

Invertase เป็นเอนไซม์ที่ย่อย sucrose ให้ได้ glucose และ fructose งานวิจัยนี้ทำการผลิตเอนไซม์ invertase จากยีสต์สายพันธุ์ *Candida humicola* 5M2 ในสถานะที่เหมาะสมในระดับขยายขนาดโดยใช้ Laboratory fermentor จากนั้นทำการแยกและทำบริสุทธิ์บางส่วนของเอนไซม์ invertase ในระดับขยายขนาดที่สอดคล้องกัน และศึกษากิจกรรมของเอนไซม์หลังการเก็บด้วยวิธีการทำแห้ง ผลการศึกษาพบว่าสถานะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ invertase จากยีสต์สายพันธุ์ *Candida humicola* 5M2 ในระดับขยายขนาด (Laboratory fermentor) คือการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรอุดม (Complete medium; CM) ซึ่งมีน้ำตาลซูโครส 100 กรัมต่อลิตร และสารสกัดยีสต์ (yeast extract) 6 กรัมต่อลิตร ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบกะ ขนาด 5 ลิตร ที่ pH 6.5 โดยสามารถใช้น้ำตาลทรายดิบแทนน้ำตาลซูโครสได้ และสกัดโปรตีนจากเซลล์โดยวิธี homogenization ร่วมกับการใช้ glass bead ขนาด 0.5 mm เป็นเวลา 40 นาที โดยมีกรดเติม antifoam ร่วมด้วยโปรตีนที่สกัดได้หนึ่งครั้งมีประมาณ 4.6 กรัม คิดเป็น 24.12% ต่อปริมาณโปรตีนทั้งหมดของเซลล์ การแยกบริสุทธิ์บางส่วนของเอนไซม์ invertase จากยีสต์สายพันธุ์ *Candida humicola* 5M2 ในระดับขยายขนาด โดย DEAE ion exchange column พบว่าการใช้สารละลาย NaCl ความเข้มข้น 0-0.5 M NaCl จะสกัดโปรตีนจากคอลัมน์ ที่อุณหภูมิ 4 °C จะไม่มีการรบกวนกิจกรรมของเอนไซม์ การศึกษาค่า mass balance และความจุของ DEAE ion exchange column ที่ใช้ในการแยกบริสุทธิ์เอนไซม์พบว่า ปริมาณของโปรตีน (crude enzyme) ที่เหมาะสมในการนำมาแยกบริสุทธิ์โดย DEAE ion exchange column ขนาด 200 ml มีปริมาณเท่ากับ 20 mg ผลการแยกบริสุทธิ์ พบว่าโปรตีนที่มีกิจกรรมของเอนไซม์ถูกชะออกมาในช่วง 0.13-0.28 M NaCl เป็นช่วงกว้างๆ ช่วงเดียว เอนไซม์ที่แยกบริสุทธิ์ได้มีค่าแอกติวิตีจำเพาะ (specific activity) เป็น 318.68 U/mg มีค่า % Yield ของกิจกรรมเอนไซม์ที่ได้เป็น 11.64% เอนไซม์มีขนาดโมเลกุลประมาณ 110 kDa เอนไซม์ทั้งที่แยกบริสุทธิ์บางส่วน (purified enzyme) และที่ยังไม่แยกบริสุทธิ์ (crude enzyme) สามารถเก็บด้วยวิธีการทำแห้งที่อุณหภูมิ 4 °C เป็นเวลา 12 สัปดาห์ ได้โดยกิจกรรมของเอนไซม์โดยรวมไม่ลดลง แต่เอนไซม์ที่ยังไม่แยกบริสุทธิ์ (crude enzyme) เมื่อนำกลับมาละลายใหม่มีโปรตีนอื่นตกตะกอนเกิดขึ้นบางส่วน การแยกบริสุทธิ์บางส่วนของเอนไซม์ invertase จากยีสต์สายพันธุ์ *Candida humicola* 5M2 โดย DEAE ion exchange column ในระดับขยายขนาด ทำให้ได้เอนไซม์ที่มีค่าแอกติวิตีจำเพาะ (specific activity) เป็น 318.68 U/mg ซึ่งสูงกว่าเอนไซม์ invertase มาตรฐาน (270 U/mg, Fluka) และ commercial grade (43 U/mg, Sigma) ผลการศึกษาระบุว่าเอนไซม์ invertase จากยีสต์สายพันธุ์ *Candida humicola* 5M2 มีศักยภาพนำไปผลิตในเชิงพาณิชย์ได้