

บทที่ 4

ผลการทดลอง



4.1 การศึกษาอิทธิพลของตัวแปรต่าง ๆ ในการผลิตเอ็นไซม์

4.1.1 อิทธิพลของอาหาร เสริมและปริมาณที่ใช้

ผลการทดลอง แสดงดังตารางที่ 9, 10

4.1.2 เปรียบเทียบแหล่งของ ไนโตรเจนระหว่างยีสต์สกัด
กับยีสต์แห้ง

ผลการทดลอง แสดงดังตารางที่ 11, 12

4.1.3 อัตราส่วนของ แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน

ผลการทดลอง แสดงดังตารางที่ 13,

ตารางที่ 9 ความสัมพันธ์ระหว่างอาหารเสริมที่ใช้กับ α -amylase activity

ตัวอย่างที่	% แป้งมัน (นน. เบี่ยง)	% ยีสต์แห้ง (นน. เบี่ยง)	% K_2HPO_4 (w/v)	% KH_2PO_4 (w/v)	% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (w/v)	% $FeSO_4$ (w/v)	α -Amylase activity (unit/ml)				
							24	48	72	96	120 hr.
1	2	1	0.025	-	0.025	0.001	17.6	12.0	5.88	6.3	4.0
2	2	1	0.025	-	0.025	-	16.6	9.6	2.8	3.5	3.5
3	2	1	0.025	-	-	-	15.8	11.2	6.16	2.1	2.75
4	2	1	0.025	0.025	0.025	0.001	19.0	17.5	14.2	10.5	7.2
5	2	1	-	0.025	0.025	0.001	18.0	12.0	5.6	3.5	3.5
6	2	1	-	0.025	0.025	-	14.4	9.0	6.16	2.8	3.5
7	2	1	-	0.025	-	-	13.6	12.8	7.0	2.1	2.5
8	2	1	-	-	-	-	13.25	10.8	7.56	2.8	0.75

ตารางที่ 10 ความสัมพันธ์ระหว่างอาหารเสริมที่ใช้กับ α -amylase activity

ตัวอย่างที่	% แป้งมัน (นน. เปียก)	% ยีสต์แห้ง (นน. เปียก)	% K_2HPO_4 (w/v)	% KH_2PO_4 (w/v)	% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (w/v)	% $FeSO_4$ (w/v)	α -Amylase activity (unit/ml)				
							24	48	72	96	120 hr.
1	2	1	0.025	0.025	0.025	0.001	19.2	17.5	14.3	10.5	7.4
2	2	1	0.025	0.025	0.05	0.001	19.6	16.6	15.3	14.2	10.5
3	2	1	0.05	0.025	0.05	0.001	23.5	28.5	17.6	13.4	13.65
4	2	1	0.025	0.05	0.05	0.001	21.75	29.0	15.7	14.5	12.6
5	2	1	0.05	0.05	0.05	0.001	28.75	34.5	25.8	19.6	15.8
6	2	1	0.1	0.05	0.05	0.001	34.8	49.5	36.1	20.4	18.2
7	2	1	0.05	0.1	0.05	0.001	39.9	50.5	33.2	20.5	17.6
8	2	1	0.1	0.1	0.05	0.001	39.0	56.0	37.6	30.6	23.8

ตารางที่ 11 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างแหล่งของไนโตรเจนที่ต่างกัน กับ α -amylase activity

ตัวอย่างที่	% แป้งมัน (นน. เบี่ยง)	% ยีสต์แห้ง (นน. เบี่ยง)	% K_2HPO_4 (w/v)	% KH_2PO_4 (w/v)	% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (w/v)	% $FeSO_4$ (w/v)	α -amylase activity (unit/ml)						
							24	48	72	96	120	164	188 hr.
1	2	1	0.1	-	0.05	0.001	34.8	50.8	26.1	20.4	14.2	11.85	9.4
2	2	1	-	0.1	0.05	0.001	39.9	54.4	13.2	10.5	7.6	5.25	5.1
3	2	1	0.1	0.1	0.05	0.001	39.0	56.0	37.6	30.6	23.8	22.8	4.3
4	2	1*	0.1	-	0.05	0.001	28.5	35.2	41.4	103.5	196.5	228.9	212.5
5	2	1*	--	0.1	0.05	0.001	26.4	29.6	46.5	96.0	109.5	227.7	212.5
6	2	1*	0.1	0.1	0.05	0.001	30.3	39.2	59.6	90.5	169.5	289.8	245.0

หมายเหตุ

* หมายถึงใช้ยีสต์สกัดแทนยีสต์แห้ง

ตารางที่ 12 เปรียบเทียบปริมาณโปรตีนระหว่างยีสต์แห้งกับยีสต์สด

ตัวอย่าง	Soluble protein		ปริมาณโปรตีนทั้งหมด %
	mg/ml	%	
ยีสต์สด	0.80	44.4	53.78
ยีสต์แห้ง	0.175	9.72	40.34

ตารางที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนของแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนต่าง ๆ กับ α -amylase activity

ตัวอย่างที่	% แป้งมัน (นน. เปียก)	% ยีสต์แพะ (นน. เปียก)	% K_2HPO_4 (w/v)	% KH_2PO_4 (w/v)	% $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ (w/v)	% $FeSO_4$ (w/v)	α -amylase activity (unit/ml)				
							24	48	72	96	120 hr.
1	2	4	0.1	0.1	0.05	0.001	13.2	19.2	16.0	12.9	8.75
2	4	4	0.1	0.1	0.05	0.001	18.3	35.6	22.5	23.2	23.0
3	6	4	0.1	0.1	0.05	0.001	21.3	45.2	43.5	33.0	17.4
4	8	4	0.1	0.1	0.05	0.001	18.9	40.4	54.0	37.5	20.0
5	10	4	0.1	0.1	0.05	0.001	19.5	34.8	56.5	44.5	46.5
6	12	4	0.1	0.1	0.05	0.001	64.4	104.0	90.45	115.3	104.3
7	14	4	0.1	0.1	0.05	0.001	66.0	112.5	108.54	120.5	115.4
8	16	4	0.1	0.1	0.05	0.001	71.4	118.0	114.57	130.0	126.0
9	18	4	0.1	0.1	0.05	0.001	72.6	124.5	124.62	142.3	136.8
10	20	4	0.1	0.1	0.05	0.001	83.4	147.0	148.74	170.8	154.8
11	24	4	0.1	0.1	0.05	0.001	90.3	143.2	149.3	169.4	153.4
12	28	4	0.1	0.1	0.05	0.001	89.4	145.3	147.4	165.2	152.8

4.2 การศึกษาอิทธิพลของสภาวะแวดล้อม ในการผลิตเอนไซม์

4.2.1 ระยะเวลาการหมักที่ให้ α -amylase activity คีที่สุด

ผลการทดลองแสดงดังรูป 11

4.2.2 อิทธิพลของการกวน

ผลการทดลองแสดงดังรูป 12

4.2.3 อิทธิพลของอุณหภูมิ

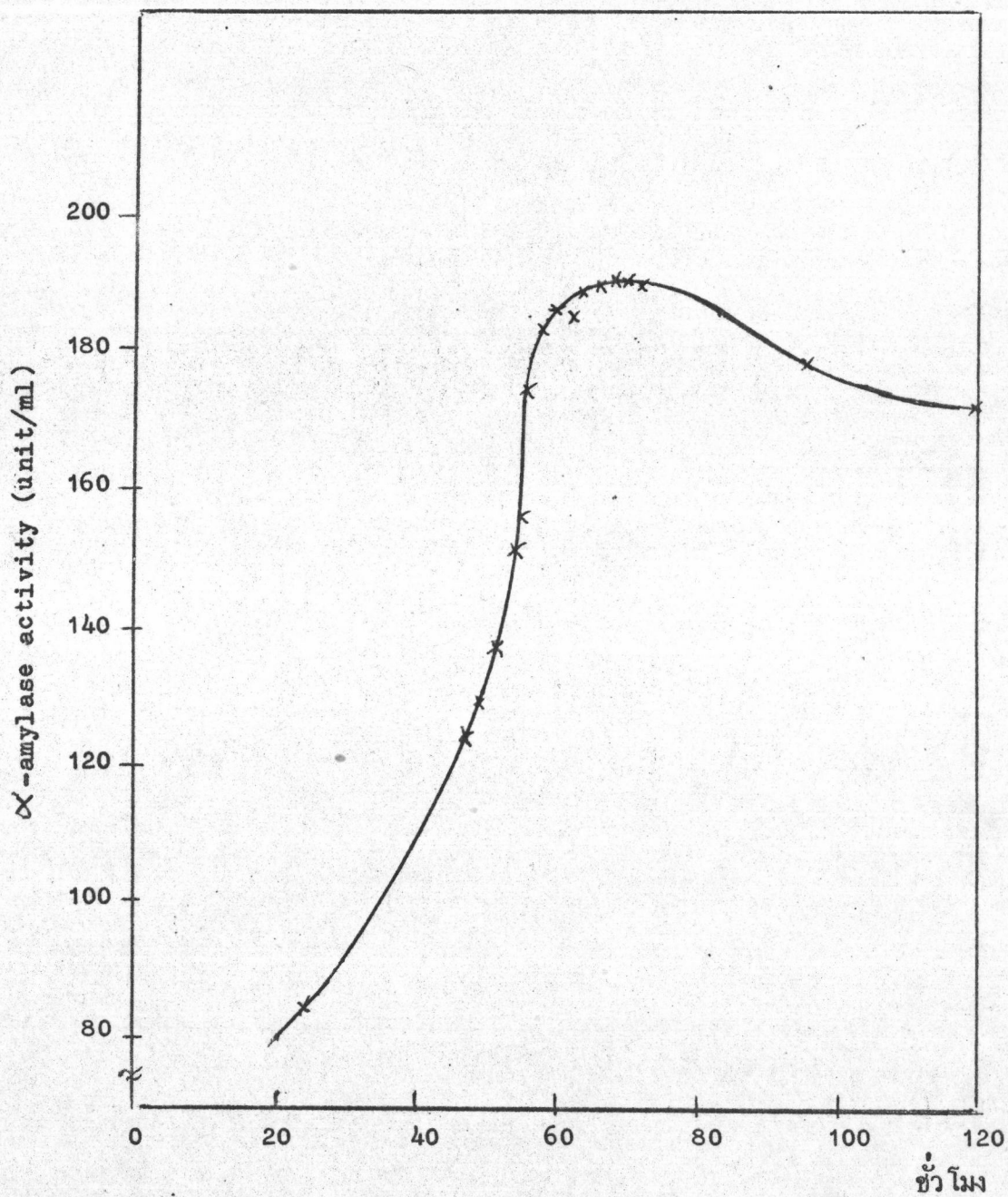
ผลการทดลองแสดงดังรูป 13

4.2.4 อิทธิพลของการให้อากาศ

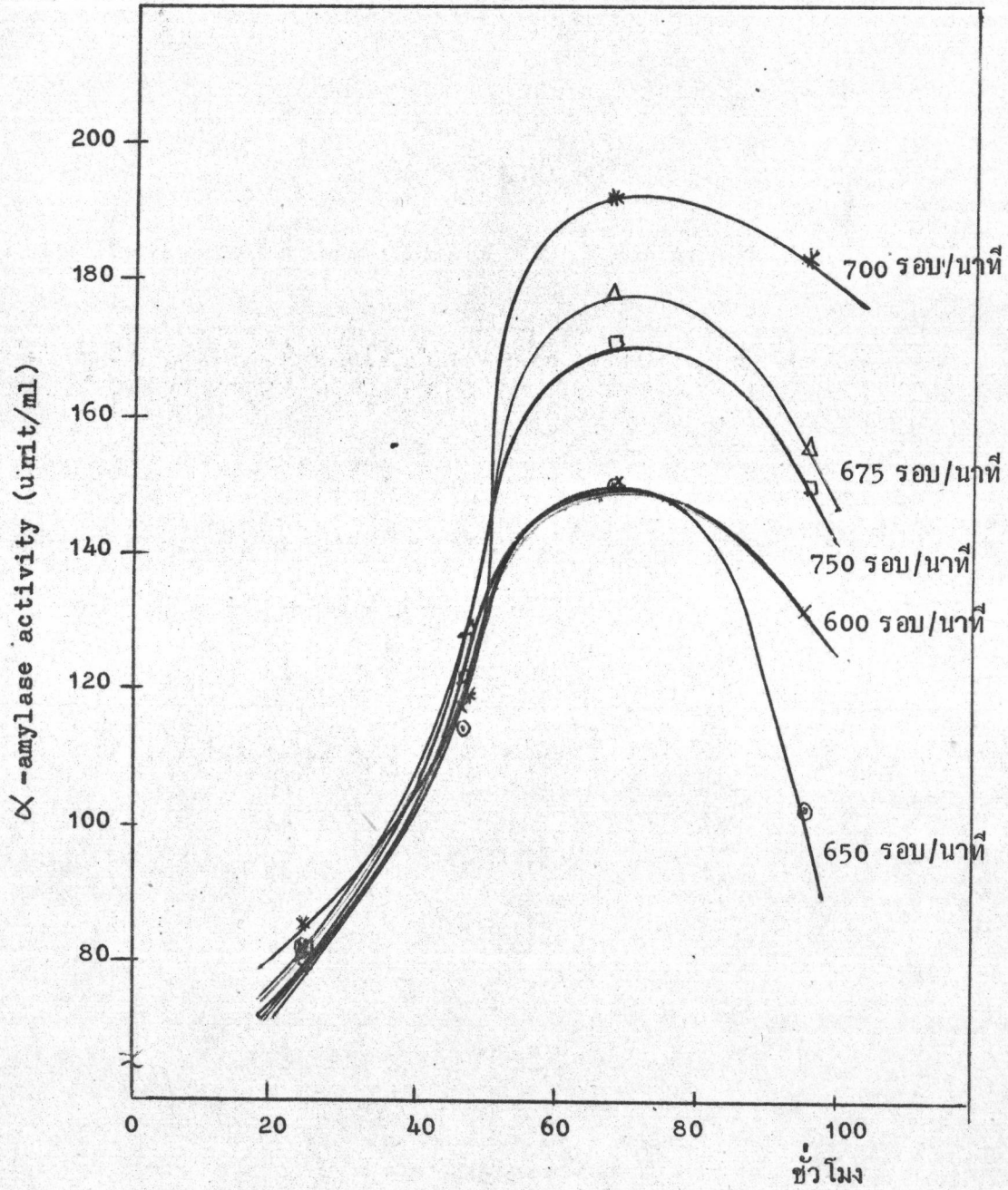
ผลการทดลองแสดงดังรูป 14

4.2.5 อิทธิพลของปริมาณทรหั่วเชื้อที่ใช้

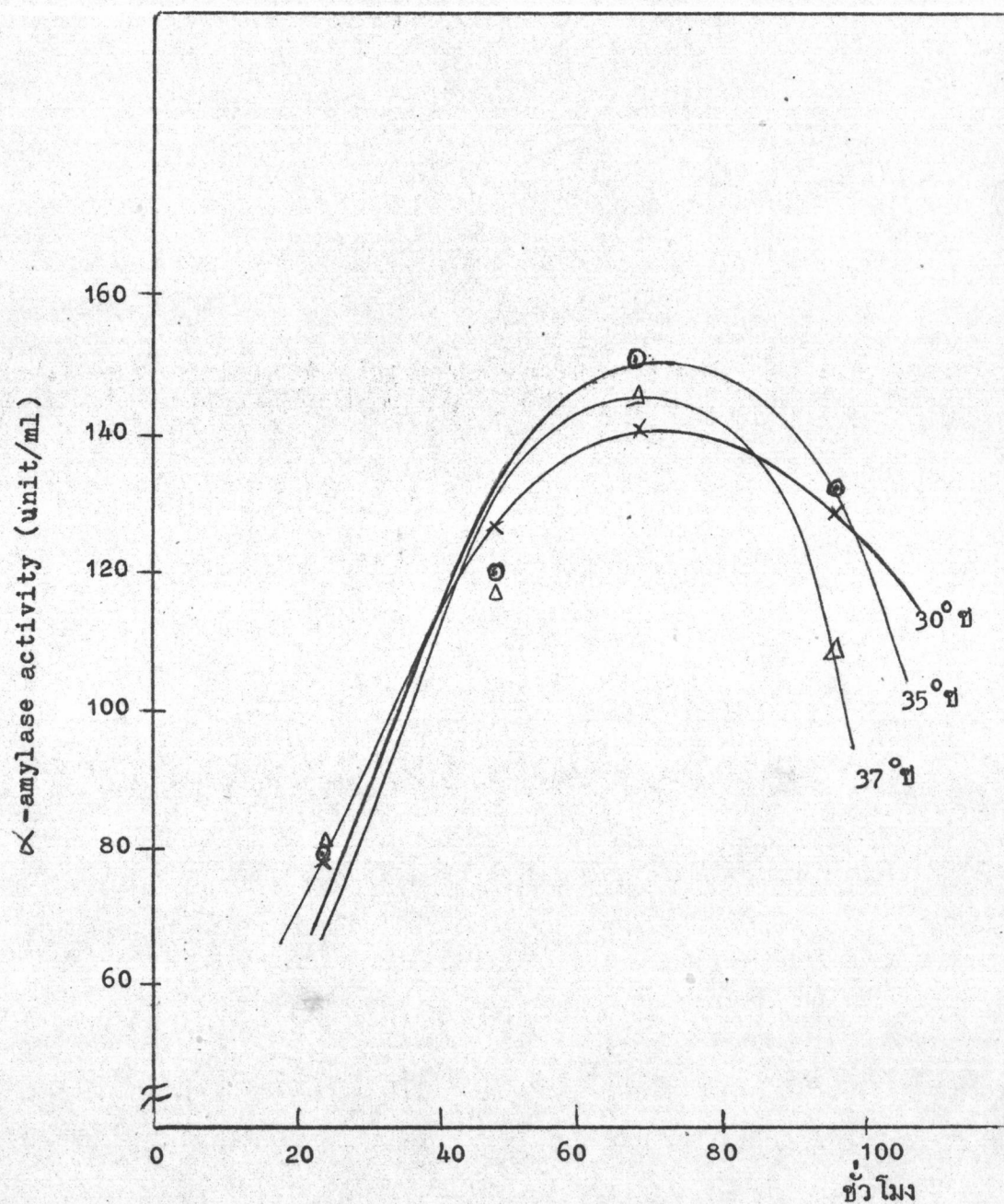
ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 15



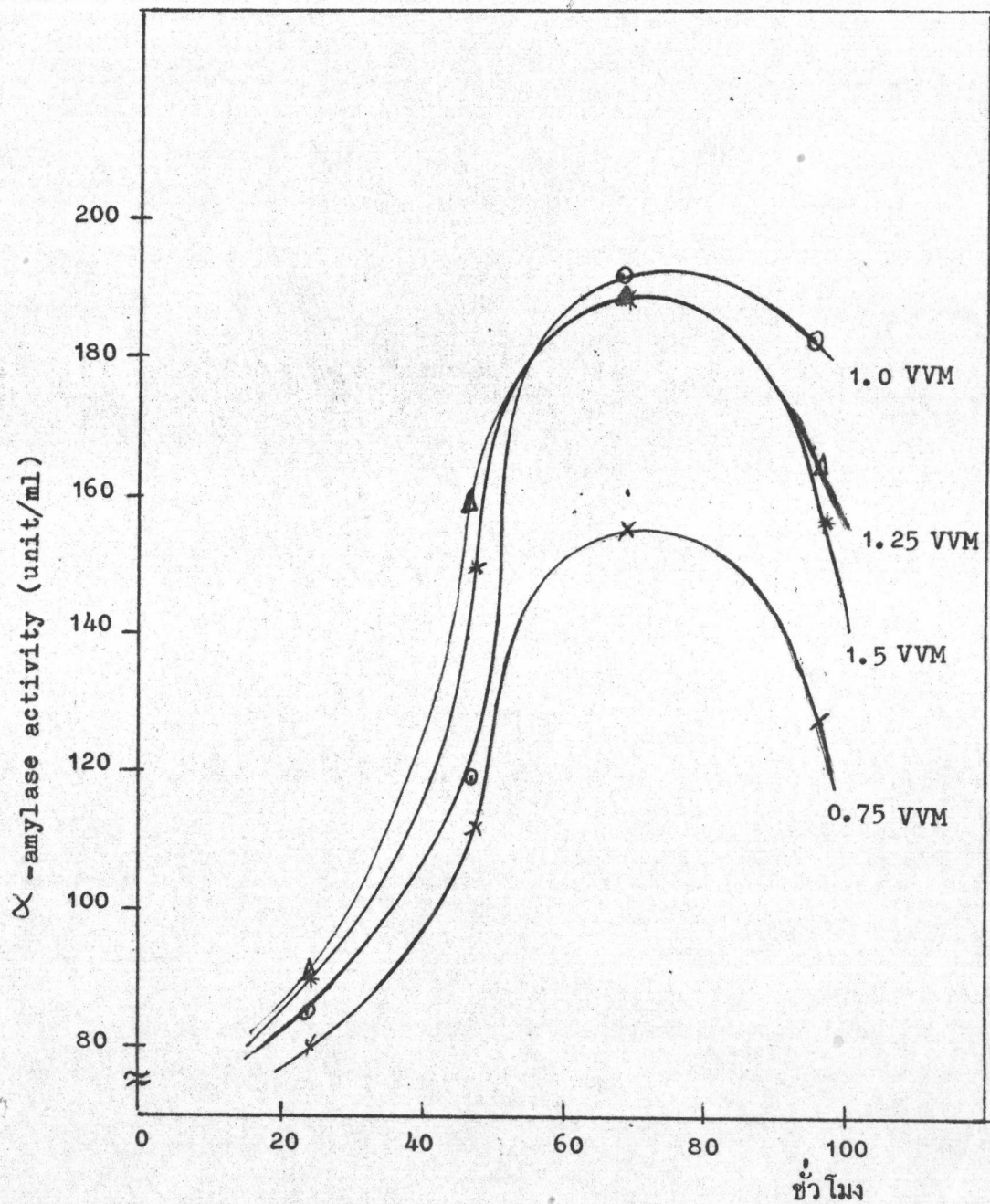
รูปที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง α -amylase activity กับระยะเวลาการหมักเอนไซม์ เมื่อความเร็วของเครื่องกวนเป็น 700 รอบ/นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.0 VVM pH 5.0 ปริมาตรหัวเชื้อ 5%



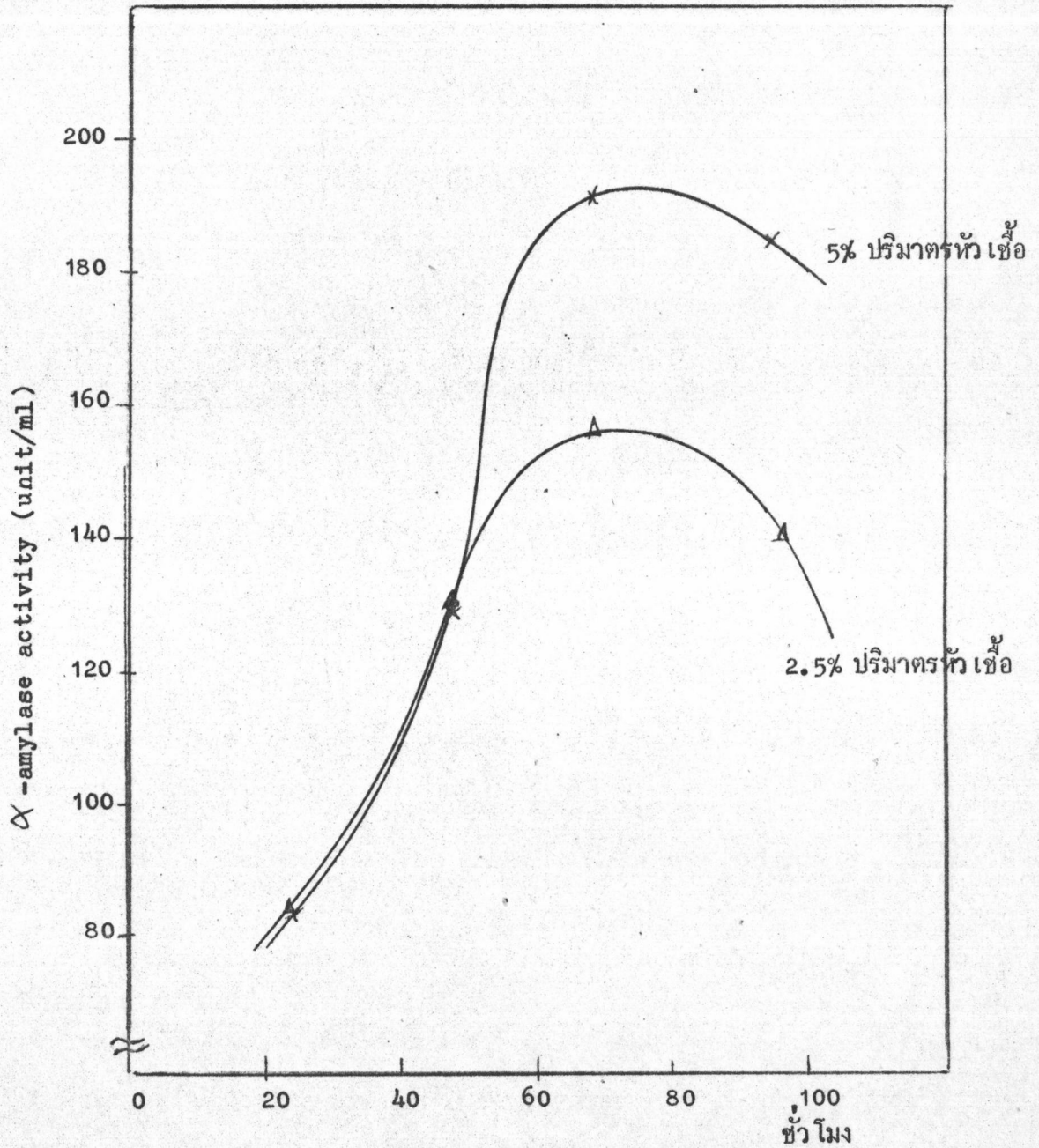
รูปที่ 12 แสดงความสัมพันธ์ระหว่าง α - amylase activity กับระยะเวลาในการหมัก เมื่อความเร็วของเครื่องกวนต่างกัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส อัตราการให้อากาศ 1.0 VVM pH 5.0 ปริมาตรหัวเชื้อ 5%



รูปที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง α -amylase activity กับระยะเวลาของการหมักเมื่ออุณหภูมิต่างกัน ที่ความเร็วของเครื่องกวน 600 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1.0 VVM pH 5.0 ปริมาตรหัวเชื้อ 5%



รูปที่ 14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง α -amylase activity กับระยะเวลาในการหมัก เมื่ออัตราการให้อากาศต่างกัน ที่ ความเร็วของเครื่องกวนเป็น 700 รอบ/นาที อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส pH 5.0 ปริมาตรหัวเชื้อ 5%



รูปที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง α -amylase activity กับระยะเวลาการหมัก เมื่อปริมาณหัวเชื้อต่างกัน ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส ความเร็วของเครื่องกวน 700 รอบ/นาที อัตราการไหลอากาศ 1.0 VVM pH 5.0

4.3 การศึกษาการเตรียมเอนไซม์ที่ผลิตได้

4.3.1 เอนไซม์เข้มข้น

4.3.1.1 อิทธิพลของอุณหภูมิในการระเหย

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 14

4.3.1.2 เสถียรภาพของ เอนไซม์เข้มข้นที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส)

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 15 และ 17

4.3.2 เอนไซม์ผง

ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 16 และ 17

ตารางที่ 14 ผลของอุณหภูมิในการระเหยน้ำที่มีต่อ α -amylase activity ของเอนไซม์เข้มข้น

อุณหภูมิ (°C)	เวลาที่ใช้ (นาที)	องศาบริกซ์ เริ่มต้น	องศาบริกซ์ สุดท้าย	α -amylase activity(unit/ml)		
				เริ่มต้น	สุดท้าย	Recovery Efficiency (a) %
50	32.3	7-8	35	192.0	593.07	69.50
60	23.8	7-8	35	192.0	600.40	70.36
70	20.0	7-8	35	192.0	304.30	35.66

(a)

Recovery efficiency = (Total enzyme in concentration/Total enzyme in original sample) × 100

ตารางที่ 15 ผลของระยะเวลาการเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น (4 องศาเซลเซียส) ที่มีต่อเอนไซม์อะไมเลส

ระยะเวลาการเก็บ (วัน)	α -amylase activity (unit/ml)
0	600.4
7	598.8
14	597.0
21	596.3
30	593.1
90	590.7

ตารางที่ 16 ข้อมูลต่าง ๆ เกี่ยวกับเอนไซม์ผง

การทดลองที่	ความเข้มข้นของสารละลายก่อนทำให้แห้งโดยใช้ spray dryer	ตำแหน่งที่เก็บตัวอย่าง เอนไซม์ผง	Specific activity (unit/gm soluble protein)		ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์ผงที่ได้	ลักษณะ เอนไซม์ผงที่ได้หลังการเก็บที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2 เดือน โดยบรรจุในถุงอะลูมิเนียม
			ก่อนเก็บ	หลังเก็บ 2 เดือนโดยบรรจุในถุงอะลูมิเนียม		
1	35 องศาบริกซ์	จากขวดเก็บตัวอย่าง	7.02×10^3	7.18×10^3	เป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อน จับแล้วจะเยิ้มเหนียวติดมือ	ลักษณะของผง เหมือนเดิมทุกประการ
2	40 องศาบริกซ์	จากขวดเก็บตัวอย่าง	6.35×10^3	6.34×10^3	เป็นผงละเอียดสีน้ำตาลอ่อนกว่าตัวอย่างที่ได้จากการทดลองที่ 1 จับแล้วสีนม	ลักษณะของผง เหมือนเดิมทุกประการ
		จากใน chamber	6.04×10^3	6.02×10^3	เป็นผงละเอียดขนาดใหญ่มากกว่าการทดลองที่ 1 + ลักษณะ มีสีเหลืองอ่อน จับแล้วจะเยิ้มเหนียวติดมือ	ลักษณะของผง เหมือนเดิมทุกประการ

ตารางที่ 17 เปรียบเทียบคุณสมบัติระหว่าง เอนไซม์เซมซัน, เอนไซม์ผง, เอนไซม์ NOVO, และเอนไซม์ในการวิจัยอื่น ๆ

คุณสมบัติ	เอนไซม์เซมซัน				เอนไซม์ผง			
	NOVO*	ผลิตเอง	การวิจัยอื่น ๆ **		NOVO*	ผลิตเอง		
			กนิษฐา (1)	Ghildyal et al. (17)		ไม่เติมเด็กซ์ ทรูปก่อนทำ ไหแห้งจาก จากขวดเก็บ ตัวอย่าง	เติมเด็กซ์ทรูปก่อนทำ ก่อนทำให้แห้ง	จากขวด เก็บตัวอย่าง
% ความชื้น	74.92	66.05	—	—	13.17	2.36	2.38	2.13
% โปรตีน	38.54	2.45	—	—	14.26	1.84	1.42	0.98
% สมมูลย์เด็กซ์โตรส	75.43	27.68	—	—	68.52	24.99	23.6	22.9
α -amylase activity (unit/ml)	21,300	600.4	645.05	171.99	-	-	-	-
Specific activity (unit/gm soluble protein)	175.44 $\times 10^3$	9.6×10^3	—	—	141.34 $\times 10^3$	7.2×10^3	6.35 $\times 10^3$	6.04 $\times 10^3$
Yield (unit/gm tapioca starch)	-	506.59	—	—	-	39.76	93.64	479.51

* NOVO Industri A/S, Enzyme Division, DK-2880 Bagsvaerd, Denmark.

** ตัวเลขได้จากเอกสารอ้างอิง