

อินเวอร์เทสเป็นเอนไซม์ชนิดหนึ่งที่ย่อยน้ำตาลซูโครสให้เป็นน้ำตาลกลูโคสและฟรุคโตส ในงานวิจัยนี้ ได้ทำการแยกจุลินทรีย์ที่มีกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอร์เทสสูงจากตัวอย่างน้ำอ้อย ชากอ้อย และดินจากภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย โดยทำการคัดเลือกโคโลนีที่มีการเจริญดีในอาหารแข็ง PCA, MRS และ ME ที่มีน้ำตาลซูโครส 20% ได้จุลินทรีย์ จำนวน 148 ไอโซเลท และคัดเลือกเชื้อที่มีการเจริญดีในอาหารเหลวสูตรอุดม (CM) และสูตรปรับค่า (BS) ที่มีซูโครส 10% บ่มแบบเขย่าที่ 160 rpm อุณหภูมิ 30°C สามารถแยกเชื้อที่มีการเจริญดีเป็นยีสต์ 8 ไอโซเลท เรียงตามลำดับดังนี้ *Saccharomyces cerevisiae* 6M4.1, *Cryptococcus humicolus* (*Candida humicola*) 5M2, *S. cerevisiae* 7M3.2.1, *C. humicolus* 6M3.1, *Candida tropicalis* 7M2, *S. cerevisiae* 7M3.1.1, *Candida guilliermondii* 3M4.1 และ *S. cerevisiae* MM2.1 โดยมีอัตราการใช้ซูโครสเท่ากับ 22.95 ± 0.11 , 20.41 ± 0.04 , 20.37 ± 0.06 , 19.99 ± 0.13 , 18.29 ± 0.06 , 13.98 ± 0.13 , 13.46 ± 0.06 และ 9.28 ± 0.09 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง ตามลำดับ ได้ทำการศึกษาลักษณะการเจริญ การใช้ซูโครสและการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส โดยทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์ที่ย่อยน้ำตาลซูโครส (saccharolytic activity) ด้วยวิธี DNS และวัดการใช้ น้ำตาลซูโครส ด้วยวิธีทางเอนไซม์โดยการใช้เอนไซม์อินเวอร์เทสบริสุทธิ์ เมื่อทำการตรวจสอบความจำเพาะของ เอนไซม์ที่ย่อยซูโครส โดยการใช้น้ำตาล ราฟฟิโนสและเมเลซิโตสเป็นสารตั้งต้น พบว่ายีสต์ทั้ง 8 ไอโซเลท มีกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอร์เทสทั้งภายใน (30-90 U/mg) และภายนอกเซลล์ (0.1-0.9 U/mg) โดยยีสต์ *S. cerevisiae* 6M4.1, *S. cerevisiae* MM2.1, *S. cerevisiae* 7M3.2.1, *C. humicolus* 6M3.1, *S. cerevisiae* 7M3.1.1, *C. humicolus* 5M2 *C. guilliermondii* 3M4.1 และ *C. tropicalis* 7M2 มีกิจกรรมของเอนไซม์อินเวอร์เทสเท่ากับ 90.96 ± 0.12 , 65.86 ± 0.17 , 56.51 ± 0.49 , 56.38 ± 1.42 , 56.09 ± 2.25 , 46.44 ± 0.74 , 33.56 ± 0.65 และ 20.73 ± 0.07 U/mg ตามลำดับ ยีสต์ที่คัดเลือกได้มีลักษณะการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทสแบ่งเป็น 2 กลุ่มได้แก่ กลุ่ม *Saccharomyces* spp. มีการผลิตสูงทุกระยะการเจริญ และกลุ่ม *Candida* spp. มีการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส สูงขึ้นตามการเจริญ ยกเว้นยีสต์ *C. tropicalis* 7M2 ที่มีการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทสลดลงตามการเจริญ สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์อินเวอร์เทส สำหรับ *S. cerevisiae* 6M4.1 และ *C. humicolus* 5M2 คือ อาหารสูตร CM ที่มีน้ำตาลซูโครส 10% บ่มแบบเขย่าที่ 160 rpm ที่ 30°C โดย *C. humicolus* 5M2 สามารถเจริญดีในช่วงพีเอชกว้าง 5-8 จากผลการศึกษานี้ของน้ำตาล บ่งชี้ว่า น้ำตาลชนิดที่ใช้ทำอาหารและน้ำอ้อย มีศักยภาพสูงในการใช้ทดแทนน้ำตาลซูโครสชนิดที่ใช้ในห้องปฏิบัติการ ซึ่งจะช่วยให้ช่วยลดต้นทุนการผลิต เอนไซม์ได้

Invertase is a kind of saccharase which catalyzes sucrose into glucose and fructose. In this research, microorganisms exhibiting high invertase activity were isolated from sugarcane juice, sugarcane stalks, and soil from the Northeastern of Thailand. The 148 isolates on the PCA, MRS and ME agar media containing 20% sucrose were firstly selected. The isolates with high growth potential were further screened in complete and basal salt minimum liquid media containing 10 % sucrose incubated by shaking 160 rpm at 30°C. The microorganisms isolated from sugarcane juice were 8 isolates of yeasts. The results showed that *Saccharomyces cerevisiae* 6M4.1, *Cryptococcus humicolus* (*Candida humicola*) 5M2, *S. cerevisiae* 7M3.2.1, *C. humicolus* 6M3.1, *Candida tropicalis* 7M2, *S. cerevisiae* 7M3.1.1, *Candida guilliermondii* 3M4.1 and *S. cerevisiae* MM2.1 had sucrose consumption rates of 22.95 ± 0.11 , 20.41 ± 0.04 , 20.37 ± 0.06 , 19.99 ± 0.13 , 18.29 ± 0.06 , 13.98 ± 0.13 , 13.46 ± 0.06 and 9.28 ± 0.09 g/l/h, respectively. The growth, sucrose consumption and saccharase activity of *S. cerevisiae* 6M4.1 and *C. humicolus* 5M2 were performed. Sucrose utilization and saccharase activity were determined by enzymatic assay and DNS method, respectively. The saccharase activity of 8 isolates, identified by raffinose and melezitose were invertase. All of the 8 isolates exhibited both extracellular and intracellular invertase. The intracellular invertase activities (30-90 U/mg) of all isolates were higher than extracellular invertase activities (0.1-0.9 U/mg). The results indicated that *S. cerevisiae* 6M4.1, *S. cerevisiae* MM2.1, *S. cerevisiae* 7M3.2.1, *C. humicolus* 6M3.1, *S. cerevisiae* 7M3.1.1, *C. humicolus* 5M2, *C. guilliermondii* 3M4.1 and *C. tropicalis* 7M2 had invertase activities of 90.96 ± 0.12 , 65.86 ± 0.17 , 56.51 ± 0.49 , 56.38 ± 1.42 , 56.09 ± 2.25 , 46.44 ± 0.74 , 33.56 ± 0.65 and 20.73 ± 0.07 U/mg, respectively. The characteristics of invertase production in yeasts could be separated into two groups; the first was *Saccharomyces* spp., which produced high invertase activity in all periods of growth, and the other group was *Candida* spp. which produced high invertase activity depending on growth, except *C. tropicalis* 7M2. The optimum condition on growth and invertase production for *S. cerevisiae* 6M4.1 and *C. humicolus* 5M2 was cultured in complete medium supplemented with 10% sucrose incubated by shaking 160 rpm at 30°C. *C. humicolus* 5M2 could grow in the broad length of pH 5-8. The study on sugar forms for invertase production in *S. cerevisiae* 6M4.1 and *C. humicolus* 5M2, indicated that food grade and sugarcane juice contained high potential for the substitution of analytical grade, consequently, they help reduce enzyme production cost.