บทที่ 5

บทสรุป

อภิปรายผลการวิจัย

ดินป่าไม้เป็นดินที่มีอินทรีย์วัตถุเป็นองค์ประกอบสูงจึงเป็นแหล่งอาหารเหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์หลากหลายชนิด การคัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสครั้งนี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Ruiz, Pastor and Diaz (2005); Pennanen, et al. (1999) ที่สามารถคัดแยกแบคทีเรียได้มากกว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นจากดินป่าไม้ โดยจำนวนของแบคทีเรียแกรมลบพบมากกว่าแบคทีเรียแกรมบวกนั้นสอดคล้องกับงานวิจัยของ Grayston and Prescott (2005) ที่ตรวจวิเคราะห์จำนวนและชนิดของจุลินทรีย์ในดินป่าไม้ เช่นเดียวกับ Whang and Hattori (1988) ที่พบว่ามากกว่า 95 เปอร์เซ็นต์ของ Oligotrophic bacteria ที่แยกได้จากดินป่าไม้เป็นแบคทีเรียแกรมลบ โดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียในดินมีตั้งแต่ 5×10^3 ถึง 1×10^4 ในดิน 1 กรัม (Torsvik, Goksoyr and Daae, 1990, pp. 782-787; Rosch, Mergel and Bothe, 2002, pp. 3818-3829)

การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นต้น โดยใช้ค่าดัชนีเอนไซม์ในการพิจารณา พบว่ามีแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีค่าดัชนีเอนไซม์ตั้งแต่ 2 ขึ้นไปภายในระยะเวลา 48 ชั่วโมง ทั้งนี้ค่าดัชนีเอนไซม์ดังกล่าว ถือว่าเป็นแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่มีประสิทธิภาพดี (Ionita, et al., 1996, pp. 147-151; Saxena, 1999, pp. 1-18) De Morose และ Chandan (1982) พบว่าค่าดัชนีเอนไซม์จะมีแนวโน้มสอดคล้องกับค่ากิจกรรมของเอนไซม์ คือ ถ้าค่าดัชนีเอนไซม์สูงก็จะมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงเช่นกัน

การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสขั้นยืนยัน โดยวัดความสามารถในการผลิตกรดไขมันในอาหารเหลวทดสอบ และวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสในอาหาร olive oil แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส 7 ไอโซเลท สามารถเปลี่ยนสีของ bromocresol purple ภายใน 24 ชั่วโมง แต่แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส 39 ไอโซเลทเปลี่ยนสีของ bromocresol purple ได้ภายหลังเพาะเลี้ยงมากกว่า 24 ชั่วโมง ความสามารถในการผลิตกรดไขมัน และค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไม่มีความสัมพันธ์กันในเชิงปริมาณ แบคทีเรียบางไอโซเลทที่เปลี่ยนสีของ bromocresol purple ได้รวดเร็ว แต่ให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ต่ำ เนื่องจากพีเอชอาหารทดสอบความสามารถในการผลิตกรดไขมันเป็นกรด แต่พีเอชอาหารวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เป็นกลาง และมีแคลเซียมคาร์บอเนตช่วยปรับพีเอชให้เป็นกลางอย่างสม่ำเสมอ แบคทีเรียจะผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดีในช่วงพีเอชแตกต่างกัน แบคทีเรียบางสายพันธุ์เจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสในช่วงพีเอชเป็นกรด

เช่น *P. cepacia* เจริญและพบกิจกรรมของเอนไซม์สูงในช่วงพีเอช 5.5 -6.5 (Sugihara, et al., 1992, pp. 211-216) แบคทีเรียบางสายพันธุ์เจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสพีเอชเป็นกลาง เช่น *Bacillus* sp. สายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูง เจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสพีเอช 7 (Handelsman and Shoham, 1994, pp. 435-443) และแบคทีเรียบางสายพันธุ์เจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสช่วงพีเอชที่เป็นเบส เช่น *B. licheniformis* และ *P. fluorescens* AK102 เจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสช่วงของพีเอช 8 – 10 (Kojima, et al., 1994, pp. 1564-1568; Horani, 1996, pp. 399-401) ค่าที่วิเคราะห์ได้จึงไม่สัมพันธ์กัน อย่างไรก็ตามแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ที่ให้ค่าความสามารถในการผลิตกรดไขมันสูงมีแนวโน้มที่จะให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงเช่นกัน

จากการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย ทั้ง 3 ไอโซเลทที่คัดเลือก มีระยะ lag 4 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะ log จนถึงชั่วโมงที่ 9 จึงเริ่มเข้าสู่ระยะ stationary แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท ผลิตเอนไซม์ไลเปสในระยะ stationary เช่นเดียวกับ *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) และผลิตเอนไซม์กลุ่ม extracellular lipase ซึ่งแบคทีเรียและจุลินทรีย์ส่วนใหญ่ผลิตเอนไซม์ไลเปสในกลุ่มนี้ 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)

อุณหภูมิเป็นปัจจัยแวดล้อมสำคัญที่มีผลต่อการเจริญ ปฏิกิริยาเคมีที่เกิดขึ้นภายในเซลล์ การทำงานของเอนไซม์ และมีผลต่อความคงตัวของเอนไซม์ภายในเซลล์ โดยอุณหภูมิที่สูงขึ้นจะเร่งอัตราการเกิดปฏิกิริยาเคมีในเซลล์เพิ่มขึ้น แต่อุณหภูมิสูงเกินไปจะทำให้เอนไซม์หรือโปรตีนภายในเซลล์เสียสภาพการทำงาน ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียจึงเป็นอุณหภูมิที่เร่งปฏิกิริยาเคมีในเซลล์ได้สูงสุดโดยไม่ทำให้เอนไซม์และโปรตีนเสียคุณสมบัติไป (Daniel, 1995, pp. 1-420) นอกจากนี้อุณหภูมิมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงสมบัติทางกายภาพของไลปิด ที่อุณหภูมิเหมาะสมไลปิดจะอยู่ในรูปของเหลว ทำให้อัตราการแพร่ การถ่ายเทมวลสารและการละลายเพิ่มขึ้น จึงทำให้แบคทีเรียและเอนไซม์ไลเปสเข้าทำปฏิกิริยาได้ง่ายขึ้น (Becker, et al., 1999, pp. 653-660) อุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท คือ 30 องศาเซลเซียส และงานวิจัยนี้ใช้อุณหภูมิดังกล่าวในการคัดแยกแบคทีเรียตั้งแต่เริ่มต้น จึง

เป็นไปได้ว่าทำให้คัดแยกได้เฉพาะแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่สามารถเจริญเติบโตในอุณหภูมินี้เท่านั้น ช่วงอุณหภูมิ 25 – 45 องศาเซลเซียสเหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียกลุ่ม mesophiles ที่สามารถคัดแยกได้ในประเทศไทยและประเทศที่มีลักษณะภูมิอากาศร้อนชื้น รายงานวิจัยหลายฉบับพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียเช่นกัน (Chappe, et al., 1994, pp. 103-114; Talon, et al., 1995, pp. 11-16; Schuepp, et al., 1996, pp. 225-232)

พีเอชเป็นปัจจัยที่มีผลโดยตรงต่ออัตราการเจริญและระบบเมตาบอลิซึมของแบคทีเรีย โดยอัตราการเจริญของแบคทีเรียจะลดลงเมื่อพีเอชสูงหรือต่ำกว่าพีเอชที่เหมาะสม แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลท พีเอช 9 เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเอนไซม์ไลเปส ผลที่ได้สอดคล้องกับกรณีของ *P. fluorescens* AK102 ซึ่งเจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสช่วงพีเอช 8 – 10 (Kojima, et al., 1994) เอนไซม์ไลเปสที่ผลิตจากจุลินทรีย์จะมีประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์สูงสุดที่พีเอชเดียวกับพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญ (Sugihara, et al., 1992; Horani, 1996, pp. 399-401)

ออกซิเจนมีความสำคัญต่อการเจริญของแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้ายในกระบวนการหายใจ การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนเหมาะสมแบคทีเรียจะเจริญได้ดี เนื่องจากแบคทีเรียสามารถย่อยสลายสารอาหารและสร้างพลังงานสูง ส่งผลให้มีพลังงานเพียงพอต่อการนำไปใช้ในกระบวนการสร้างสารชีวโมเลกุลที่เป็นองค์ประกอบต่างๆ ภายในเซลล์ได้ดี แบคทีเรียสามารถใช้ออกซิเจนได้อย่างมีประสิทธิภาพเมื่ออยู่ในรูปของเหลว แต่ออกซิเจนจะมีข้อจำกัดคือ จะละลายได้ในปริมาณที่น้อยกว่าสารอาหารอื่น (Diniel, et al., 1979, pp. 157-193) การใช้เครื่องเขย่าในการให้อากาศทำให้เกิดการถ่ายเทของออกซิเจนและทำให้มีอัตราการละลายของออกซิเจนเพิ่มขึ้น (Solomons, 1969, p. 331) การเพาะเลี้ยงบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที เหมาะสมต่อปริมาณออกซิเจนที่แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทนำไปผลิตเอนไซม์ไลเปส *Burkholderia* sp. C20 ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดีเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที (Liu et al., 2006, pp. 1940-1944) เช่นเดียวกับ Park and Lee (2005) พบว่า *Burkholderia* sp. ผลิตเอนไซม์ไลเปสสูงสุดในอาหารบนเครื่องเขย่าความเร็ว 200 รอบต่อนาที แต่ความเร็ว 150 รอบนาที เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท (พิจารณาจากน้ำหนักเซลล์แห้ง) อัตราความเร็วที่เหมาะสมมีผลต่อการแตกตัวของน้ำมันให้มีขนาดเล็กลง เพิ่มพื้นที่สัมผัสระหว่างสับสเตรทกับชั้นน้ำ เพราะเอนไซม์

ไลเปสจะเร่งปฏิกิริยาบริเวณชั้นน้ำกับสับสเตรท (oil - water interface) (Macrae, 1983, pp. 243-246)

ระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเก็บเกี่ยวเซลล์แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปส คือ 48 ชั่วโมง ซึ่งเป็นระยะ early stationary ทั้งนี้แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทเริ่มผลิตเอนไซม์ไลเปสและมีค่ากิจกรรมสูงสุดในระยะที่มีการเจริญ จึงจัดเอนไซม์ไลเปสเป็น growth-associated product (Aiba, et al., 1965, p. 333) หรือ primary metabolites (Bailey and Ollis, 1986, p.984) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับ *Alcaligenes* sp. ที่ผลิตเอนไซม์ไลเปสสูงสุดในช่วงปลายของระยะ log ต่อช่วงต้นของระยะ stationary หรือระยะ early stationary (Kokusho, et al., 1982, pp. 1743-1750) ทั้งนี้ช่วงเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญ และผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย จะแตกต่างกันขึ้นกับสายพันธุ์และสารอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง จากผลการทดลองเมื่อพิจารณาอัตราการเจริญและการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลท พบว่า อัตราการเจริญไม่มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการผลิตเอนไซม์ไลเปสของไอโซเลท TC44 สอดคล้องกับรายงานของ Makhzoum, Knapp and Owusu, 1995; Kramer, 1971)

ชนิดและปริมาณของแหล่งคาร์บอนเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการเจริญและกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย เอนไซม์ไลเปสจะย่อยสลายไลปิดได้ผลิตภัณฑ์เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล โดยกรดไขมันจะย่อยสลายต่อในวิถีเบตาออกซิเดชัน จนได้ acetyl CoA ส่วนกลีเซอรอลจะถูกเมตาบอไลซ์ภายในเซลล์ ได้เป็น glyceraldehyde-3- phosphate ซึ่งใช้เป็นตัวกลางในวิถีไกลโคไลซีส ก่อนเข้าสู่ไพรูเวต และวัฏจักรไตรคาร์บอกซิลิกแอสิก จนได้ acetyl CoA ซึ่งเป็นสารตัวกลางที่ใช้ผลิตพลังงานให้กับเซลล์ (Campbell, 1999, pp. 577- 585) แหล่งคาร์บอนสำหรับผลิตเอนไซม์ไลเปสจากจุลินทรีย์เป็นน้ำมันจากพืชชนิดต่าง ๆ (Kojima, et al., 1994, pp. 1564-1568) การศึกษาแหล่งคาร์บอนและความเข้มข้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลทเลือกใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำมันพืช 3 ชนิด คือ น้ำมันมะกอก น้ำมันถั่วเหลือง และน้ำมันปาล์มซึ่งน้ำมันพืชทั้งสามชนิดมีชนิดของกรดไขมันที่เป็นองค์ประกอบแตกต่างกัน น้ำมันมะกอกมีกรดโอเลอิกที่มีพันธะคู่ 1 ตำแหน่ง (C18:1) ในน้ำมันถั่วเหลืองมีกรดลิโนเลอิกที่มีพันธะคู่ 2 ตำแหน่ง (C18:2) และน้ำมันปาล์มมีกรดปาล์มมิติกซึ่งเป็นกรดไขมันอิ่มตัว (C16:0) เป็นองค์ประกอบสำคัญ (Gunstone, 1996, pp. 63-94) ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนจากน้ำมันพืชบางชนิดถ้ามีมากกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ จะยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรีย (Becker, et al., 1999, pp. 653-660) แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสแบคทีเรียไอโซเลท KS11 และ TC44 คือน้ำมันมะกอกความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์

สอดคล้องกับรายงานของ Wang, et al. (1995) พบว่า *Bacillus* sp. A30-1 (ATCC 53841) ผลิตเอนไซม์ไลเปสได้สูงสุดเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมันมะกอกเป็นแหล่งคาร์บอน แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียไอโซเลท TC16 คือ น้ำมันถั่วเหลืองความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ สอดรับกับงานวิจัยของ Lee, et al. (1999) พบว่า *B. thermolevorans* ID-I เจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ดีในอาหารที่มีน้ำมันถั่วเหลือง รายงานวิจัยดังกล่าวชี้ให้เห็นว่าเอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรียมีความจำเพาะต่อชนิดและปริมาณของไลปิดที่เป็นองค์ประกอบ โดยขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของแบคทีเรีย ซึ่งแบคทีเรียบางสายพันธุ์จะจำเพาะต่อชนิดของกรดไขมัน เช่น เอนไซม์ไลเปสจาก *P. aeruginosa* MB 5001 มีความจำเพาะต่อกรดไขมันไม่อิ่มตัวมากกว่ากรดไขมันอิ่มตัว (Chartrain, et al., 1993, pp. 575-580) *P. aeruginosa* YS-7 จำเพาะกับกรดโอเลอิกมากกว่าไตรโอเลอีน (Shabtai and Daya-Mishne, 1992, pp. 174-180) และเอนไซม์ไลเปสจาก *P. simplicissium* จำเพาะต่อกรดปาล์มมิติก (Stamatis, et al., 1993, pp. 103-110) นอกจากนี้แบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลทผลิตเอนไซม์ไลเปสออกมาได้ในปริมาณสูงขึ้นเมื่อมีน้ำมันพืชปริมาณพอเหมาะเป็นตัวกระตุ้น เช่นเดียวกับรายงานของ Kosugi and Kamibayashi (1971) แต่มีแบคทีเรียบางสายพันธุ์ เช่น *P. fragi* ผลิตเอนไซม์ไลเปสโดยไม่ต้องการไตรกลีเซอไรด์กระตุ้น (Watanabe, et al., 1977, pp. 1353-1358) นอกจากนี้ Suzuki, et al. (1988) พบว่าปริมาณของไตรกลีเซอไรด์มากเกินไปจะยับยั้งการผลิตเอนไซม์ไลเปส

ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียทั้ง 3 ไอโซเลท มีความแตกต่างกัน แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของไอโซเลท KS11 และ TC44 คือ แอมโมเนียมซัลเฟต เข้มข้น 0.25 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ Mulligan and Gibbs (1989) พบว่า *P. aeruginosa* ผลิตเอนไซม์ไลเปสลดลงเมื่อปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตเพิ่มขึ้น ชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของไอโซเลท TC16 คือ ยีสต์เอ็กแทร็กซ์ความเข้มข้น 0.35 เปอร์เซ็นต์ Stanbury, et al. (1995) พบว่า แบคทีเรียบางสายพันธุ์เจริญและผลิตเอนไซม์ไลเปสในอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนเป็นสารอินทรีย์ เช่น เปปโตน ยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ บีฟเอ็กซ์แทร็กซ์ สอดคล้องกับรายงานของ Kumar, et al. (2005) พบว่าแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดสำหรับการผลิตเอนไซม์ไลเปสจาก *Bacillus* sp. คือ เปปโตน และยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ *A. calcoaceticus* ผลิตเอนไซม์ไลเปสในอาหารที่มีทริปโตนและเปปโตนเป็นแหล่งไนโตรเจน (Cordenons, et al., 1996, pp. 633-638) สารอินทรีย์เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ แต่สารอินทรีย์ดังที่กล่าวมานำมาใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนผลิตเอนไซม์ไลเปสในระดับอุตสาหกรรมเป็นไปได้ยาก

เพราะสารอินทรีย์มีราคาสูง (Parekh, et al., 1999, pp.152-157) ในอุตสาหกรรมผลิตเอนไซม์จึงนิยมใช้แหล่งไนโตรเจนจากสารอนินทรีย์ที่มีราคาถูกกว่ามากทดแทน เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ และแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอตเฟต นิยมใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอุตสาหกรรมการผลิตเอนไซม์ (Solomons, 1969, p. 331)

เมื่อจัดจำแนกชนิดแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสทั้ง 3 ไอโซเลท โดยการเปรียบเทียบลำดับนิวคลีโอไทด์ของ small subunit ribosomal DNA (SSU rDNA) หรือ 16S rDNA พบว่า KS11, TC16 และ TC44 คือ *Burkholderia metallica* ทั้งนี้ Vanlaere, et al. (2008) รายงานว่า *B. metallica* เป็นสปีชีส์ใหม่ของแบคทีเรียกลุ่ม *Burkholderia cepacia* complex และยังไม่มีรายงานการนำ *B. metallica* มาประยุกต์ใช้ในการผลิตเอนไซม์ไลเปส *Burkholderia* หลายชนิดถูกนำไปประยุกต์ใช้ผลิตเอนไซม์ไลเปสในอุตสาหกรรมผลิตสารซักล้าง (Pooja, et al., 2001, pp. 187-192) อุตสาหกรรมสังเคราะห์สารเคมี (Wei and Wu, 2008, pp. 79-88) และในรูปแบบเซลล์ตรึงใช้ผลิตเอนไซม์ไลเปสช่วยเร่งปฏิกิริยาในสารละลายอินทรีย์ (Hara, Hanefeld and Kanerva, 2009, pp. 250-256) จากรายงานการผลิตเอนไซม์ไลเปสของ *Burkholderia* สปีชีส์อื่นๆ ในกลุ่ม *Burkholderia cepacia* complex จึงคาดว่าจะสามารถนำ *B. metallica* สายพันธุ์ที่แยกได้จากการศึกษาครั้งนี้ไปประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมผลิตสารซักล้างหรือการสังเคราะห์สารเคมีเพื่อเป็นสารตั้งต้นในอุตสาหกรรม

สรุปผลการวิจัย

คัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสจำนวน 326 ไอโซเลท จากดินป่าไม้ 64 ตัวอย่าง การคัดเลือกขั้นต้นพบแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสประสิทธิภาพดีจำนวน 46 ไอโซเลท และจากการคัดเลือกในขั้นยืนยัน พบแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสประสิทธิภาพดี 3 ไอโซเลท คือ KS11, TC16 และ TC44

สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียไอโซเลท KS11 คือ เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำมันมะกอกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งคาร์บอน และแอมโมเนียมซัลเฟตเข้มข้น 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน พีเอช 9 บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บเกี่ยวผลผลิตเอนไซม์ชั่วโมงที่ 48 ให้ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส 72.76 U/mg protein

สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียไอโซเลท TC16 คือ เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำมันถั่วเหลืองเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และยีสต์เอ็กซ์แทร็กซ์ 0.35 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน พีเอช 9 บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บเกี่ยวผลผลิตเอนไซม์ชั่วโมงที่ 48 ให้ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส 77.43 U/mg protein

สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของแบคทีเรียไอโซเลท TC44 คือ เพาะเลี้ยงในอาหารที่มีแหล่งคาร์บอนเป็นน้ำมันมะกอกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ และแอมโมเนียมซัลเฟต เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน พีเอช 9 บ่มบนเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เก็บเกี่ยวผลผลิตเอนไซม์ชั่วโมงที่ 48 ให้ค่ากิจกรรมจำเพาะของเอนไซม์ไลเปส 70.72 U/mg protein

แบคทีเรียสายพันธุ์ KS11, TC16 และ TC44 คือ *Burkholderia metallica* ซึ่งอยู่ในกลุ่มของ *Burkholderia cepacia* complex

ข้อเสนอแนะ

ควรคัดแยกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสสายพันธุ์ทนอุณหภูมิสูงเพื่อให้เหมาะสำหรับประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมของประเทศไทย นอกจากนี้ควรปรับปรุงพันธุกรรมของแบคทีเรียผลิตเอนไซม์ไลเปสที่คัดเลือกได้เพื่อให้เหมาะสมสำหรับการผลิตเอนไซม์ไลเปสมากขึ้น