

การศึกษาการผลิตเอ็นไซม์อะไมเลสจากแบคทีเรีย

เอ็นไซม์เป็นโปรตีนชนิดหนึ่งที่ทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เอ็นไซม์ผลิตขึ้นในเซลล์ที่มีชีวิตทั้งในเซลล์ของพืช ของสัตว์ และแม้แต่ในเซลล์ของจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เอ็นไซม์ที่ผลิตขึ้นเป็นการค้าโดยทั่วไปจะผลิตขึ้นมาได้จากพืช (เช่น papain, bromelain, ficin) จากสัตว์ (เช่น rennin, trypsin, chymotrypsin, pepsin) และจากจุลินทรีย์ (เช่น glucanase, amylase, cellulase, pectinase) แต่เอ็นไซม์ที่ผลิตขึ้นทั้งจากพืชและสัตว์ แม้ว่าจะใช้วัตถุดิบในปริมาณมากก็ตาม ก็ยังให้ผลผลิตต่ำ ไม่เพียงพอแก่ความต้องการที่เพิ่มขึ้น ดังนั้นความสนใจในการผลิตเอ็นไซม์จากจุลินทรีย์จึงได้เพิ่มขึ้นในระยะต่อมา เอ็นไซม์ที่ผลิตขึ้นจากจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย ยีสต์ และรา มีข้อได้เปรียบทางด้านเทคนิคหลายประการ เช่น สามารถเจริญเติบโตได้รวดเร็ว ผลิตเอ็นไซม์ได้มาก สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายน้อยและประสิทธิภาพในการย่อยของเอ็นไซม์จากจุลินทรีย์มีขอบเขตกว้าง

จุลินทรีย์ที่จะใช้ในการผลิตเอ็นไซม์เพื่อการค้านั้น มีข้อที่ควรนำมาพิจารณา คือ จะต้องหลีกเลี่ยงจุลินทรีย์ชนิดที่ทำให้เกิดโรค และจุลินทรีย์ที่จะผลิตสารพิษออกมาด้วย ในทางปฏิบัติจึงควรเลือกจุลินทรีย์ชนิดที่ให้ความปลอดภัยสูง นอกจากนี้จุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์จะผลิตเอ็นไซม์ได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังนั้นในการคัดเลือกสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ที่ต้องการ จึงเป็นสิ่งจำเป็นอย่างยิ่งสำหรับการผลิตเอ็นไซม์เพื่อการอุตสาหกรรม เพื่อที่จะผลิตเอ็นไซม์ที่ต้องการให้ได้ปริมาณสูงสุด จุลินทรีย์ที่จะใช้ในการผลิตเอ็นไซม์นั้นไม่มีแหล่งที่มาอยู่ ๒ แหล่ง คือ

๑. การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากแหล่งธรรมชาติโดยตรง เช่น จากดิน น้ำ อาหาร แล้วนำจุลินทรีย์ที่แยกได้ มาทดสอบหาชนิดของเอ็นไซม์ที่ต้องการ

๒. ขอซื้อจุลินทรีย์ที่จะผลิตเอ็นไซม์ชนิดที่ต้องการจากสถาบันที่ทำการเก็บรวบรวมจุลินทรีย์ในสหรัฐอเมริกา เช่นที่ American Type Culture Collection (ATCC) Rockville, Maryland ในประเทศไทย ที่สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เป็นต้น

ในปัจจุบันนี้ประเทศไทยมีการนำเอ็นไซม์ไปใช้ในอุตสาหกรรมหลายประเภท เอ็นไซม์ที่ใช้มากที่สุดชนิดหนึ่ง คือ อะไมเลส ใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ เช่น ใช้เป็น desizing ในโรงงานทอผ้า ใช้ผลิตเบียร์ กลูโคส เด็กซ์ตริน ไชโรป มอลโตส ใช้ในการทำขนมปัง ใช้ในอุตสาหกรรมกระดาษ ใช้ในขบวนการหมักแอลกอฮอล์ โดยเฉพาะจากพืชจำพวกแป้ง เช่น มันสำปะหลัง เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทดแทนน้ำมันด้วย นอกจากนี้ยังใช้ในการผลิตเหล้าสาเก และซีอิ้ว

เอ็นไซม์อะไมเลสอาจแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

๑. แอลฟา-อะไมเลส (α -amylase) หรือ α 1,4 glucan glucohydrolase เป็น endo enzyme ย่อย α 1,4 glucosidic bond ภายในโมเลกุลของแป้ง ทำให้โมเลกุลเล็กลง ผลที่ได้คือ limit dextrin และ oligosaccharides เมื่อแป้งถูกย่อยโดยแอลฟา-อะไมเลสแล้วจะใส มีความเหนียวลดลง เอ็นไซม์นี้จึงมีอีกชื่อว่า liquifying enzyme

๒. เบต้า-อะไมเลส (β -amylase) หรือ β 1,4 glucan maltohydrolase เป็น exo-enzyme ย่อยโมเลกุลแป้ง ตัด α 1,4 glucosidic bond จาก non reducing end ทีละ ๒ หน่วย เกิด β -maltose และปฏิกิริยาจะหยุดเมื่อถึง branching point หรือ α 1,6 glucosidic bond ของ amylopectin เบต้า-อะไมเลสอาจเรียกว่าเป็น saccharifying หรือ sugar forming enzyme

ปัจจัยที่สำคัญในการผลิตเอ็นไซม์ขึ้นอยู่กับ

๑. ชนิดของแบคทีเรีย (microbial strain)
๒. อัตราการเจริญของแบคทีเรีย (growth rate)
๓. อาหารเลี้ยงเชื้อ (medium) ชนิดของแหล่ง

คาร์บอน แหล่งไนโตรเจน

๔. สภาพการเลี้ยงเชื้อ (culture conditions) ซึ่งได้แก่อุณหภูมิ pH และการเขย่า (aeration)

งานจุลชีววิทยา กองวิทยาศาสตร์ชีวภาพ ได้ทำการทดลองผลิตอะไมเลสจากแบคทีเรีย โดยแบ่งการทดลองเป็น ๒ ขั้นตอน คือ

๑. การคัดเลือกพันธุ์แบคทีเรีย แบคทีเรียที่ใช้ในการทดลองคือแบคทีเรียจำพวก *Bacillus* ทั้งหมด ๓๔ ชนิด ซึ่งได้มาจากแหล่งต่างๆ เช่น แยกจากชีอิ้วเต้าหู้ยี้ แบ่ง น้ำผึ้ง และเชื้อบริสุทธิ์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย การคัดเลือกทำโดยการทดสอบการย่อยแป้ง และการเพาะเลี้ยงในขวดแก้วโดยใช้เครื่องเขย่า และนำมา

วิเคราะห์ enzyme activity โดยวิธีของ Bernfeld P. 1955 Methods in Enzymology 1 : 149 และได้คัดเลือกแบคทีเรียที่สามารถผลิตอะไมเลสได้สูงสุดไว้ ๑ สายพันธุ์คือ *Bacillus* Sp. จากน้ำผึ้ง no. 2

๒. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตอะไมเลส นำแบคทีเรียที่ได้รับการคัดเลือกไว้ คือ *Bacillus* Sp. จากน้ำผึ้ง no. 2 มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์อะไมเลส ผลปรากฏว่า

— ระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเอ็นไซม์อะไมเลส คือ ๒๔ ชั่วโมง

— ปริมาณของ Inoculum ที่เหมาะสม คือ ร้อยละ ๒

— pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตอะไมเลส อยู่ใน ช่วง ๖.๕—๗.๕

— ที่อุณหภูมิ ๓๗°ซ *Bacillus* Sp. จากน้ำผึ้ง no. 2 จะผลิตอะไมเลสได้สูงที่สุด

— soluble starch และถั่วเขียวบด เป็นแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ดี ในการผลิตอะไมเลส



ประโยชน์ดินบ้านกุดนาขาม ฯ (ต่อจากหน้า ๒)

กันอย่างง่าย ๆ บางท้องที่ใช้ดินเหนียวล้วน ๆ โดยไม่ผสมสิ่งอื่น ผลผลิตก้นท์ที่ได้จะเสียหายมากและบางท้องที่ใช้ดินเหนียวผสมกับแกลบนำมาเผาบดละเอียดเรียกว่าดินเชื้อ แล้วนำดินเชื้อนี้ผสมกับดินเหนียวนำมาขึ้นรูปผลิตก้นท์ ซึ่งดินเชื้อจะช่วยลดการหดตัวของเนื้อดิน ช่วยให้ผลิตก้นท์แตกเสียหายน้อยลงแต่กรรมวิธียุ่งยาก ดังนั้น ถ้าใช้ดินลูกรังสวนป่ากุดนาขามหรือทรายบดละเอียดหรือหินลำปางบดละเอียดแทนดินเชื้อ โดยผสมในเนื้อดิน ก็สามารถทำผลิตก้นท์ได้คุณภาพดีและมีกรรมวิธีง่ายกว่าการทำดินเชื้อมาก

ผลิตก้นท์ที่เตรียมจากดินกุดนาขามผสมกับดินลูกรังสวนป่าเมื่อเผาอุณหภูมิ ๑๒๐๐°ซ จะได้เนื้อดินสีน้ำตาลแดง สำหรับดินบ้านกุดนาขามกับทรายบดละเอียดหรือหินลำปางบดละเอียดเผาที่อุณหภูมิ ๑๒๐๐°ซ จะได้เนื้อดินสีน้ำตาลเทา เนื้อดินทั้งสองชนิดนี้สามารถนำมาตากแห้งแล้วด้วยสีได้เคลือบหรือ

สีบนเคลือบได้โดยใช้ดินขาวทาบาง ๆ บนผิวผลิตก้นท์แล้วตากแห้งแล้วด้วยสีสำเร็จรูปทางเซรามิกส์เคลือบผลิตก้นท์ด้วยเคลือบใส เมื่อเผาเคลือบที่อุณหภูมิ ๑๒๐๐°ซ จะได้ผลิตก้นท์เคลือบที่มีสีสวยงาม

จากผลการวิจัยและทดลองผลิตในห้องปฏิบัติการของศูนย์วิจัยและพัฒนาอุตสาหกรรมเครื่องปั้นดินเผา กองการวิจัย กรมวิทยาศาสตร์บริการ พบว่าตัวอย่างดินบ้านกุดนาขามมีคุณสมบัติเหมาะสมที่จะนำมาทำผลิตก้นท์ชนิดต่าง ๆ ได้มากมาย สามารถนำมาผลิตผลิตก้นท์เครื่องปั้นดินเผาประเภทใช้สอยในบ้าน อีกรูปอย่างอื่น ท่อน้ำทิ้ง เป็นต้น ซึ่งจะเป็นประโยชน์ต่อการใช้ดินพื้นบ้านมาทำอุตสาหกรรมเครื่องปั้นดินเผาในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเป็นอย่างมากในอนาคต ช่วยให้ประชาชนในท้องถิ่นมีอาชีพและรายได้เพิ่มขึ้น เป็นการช่วยพัฒนาชนบทด้านเศรษฐกิจในภาคตะวันออกเฉียงเหนือให้ดีขึ้น. □