

การผลิตเอนไซม์อะไมเลสจาก *Bacillus* sp. ไอโซเลต A

Amylase Production from *Bacillus* sp. isolate A

อำพรพรณ ชัยกุลเสรีวัฒน์¹ และสาวิตรี ล้ำเหลือหลาย

Ampun Chaikulsareewath¹ and Sawitee Lampluarline

บทคัดย่อ

ศึกษาการผลิตอะไมเลสจาก *Bacillus* sp. ไอโซเลต A โดยเลี้ยงเชื้อในอาหาร starch broth และแปรปริมาณกล้ำเชื้อ (ปริมาตร/ปริมาตร) เป็น 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าปริมาณกล้ำเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมในการผลิตอะไมเลสได้มากที่สุด โดยผลิตได้ 0.48 ± 0.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ที่เวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นศึกษาค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อการทำงานของอะไมเลส เมื่อแปรค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.5 6.5 7.5 และ 8.5 พบว่าอะไมเลสทำงานสูงสุด (1.65 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5 และได้ทำการศึกษาอุณหภูมิที่มีผลต่อการทำงานของอะไมเลส โดยแปรอุณหภูมิเป็น 30 50 70 และ 90 องศาเซลเซียส พบว่าอะไมเลสทำงานสูงสุด (1.23 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) ที่ 50 องศาเซลเซียส

คำสำคัญ: อะไมเลส *Bacillus* sp. กิจกรรมของอะไมเลส

ABSTRACT

Studies on the amylase production were carried out with a *Bacillus* sp. isolate A. This isolate was cultivated by varying the inoculum sizes (volume/volume) at 5, 10 and 15%, respectively in a starch broth. The results revealed that the 10% of inoculum sizes was suitable for maximum enzyme production 0.48 ± 0.04 unit/ml after for 24 h at 37°C. Furthermore, the pH optimum of the crude enzyme was determined by varying the pH (5.5, 6.5, 7.5, and 8.5) of the assay reaction mixture. The highest activity (1.65 unit/ml) was found to be active at pH 6.5. The temperature optimum (30, 50, 70, and 90°C) on the activity were determined. The highest activity (1.23 unit/ml) was found to be active at 50°C.

Keywords: Amylase, *Bacillus* sp., Amylase Activity

บทนำ

อะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลหลายชนิด เช่น น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลมอลโตส เป็นต้น ปัจจุบันการผลิตเอนไซม์และการใช้อะไมเลสในอุตสาหกรรมกำลังมีความสำคัญมากขึ้น เพราะการใช้เอนไซม์ในอุตสาหกรรมจะช่วยลดต้นทุนการผลิต และสามารถควบคุมกรรมวิธีการผลิตให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพ เช่น การผลิตน้ำเชื่อมจากแป้งที่ใช้ในอุตสาหกรรม อะไมเลสมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ได้แก่ อุตสาหกรรมการผลิต แอลกอฮอล์ การทำกระดาษ การทำน้ำผลไม้ให้ใส การผลิตน้ำเชื่อมจากแป้งได้จากกลูโคสไซรัป ฟรุคโตสไซรัป แหล่งของอะไมเลสโดยทั่วไปได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ปัจจุบันไม่นิยมใช้การผลิต อะไมเลสจากพืชและสัตว์ เนื่องจากต้องใช้วัตถุดิบเป็นจำนวนมากและต้นทุนในการผลิตสูง จึงมีการผลิตอะไมเลสจากจุลินทรีย์ เพราะเป็นแหล่งเอนไซม์ที่มีปริมาณไม่จำกัด [1]-[3] จุลินทรีย์ได้รับความนิยมใช้ในอุตสาหกรรมเป็นอย่างมาก ได้แก่ แบคทีเรีย เนื่องจากเลี้ยงง่าย แบคทีเรียต้องการอาหารไม่ซับซ้อนมากนัก สะดวกในการเก็บเชื้อได้นานโดยไม่ต้องถ่ายเชื้อบ่อย และการแปรผันของเชื้อในการผลิตเอนไซม์จากเชื้อแบคทีเรียน้อยกว่าเชื้อรา ทั้งนี้การผลิตอะไมเลสจากแบคทีเรียจึงนับว่ามีความน่าสนใจอย่างยิ่ง [4] ในการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะต้องคำนึงถึงปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์และการผลิตเอนไซม์ ได้แก่ สายพันธุ์ของเชื้อ ปริมาณกล้าเชื้อ อาหารเลี้ยงเชื้อ อุณหภูมิ และระยะเวลาในการบ่มเชื้อ นอกจากนี้เอนไซม์จะทำงานได้ดีเมื่ออยู่ในภาวะที่เหมาะสม เช่น มีค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ Ivanova และคณะ (1993) พบว่าอะไมเลสที่ผลิตได้จาก *Bacillus subtilis* สามารถทนต่อค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 6.5-8.0 และช่วงอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส [5] ชนิดา (2549) ได้คัดแยกจุลินทรีย์ที่ผลิตอะไมเลสจากน้ำเสียโรงงานแป้ง พบว่ามี *Bacillus* spp. หลายไอโซเลตที่มีคุณสมบัติในการผลิตอะไมเลส

โดยเฉพาะ ไอโซเลต A ซึ่งเป็น *Bacillus* sp. ที่สามารถผลิตอะไมเลสได้ดี [3] ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตและการทำงานของอะไมเลส โดยการแปรปริมาณกล้าเชื้อ ติดตามระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตอะไมเลส รวมทั้งศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิ ที่มีต่อการทำงานของอะไมเลส

อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

1. การศึกษาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตอะไมเลส

วิธีการทดลองดัดแปลงตามวิธีของ (Cordeiro *et al.*, 2002) [6]

1.1 เลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. ไอโซเลต A ในอาหาร nutrient broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มใน water bath (รุ่น Memmert M50) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.2 วัดค่าความขุ่น (optical density: OD) ปรับค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (OD₆₆₀) เท่ากับ 0.5 ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Spectronic 21) และเลี้ยงเชื้อในอาหาร starch broth (Yeast extract 2.0 กรัม KH₂PO₄ 1.3 กรัม MgSO₄·7H₂O 0.5 กรัม CaCl₂·2H₂O 0.1 กรัม Peptone 5.0 กรัม Soluble Starch 30.0 กรัม และน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร) โดยแปรปริมาณกล้าเชื้อ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ที่ 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์

1.3 บ่มเชื้อในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.4 เก็บตัวอย่างโดยการปั่นแยกเซลล์ออก ด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยง (รุ่น PK- 131 R) ที่อัตราเร็ว 4,500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

1.5 นำส่วนใสที่ได้มาหากิจกรรมของอะไมเลสตามวิธีของ Bernfeld (1951) [7]

2. การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการผลิตอะไมเลส

วิธีการทดลองดัดแปลงตามวิธีของ (Cordeiro *et al.*, 2002) [6]

2.1 เลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. ไอโซเลต A ในอาหาร nutrient broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มใน water bath shaker ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

2.2 วัดค่าความขุ่น (optical density: OD) ปรับค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (OD₆₆₀) เท่ากับ 0.5 เลี้ยงเชื้อในอาหาร starch broth โดยใช้กล้ำเชื้อปริมาณที่เหมาะสมตามการทดลองที่ได้จากข้อ 1

2.3 บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส

2.4 เก็บตัวอย่างปริมาตร 10 มิลลิลิตร ที่เวลา 0 24 48 และ 72 ชั่วโมง โดยการปั่นแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่อัตราเร็ว 4,500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2.5 นำส่วนใสที่ได้มาหากิจกรรมของอะไมเลสตามวิธีของ Bernfeld (1951) [7]

3. การศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของอะไมเลส

วิธีการทดลองดัดแปลงตามวิธีของ (Cordeiro *et al.*, 2002) [6]

3.1 เลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. ไอโซเลต A ในอาหาร nutrient broth ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มใน water bath shaker ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 วัดค่าความขุ่น (optical density: OD) ปรับค่าความขุ่นที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (OD₆₆₀) เท่ากับ 0.5 เลี้ยงเชื้อในอาหาร starch broth โดยใช้กล้ำเชื้อปริมาณที่เหมาะสมตามการทดลองที่ได้จากข้อ 1

3.3 บ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.4 ปั่นแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักด้วยเครื่องปั่นเหวี่ยงที่อัตราเร็ว 4,500 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3.5 นำสารละลายที่แยกได้มาศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง และอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของอะไมเลส

3.5.1 ค่าความเป็นกรด-ด่างที่มีผลต่อการทำงานของอะไมเลส

1) นำสารละลายน้ำแฉ่ำเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที

2) นำสารละลายเอนไซม์จากข้อ 3.4 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

3) เติมสารละลายบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร โดยแปรค่าความเป็นกรด-ด่าง เป็น 5.5 6.5 7.5 และ 8.5

4) บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที

5) วัดกิจกรรมของอะไมเลสด้วยวิธีของ Bernfeld (1951) [7]

3.5.2 อุณหภูมิที่มีผลต่อการทำงานของอะไมเลส ทำเช่นเดียวกับการทดลองข้อ 3.5.1 แต่ใช้สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ที่มีความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ภายใต้ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ได้จากการทดลองข้อ 3.5.1 และแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการศึกษาเป็น 30 50 70 และ 90 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาที

4. วิเคราะห์กิจกรรมของอะไมเลส

ดัดแปลงตามวิธีของ Bernfeld (1951) [7] โดยมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

4.1 ผสมสารละลายน้ำแฉ่ำปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และส่วนใสที่ต้องการทดสอบอะไมเลส ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที

4.2 เติมน้ำละลาย 3,5-Dinitrosalicylic acid ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 10 นาที ทำให้เย็นในอ่างน้ำเย็น

4.3 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

4.4 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์

4.5 นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

กำหนดให้ 1 หน่วยของอะไมเลสต่อมิลลิลิตร เท่ากับ ปริมาณอะไมเลส 1 มิลลิลิตร ที่สามารถย่อยแป้ง ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ที่ อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส

ผลการทดลองและวิจารณ์

1. การศึกษาปริมาณกล้ำเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตอะไมเลส

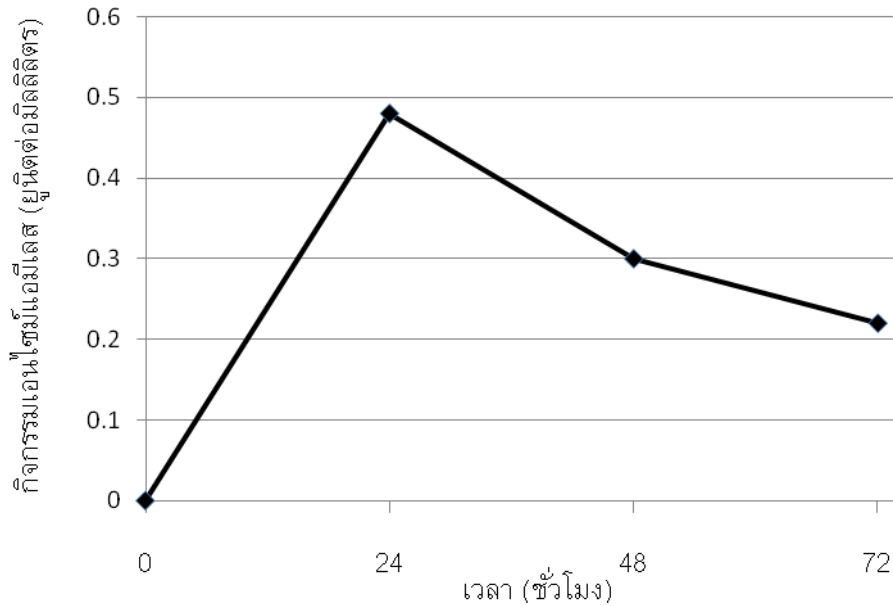
เลี้ยง *Bacillus* sp. ไอโซเลต A บนอาหารเหลว nutrient broth ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วแปรปริมาณกล้ำเชื้อ (น้ำหนัก/ปริมาตร) เป็น 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ และทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาคิจกรรมของอะไมเลสตามวิธีของ Bernfeld (1951) [7] พบว่า ปริมาณกล้ำเชื้อที่แตกต่างกันมีผล ทำให้แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณที่ต่างกัน ในที่นี้ปริมาณกล้ำเชื้อที่ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำให้แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ได้มากที่สุด คือ 0.48 ± 0.04 หน่วยต่อ มิลลิลิตร รองลงมาเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ (0.35 ± 0.06 หน่วยต่อมิลลิลิตร) และ 5 เปอร์เซ็นต์ (0.34 ± 0.03 หน่วยต่อมิลลิลิตร) ตามลำดับ จากการทดลองพบว่า แบคทีเรียจะผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นตามปริมาณกล้ำเชื้อที่ เพิ่มขึ้นจนถึง 10 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มกล้ำเชื้อเป็น 15 เปอร์เซ็นต์ แบคทีเรียจะผลิตเอนไซม์ได้น้อยกว่า เนื่องจากแบคทีเรียจะเจริญอย่างรวดเร็ว ซึ่งอยู่ในช่วง การเจริญ log phase จนอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญ

ส่งผลให้แบคทีเรียผลิตเอนไซม์ได้น้อยลง ในช่วงการ เจริญ stationary phase [8]

2. การศึกษาเวลาที่เหมาะสมของการผลิตอะไมเลส

จากการทดลองในข้อที่ 1 พบว่าแบคทีเรียผลิต เอนไซม์ได้มากที่สุด เมื่อใช้กล้ำเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นจึงใช้ปริมาณกล้ำเชื้อดังกล่าวมาใช้ในการศึกษา เวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ โดยเลี้ยงเชื้อใน starch broth เก็บตัวอย่างตามช่วงเวลา 0 24 48 และ 72 ชั่วโมง แล้วนำหาคิจกรรมของเอนไซม์ ได้ผลการ ทดลองดังรูปที่ 1

จากรูปที่ 1 พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อเป็นเวลานานขึ้น แบคทีเรียจะเจริญมากขึ้น และส่งผลให้ผลิตเอนไซม์ ได้มากขึ้นในเวลา 24 ชั่วโมง (0.48 ± 0.04 หน่วยต่อ มิลลิลิตร) หลังจากนั้นวัดกิจกรรมของเอนไซม์ได้น้อยลง เนื่องจาก เชื้อมีการเจริญลดลง และผลิตภัณฑ์ที่ได้จาก การย่อยแป้ง ได้แก่ โอลิโกแซคคาไรด์ และน้ำตาล กลูโคสมีความเข้มข้นสูงจึงเกิดการยับยั้งการผลิตหรือ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส [9] ผลการ ทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของ UI Qader และคณะ (2006) ที่พบว่า *Bacillus* sp. สามารถผลิต เอนไซม์ได้มากที่สุด เมื่อบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง [10] และงานวิจัยของ สุวรรณากนก และ คิน เลย์ คู (2546) พบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ alkaliphilic *Bacillus* sp. Strain 8 ในช่วง 18 ชั่วโมงแรก เป็นระยะเตรียมตัว (lag phase) เซลล์เจริญช้ามากเพราะอยู่ในสภาวะปรับตัวในอาหาร และเตรียมพร้อมที่จะแบ่งเซลล์ หลังจากนั้น ระหว่าง ชั่วโมงที่ 18-48 อยู่ในช่วงเพิ่มจำนวน (log phase) เซลล์เจริญอย่างรวดเร็ว ซึ่งในช่วงนี้เซลล์แบ่งตัวเป็น จำนวนมาก และผลิตเอนไซม์อะไมเลสเป็นจำนวนมาก เพื่อย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลก่อนเข้าสู่เซลล์ เพื่อเป็น แหล่งพลังงานในการเจริญ หลังจากนั้นชั่วโมงที่ 48 เริ่ม เข้าสู่สภาวะคงที่ (stationary phase) เชื้อจะมีการ เจริญและผลิตเอนไซม์ในปริมาณที่คงที่ต่อไป [11]

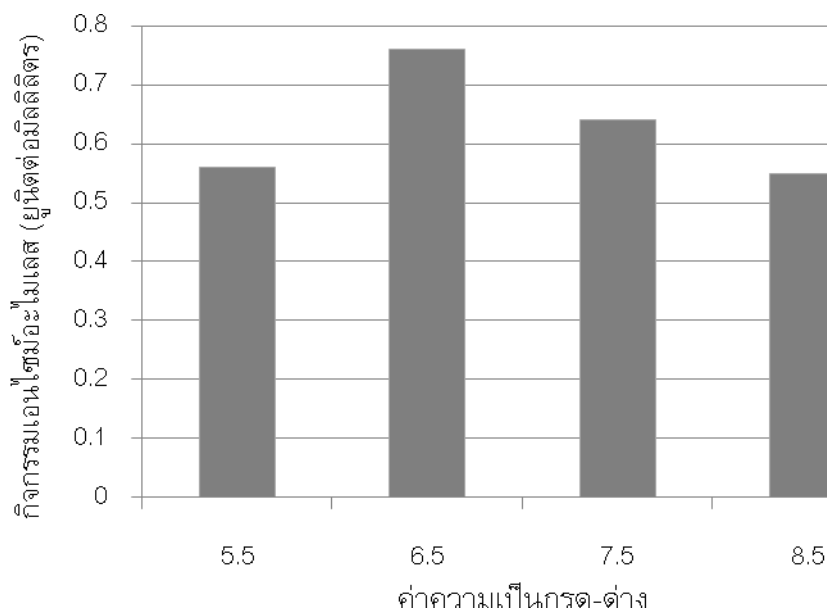


รูปที่ 1 แสดงกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3. การศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง ที่มีต่อการทำงานของอะไมเลส

เมื่อเลี้ยง *Bacillus* sp. ไอโซเลต A 10 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเหลว starch broth แล้วทำการปม

ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาแยกส่วนใส่ออก จากนั้นศึกษาผลของค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.5 6.5 7.5 และ 8.5 ที่มีต่อกิจกรรมของอะไมเลส ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 2



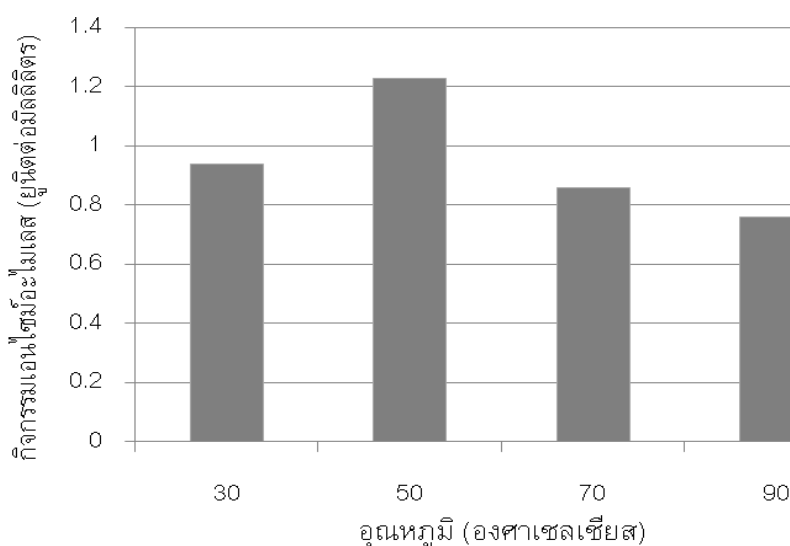
รูปที่ 2 แสดงผลของค่าความเป็นกรด - ด่างที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส

จากรูปที่ 2 พบว่า อะไมเลสทำงานได้ดีที่สุดโดยมีค่าสูงสุดเท่ากับ 0.76 ยูนิตต่อมิลลิลิตรที่ค่าความเป็นกรด - ต่าง 6.5 รองลงมาคือที่ค่าความเป็นกรด-ต่างเท่ากับ 7.5 5.5 และ 8.5 ตามลำดับ โดยวัดกิจกรรมของเอนไซม์ได้ 0.64 0.56 และ 0.55 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ ผลจากการทดลองแสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นทำงานได้ดีในที่มีค่าความเป็นกรด-ต่างเป็นกลางซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของอิสรา (2547) ที่พบว่าอะไมเลสที่ผลิตจากแบคทีเรียสามารถทำงานได้ดีในช่วงค่าความเป็นกรด-ต่างที่เป็นกลางเท่ากับ 5 ถึง 7 [12] และสอดคล้องกับการทดลองของ Oyeleke and Oduwole (2009) ที่พบว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้จากเชื้อ

Bacillus sp. จะสามารถทำงานได้ดีที่สุดเมื่อบ่มเชื้อในบัฟเฟอร์ที่มีค่าความเป็นกรด-ต่าง เท่ากับ 6.5 [13]

4. การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของอะไมเลส

ศึกษาโดยเลี้ยงเชื้อ *Bacillus* sp. ไอโซเลต A ในอาหารเหลว starch broth แล้วทำการบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำมาแยกส่วนใส่ออก จากนั้นนำมาศึกษาผลของอุณหภูมิ 30 50 70 และ 90 องศาเซลเซียส ที่มีผลต่อกิจกรรมของอะไมเลส ได้ผลการทดลองดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 แสดงผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลส

จากรูปที่ 3 พบว่าอะไมเลสจะทำงานได้ดีเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจนถึง 50 องศาเซลเซียส (1.23 ยูนิตต่อมิลลิลิตร) แต่เมื่ออุณหภูมิสูงกว่า 50 องศาเซลเซียส กิจกรรมของเอนไซม์จะเริ่มลดลง เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 30 70 และ 90 องศาเซลเซียส ตามลำดับ โดยสามารถวัดกิจกรรมของอะไมเลสได้ 0.94 0.86 และ 0.76 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

จะเห็นได้ว่าอะไมเลสที่ผลิตโดยแบคทีเรียสามารถทนความร้อนได้สูงสุดในช่วงระยะเวลาหนึ่ง เนื่องจากเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นความเร็วของปฏิกิริยา

ของอะไมเลสจะสูงขึ้นจนถึงอุณหภูมิสูงสุดที่เอนไซม์ยังคงสภาพได้ หลังจากนั้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิสูงขึ้นเรื่อยๆ อะไมเลสจะเริ่มหยุดทำงานและความร้อนสูงจะทำให้เอนไซม์ซึ่งเป็นโปรตีนถูกทำให้เสียสภาพได้ [2]

สรุป

จากการนำ *Bacillus* sp. ไอโซเลต A ซึ่งได้จากงานวิจัยของชินดา (2549) มาใช้ในการศึกษาปริมาณกล้าเชื้อ เวลาในการเลี้ยงเชื้อ และคุณสมบัติบางประการที่มีผลต่อการทำงานของอะไมเลส พบว่าแบคทีเรียนี้สามารถผลิตเอนไซม์ได้มากที่สุดโดยใช้กล้าเชื้อ 10

เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร/ปริมาตร และบ่มเชื้อเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยที่เอนไซม์ที่ผลิตได้สามารถทำงานได้ดีในภาวะที่มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.5 และ อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

เอกสารอ้างอิง

- [1] ปาริชาติ วัฒนา, ประภา เฟื่องฟูพงศ์ และมาลัย เมืองน้อย. 2519. การผลิต starch syrup จาก แป้งมันปะหลังโดยการไฮโดรไลส์ด้วยเอนไซม์ กรดและเอนไซม์จากกรดรวมกัน. รายงาน ผลงานวิจัยประเภทอาจารย์และศาสตร์ ประจำปี 2519. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [2] กฤติกานต์ มหาวรรณ. 2523. การคัดเลือกสายพันธุ์ ราที่มีความสามารถในการย่อยแป้ง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [3] ชนิตา โตบุญ. 2549. การคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิต เอนไซม์อะไมเลสจากน้ำเสียโรงงานแป้ง. ภาคนิพนธ์ปริญญาโท วิทยาศาสตร์บัณฑิต มหาวิทยาลัยสยาม.
- [4] สัตถาพร ศรีมหาสงคราม. 2524. การผลิต เอนไซม์อะไมเลสจากแบคทีเรียเพื่อย่อยแป้งมันสำปะหลัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโทบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [5] Ivanona, V.N., Dobrova, E.P. and Emanuilova, E.I., 1993. Purification and characterization of a thermostable alpha-amylase from *Bacillus licheniformis*. J. Biotechnol. 28: 277-89.
- [6] Cordeiro, C.A.M., Martins, M.L. and Luciano, A.B. 2002. Production and Properties of α Amylase from Thermophilic *Bacillus* sp. Braz. J. of Microbiol. 33:57-61.
- [7] Bernfeld, P. 1951. Enzyme of Starch Degradation and Synthesis. New York: Academic Press, Inc.
- [8] Riaz, N., Ul-Haq, I and Qadeer, M.A. 2003. Characterization of α -Amylase by *Bacillus subtilis*. Int. J. Agri. Biol. 5 (3) 249-252.
- [9] Lin, L.L., Chyau, C.C. and Hsu, W.H. 1998. Production and properties of a raw-starch-degrading amylase from the thermophilic and alkaliphilic *Bacillus* sp. TS-23. Biotechnol. Appl. Biochem. 28: 61-68.
- [10] Ul Qader, S.A., Bano, S., Aman, A., Syed, N and Abid, A. 2006. Enhanced Production and Extracellular Activity of Commercially Important Amylolytic Enzyme by a Newly Isolated Strain of *Bacillus* sp. AS-1. Turk J Biochem. 31(3): 137-142.
- [11] สุวรรณดา ศักดิ์ดีดาสาพร, กนก รัตนะกนกชัย และ คิน เลย์ คู. 2546. การคัดเลือกเชื้อบาซิลลัส ที่ผลิต alkaline amylase และศึกษาสมบัติต่างๆ ของเอนไซม์. การประชุมทางวิชาการของ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 41. 3-7 กุมภาพันธ์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. หน้า 153-160.
- [12] อิศยา จันทรวิธานุชิต. 2547. กิจกรรมของ เอนไซม์ α Amylase ที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรียที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง *Bacillus* สายพันธุ์ BA1 และ BA2. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ปีที่ 12 ฉบับที่ 2 คณะเทคนิคการแพทย์ มหาวิทยาลัยหัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ.
- [13] Oyeleke, S.B. and Oduwale, A.A. 2009. Production of amylase by bacteria isolated from a cassava waste dumpsite in Minna. Niger State. Nigeria. Afri. J. of Microbiol. Res. 3(4): 143-146.