะสม	0-0.3 โมลาร์	0.0225-0.0675 โมลาร์
- ความเสถียรต่ออุณหภูมิ	40-50°ซ	40-50°ซ
- ความเสถียรต่อความเป็นกรดด่าง	5.0-8.0	3.5-8.0 เหลือแอคติวิตี 90-100%
- ความเสถียรต่อความเข้มข้นสุดท้ายบัฟเฟอร์	0-0.3 โมลาร์	0.0095-0.475 โมลาร์ เหลือแอคติวิตี 80-100 %
- ค่า K_m	0.714 ไมโครโมลาร์	0.408 ไมโครโมลาร์