

การผลิตแอลฟา-อะไมเลสด้วยการหมักแบบแห้งจากจุลินทรีย์

Microbial alpha-Amylase Production by Solid Fermentation

วิเชียร ลีลาวัทธามาศ¹ วีระสิทธิ์ กัลยากรุต² และวิศิษฐ์ วงศ์ตังสกุล²

Vichien Leelawatcharamas, Weerasit Kulyakrit and Visit Wongtangskul

ABSTRACT

Alpha-amylase production by solid fermentation with two strains of bacteria are *Bacillus subtilis* and *Bacillus sp.* NTU-900. 5 kinds of carbon source, such as wheat bran, rough rice bran, fine rice bran, cassava and sorghum bran were used. *Bacillus sp.* NTU-900 is the best for alpha-amylase production in all carbon source studied. The optimum condition for this strain are the ratio between rough rice bran to fine rice bran 40 to 30% mixed with water pH 7.0 with the ratio between medium to water 1 to 0.5 and add $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ for growth factor and after incubation at 37°C for 72 hrs can get alpha-amylase activity about 400 unit per gram.

บทคัดย่อ

การผลิตแอลฟา-อะไมเลสด้วยการหมักแบบแห้งจากเชื้อแบคทีเรียสองชนิดได้แก่ *Bacillus subtilis* และ *Bacillus sp.* NTU-900 โดยใช้แหล่งคาร์บอนต่าง ๆ กัน 5 ชนิด ได้แก่ รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้าหยาบ, รำข้าวเจ้าละเอียด, มันสำปะหลังและรำข้าวฟ่าง พบว่า *Bacillus* NTU-900 ให้ผลผลิตสูงกว่าอย่างอื่น จากการศึกษการผลิตแอลฟาอะไมเลสด้วยแบคทีเรียดังกล่าว พบว่าอัตราส่วนผสมระหว่างรำข้าวเจ้าหยาบต่อละเอียดที่เหมาะสมที่สุดคือ 40 ต่อ 30% ผสมน้ำที่มีพี-เอช 7.0 ในอัตราส่วนระหว่างอาหารหลักต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 0.5 และมีแร่ธาตุ $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ เป็นตัวเร่งการเจริญเติบโตภายหลังการหมัก ณ อุณหภูมิ 37°C . เป็นเวลา 72 ชม. ได้แอลฟา-อะไมเลสที่มีความสามารถ 400 หน่วยต่อกรัม

คำนำ

การใช้เอนไซม์ในปัจจุบันกำลังได้รับความสนใจจากนักวิจัย นักอุตสาหกรรมที่จำเป็นต้องใช้เอนไซม์ในการผลิต เช่น การผลิตอาหารสำหรับบริโภค ได้แก่ ลูกอม ฟรุคโทสและมอลโทส เป็นต้น การผลิตยารักษาโรคได้แก่กรดอะมิโนต่างๆ สารปฏิชีวนะ เป็นต้น ตลอดจนการนำไปใช้ในการกำจัดน้ำเสียและเมื่อเร็ว ๆ นี้ได้มีการใช้เอนไซม์สกัดกลั่นรสรสจากพืชผักโดย Tateo(1979) ดังนั้นการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์จึงเป็นเพียงพื้นฐานของการนำเอนไซม์ที่ผลิตมาใช้ประโยชน์เท่านั้น

ขณะนี้การใช้เอนไซม์นิยมใช้ในรูปแบบของเอนไซม์ไม่ละลายน้ำ (immobilized enzyme) การผลิตและการใช้เอนไซม์ไม่ละลายน้ำ (วิเชียร 2521) ได้มีการศึกษาอย่างกว้างขวางและเอนไซม์ไม่ละลายน้ำบางชนิดประสบความสำเร็จในขั้นตอนอุตสาหกรรมแล้ว ได้แก่การผลิตฟรุคโทสไซรัปที่มีความเข้มข้นสูงๆ (High Fructose

1 ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ 2 ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร

คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ บางเขน กทม. 10900

Syrup) โดย Bucke (1971) การผลิตแอล-กรดอะมิโน(L-Amino-acid) โดย Chibata (1972) การย่อยสลายแป้ง โดย Solomon (1978) เป็นต้น

แอลฟา-อะไมเลส (alpha-1,4-glucan 4-glucanohydrolase, E.C. 3.2.1.1) สามารถผลิตได้จากจุลินทรีย์ (แบคทีเรียและเชื้อรา) หลายชนิด (Fogarty and Kelly, 1979) สามารถย่อยสลายกลูโคสที่เชื่อมกันแบบแอลฟา-1,4 ของอะไมโลส, อะไมโลเพคตินและไกลโคเจน แต่ไม่สามารถย่อยสลายกลูโคสที่เชื่อมกันแบบแอลฟา-1,6 ในแป้งดังกล่าวดู คุณสมบัตินี้และความสามารถในการย่อยสลายขึ้นอยู่กับแหล่งของเอนไซม์ คุณสมบัตินี้โดยทั่วไปจัดเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายได้เฉพาะภายใน (endo-acting enzymes) ดังนั้นสามารถทำให้ความหนืดของแป้งลดลงอย่างรวดเร็ว ทำนองเดียวกันก็สามารถทำให้การเปลี่ยนสีของไอโอดีนเกิดขึ้นรวดเร็วเช่นกัน แอลฟา-อะไมเลส ก็สามารถย่อยสลายอะไมโลสให้เป็นมอลโทสและมอลโทไตรออส (maltotriose) ส่วนอะไมโลเพคตินและไกลโคเจนหลังจากถูกย่อยสลายด้วยแอลฟา-อะไมเลสจะได้กลูโคส, มอลโทสและ alpha-limit dextrins ส่วนประกอบของแอลฟา-อะไมเลสก็ออกกรดอะมิโนเช่นเดียวกับเอนไซม์ชนิดอื่นๆ จำนวนกรดอะมิโนจะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ผลิต มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000 (Fogarty and Kelly, 1979) ความคงตัวของแอลฟา-อะไมเลสทางด้านพีเอช อยู่ระหว่าง 3.5-9.2 ส่วนอุณหภูมิอยู่ระหว่าง 35-75°ซ. (Fogarty and Kelly, 1979)

การผลิตแอลฟา-อะไมเลสด้วยจุลินทรีย์ต้องอาศัยวิธีการหมักซึ่งใช้ได้ทั้งแบบการหมักแห้ง (Solid fermentation) และการหมักเหลว (liquid fermentation) จากการเปรียบเทียบทั้งสองวิธีด้วยแบคทีเรียตระกูล *Bacillus* sp. NTU-900 (วิเชียร 1977) พบว่าการหมัก

แบบหลังใช้ระยะเวลาสั้นกว่า แต่การปฏิบัติยุ่งยากกว่าแบบแรก จากการทดลองการหมักแบบแห้ง ใช้รำข้าวสาลีเป็นแหล่งคาร์บอน (carbon-source) 70 % จากวัตถุดิบทั้งหมดที่ใช้ หลังจากที่ยำข้าวสาลีได้หัวน้ำ ก็มีความคิดที่จะใช้วิธีการหมักแบบแห้งเพื่อผลิตแอลฟา-อะไมเลสโดยเปลี่ยนจากรำข้าวสาลีเป็นรำข้าวที่มีอยู่ในประเทศ ข้าพเจ้าได้รับเชื้อแบคทีเรียดังกล่าวจากอาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ชูหยวน-จิ ปัจจุบันเป็นหัวหน้าภาควิชาเกษตรเคมี คณะเกษตรมหาวิทยาลัยได้หัวน้ำ ไทเป เพื่อเป็นการเปรียบเทียบกับแบคทีเรียที่มีอยู่ในประเทศ จึงได้ใช้ *Bacillus subtilis* ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากอาจารย์อรรณพ หันพงศ์กิตติกุล ภาควิชาจุลินทรีย์ คณะวิทยาศาสตร์มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ ปัจจุบันเป็นอาจารย์อยู่ที่มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์ทั้งสองมา ณ โอกาสนี้ด้วย

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์ 1. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

Peptone	1.0 %
Beef extract	1.0 %
Glucose	0.2 %
Potato starch	0.5 %

pH 7.0 นำเชื้อที่ 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว 15 นาที

2. สูตรอาหารหลักที่ใช้หมัก

แหล่งคาร์บอน	70 %
ถั่วเขียวบด	10 %
แป้งข้าวโพด	10 %

ผสมน้ำกลั่น pH 7.0 ด้วยอัตราส่วนระหว่างอาหารหลักต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 0.5 นำเชื้อที่ความดัน 1 กก./ตร.ซม 1 ซม. (บรรจุอาหารหลักในพลาสติกขนาด 500 มล. พลาสติกละ 50 กรัม) แหล่งคาร์บอนที่ใช้เปรียบเทียบได้แก่ รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้า, หยาบ, รำข้าวเจ้าละเอียด, มันสำปะหลัง และรำข้าวฟ่าง

3. จลินทรีย์ที่ใช้: เชื้อแบคทีเรีย ได้แก่

Bacillus subtilis

Bacillus sp. NTU-900

วิธีการ 1. การหมัก

- ก. เชื้อเชื้อแบคทีเรียทั้งสองอย่างละ 1 loop ใส่ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออย่าง
ละพลาสติก นำเข้าตูบแบบเขย่าที่
อุณหภูมิ 37° ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
- ข. เติมสารละลายเชื้อจากข้อ ก. ลงใน
สูตรอาหารหลักพลาสติกละ 12.5 มล.
ผสมให้ทั่ว นำเข้าตูบธรรมดาที่
อุณหภูมิ 37° ซ. ตรวจสอบความชื้น
พี-เอชและความสามารถ(activity)
ทุก ๆ 24 ชั่วโมง

2. การหาความชื้น

ซึ่งตัวอย่างคร่งละประมาณ 1-3 กรัม ใส่
จานอลูมิเนียมที่ทราบน้ำหนักคงที่แล้ว นำ
เข้าตูบที่อุณหภูมิ 105° ซ. 3 ชม. แล้ว
นำออกใส่ไว้ใน desiccator จนเท่าอุณหภูมิห้อง
ซึ่งน้ำหนักจานอลูมิเนียมพร้อม
ตัวอย่าง คำนวณหาปริมาณความชื้นแต่ละ
ตัวอย่างจากสูตร

$$\text{ความชื้น} = \frac{\text{น.จานและตัวอย่าง} - \text{น.จาน}}{\text{น.ตัวอย่าง}} \times 100$$

3. การหาพี-เอชและความสามารถ
ซึ่งตัวอย่าง 5 กรัมใส่พลาสติกขนาด 100 มล.
เติมน้ำกลั่น 50 มล. นำเข้าเครื่องเขย่า ณ
อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 30 นาที กรองด้วย
กระดาษกรองให้ได้สารละลายเอนไซม์ประ
มาณ 10 มล. เพื่อใช้หาความสามารถ
ที่เหลืออยู่ในรูปสารผสมนำไปวัดพี-เอช

การหาความสามารถ เตรียมสารละลาย
แบ่ง 1.0 % ใช้ไปเปิดขนาด 10 มล. คูด
สารละลายแบ่งนี้ใส่หลอดทดสอบแล้วนำไป
วางไว้ในอ่างน้ำอุ่น 40° ซ. เป็นเวลา
อย่างน้อย 3 นาที เติมสารละลายเอนไซม์

ในหลอดที่มีสารละลายแบ่งหลอดละ 2 มล.
จับเวลาและเขย่าหลอดวางไว้ในอ่างน้ำอุ่น
เช่นเดิม ใช้ dropper คูดสารละลายผสม
ครั้งละ 0.5 มล. ใส่ในหลอดทดสอบที่มี
สารละลายไอโอดีนอยู่ 2-3 หยด สังเกต
การเปลี่ยนแปลงของสี ภายใต้แสงหลอด
นีออนสีขาว 20 วัตต์สูงจากพื้น 15 ซม.
การเปลี่ยนแปลงของสีเริ่ม จากน้ำเงินเป็น
ม่วง และสุดท้ายเหลืองอมส้ม บันทึกเวลา
ที่ใช้ (ถ้าเกิน 15 นาทีให้ถือว่า ไม่มีความ
สามารถ) คำนวณหน่วยความสามารถจาก
สูตร

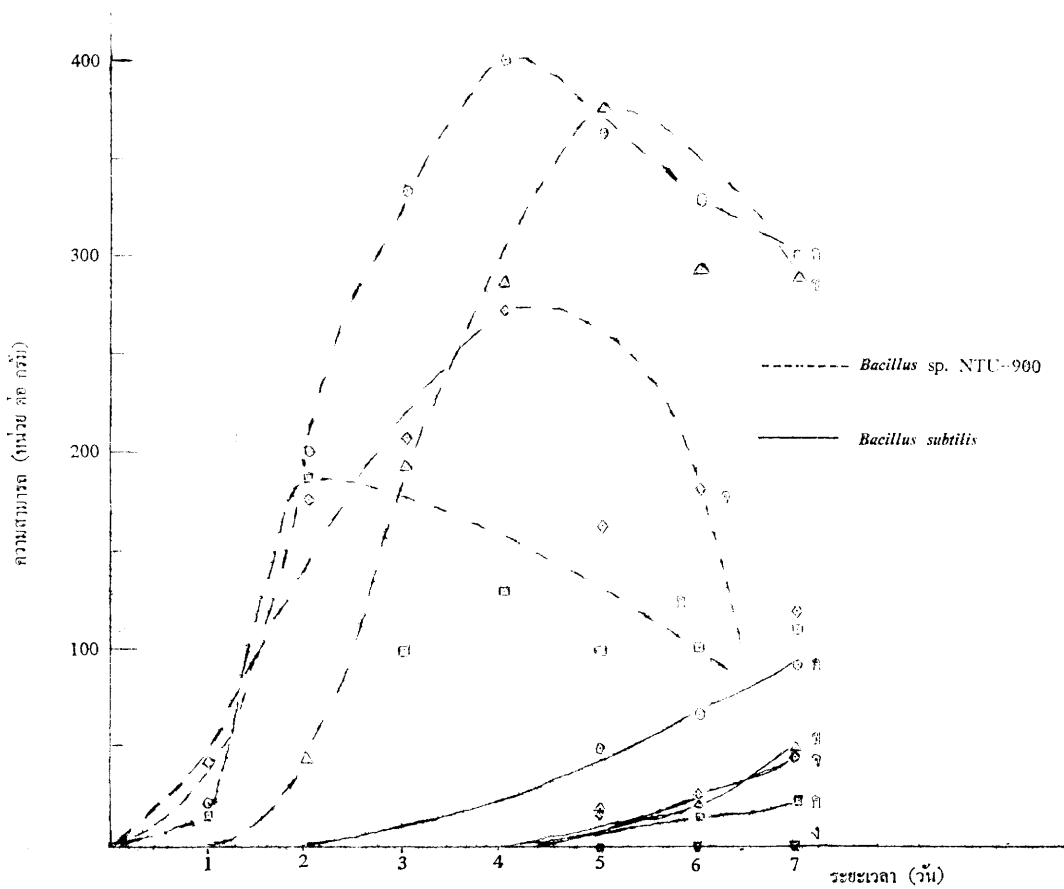
$$D_{40}^{40} = 200 \text{ f/T หน่วยต่อกรัม}$$

เมื่อ f = จำนวนเท่าที่เชื้อจากสารละลาย
เอนไซม์

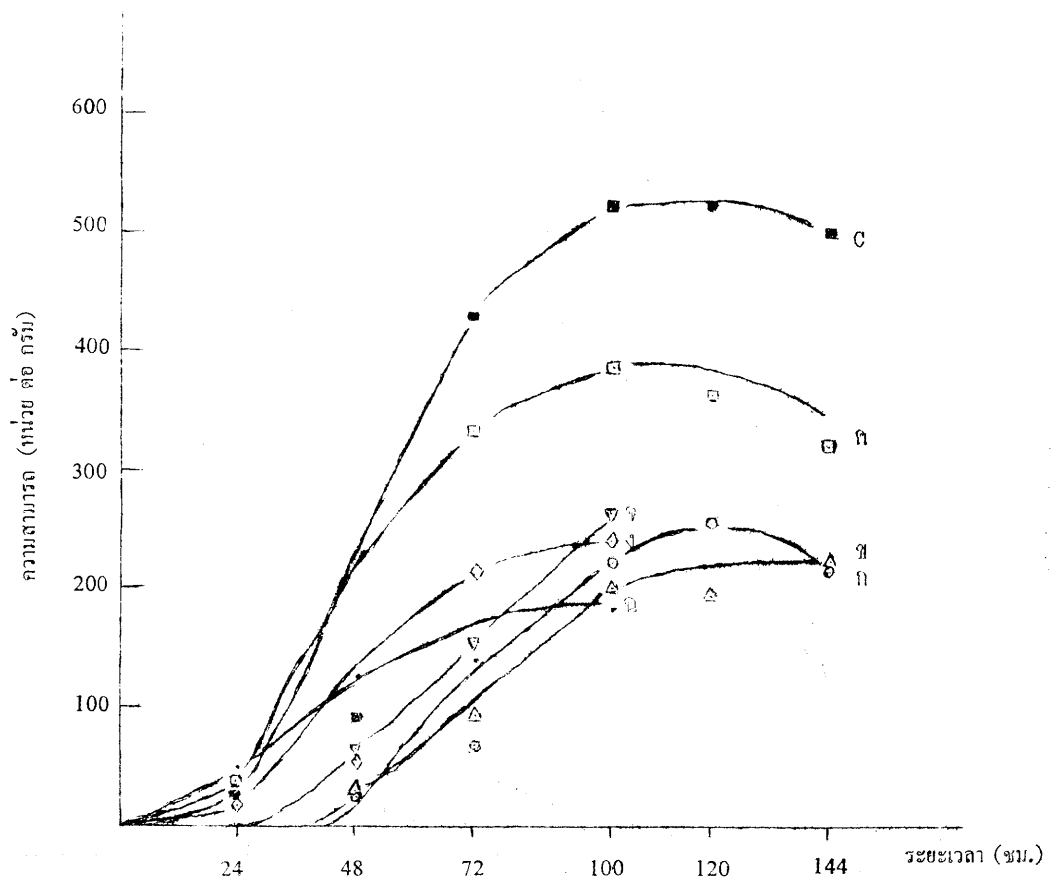
T = เวลาที่ใช้ในการเปลี่ยนสีจนถึง
จุดสุดท้าย, นาที

ผล

1. การเปรียบเทียบคุณสมบัติของเชื้อ
แบคทีเรียทั้งสองชนิดในการผลิตแอลฟาอะไม-
เลส การทดลองนี้ใช้แหล่งคาร์บอนต่างๆกัน 5
อย่าง ได้แก่ ข้าวสาลี (ก) ข้าวเจ้าหยาบ
(ข) ข้าวเจ้าละเอียด (ค) มันสำปะหลัง (ง)
และข้าวฟ่าง (จ) หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง
สองชนิด ปรากฏผลดังรูปที่ 1 ซึ่งพบว่า *Baci-*
llus sp. NTU-900 ให้ผลผลิตสูงกว่า *Bacillus*
subtilis อย่างสิ้นเชิง แม้กระทั่งแหล่งคาร์บอน
ที่ใช้ทั้งห้าชนิด ดังนั้นการทดลองครั้งต่อไปใช้
แบคทีเรียชนิดแรกในการผลิตแอลฟา-อะไมเลส
และจากข้าวฟ่างให้ผลผลิตสูงสุดที่สุดภายหลัง
การหมัก 4 วัน และเป็นแหล่งคาร์บอนที่ทดสอบ
แหล่งคาร์บอนอันดับสองได้แก่ ข้าวเจ้าหยาบ
ซึ่งให้ผลผลิตสูงสุด ภายหลังการหมัก 5 วัน
อันดับสามได้แก่ข้าวฟ่างให้ผลผลิตสูงสุดภาย
หลังการหมัก 4 วัน อันดับสี่ได้แก่ข้าวเจ้า
ละเอียดให้ผลผลิตสูงสุดภายหลังการหมัก 2 วัน



รูปที่ 1 การเปรียบเทียบการผลิตแอลฟา-อะไมเลส จากแบคทีเรียสองชนิดด้วยแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ กัน



รูปที่ 2 การเปรียบเทียบอัตราส่วนผลระหว่างข้าวเจ้าและข้าวเหนียวต่อผลผลิต
แอลฟาอะไมเลส

มันสำปะหลัง ไม่สามารถ ให้ผลผลิตแอลฟา-อะไมเลส ทั้งเนื่องจากปริมาณไซยาไนด์ที่มีอยู่ในมันสำปะหลังเป็นสาเหตุ จากการพิจารณาถึงสภาพแวดล้อมที่หาได้ง่ายในประเทศแล้ว ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว และละเอียดยังมีความเหมาะสมมากที่สุด และสามารถนำข้าวเจ้าทั้งสองชนิดมาผสมในอัตราส่วนต่างๆ กัน ศึกษาถึงการผลิตแอลฟา-อะไมเลส

2. การเปรียบเทียบการผลิตแอลฟา-อะไมเลสจากอัตราส่วนต่างกันของข้าวเจ้า ข้าวเหนียว และละเอียด ด้วย *Bacillus* sp. NTU-900 โดยนำข้าวเจ้าเป็นตัวแทนเปรียบเทียบ อัตราส่วนที่ใช้นั้น

- ก. ข้าวละเอียด 10 % ผสมข้าวเหนียว 60 %
- ข. ข้าวละเอียด 20 % ผสมข้าวเหนียว 50 %
- ค. ข้าวละเอียด 30 % ผสมข้าวเหนียว 40 %
- ง. ข้าวละเอียด 40 % ผสมข้าวเหนียว 30 %
- จ. ข้าวละเอียด 50 % ผสมข้าวเหนียว 20 %
- ฉ. ข้าวละเอียด 60 % ผสมข้าวเหนียว 10 %
- C. ข้าวเจ้า 70 %

ผลการทดลองดังรูปที่ 2 พบว่าการใช้ข้าวละเอียด 30 % ผสมข้าวเหนียว 40 % ให้ผลใกล้เคียงกับข้าวเจ้ามากที่สุด ภายหลังการหมัก 100 ชม. เพื่อความเหมาะสม ในการทดลองครั้งต่อไป จะใช้ระยะเวลาการหมักเพียง 72 ชม. นอกจากนี้ ได้ตรวจสอบปริมาณ ความชื้น และ พี-เอชแต่ละครั้งที่มีการตรวจสอบความสามารถ พบว่า ปริมาณ ความชื้นอยู่ในช่วงระหว่าง 40 – 60 % และพี-เอชอยู่ในช่วงระหว่าง 8-9

3. การเปลี่ยนแปลงพี-เอชของน้ำที่ใช้ผสม กับ อาหารหลักที่ใช้หมัก จากการทดลองที่ผ่านมาใช้น้ำที่มีพี-เอช 7.0 เป็นตัวผสมเพื่อศึกษาถึงผลของพี-เอช น้ำที่ใช้ มีผลต่อการผลิตแอลฟา-อะไมเลสหรือไม่ จึงได้ใช้น้ำที่มีพีเอชต่างกันผสมกับอาหารหลักที่ใช้หมัก ผลการทดลองดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1. ผลของพี-เอช น้ำต่อการผลิตแอลฟา-อะไมเลส

	พี-เอชน้ำ			
	6.0	7.0	8.0	9.0
พี-เอชสุดท้าย	6.85	6.52	6.58	6.46
ความสามารถ (หน่วย/กรัม)	222	286	240	207
ความชื้น	57.5	56.5	58.0	22.0

หมายเหตุ หมักที่ 37° ซ เป็นเวลา 72 ชม.

จากตารางที่ 1 จะเห็นว่าพี-เอชน้ำที่ใช้เท่ากับ 7.0 ให้ความสามารถสูงที่สุด ซึ่งเป็นพี-เอช ที่แบคทีเรีย สามารถเจริญเติบโต และผลิตแอลฟาอะไมเลส ได้เหมาะสมที่สุด การทดลองครั้งต่อไปใช้พี-เอช น้ำ 7.0 เป็นตัวผสมกับอาหารหลักที่ใช้หมัก

4. การเปลี่ยนแปลงอัตราส่วน ผสม ของน้ำกับอาหารหลักที่ใช้หมัก

จากการทดลองที่ผ่านมา ใช้อัตราส่วน ผสมระหว่างอาหารหลักต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 0.5 เพื่อศึกษาผลของอัตราส่วนต่างๆ ของน้ำกลั่นมีผลต่อผลผลิตแอลฟา-อะไมเลสหรือไม่ ผลการทดลองดังตารางที่ 2 พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมที่สุดระหว่างอาหารหลักต่อน้ำเท่ากับ 1 ต่อ 0.5 ซึ่งการทดลองครั้งต่อไปจะใช้อัตราส่วน ผสมนี้

5. การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในการหมัก

จากการทดลองที่ผ่านมาใช้อุณหภูมิ 37° ซ. ในการหมัก เพื่อศึกษาถึงอุณหภูมิมีผลต่อการหมักหรือไม่ ผลการทดลองดังตารางที่ 3 พบว่า ณ. อุณหภูมิ 37° ซ. ให้ความสามารถของแอลฟา-อะไมเลสสูงที่สุด ซึ่งการทดลองครั้งต่อไปจะใช้ อุณหภูมิ 37° ซ.

ตารางที่ 2. ผลของอัตราส่วนผสมระหว่างอาหารหลักต่อน้ำ

	อัตราส่วนอาหารหลักต่อน้ำ				
	1 : 1.25	1 : 1	1 : 0.75	1 : 0.5	1 : 0.25
พี-เอชสุดท้าย	7.22	7.32	7.37	7.35	7.50
ความสามารถ, หน่วยต่อกรัม	311	290	305	433	302
ความชื้น, %	73.1	58.1	52	42	41

หมายเหตุ หนักที่ 37 กรัม. เป็นเวลา 72 ชม.

ตารางที่ 3. ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตแอลฟา-อะไมเลส

อุณหภูมิ, °C	พี-เอชสุดท้าย	ความชื้น %	ความสามารถ (หน่วย/กรัม)
ห้อง	6.63	44.0	19
37	7.24	45.5	286
45	6.77	43.0	29

หมายเหตุ ใช้เวลาหมัก 72 ชม.

6. ผลของแร่ธาตุต่างๆ ต่อการผลิตแอลฟา-อะไมเลส
แร่ธาตุต่างๆ มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียหรือไม่ ผลการทดลองดังนี้

ตารางที่ 4 พบว่า $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ มีผลต่อการเพิ่มผลผลิตแอลฟา-อะไมเลส ส่วน $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ กลับมีส่วนยับยั้งการผลิตแอลฟา-อะไมเลส

ตารางที่ 4. ผลของแร่ธาตุต่อการผลิตแอลฟา-อะไมเลส

สารละลายแร่ธาตุ	พี-เอชสุดท้าย	ความชื้น %	ความสามารถ (หน่วย/กรัม)
ไม่เติม	7.24	45.5	286
$\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$	7.20	56.0	211
$\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$	7.40	54.0	400
$\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$	7.05	53.0	289

วิจารณ์และสรุป

1. นอกจากรำข้าวเจ้าแล้ว ยังสามารถใช้รำข้าวเหนียวเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งมีส่วนผสมของอะไมโลเปคติน เป็นการเปรียบเทียบกับรำข้าวเจ้าซึ่งมีอะไมโลสเป็นส่วนประกอบ
2. อัตราส่วนผสมระหว่างรำหยาบและละเอียดสามารถใช้อัตราส่วน 50-50 เปรียบเทียบด้วย
3. พี-เอชของน้ำที่ใช้เท่ากับ 7.0 แสดงว่าแอลฟา-อะไมเลสที่ได้จัดเป็นประเภทกลาง เพราะว่าแอลฟา-อะไมเลสสามารถแบ่งได้ 3 ประเภทคือ ประเภทเป็นกรด ต่างและกลาง ประเภทกลางจัดเป็นแอลฟา-อะไมเลสที่ทนความร้อนได้สูงด้วย (Ingle and Erickson, 1978)
4. อัตราส่วนของน้ำที่ใช้ มีผลต่อความชื้นของอาหารหลักที่ใช้หมัก พบว่าความชื้นที่เหมาะสมต่อการผลิตแอลฟา-อะไมเลสประมาณ 55 % ซึ่งการทดลองเกี่ยวกับความชื้นสามารถใช้ถัง หมักแบบหมุนรอบตัวเองได้เป็นตัวควบคุม ทั้งยังสามารถเพิ่มปริมาณออกซิเจนได้อีกด้วย
5. อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อแบคทีเรีย ในการเจริญเติบโต โดยปกติอยู่ที่ 37 °C ซึ่งผลจากการทดลองก็ไม่ได้ตามทฤษฎี
6. แร่ธาตุที่มีความจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ เช่นเดียวกับมนุษย์ จากการทดลองที่ใช้ยีสต์ขาดแร่ธาตุบางชนิดเช่นแคลเซียม (ซึ่งแคลเซียมเป็นธาตุที่สามารถเพิ่มความทนต่อความร้อนของแอลฟา-อะไมเลสได้) เหล็ก เป็นต้น

คำนิยม

ผลงานวิจัยชิ้นนี้ ได้รับทุนอุดหนุนวิจัยจากสภาวิจัยแห่งชาติ ประจำปี 2521-22 ผู้เขียนและผู้ร่วมงานขอขอบคุณคณะกรรมการสภาวิจัยแห่งชาติไว้ ณ โอกาสนี้ด้วย

เอกสารอ้างอิง

- วิเชียร ลีลาวรรณมาส. 1977. การศึกษาการผลิตแอลฟา-อะไมเลสจาก *บาซิลลัส เอน.ที.ยู. 900* วิทยานิพนธ์ (ปริญญาโท) คณะเกษตร มหาวิทยาลัยไต้หวัน ไต้หวัน.
- วิเชียร ลีลาวรรณมาส. 2521. การผลิตและการใช้ Immobilized Enzymes กรุงเทพฯ : ภาควิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Bucke, C. 1977. Industrial Glucose Isomerase. *Enz. Ferment. Biotechnol.* 1 : 147 John Wiley and Sons Inc., New York.
- Chibata, I. et al. 1972. Preparation and Industrial Application of Immobilized Aminoacylases. *Fermentation Technology Today* p. 383 Soc. Ferment. Technology. Osaka Japan.
- Fogarty, W.M. and C.T. Kelly. 1979. Starch Degrading Enzymes of Microbial Origin. *Prog. Indust. Microbiol.* 15 : 96.
- Ingle, M.B. and R.J. Erickson. 1978. Bacterial alpha-Amylase. *Adv. Appl. Microbiol.* 24 : 257.
- Solomon, B. 1978. Starch Hydrolysis by Immobilized Enzymes Industrial Application. *Adv. Biochem. Eng.* 10 : 96.
- Tateo, F. 1979. Use of Enzymes in the Production of Vegetable Food Flavouring Extracts. *Enz. Microb. Technol.* 1 : 282.