บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

เอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปส (triacylglycerol acylhydrolases, EC 3.1.1.3) เป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มของเอนไซม์ไฮโดรเลส ตามหลักการจัดจำแนกเอนไซม์ของคณะกรรมการเอนไซม์นานาชาติ (The International Enzyme Commission, EC) เอนไซม์ดังกล่าวเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของพันธะเอสเทอร์ของไลปิดที่มีกรดไขมันสายยาว (long chain aliphatic acid) เป็นองค์ประกอบ เมื่อปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้ายเป็นกรดไขมัน และกลีเซอรอล ปฏิกิริยานี้จะเกิดขึ้นตรงบริเวณผิวสัมผัสระหว่างชั้นของสับสเตรทกับชั้นน้ำ (oil-water interface) และเอนไซม์ไลเปสสามารถเร่งปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันและปฏิกิริยาทรานซ์เอสเทอริฟิเคชัน ผลิตภัณฑ์สุดท้ายแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของสับสเตรทของแต่ละปฏิกิริยา (Macrae, 1983, p. 291) เอนไซม์ไลเปสเกิดปฏิกิริยาได้ทั้งในตัวทำละลายอินทรีย์ (Lanne and Tramper, 1990, pp. 502-506) และในของเหลวที่มีจุดวิกฤตยิ่งยวด (supercritical fluid) (Gunnlaugsdottir and Sivik, 1995, pp. 399-405)

การจัดจำแนกเอนไซม์ไลเปส

การจัดจำแนกเอนไซม์ไลเปสขึ้นกับคุณสมบัติที่ใช้ เช่น ความจำเพาะของเอนไซม์ต่อสับสเตรท และความจำเพาะต่อตำแหน่งและชนิดของกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ เป็นต้น

1. การจัดจำแนกประเภทเอนไซม์ไลเปสของ Macrae (1983)

Macrae จัดจำแนกเอนไซม์ไลเปสเป็น 3 กลุ่ม ตามความจำเพาะของกิจกรรมต่อตำแหน่งของกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ คือ

1.1 **กลุ่มที่ 1** เอนไซม์ไลเปสที่ไม่มีกิจกรรมจำเพาะต่อตำแหน่งกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (Nonspecific lipase) เอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้ย่อยกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ได้ทุกตำแหน่ง และเมื่อการย่อยเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล อย่างไรก็ตามอาจพบไดกลีเซอไรด์ หรือ โมโนกลีเซอไรด์เป็นสารตัวกลางในปฏิกิริยา เช่น เอนไซม์ไลเปสของ *Chromobacterium viscosum*, *Candida cylindracae*, *Corynebacterium acnes*, *Geotrichum candidum*, *Pseudomonas fluorescens*, *Penicillium cyclopium*,

Staphylococcus aureus (Macrae, et al., 1983, p. 291; Virto, et al., 1991, pp. 324-327) และ *Bacillus* sp. (Sugihara, Tani, and Tominaga, 1991, pp. 211-216)

1.2 **กลุ่มที่** 2 เอนไซม์ไลเปสที่มีกิจกรรมจำเพาะต่อตำแหน่งที่ 1 และ 3 บนโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์ (1,3-specific lipase) ปฏิกิริยาในช่วงแรกจะเกิดขึ้นแบบไม่สมบูรณ์จึงยังไม่ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลีเซอรอล และกรดไขมัน ต้องบ่มเป็นเวลานานจึงจะทำให้เกิดปฏิกิริยาการย่อยอย่างสมบูรณ์ ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ กลีเซอรอล และกรดไขมัน เอนไซม์ไลเปสกลุ่มนี้พบในตับอ่อนเนื้อเยื่อไขมันของสัตว์ และราเส้นใย เช่น *Rhizopus arrhizus*, *R. delemar*, *Aspergillus niger*, *Mucor miehei* และ *M. javanicus* (Malcata, et al., 1992, pp. 426-446) เป็นต้น

1.3 **กลุ่มที่** 3 เอนไซม์ไลเปสที่มีกิจกรรมจำเพาะต่อชนิดของกรดไขมันบนโมเลกุลไตรกลีเซอไรด์ (Fatty acid specific lipase) เอนไซม์กลุ่มนี้มีความจำเพาะต่อกรดไขมันที่มีความยาวโมเลกุลและระดับกรดไขมันที่ไม่อิ่มตัวชนิดต่างๆ แตกต่างกัน หากการย่อยสลายกรดไขมันเกิดขึ้นในอัตราสูง แสดงว่าเอนไซม์มีความจำเพาะต่อกรดไขมันชนิดดังกล่าว เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *P. aeruginosa* MB 5001 (Chartrain, et al., 1993, pp. 575-580) มีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายสั้นมากกว่าสายยาว และไฮโดรไลซ์เอสเทอร์ที่มีกรดไขมันไม่อิ่มตัวได้มากกว่าเอสเทอร์ที่มีกรดไขมันอิ่มตัว โดยเรียงลำดับแอคติวิตีจากมากไปน้อยดังนี้ C18:3 >C18:2>C18:1 เอนไซม์ไลเปสจาก *G. candidum* มีความจำเพาะต่อกรดไขมัน C18 ที่มีพันธะคู่ที่คาร์บอนตำแหน่งที่ 9 (cis-9 double bond) (Sonnet, et al., 1993, pp. 1043-1045) เอนไซม์ไลเปสจาก *P. simplicissium* จำเพาะต่อกรดไขมันสายยาว เช่น กรดปาล์มมิติก บางชนิดมีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายยาวปานกลาง (C8-C14) เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *R. arrhizus* และ *R. delemar* แต่บางชนิดมีความจำเพาะต่อกรดไขมันสายสั้น (ต่ำกว่า C8) เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *P. cyclopium* (Iwai, et al., 1975, pp. 1063-1070) และจากคุณสมบัติที่สามารถย่อยสลายกรดไขมันชนิดต่างๆ ได้ในอัตราที่แตกต่างกันจึงมีการนำเอนไซม์ไลเปสไปประยุกต์ใช้อย่างหลากหลายซึ่งจะได้กล่าวในลำดับต่อไป

2. การจัดจำแนกเอนไซม์ไลเปสของ Yamane (1987)

Yamane จำแนกเอนไซม์ไลเปสเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่มที่มีคุณสมบัติจำเพาะต่อตำแหน่ง 1 และ3 ของไตรกลีเซอไรด์ และกลุ่มที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งต่างๆ ของไตรกลีเซอไรด์ โดยพบว่า เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะสามารถ esterify (reverse hydrolysis) ระหว่างที่มีการไฮโดรไลซ์ ในขณะที่เอนไซม์ไลเปสชนิดที่ไม่มีความจำเพาะไม่พบ reverse hydrolysis ทำให้มีการไฮโดรไลซ์ได้ดีกว่าด้วยเหตุนี้จึงทำให้เอนไซม์ไลเปสกลุ่มที่ไม่มีความจำเพาะสามารถย่อยสลาย

สับสเตรทได้รวดเร็วกว่าเอนไซม์ไลเปสกลุ่มที่มีความจำเพาะ (Okumura, et al., 1981, pp.185-189)

3. **การจัดจำแนกเอนไซม์ไลเปสของ** Villeneuve **และ** Thomas (1997)

Villeneuve และ Thomas จำแนกเอนไซม์ไลเปสเป็น 5 กลุ่ม ตามความจำเพาะต่อสับสเตรทและความจำเพาะต่อตำแหน่งกรดไขมัน ความจำเพาะต่อชนิดกรดไขมัน และความจำเพาะต่อสเตอริโอไอโซเมอร์

3.1 **เอนไซม์ไลเปสจำเพาะต่อสับสเตรท** สับสเตรทของเอนไซม์ไลเปสคือ ไตร-กลีเซอไรด์ ไดกลีเซอไรด์ โมโนกลีเซอไรด์ และฟอสโฟไลปิด ดังนั้นความจำเพาะของสับสเตรทหมายถึง ความสามารถของเอนไซม์ไลเปสในการไฮโดรไลซ์กลีเซอรอลเอสเทอร์ชนิดใดชนิดหนึ่งที่จำเพาะ ซึ่งเอนไซม์ไลเปสจากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ส่วนใหญ่มีกิจกรรมเร่งปฏิกิริยาของสับสเตรทที่เป็นไตรกลีเซอไรด์ ในขณะที่การเร่งปฏิกิริยาของโมโนกลีเซอไรด์จะน้อยมาก ยกเว้นเอนไซม์ไลเปสจาก *P. camembertii* ที่เร่งปฏิกิริยาของไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์ได้ดีกว่าไตรกลีเซอไรด์ หรือไฮโดรไลซ์เฉพาะไดกลีเซอไรด์และโมโนกลีเซอไรด์ แต่จะไม่ไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์ เช่น เอนไซม์ไลเปส L2 จาก *A. oryzae* (Toida, et al., 1998, pp. 1199-1203)

3.2 **เอนไซม์ไลเปสจำเพาะต่อตำแหน่ง** เป็นเอนไซม์ไลเปสที่มีความสามารถในการแยกความแตกต่างของตำแหน่งภายนอก (พันธะเอสเทอร์ปฐมภูมิ) กับตำแหน่งภายใน (พันธะเอสเทอร์ทุติยภูมิ) ของโครงสร้างหลักของไตรกลีเซอไรด์ โดย 1,3 regioselective lipase ชอบไฮโดรไลซ์ตำแหน่ง sn-1 และ sn-3 มากกว่า sn-2 ทำให้ได้ 1,2 ไดกลีเซอไรด์ 2,3-ไดกลีเซอไรด์ และ 2-โมโนกลีเซอไรด์ หากปล่อยให้เกิดปฏิกิริยาต่อไปจะเกิดการย้ายหมู่เอซิล (acyl migration) จากตำแหน่งที่ 2 ไปยังตำแหน่งที่ 1 และ 3 ได้เป็น 1,3-ไดกลีเซอไรด์ และ 1(3)-โมโนกลีเซอไรด์ ซึ่งถูกย่อยสลายอย่างสมบูรณ์ได้เป็นกลีเซอรอลและกรดไขมันอิสระ

3.3 **เอนไซม์ไลเปสไม่จำเพาะต่อตำแหน่ง** เอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้จะสามารถไฮโดรไลซ์พันธะเอสเทอร์ในไตรกลีเซอไรด์ได้ทั้งสามตำแหน่ง โดยไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งของกรดไขมัน เมื่อปฏิกิริยาย่อยสมบูรณ์จะได้กรดไขมันอิสระและกลีเซอรอล เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *C. viscisum* (Virto, et al., 1991, pp. 324-327) *Bacillus* sp. (Sugihara, Tani and Tominaga, 1991, pp. 211-216)

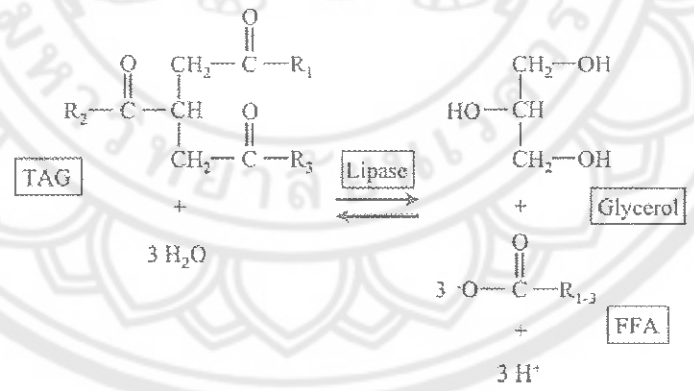
3.4 **เอนไซม์ไลเปสที่มีความจำเพาะต่อกรดไขมัน** เอนไซม์ไลเปสจากแหล่งต่างกันจะมีความจำเพาะต่อชนิดของกรดไขมันต่างกัน บางชนิดมีความจำเพาะต่อกรดไขมันที่มีความยาวโมเลกุลขนาดสั้น (ต่ำกว่า C8) เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *P. cyclopium* แยกได้เป็นเอนไซม์ไลเปส A และ B (pI 4.96 และ 4.15 น้ำหนักโมเลกุล 27000 และ 30000 ตามลำดับ) โดยเอนไซม์

ไลเปส A แสดงความสามารถในการย่อยไตรบิวทิริน (C4) ในขณะที่เอนไซม์ไลเปส B ย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมัน C8 และ C10 และเอนไซม์ไลเปสทั้งสองชนิดย่อยน้ำมันมะกอกได้ดีเช่นเดียวกัน (Iwai, Okumura and Tsujisaka, 1975, pp. 1063-1070) หรือเอนไซม์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจะย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ที่มีกรดไขมันสายยาวกว่า C12 ได้ต่ำ และย่อยได้ดีขึ้นที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (Sugihara, Tani and Tominaga, 1991, pp.211-216)

3.5 **เอนไซม์ไลเปสที่จำเพาะต่อสเตอริโอไอโซเมอร์** ความจำเพาะของเอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้ คือ เอนไซม์ไลเปสมีความสามารถในการแยกความแตกต่างระหว่างตำแหน่ง *sn*-1 และ *sn*-3 ของไตรกลีเซอไรด์ เช่น เอนไซม์ไลเปสของ *P. fluorescens* มีความ จำเพาะต่อสเตอริโอเคมีที่ตำแหน่ง *sn*-1 (Rogalsk, et al., 1993, pp. 24-30)

ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์ไลเปสเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

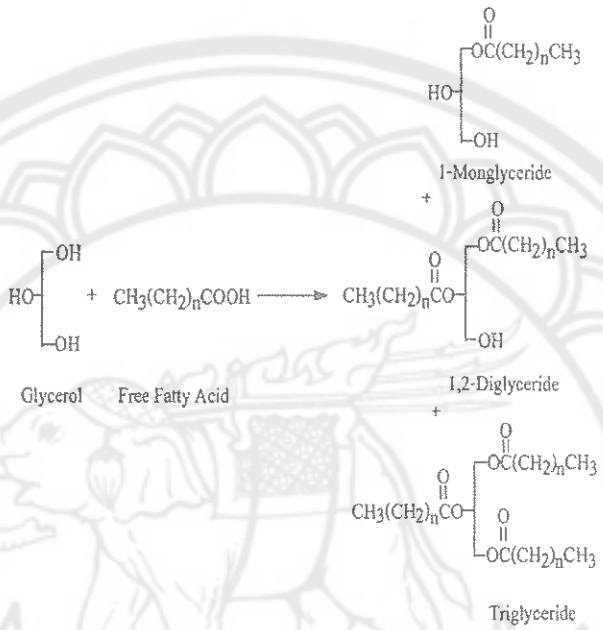
1. **ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส** (Hydrolysis) ปฏิกิริยานี้ต้องใช้น้ำในปฏิกิริยาและผลิตภัณฑ์สุดท้ายของการย่อยไตรกลีเซอไรด์ คือ กลีเซอรอล และกรดไขมัน (ภาพ 1) ตัวอย่าง เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *Rhizomucor miehei* และ *C. rugosa* (Gunstone, 1996, p. 207)



ภาพ 1 ปฏิกิริยา Hydrolysis ไตรกลีเซอไรด์โดยเอนไซม์ไลเปส

ที่มา: Stehr, et al., 2003, p. 348

2. **ปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชัน** (Esterification) เป็นปฏิกิริยาย้อนกลับของปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส โดยเป็นปฏิกิริยาสร้างพันธะเอสเทอร์ระหว่างโมเลกุลของแอลกอฮอล์กับกรดไขมัน ปฏิกิริยานี้ต้องการน้ำน้อยมาก ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ ไตรกลีเซอไรด์ (ภาพ 2)

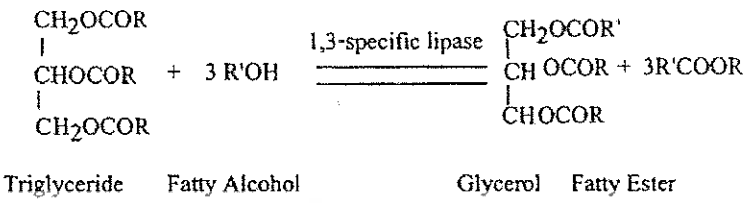


ภาพ 2 ปฏิกิริยา Esterification ของเอนไซม์ไลเปส

ที่มา: Kvittingen, 1994, p. 8254

3. **ปฏิกิริยาทรานส์เอสเทอริฟิเคชัน** (Transesterification) เป็นปฏิกิริยาสับเปลี่ยนหมู่จากสารชนิดหนึ่งไปยังสารอีกชนิดหนึ่ง ซึ่งเป็นสารเคมีประเภทเดียวกัน แบ่งออกเป็น ปฏิกิริยาย่อยๆ 4 ปฏิกิริยา คือ

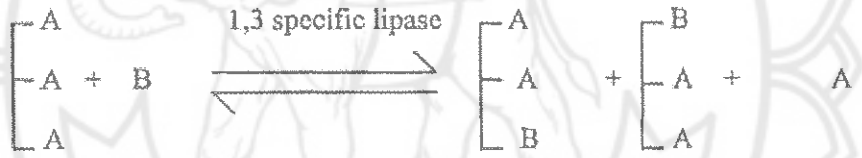
3.1 Alcoholysis เป็นปฏิกิริยาการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับไขมันแอลกอฮอล์ (fatty alcohol) (ภาพ 3) ที่เร่งโดยเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์บางชนิด เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *P. fluorescens* (Lee, et al., 2004, p. 533) *M. miehei* และ *Candida* sp. (Mittelbach, 1990, p.168) เป็นต้น



ภาพ 3 ปฏิกิริยา Alcoholysis ระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับไขมันแอลกอฮอล์

ที่มา: Macrae, 1983, p. 292

3.2 Acidolysis เป็นปฏิกิริยาแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกรดไขมันอิสระ (ภาพ 2.4) พบในเอนไซม์ไลเปสของ *M. miehei* (Gunstone, 1996, p. 213)



ภาพ 4 ปฏิกิริยา Acidolysis ระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกรดไขมันอิสระ

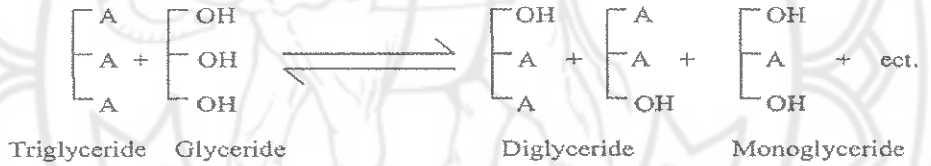
ที่มา: Macrae, 1983, p. 292

3.3 Ester-ester interchange (Interesterification) เป็นปฏิกิริยาแลก เปลี่ยนกรดไขมันระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับไตรกลีเซอไรด์ (ภาพ 5) เอนไซม์ไลเปสที่สามารถเร่งปฏิกิริยานี้มีทั้งกลุ่มที่ไม่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งกรดไขมัน เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *C. acnes* และ *S. aureus* และกลุ่มที่มีความจำเพาะต่อตำแหน่งกรดไขมัน เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *A. niger, M. javanicus* และ *R. arrhizus* (Gunstone, 1996, pp. 210-213)

ภาพ 5 ปฏิกิริยา Ester-ester interchange ระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับไตรกลีเซอไรด์

ที่มา: Macrae, 1983, p. 292

3.4 Glycerolysis เป็นปฏิกิริยาที่มีการแลกเปลี่ยนกรดไขมันระหว่างโมเลกุลของไตรกลีเซอไรด์กับกลีเซอรอล (ภาพ 6) พบในเอนไซม์ไลเปสจาก *Pseudomonas* sp. (Gunstone, 1996, p. 210)



ภาพ 6 ปฏิกิริยา Glycerolysis ระหว่างไตรกลีเซอไรด์กับกลีเซอรอล

ที่มา: Macrae, 1983, p. 292

ลักษณะที่เป็นบริเวณเร่งของเอนไซม์ไลเปส

บริเวณเร่ง (catalytic site) เป็นบริเวณที่มีการรวมกันของหมู่ R ของกรดอะมิโนซึ่งอยู่ในเปปไทด์สายเดียวกันหรือต่างสาย หมู่ R เหล่านั้นมาอยู่ใกล้กันเนื่องจากเอนไซม์มีการคดงออย่างจำเพาะ เพื่อให้มีโครงร่างพร้อมที่จะเกิดการเร่งปฏิกิริยาได้ โดยสับสเตรทจะเข้าไปจับที่บริเวณนี้ (ธีรารัตน์ อิทธิโสภณกุล, 2543, หน้า 33-34) กรดอะมิโนใดในโมเลกุลของเอนไซม์ที่หมู่ R เข้าทำปฏิกิริยาโดยตรงกับสับสเตรทเรียกกรดอะมิโนนั้นว่า หน่วยเร่ง (catalytic residue) ตัวอย่างเช่น เอนไซม์ chymotrypsin มี His57 และ Ser195 เป็นหน่วยเร่ง

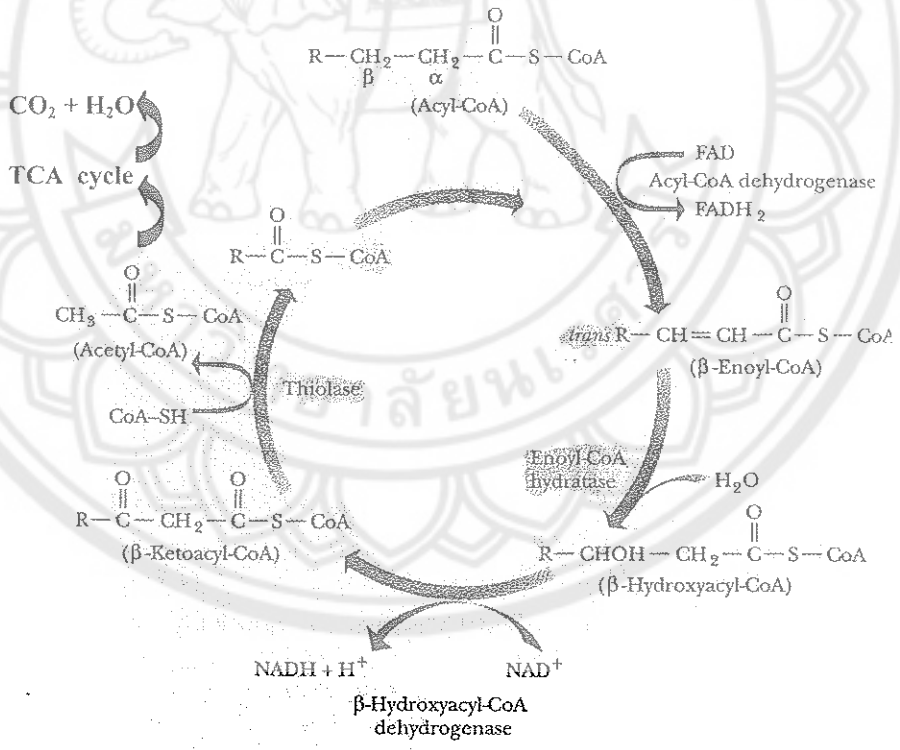
การจัดตัวของอะตอมต่างๆ ที่เป็นบริเวณเร่งมีผลอย่างมากต่อการรวมตัวระหว่างเอนไซม์และสับสเตรท เอนไซม์ไลเปสแต่ละชนิดจะมีลักษณะคล้ายกันของบริเวณเร่ง (catalytic site) คือ

ประกอบด้วย Ser, His และ Glu หรือ Asp โดยพบว่าการเรียงลำดับของกรดอะมิโนบริเวณเร่งของเอนไซม์ไลเปสเป็น -Ser-Asp-His- การเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ไลเปสจะเกิดขึ้นที่บริเวณผิวสัมผัสระหว่างชั้นของสับสเตรทกับชั้นน้ำ จากการศึกษาโครงสร้างสามมิติของผลึก (crystallographer structure) ของเอนไซม์ไลเปสหลายชนิด โดยใช้รังสีเอกซ์ (X-ray) พบว่า ลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนและขนาดของเอนไซม์ไลเปสจากแหล่งต่างๆ จะแตกต่างกัน เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *C. cylindracea* และ *G. candidum* (lipase I) การเรียงตัวของกรดอะมิโนมีความเหมือนกันร้อยละ 45 (Svendsen, 1994, pp. 1-21) เอนไซม์ไลเปสจาก *S. aureus* และ *S. hyicus* มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 34-46 กิโลดาลตัน (Brune and Gotz, 1992, p. 244) เอนไซม์ไลเปสของ *P. fluorescens* มีน้ำหนักโมเลกุล 45 กิโลดาลตัน (Sztajer, et al., 1991, pp. 492-496) เอนไซม์ไลเปสจาก *P. fragi* มีน้ำหนักโมเลกุล 33 กิโลดาลตัน (Nishio, et al., 1987, p. 39)

เอนไซม์ไลเปสทุกชนิดมีการจัดเรียงตัวของโมเลกุลในรูปแบบเดียวกัน คือ รูปแบบที่เรียกว่า α/β - hydrolase fold ซึ่งประกอบไปด้วยแกนกลางที่เป็นแผ่นพับเบตาแบบขนานกัน (parallel β-sheets) เป็นส่วนใหญ่ล้อมรอบด้วยเกลียวแอลฟา (α-helices) การจัดเรียงตัวแบบนี้ทำให้เกิดการจัดเรียงตัวกันของกรดอะมิโน 3 ชนิดในทิศทางและตำแหน่งที่เหมาะสมเกิดเป็นเครื่องมือในการเร่งปฏิกิริยาที่เรียกว่า catalytic triad จากการศึกษาโครงสร้างเอนไซม์ไลเปสจาก *G. candidum* พบว่า มีลำดับการเรียงตัวของกรดอะมิโนบริเวณเร่งเป็น Ser217, Glu354, His463 (Schrag, et al., 1991, pp. 761-764) เอนไซม์ไลเปสจาก *S. aureus* และ *S. hyicus* มีกรดอะมิโน 100 เรซิดิวซ์ (Brune and Gotz, 1992, p. 244) เอนไซม์ไลเปสจาก *S. hyicus* มีกรดอะมิโนที่บริเวณเร่งเป็น His269 และ Ser369 (Van, et al., 1989, p. 9278) ตรงบริเวณเร่งจะมีกรดอะมิโนเรียงตัวเป็นรูปร่างเกลียว (α-helix) ปกคลุมอยู่เรียกว่าฝาปิด (lid หรือ flap) (Riddihough, 1993, p. 793) ซึ่งฝาปิดนี้จะเปิดออกเมื่อเกิดการกระตุ้นที่บริเวณผิวสัมผัส (interfacial activation) เพื่อให้บริเวณเร่งที่อยู่ลึกลงไปในโมเลกุลเอนไซม์ไลเปสสามารถสัมผัสกับสับสเตรท องค์ประกอบที่เป็นกรดอะมิโนโครงสร้างเอนไซม์ไลเปสต่างชนิดกันจะมีความแตกต่างในจำนวนและการจัดเรียงตำแหน่งของกรดอะมิโน

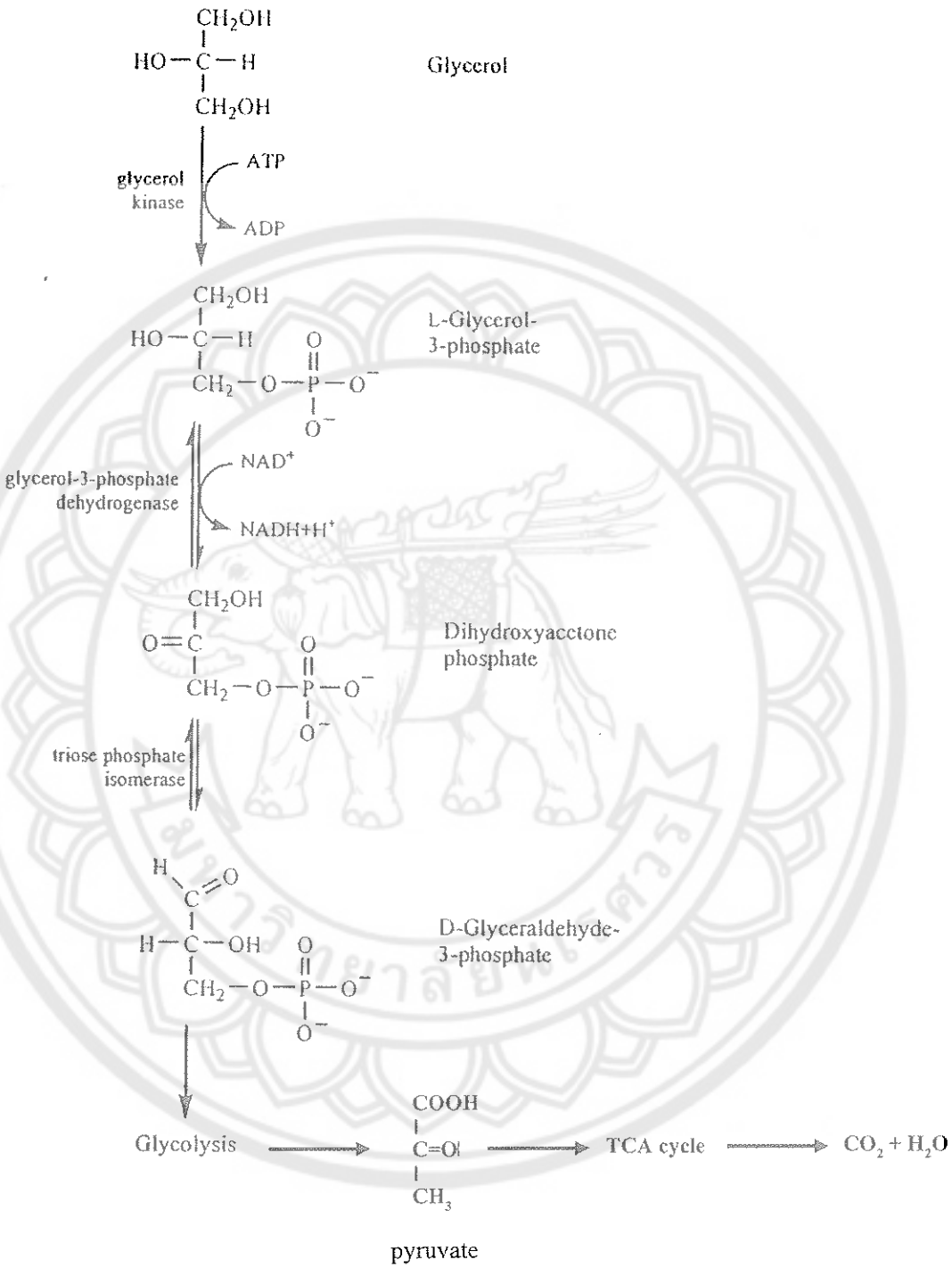
เมตาบอลิซึมของไลปิดในจุลินทรีย์

จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ไลเปสภายในเซลล์และขับออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยโมเลกุลของไลปิด ผลจากการย่อยอย่างสมบูรณ์ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล โดยกรดไขมันจะถูกนำเข้าสู่กระบวนการย่อยภายในเซลล์ผ่านวิถีเบตาออกซิเดชัน (β-oxydation) ได้เป็นอะซิทิลโคเอ (acetyl CoA) เข้าสู่วัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอสิก (tricarboxylic acid cycle) ได้สารประกอบพลังงานสูง คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (ภาพ 7) ในส่วนของกลีเซอรอล จุลินทรีย์สามารถเมตาบอไลซ์ภายในเซลล์ โดยเติมหมู่ฟอสเฟตให้กับกลีเซอรอลเปลี่ยนเป็นกลีเซอราลดีไฮด์ 3 ฟอสเฟต (glyceraldehyde-3- phosphate) ซึ่งใช้เป็นตัวกลางในวิถีไกลโคไลซีส (glycolysis) และถูกเมตาบอไลซ์ต่อไปเป็นไพรูเวต (pyruvate) ก่อนเข้าสู่วัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอสิก ผ่านโมเลกุลของอะซิทิลโคเอ ได้ผลิตภัณฑ์เป็นสารประกอบพลังงานสูง คาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำเช่นเดียวกัน (ภาพ 8)



ภาพ 7 วิถีเบตาออกซิเดชันของกรดไขมัน

ที่มา: Campbell, 1999, p. 577



ภาพ 8 ปฏิกิริยาการย่อยสลายกลีเซอรอล

ที่มา: Campbell, 1999, p. 594

แหล่งของเอนไซม์ไลเปส

เอนไซม์ไลเปสพบในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยเอนไซม์ที่พบในพืชส่วนใหญ่พบในเมล็ดที่กำลังงอกหรือต้นอ่อนของพวกธัญพืช เช่น ข้าวไรย์ ข้าวสาลี ข้าวโอ๊ต ถั่วเหลือง ฝ้าย และละหุ่ง (Arnole, et al., 1975, pp. 1127-1143; Woolley and Petersen, 1994, pp. 49-93) เอนไซม์ไลเปสจากสัตว์ พบในส่วนที่เป็นเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ เช่น หัวใจ ไต สมอง ตับ ตับอ่อน และน้ำนมของม้า หมู หนูตะเภา ลูกแพะ ลูกแกะ และมนุษย์ (Shahani, 1975, pp. 181-217) เอนไซม์ไลเปสจากพืชและสัตว์มีความเสถียร (stability) ต่ำกว่าเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์ และมีคุณสมบัติแตกต่างกันออกไป ตัวอย่างจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปส เช่น ยีสต์สกุล *Candida, Geotrichum, Pichia, Rhodotorula, Saccharomyces, Torulaspora, Trichosporon* และ *Yarrowia* ราเส้นใยสกุล *Acremonium, Alternaria, Ashbya, Aspergillus, Beauveria, Eurotrium, Fusarium, Humicola, Mucor, Ophiostoma, Penicillium, Rhizomucor* และ *Rhizopus* เป็นต้น (Sharma, et al., 2001, pp. 637-639)

แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส

แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสมีหลายสกุลหลายชนิด (ตาราง 1) แบคทีเรียแต่ละชนิดจะผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดขึ้นกับสภาวะที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง และกระบวนการหมักที่เหมาะสม เช่น *Pseudomonas* sp. 3AT ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุด 1982.23 U/L เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีอัตราส่วนน้ำมันมะกอกต่อน้ำมันดอกทานตะวันเท่ากับ 1:1 ในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที นาน 48 ชั่วโมง (Haba, et al., 2000, pp. 40-44) และ *B. thermoleovorans* ID-1 ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุด 520 U/L เมื่อใช้น้ำมันมะกอก 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน โดยเพาะเลี้ยงในกระบวนการหมักแบบเบ็ดเสร็จ (batch culture) (Lee, et al., 1999, pp. 393-400)

ตาราง 1 แสดงแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส

สกุล	ชนิด	เอกสารอ้างอิง
Achromobacter	*A. lipolyticum*	Brune and Gotz, 1992
		Davranov, 1994
	Achromobacter sp.	Mitsuda, et al., 1988
Acinetobacter	*Aci. pseudoalcaligenes*	Sztajer, et al., 1988
	Aci. radioresistens	Chen, et al., 1999
		Liu and Tsai, 2003
	Acinetobacter sp.	Wakelin and Forster, 1997
		Barbaro, et al., 2001
	Acinetobacter sp. RAG-1	Snellman, et al., 2002
	Aci. calcoaceticus	Dharmsthiti, et al., 1998
		Jaeger, et al., 1999
		Pandey, et al., 1999
		Pratuangdejkul and Dharmsthiti, 2000
	Aci. calcoaceticus AAC323-1	Bompensieri, et al., 1996
	Aci. calcoaceticus LP009	Pratuangdejkul and Dharmsthiti, 2000
	Aci. radioresistens	Liu and Tsai, 2003
	Aci. radioresistens CMC-1	Hong and Chang, 1998
Aeromonas	*Ae. hydrophila*	Anguita, et al., 1993
	Ae. sorbia LP004	Lotrakul and Dharmsthiti, 1997
Alcaligenes	*Alcaligenes* sp.	Mitsuda, et al., 1988
	A. denitrificans	Odera, et al., 1986
Arthrobacter	*Arthrobacter* sp.	Pandey, et al., 1999
Archaeglobus	*Ar. fulgidus*	Jaeger, et al., 1999
Bacillus	*B. acidocaldarius*	Manco, et al., 1998
	B. alkalophilus	Ghanem, et al., 2000
	B. atrophaeus	Bradoo, et al., 1999
	B. brevis	Hou, 1994
	B. cereus	El-Shafei and Rezkallah, 1997
	B. coagulans	El-Shafei and Rezkallah, 1997
	B. laterosporus	Toyo-Jozo, 1988

ตาราง 1 (ต่อ)

สกุล	ชนิด	เอกสารอ้างอิง
	B. licheniformis strain H1	Horani, 1996
	B. megaterium	Hirohara, et al., 1985
		Godtfredsen, 1990
	B. pumilus	Jaeger, et al., 1999
	B. pumilus B26 (recom.)	Kim, et al., 2002
	B. thaiaminolyticus	Toyo-Jozo, 1988
	B. thermocatenulatus	Rua, et al., 1998
		Jaeger, et al., 1999
		Pandey, et al., 1999
	B. thermocatenulatus (recom.)	Schmidt-Dannert, et al., 1996
	B. thermoleovorans	Lee, et al., 1999
	B. thermooleovorans ID-1	Lee, et al., 1999
	B. sphaericus	Toyo-Jozo, 1988
	B. stearothermophilus	Gowland, et al., 1987
		Bradoo, et al., 1999
		Jaeger, et al., 1999; Kim, et al., 2000
	B. stearothermophilus (recom.)	Kim, et al., 2000
	B. subtilis	Kennedy and Rennarz,1979
		Jaeger, et al., 1999
		Lesuisse, et al., 1993
	B. subtilis 168	Lesuisse, et al., 1993
	Bacillus sp.	Helisto and Korpela., 1998
		Sidhu, et al., 1998
		Pandey, et al., 1999
		Sharma, et al., 2002
		Nawani and Kaur, 2000
	Bacillus sp. THL027	Dharmsthiti and Luchai, 1999
	Bacillus sp. IHI-91	Becker, et al., 1997
	Bacillus sp. WAI 28A5	Jansen, et al., 1994

ตาราง 1 (ต่อ)

สกุล	ชนิด	เอกสารอ้างอิง
	Bacillus sp. RS-12	Sidhu, et al., 1998
	Bacillus sp. J 33	Nawani and Kaur, 2000
	Bacillus sp. strain 398	Kim, et al., 1994
	Bacillus strain A30-1	Wang, et al., 1995
Brochothrix	*Brochothrix thermosphacta*	Brune and Gotz, 1992
Burkholderia	*Bu. glumae*	Jaeger and Reetz, 1998
		Reetz and Jaeger, 1998
		El Khattabi, et al., 2000
	Burkholderia sp.	Yeo, et al., 1998; Rathi, et al., 2001
		Rathi, et al., 2000, 2001
		Bradoo, et al., 2002
Chromobacterium	*C. violaceum*	Koritala, et al., 1987
	Chromobacterium sp.	Koritala, et al., 1987
	C. viscosum	Rees and Robinson, 1995
		Helisto and Korpela, 1998
		Jaeger and Reetz, 1998
		Vicente, et al., 1990
		Vicente, et al., 1990
Corynebacterium	*Co. acnes*	Brune and Gotz, 1992
Enterococcus	*E. faecalis*	Kar, et al., 1996
Geobacillus	*Geobacillus* sp.	Abdel-Fattah, 2002
Lactobacillus	*L. curvatus*	Brune and Gotz, 1992
	L. delbrueckii subsp. *bulgaricus*	El-Sawah, et al., 1995
	L. plantarum	Lopes, et al., 2002
	Lactobacillus sp.	Meyers, et al., 1996
Micrococcus	*M. freudenreichii*	Hou, 1994
	M. luteus	Hou, 1994
Microthrix	*Mic. parvicella*	Wakelin and Forster, 1997
Moraxella	*Moraxella* sp.	Jaeger, et al., 1999
Mycobacterium	*My. chelonae*	Pandey, et al., 1999

ตาราง 1 (ต่อ)

สกุล	ชนิด	เอกสารอ้างอิง
Pasteurella	*P. multocida*	Pratt, et al., 2000
Propionibacterium	*Pro. acne*	Sztajer, et al., 1988
		Jaeger, et al., 1999
	Pro. avidium	Brune and Gotz, 1992
	Pro. granulosum	Sztajer, et al., 1988
		Brune and Gotz, 1992
Proteus	*Pr. vulgaris*	Jaeger, et al., 1999
Pseudomonas	*P. aeruginosa*	Aoyama, et al., 1988
		Hou, 1994
		Ito, et al., 2001
	P. aeruginosa LP602	Dharmsthiti and Kuhasuntisuk, 1998
	P. aeruginosa EF2	Palekar, et al., 2000
	P. alcaligenes	Jaeger, et al., 1994
		Jaeger and Reetz, 1998
	P. aureofaciens	Koritala, et al., 1987
	P. cepacia	Penereach and Baratti, 1996
		Lang, et al., 1998
		Hsu, et al., 2000
	P. cepacia DSM 50181	Dunhaupt, et al., 1991
	P. fluorescens	Maragoni,1994
		Guillou, et al., 1995
		Arpigny and Jaeger, 1999
		Pandey, et al., 1999
	P. fluorescens AK 102	Kojima, et al., 1994
	P. fluorescens MC50	Brune and Gotz, 1992
	P. fluorescens NS2W	Kulkarni and Gadre, 2002
	P. fragi	Mencher and Alford, 1967
		Jaeger, et al., 1994
	P. fragi 22.39B	Brune and Gotz, 1992

ตาราง 1 (ต่อ)

สกุล	ชนิด	เอกสารอ้างอิง
	P. glumae	Frenken, et al., 1993
		Jaeger, et al., 1994
	P. mendocina	Jaeger and Reetz,1998
		Jaeger, et al., 1999
		Surinenaite, et al., 2002
	P. mendocina 3121-1	Surinenaite, et al., 2002
	P. multocida	Pratt, et al., 2000
	P. pseudoalcaligenes	Lin, et al., 1995, 1996
	P. pseudoalcaligenes F- 111	Lin, et al., 1996
	P. putida	Lee and Rhee, 1994
	P. putida 3SK	Lee and Rhee, 1994
	P. putida ATCC 795	Pabai, et al., 1995
	Pseudomonas sp.	Sin, et al., 1998; Dong, et al., 1999
		Reetz and Jaeger, 1998
		Miyazawa, et al., 1998
	Pseudomonas sp. G6	Kanwar, et al., 2002
	Pseudomonas sp. KWI-56	Iizumi, et al., 1990
	Pseudomonas sp. ATCC 21808	Kordel, et al., 1991
	Pseudomonas sp. Yo103	Kim, et al., 1997
	Pseudomonas sp. (PSL)	Dong, et al., 1999
	Pseudomonas sp. strain KB 700A	Rashid, et al., 2001
	P. luteola	Arpigny and Jaeger, 1999;
		Litthauer, et al., 2002
	P. nitroreducens var.	Ghanem, et al., 2000
	thermotolerans	
	P. pseudomallei	Kanwar and Goswami, 2002
	P. wisconsinensis	Arpigny and Jaeger, 1999
Psychrobacter	*Ps. immobilis*	Jaeger, et al., 1999
Serratia	*Serratia marcescens*	Matsumae, et al., 1993
		Pandey, et al., 1999; Abdou, 2003

ตาราง 1 (ต่อ)

สกุล	ชนิด	เอกสารอ้างอิง
Staphylococcus	*S. aureus*	Lee and Yandolo, 1986
		Simons, et al., 1996
		Jaeger, et al., 1999; Paiva, et al., 2000
	S. canosus	Tahoun, et al., 1985
	S. epidermidis	Farrell, et al., 1993; Simons, et al., 1998
		Jaeger, et al., 1999
	S. haemolyticus	Oh, et al., 1999
	S. haemolyticus L62	Oh, et al., 1999
	S. hyicus	Van Oort,et al., 1989
		Meens, et al., 1997; Jaeger, et al., 1999
		van Kampen, et al., 2001
	S. warneri	Talon, et al., 1995; Pandey, et al.,1999
		van Kampen, et al., 2001
	S. warneri lipase 2	van Kampen, et al., 2001
	S. warneri 863	van Kampen, et al., 2001
	S. xylosus	Pandey, et al., 1999
		van Kampen, et al., 2001
	S. aureus	Simons, et al., 1996
Streptomyces	*Strep. lactis*	Sztajer, et al., 1988
	Strep. exfoliatus	Arpigny and Jaeger, 1999
	Strep. fradiae NCIB 8233	Sztajer, et al., 1988
	Streptomyces sp. PCB27	Sztajer, et al., 1988
	Streptomyces sp. CCM 33	Sztajer, et al., 1988
	Strep. coelicolor	Hou, 1994
	Strep. cinnamomeus	Sommer, et al., 1997
Sulfolobus	*Su. acidocaldarius*	Jaeger, et al., 1999
Vibrio	*V. chloreae*	Jaeger, et al., 1999

ที่มา: Jaeger, et al., 1994; Sharma, et al., 2001; Gupta and Rathi, 2004

ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย

แบคทีเรียบางชนิดบางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดที่ปลายระยะ log เช่น *B. subtilis* (Kennedy and Lennarz, 1979, pp. 1080-1089) *P. aeruginosa* YS-7 (Stuer, et al., 1986, pp. 1070-1074; Shabtai and Daya-Mishne, 1992, pp. 178-180) *P. fragi* CRDA137 (Schuepp, et al., 1994, pp. 225-232) *P. fragi* CRDA323 (Pabai, et al., 1995, pp. 42-51) *A. calcoceticus* BD413 (Cordenons, et al., 1996, pp. 633-638) และ *Bacillus* sp. IHI-91 (Becker, et al., 1997, pp. 184-190) ในขณะที่แบคทีเรียบางชนิดบางสายพันธุ์ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดในระยะ stationary เช่น *P. aeruginosa* EF2 (Gilbert, et al., 1991, pp. 2223-2229) *P. cepacia* (Sugihara, et al., 1992, pp. 598-603) *Bacillus* sp. (Handelsman and Shoham, 1994, pp. 435-443) และ *B. licheniformis* (Horani, 1996, pp. 399-401) โดยทั่วไปแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสในรูปของ extracellular lipase เช่น *P. aeruginosa* (Stuer, et al., 1986, pp. 1070-1074) *P. fluorescens* (Paquette and Mckellar, 1986, pp. 655-658) *S. hyicus* (Ayora, Lindgren and Gotz, 1994, p. 3218) *A. calcoaceticus* (Kok, et al., 1995, p. 803) *B. thermoglucosidasius, B. stearothermophilus, B. subtilis* (Hamid, et al., 2003, pp. 961-968) และ *S. epidermidis* (Joseph, et al., 2007, pp. 39-48) แบคทีเรียบางชนิดผลิต intracellular lipase เช่น *A. denitrificans* (Odera, et al., 1986, pp. 363-371) ทั้งนี้การเลี้ยงแบคทีเรียให้อยู่ในสภาพอาหารจำกัดจะเหนี่ยวนำการผลิต extracellular lipase (Suzuki, et al., 1986, pp. 1207-1213) สำหรับปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียสรุปดังนี้

1. **ชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอน**

ชนิดและปริมาณแหล่งคาร์บอนเป็นปัจจัยสำคัญปัจจัยหนึ่งที่มีผลต่อการเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย (Stanbury, et al., 1995, p. 357) แบคทีเรียบางชนิดต้องการแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว เช่น *Bacillus* sp. ต้องการเปปโตน (Sugihara, 1991, pp. 211-216) และ *P. aeruginosa* EF2 ต้องการ Tween 80 (Gilbert, et al., 1991, pp. 2223-2229) ในขณะที่ *C. viscosum* ต้องการแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม 2 ชนิด คือ แป้งมันสำปะหลังและกากถั่วเหลือง (Omar, 1987, pp. 37-45) นอกจากนี้ *Bacillus* sp. Wai 28A สามารถใช้สับสเตรทสังเคราะห์พวก tripalmitin, tristearin และ trimyristin โดยสามารถใช้ trimyristin เป็นแหล่งคาร์บอน และให้กิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส (Jenssen, et al., 1994, pp. 650-657)

แหล่งคาร์บอนที่ใช้สำหรับการผลิตเอนไซม์ไลเปสส่วนใหญ่เป็นน้ำมันชนิดต่างๆ เช่น น้ำมันถั่วเหลืองและน้ำมันมะกอก (Kojima, et al., 1994, pp. 1564-1568) จากการศึกษาของ Lee, et al. (1993) พบว่า น้ำมันมะกอกเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดในการผลิตเอนไซม์ไลเปสจาก *P. fluorescens* S1K WI ในสภาวะที่เป็นเบส ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 7395 U/mg protein ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Wang, et al. (1995) ที่ผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. A30-1 (ATCC 53841) โดยพบว่า น้ำมันมะกอกเป็นแหล่งคาร์บอนดีกว่าน้ำมันข้าวโพด เช่นเดียวกับการศึกษาของ Lin, et al. (1996) ที่ผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์ไลเปสจาก *P. pseudoalcaligenes* F-111 ในอาหารที่มีน้ำมันมะกอกร้อยละ 0.4 และเมื่อมีการเติม Triton X-100 ร้อยละ 0.2 ร่วมด้วยจะทำให้การผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์ไลเปสเพิ่มสูงมากกว่าการใช้น้ำมันมะกอกเพียงอย่างเดียว

Haba, et al. (2000) ได้คัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินและน้ำเสียที่ปนเปื้อนไลปิด โดยใช้น้ำมันมะกอกและน้ำมันดอกทานตะวันเป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน โดยคัดแยกได้แบคทีเรียจำนวนทั้งหมด 47 ชนิด ใน 4 สกุล คือ *Pseudomonas, Bacillus, Rhodococcus* และ *Staphylococcus* ผลการทดลอง พบว่าแบคทีเรียในสกุล *Pseudomonas* 2 สายพันธุ์ คือ *Pseudomonas* sp. 3AT (1982.32 U/L) และ *P. aeruginosa* AT111 (1703.8 U/L) มีค่ากิจกรรมเอนไซม์ไลเปสสูงสุด เมื่อใช้อัตราส่วนน้ำมันมะกอกต่อน้ำมันดอกทานตะวันเท่ากับ 1:1 อย่างไรก็ตามความเข้มข้นของน้ำมันมะกอกมากกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งเอนไซม์ไลเปสจาก *B. thermolevorans* IHI-91 ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส

Bacillus sp. strain A30-1(ATCC 53841) สายพันธุ์ที่ทนอุณหภูมิสูงผลิตเอนไซม์ไลเปสสูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมันข้าวโพดและน้ำมันมะกอก 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนและพลังงาน (Wang, et al., 1995, pp. 433-438) แบคทีเรียที่ทนอุณหภูมิสูงชนิดอื่น เช่น *B. thermolevorans* ID-I เจริญและมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงสุดเมื่อเจริญในอาหารที่มีน้ำมันมะกอก 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงาน ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 520 U/L นอกจากนี้ยังสามารถเจริญได้ในแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานอื่นๆ เช่น น้ำมันถั่วเหลือง และมิเนอรอลออย เป็นต้น (Lee, et al., 1999, pp. 393-400) ทั้งนี้น้ำมันพืชเป็นอินดิวเซอร์ที่ดีที่สุดในการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย (Sharma, et al., 2002, pp.1075-1084)

2. ชนิดและปริมาณแหล่งไนโตรเจน

ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนมีความสำคัญต่อการเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย เพราะแบคทีเรียต้องใช้ไนโตรเจนในการสังเคราะห์เอนไซม์ไลเปสจากการแสดงออกของยีนที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ไลเปสบริเวณโครโมโซมของแบคทีเรีย แบคทีเรียมีความสามารถในการใช้ไนโตรเจนได้แตกต่างกัน ทั้งนี้แบคทีเรียส่วนใหญ่เจริญได้ดีและผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดในอาหารที่มีสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน เช่น โปรตีน เปปโตน ยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ บีฟเอ็กซ์แทร็กซ์ (Stanbury, et al.,1995, p. 357) *C. viscosum* ต้องการยูเรียซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์เป็นแหล่งไนโตรเจนเพื่อผลิตเอนไซม์ไลเปส (Yamaguchi, et al., 1982, pp. 999-1005) *A. calcoaceticus* ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้เพิ่มขึ้นเมื่อใช้กรดอะมิโนและทริปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจนเปรียบเทียบกับการใช้แอมโมเนียมไนเตรท ยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ และโปรตีโอสเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน (Cordenons, et al., 1996, pp. 633-638) Kumar, et al. (2005) พบว่า แหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดสำหรับการผลิตเอนไซม์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. คือ เปปโตน และยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ *Pseudomonas* sp. KW1-56 ซึ่งเป็นแบคทีเรียทนอุณหภูมิสูงจะผลิตไลเปสได้ดีในอาหารที่มีเปปโตน 2 เปอร์เซ็นต์ และ ยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ 0.1 เปอร์เซ็นต์ (Izumi, et al., 1990, pp. 1253-1258)

3. ไอออน

ไอออนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย เนื่องจากไอออนหลายชนิดเป็นโคแฟกเตอร์ที่สำคัญของเอนไซม์หลายชนิดที่จำเป็นต่อการเจริญของแบคทีเรีย โดยแบคทีเรียบางชนิดต้องการไอออนเพียงชนิดเดียว แต่แบคทีเรียบางชนิดต้องการไอออนหลายชนิดเพื่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปส

Janssen, et al. (1994) พบว่า *Bacillus* sp. มีกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสสูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี Mg^{2+}, Fe^{2+} และ Ca^{2+} เป็นองค์ประกอบ

Lin, et al. (1995) พบว่า Mg^{2+} มีส่วนในการส่งเสริมการผลิตเอนไซม์ไลเปสของ *P. pseudoalcaligenes* F-111 และ *P. pseudoalcaligenes* KKA-5 โดยผลิตเอนไซม์สูงสุดเมื่อมี Mg^{2+} เข้มข้น 0.8 โมล อยู่ในอาหาร และถ้าในอาหารไม่มี Mg^{2+} เป็นองค์ประกอบผลิตเอนไซม์ไลเปสลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ (Sharon et al., 1998, pp. 304-307) สำหรับ *Bacillus* sp. A 30-1 ต้องการ Ca^{2+}, Mg^{2+}, Na^{+}, Co^{2+}, Cu^{2+}, Fe^{2+}, K^{+}, Mn^{2+}, Mo^{2+} และ Zn^{2+} เพื่อผลิตเอนไซม์ไลเปส (Wang, et al., 1995, pp. 628-633)

Yamaguchi, et al. (1982) พบว่า Mg^{2+}, Mn^{2+}, Na^{2+} และ Li^{2+} มีส่วนในการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก *C. viscosum* แต่ Mn^{2+}, Zn^{2+} และ Cu^{2+} ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจาก *B. subtilis* 168 โดยรบกวนตำแหน่งที่เข้าทำปฏิกิริยาของเอนไซม์โดยตรง ทำให้มีผลต่อการเปลี่ยนแปลงอัตราการละลายและความเป็นประจุของกรดไขมันที่โมเลกุลของเอนไซม์ไลเปส (Lesuisse, 1993, pp. 155-160) *A. calcoaceticus* BD 413 ผลิต extracellular lipase เพิ่มขึ้น เมื่อความเข้มข้นของ Mg^{2+}, Ca^{2+}, Cu^{2+} และ Co^{2+} ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น (Kok, et al., 1995, pp. 803-818) แต่ Ca^{2+} ไม่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของ *Bacillus* sp. RS-12 สายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูง (Sidhu, et al., 1998, pp. 51-54)

Stuer, et al. (1986) ศึกษากิจกรรมเอนไซม์ไลเปสของ *P. aeruginosa* โดยพบว่าการเติม Ca^{2+} ลงไปในปฏิกิริยาจะช่วยให้เอนไซม์ไลเปสทำงานได้ดีขึ้น อธิบายได้ว่ากรดไขมันซึ่งเป็นผลผลิตจากการทำงานของเอนไซม์ไลเปสทำให้ reaction mixture มีความเป็นกรดมากขึ้น ทำให้เอนไซม์ไลเปสทำงานลดลง แต่ Ca^{2+} จะทำปฏิกิริยากับกรดไขมันเกิดเป็นเกลือแคลเซียมในรูปของสบู่ (insoluble calcium soap) แล้วตกตะกอนทำให้กรดไขมันลดลงส่งผลต่อความเป็นกรด-ด่างของ reaction mixture ที่ไม่เปลี่ยนแปลง ดังนั้นการทำงานของเอนไซม์ไลเปสจึงเป็นไปแบบต่อเนื่อง และเอนไซม์ไลเปสทำงานได้ดีขึ้นหากใน reaction mixture มีการสะสมกรดโอเลอิก ทั้งนี้เพราะกรดโอเลอิกจะทำหน้าที่กระตุ้นให้ Ca^{2+} ทำงาน โดย Ca^{2+} ทำงานได้ดีต่อเมื่อสับสเตรทเป็นไตรกลีเซอไรด์ชนิด higher fatty acid เท่านั้น ถ้าสับสเตรทเป็นไตรกลีเซอไรด์ชนิด lower fatty acid Ca^{2+} จะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Ca^{2+} สามารถเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ไลเปสไม่ได้ขึ้นกับความคงตัวของเอนไซม์ การขจัดกรดไขมันออกจากระบบของปฏิกิริยา และการเปลี่ยนรูปเป็นเกลือแคลเซียม แต่ขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของ emulsion stable ของ reaction mixture ซึ่งการเปลี่ยนแปลงนั้นเนื่องมาจากการทำงานของเกลือแคลเซียมที่มาจากการกระตุ้นของกรดไขมัน (Tsujisaka, et al., 1973, pp. 1457-1464) Wang, et al. (1988) สรุปสมมุติฐานเกี่ยวกับผลของ Ca^{2+} ที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ไลเปสไว้ 3 ประการ คือ 1) Ca^{2+} ช่วยเปลี่ยนรูปร่าง (Conformation) ของเอนไซม์ให้ทำงานได้ดีขึ้น 2) Ca^{2+} เพิ่มการดูดซึม (adsorption) ของเอนไซม์ไลเปสที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมันและ 3) Ca^{2+} ช่วยขจัดกรดไขมันออกจากพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างน้ำและน้ำมัน (oil-water interface) ทำให้เอนไซม์ทำงานดีขึ้น

4. **อุณหภูมิและพีเอช**

อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย โดยทั่วไปอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย แบคทีเรียกลุ่ม psychrophiles ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ

ป
ว.
ดุษ
ธ.ว
ส.ว.ม.
2552
I.4810594
2 - ธ.ค. 2552
25
สำนักหอสมุด

กว่า 20 องศาเซลเซียส แบคทีเรียกลุ่ม mesophiles ผลิตเอนไซม์ไลเปสที่อุณหภูมิประมาณ 25-45 องศาเซลเซียส เช่น *Acinetobacter* sp. SY1 และ SYD (Chappe, et al., 1994, pp. 103-114) *S. warneri* (Talon, et al., 1995, pp. 11-16) และ *P. fragi* CRDA037 (Schuepp, et al., 1996, pp. 225-232) แบคทีเรียกลุ่ม thermophiles ผลิตเอนไซม์ไลเปสที่อุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส (Daniel, 1995, p. 420) เช่น *P. cepacia* (Sugihara, et al., 1992, pp. 211-216) *P. fluorescens* (Kojima, et al., 1994, pp. 1564-1568) และ *B. licheniformis* (Horani, 1996, pp. 399-401)

พีเอชเป็นปัจจัยสำคัญซึ่งมีผลต่อการเจริญ และการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *P. cepacia* ทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 5.5 -6.5 (Sugihara, et al., 1992, pp. 211-216) เอนไซม์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. สายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูง เจริญและทำงานได้ดีในพีเอช 7 (Handelsman and Shoham, 1994, pp. 435-443) เอนไซม์ไลเปสจาก *P. fluorescens* AK102 ทำงานได้ดีในช่วงพีเอช 8-10 (Kojima, et al., 1994, pp. 1564-1568) และเอนไซม์ไลเปสของ *B. licheniformis* ทำงานได้ดีที่พีเอช 10 (Horani, 1996, pp. 399-401)

การประยุกต์ใช้เอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรม

เอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรียนิยมใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในกระบวนการซักล้าง (Jaeger and Reetz, 1998, pp. 397-398) อุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษ อุตสาหกรรมเครื่องสำอางและเวชภัณฑ์ อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม และอุตสาหกรรมเครื่องหนัง เป็นต้น (Sharma, et al., 2001, pp. 630-634; Hasan, et al., 2006, pp. 239-247)

1. **การใช้เอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรมสิ่งทอ**

บทบาทสำคัญของเอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรมสิ่งทอ คือ การเปลี่ยนแปลง ขนาดและกำจัดไขมัน ลดการถลอกในระบบการทอผ้าฝ้าย และการเตรียมเส้นใยโดยใช้เอนไซม์ไลเปสร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์คาตาเลส เพื่อกำจัดสารพวกเปอร์ออกไซด์หลังจากกระบวนการฟอกขาวทำให้คุณภาพสิ่งทอดีขึ้น เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *Pseudomonas* spp. (Hasan, et al., 2006, p. 241)

2. **การใช้เอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม**

ในกระบวนการผลิตชาดำมีการใช้เอนไซม์ไลเปสเพื่อปรับปรุงรสชาติและดัดแปลงกลิ่นของชาดำซึ่งเป็นคุณสมบัติเฉพาะตัวที่สำคัญ เนื่องจากเป็นการเพิ่มปริมาณกรดไขมันไม่อิ่มตัวเชิงซ้อน ในอุตสาหกรรมนมเอนไซม์ไลเปสมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายไขมันนม ปัจจุบันนำ

เอนไซม์ไลเปสมาใช้ในการปรับปรุงกลิ่นรสในผลิตภัณฑ์นมและขนมหวาน โดยการเลือกไฮโดรไลซ์ไตรกลีเซอไรด์เพื่อปลดปล่อยกรดไขมันอิสระ ซึ่งกรดไขมันอิสระเหล่านี้อาจทำหน้าที่เป็นตัวให้กลิ่นหรือสารเริ่มต้นในการผลิตกลิ่นที่สำคัญในผลิตภัณฑ์ (Sharma, et al., 2001, pp. 631-632) และช่วยสร้างกลิ่นรสของผลิตภัณฑ์เนยแข็งกลุ่มที่มีกระบวนการบ่มระหว่างผลิต เช่น Italian cheese, Blue cheese และ Roquefore cheese (Arnold, et al., 1975, pp. 1127-1143) และผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ อุตสาหกรรมการผลิตเบียร์ นอกจากนี้ใช้ในการกำจัดไขมันออกจากผลิตภัณฑ์ของเนื้อและปลา (Kazlauskas and Bornscheuer, 1998, pp. 37-39) รวมทั้งในอุตสาหกรรมผลิตน้ำมันพืช เอนไซม์ไลเปสถูกนำมาใช้ปรับปรุงคุณภาพของน้ำมัน และเพิ่มมูลค่าให้กับน้ำมันซึ่งมีราคาถูกโดยการผลิตเนยโกโก้จากน้ำมันปาล์มโดยใช้เอนไซม์ไลเปสแบบจำเพาะต่อตำแหน่งกรดไขมัน เพื่อเติมและเปลี่ยนตำแหน่งของกรดไขมันในน้ำมันปาล์มให้เหมือนกับกรดไขมันในเนยโกโก้จากธรรมชาติ (Pabai, et al., 1995, pp. 669-677; Undurraga, et al., 2001, pp. 933-939)

3. **การใช้เอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรมเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในกระบวนการซักล้าง**

วัตถุประสงค์ในการใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นส่วนผสมในเคมีภัณฑ์ที่ใช้ในกระบวนการซักล้าง คือ เพื่อกำจัดคราบไขมันที่ปนเปื้อน ปัจจุบันเอนไซม์ไลเปสถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของผงซักฟอกและสารทำความสะอาดอื่นๆ และใช้เป็นส่วนประกอบในน้ำยาล้างจานที่ใช้กับเครื่องล้างจานอัตโนมัติ โดยช่วยลดปริมาณสารซักล้างซึ่งเป็นสารเคมีที่มีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อม เอนไซม์ไลเปสที่ผสมในผงซักฟอกและสารทำความสะอาดอื่นๆ ไม่เป็นอันตรายต่อสิ่งมีชีวิตในน้ำ (Hasan, et al., 2006, pp. 241-242) นอกจากนี้ในปัจจุบันมีการใช้เอนไซม์ไลเปสเป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์ทำความสะอาดประเภทอื่นๆ เช่น น้ำยาทำความสะอาดเครื่องหนัง น้ำยาล้างคอนแทคเลนส์ น้ำยาล้างท่อน้ำอุดตัน และน้ำยาทำความสะอาดท่อไอเสีย เป็นต้น (Yeoh, et al., 1986, pp. 298-300; Wang, et al., 1995, p. 433; Chen, et al., 1998, pp. 308-312; Cardenas, et al., 2001, pp. 111-112)

เอนไซม์ไลเปสที่จะใช้เป็นส่วนประกอบของกับสารซักล้างควรมีคุณสมบัติดังนี้ (Sharma, et al., 2001, p. 630)

1. มีความจำเพาะต่อสับสเตรทต่ำ (low substrate specificity) โดยเอนไซม์สามารถย่อยสลายไตรกลีเซอไรด์ได้หลากหลายชนิด

2. มีความคงตัวที่ช่วงอุณหภูมิและพีเอชกว้าง มีความคงทนต่ออุณหภูมิและพีเอชที่สูง เช่น ช่วงอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส และช่วงพีเอช 10-11

3. ทนทานต่อสารเคมี เช่น สารที่เติมลงในผงซักฟอกเพื่อลดแรงตึงผิว (linear alkyl benzene sulfonate; LAS) และทนต่อการทำลายจากเอนไซม์อื่นๆ ที่เติมลงไปร่วมกัน เช่น เอนไซม์โปรติเอส (protease)

ปัจจุบันเอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรียที่เติมลงไปในสารซักล้าง คือ เอนไซม์ไลเปสที่ผลิตจาก *A. radioresistens*, *B. pumilus*, *P. mendocina*, *P. alcaligenes* และ *P. lumae* (Jaeger, et al., 1994, pp. 50-52; Chen, et al., 1998, pp. 308-312)

4. **การใช้เอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษ**

เอนไซม์ไลเปสมีประโยชน์ต่ออุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษโดยใช้เอนไซม์ไลเปสในการย่อยเยื่อกระดาษทำให้ดึงองค์ประกอบที่เป็นไฮโดรโฟบิคที่เรียกว่า "Pitch" ซึ่งมีส่วนประกอบสำคัญเป็นไตรกลีเซอไรด์และแวกซ์ออกจากเนื้อไม้ ซึ่งเป็นปัญหาใหญ่ในอุตสาหกรรม (Jaeger and Reetz, 1998, pp. 396-403) นอกจากนี้ใช้ในขั้นตอนการฟอกขาว การลงแป้งดิบ การดึงหมึกออก และช่วยเพิ่มปริมาณของเยื่อกระดาษในการนำกระดาษกลับมาใช้ใหม่ นอกจากนี้ประโยชน์ด้านอื่นๆ ของเอนไซม์ไลเปส คือ ช่วยยืดอายุการใช้งานของเครื่องมือ ลดมลภาวะของน้ำเสีย ประหยัดพลังงานและเวลา และลดค่าใช้จ่ายของการผลิตเยื่อกระดาษ (Jaeger and Reetz, 1998, pp. 396-403; Sharma, et al., 2001, pp. 627-662)

5. **อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยาและเวชภัณฑ์**

ในการผลิตเครื่องสำอาง เอนไซม์ไลเปสถูกใช้เป็นส่วนผสมในผลิตภัณฑ์หลายชนิด เช่น ครีมบำรุงผิว ครีมอาบแดด ครีมและเจลลดกระชับสัดส่วน และน้ำมันนวดตัวหลังการอาบน้ำ เป็นต้น ผลิตภัณฑ์สารเสริมสุขภาพที่มีเอนไซม์ไลเปสเป็นองค์ประกอบจะช่วยย่อยไขมันปนเปื้อนในกระแสเลือด นอกจากนี้เอนไซม์ไลเปสถูกนำมาใช้เป็นส่วนผสมของสารช่วยเพิ่มประสิทธิภาพในการย่อยและยารักษาสภาวะพร่องเอนไซม์ในกระเพาะอาหารและลำไส้ร่วมกับเอนไซม์อื่นๆ เช่น เอนไซม์โปรตีเอส อะไมเลส และเซลลูเลส

กรดไขมันไม่อิ่มตัวหลายพันธะคู่ (polyunsaturated fatty acid; PUFAs) ถูกนำมาใช้เป็น pharmaceuticals และ neutraceuticals (Gill and Valivety, 1997, pp. 401-409; Belarbi, et al., 2000, pp. 516-517) โดย PUFAs เป็นกรดไขมันที่จำเป็นต่อร่างกาย เป็นส่วนประกอบของเมมเบรนและเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ฮอร์โมนพรอสตาแกลนดิน ดังนั้นจึงมีการใช้เอนไซม์ไลเปสในการเพิ่มความเข้มข้นของ PUFAs จากไขมันสัตว์และพืช เช่น ปลาทูน่า ปลาเมนฮาเดน น้ำมันจากต้นบอแรก โดย PUFAs อิสระ รวมทั้งโมโนกลีเซอไรด์ และไดกลีเซอไรด์ที่ถูกนำไปใช้ในการผลิตยา เช่น ยาลดโคเลสเตอรอล (anticholesterolemic drugs) ยาลดการอักเสบ (anti-inflammatory drugs) และยาป้องกันการแตกตัวของลิ่มเลือด (thrombolytic drugs)

งานวิจัยที่เกี่ยวข้องกับการคัดแยกจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินป่าไม้

Ko, Wang and Ann (2005) คัดแยกจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ไลเปสจากดินในเขตกสิกรรมและดินป่าไม้ โดยใช้อาหารที่มีไลปิดชนิดต่างๆ เป็นสับสเตรท พบว่าสามารถคัดแยกจุลินทรีย์ผลิตไลเปสได้อย่างชัดเจนและจุลินทรีย์ทั้งหมดแบคทีเรียมีจำนวนมากที่สุด รองลงมาคือแอคติโนมัยสีทและฟังไจ

Ruiz, Pastor and Diaz (2005) คัดแยกจุลินทรีย์จากดินป่าไม้เพื่อตรวจหาจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆ โดยใช้อาหาร CeNAN – olive oil ในการทดสอบจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ไลเปส พบว่าครึ่งหนึ่งของจุลินทรีย์ทั้งหมดที่คัดแยกสามารถย่อยสลายไลปิดและพบจุลินทรีย์ 29 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตเอนไซม์ไลเปส และสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์ไลเปสสูงที่สูด คือ *Bacillus* sp. CR-179

Gupta, Gupta and Rathi (2004) ได้รวบรวมเกี่ยวกับคุณสมบัติของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส พบว่า จะสามารถทำงานได้ในช่วงพีเอชตั้งแต่ 3 -12 และมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมกว้างตั้งแต่ 30 – 60 องศาเซลเซียส *Bacillus* sp. ทนอุณหภูมิสูงได้ดีกว่าแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสชนิดอื่นๆ และแคลเซียมไอออนจะช่วยส่งเสริมการผลิตเอนไซม์ไลเปส แต่โลหะไอออน เช่น Co^{2+}, Ni^{2+}, Hg^{2+} และ Sn^{2+} จะยับยั้งการผลิตเอนไซม์ไลเปส

Kulkami and Gradre (2002) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเอนไซม์ไลเปสจาก *P. fluorescens* NS2W พบว่าสภาวะที่ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดคือ เพาะเลี้ยงในอาหารพีเอช 9 ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ในฟลาสก์รูปกรวย และถังหมักขนาด 1 ลิตร ให้ค่ากิจกรรมเอนไซม์สูงสุดเท่ากับ 69.7 U/ml ในฟลาสก์รูปกรวย และ 68.7 U/ml ในถังหมัก และทนต่อช่วงอุณหภูมิ 30-60 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรมเอนไซม์มากกว่า 70 เปอร์เซ็นต์ นาน 2 ชั่วโมง นอกจากนี้พบว่าน้ำมันจากพืชชนิดต่างๆ เป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีกว่าคาร์โบไฮเดรทชนิดต่างๆ

Sharma, et al. (2002) ศึกษาลักษณะเฉพาะและวิธีการทำบริสุทธิ์ของ *Bacillus* sp. RSJ – 1 ทนอุณหภูมิสูง พบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปส คือ เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีสารอินทรีย์และน้ำมันจากเมล็ดฝ้ายเป็นองค์ประกอบที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส พีเอช 8 และ 9 ความเร็ว 200 รอบต่อนาที และเอนไซม์บริสุทธิ์มีน้ำหนักโมเลกุล 37 กิโลดาลตัน

Dalmua, et al. (2000) ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันจะมีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของ *C. rugosa* โดยเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรทและกรดอินทรีย์ที่ไม่ใช่ไลปิดเป็นองค์ประกอบ ผลการทดลองพบว่า แหล่งคาร์บอนดังกล่าวไม่สามารถชักนำให้มีการผลิตเอนไซม์ไลเปส แต่ถ้าเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีไลปิดเป็นแหล่งคาร์บอนจะชักนำให้ผลิตเอนไซม์ไลเปสส่งออกภายนอกเซลล์ การเพาะเลี้ยงยีสต์บนอาหารที่มีแหล่งคาร์บอน 2 ชนิดร่วมกันคือ คาร์โบไฮเดรท

และกรดไขมันไม่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสให้เพิ่มขึ้น นอกจากนี้กลูโคสจะมีผลยับยั้งการผลิตเอนไซม์ไลเปส

Becker, et al. (1999) ศึกษาการย่อยน้ำมันมะกอกและน้ำเสียที่มีไลปิดปนเปื้อนสูงจากโรงงานอุตสาหกรรมโดย *B. thermolevorans* ที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส พบว่าแบคทีเรียสามารถย่อยน้ำมันมะกอกได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่ถ้าน้ำมันมะกอกมีความเข้มข้นมากกว่า 4 กรัมต่อลิตรจะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปส

Sarkar, et al. (1997) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมผลิตเอนไซม์ไลเปส *Pseudomonas* sp. สายพันธุ์ที่แยกจากดิน พบว่าสภาวะที่เหมาะสม คือ เพาะเลี้ยงในอาหารดัดแปลง GYP ที่มีน้ำมันมะกอก 2 เปอร์เซ็นต์เป็นแหล่งคาร์บอน พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเร็ว 150 รอบต่อนาที และ *Pseudomonas* sp. ผลิตเอนไซม์ได้มากขึ้นเมื่อมีน้ำมันมะกอกเป็นแหล่งคาร์บอนและแอมโมเนียมไนเตรทเป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้ยังพบว่าสารอินทรีย์บางชนิดที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนจะยับยั้งการผลิตเอนไซม์ไลเปส