

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การศึกษาการผลิตแอมิเลสและโปรติเอสในโคจิข้าวดอกมะดี 105

โดย *Aspergillus oryzae* TISTR 3088 เพื่อใช้หมักมิริน

(Study on Amylase and Protease Production in Khao Dawk- Mali 105 Rice Koji by

Aspergillus oryzae TISTR 3088 for Mirin making)

จัดทำโดย
นางสาวกิตติยา มานหมัก รหัสนักศึกษา 47040798
นางสาวจวีรัตน์ สมอุดม รหัสนักศึกษา 47040803
นางสาวสุพัศตรา ยิ่งขง รหัสนักศึกษา 47040829

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง

ร.พ.
๗ ๖๗๗ ๗
๒๕๕๐

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน..... 85374
วัน,เดือน,ปี..... 11 พ.ย. 2551

b. 120.108.19
i.....

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวกิติยา มานหมัด,นางสาวจุรีรัตน์ สมอุดม และนางสาวสุพัตรา ยั่งยืน : การศึกษาการผลิตแอมิเลส และโปรติเอสในโคจิข้าวขาวดอกมะลิ 105 โดย *Aspergillus oryzae* TISTR 3088 เพื่อใช้หมักมิริน (Study on Amylase and Protease Production in Khao Dawk - Mali 105 Rice Koji by *Aspergillus oryzae* TISTR 3088 for Mirin Fermentation) โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตรสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง : กรรมการ : ดร. ศศิวิมล ชื่นอ้อม อาเหม็ด

บทคัดย่อ

โคจิ เป็นวัตถุดิบหนึ่งในการทำมิริน มักเตรียมจากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* เพื่อศึกษาถึงกิจกรรมของเอนไซม์ที่สำคัญในโคจิ ได้แก่ แอมิเลส และ โปรติเอส จึงได้ทำการเตรียมโคจิจากวัตถุดิบข้าวสองชนิดด้วยกัน คือ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 และ ข้าวเจ้าญี่ปุ่น โดยใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* TISTR 3088 มาใช้เพื่อศึกษาถึงกิจกรรมเอนไซม์ที่เกิดขึ้น โดยทำการบ่มโคจิที่ระยะเวลาต่างๆกัน ปรากฏว่าที่ระยะเวลาการบ่มโคจิเป็นเวลา 6 วัน ให้ผลกิจกรรมเอนไซม์แอมิเลสและโปรติเอสสูงที่สุดทั้ง ในโคจิจากข้าวขาวดอกมะลิ 105 และโคจิข้าวเจ้าญี่ปุ่น จากนั้น ทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ แอมิเลสและโปรติเอสในโคจิจากวัตถุดิบทั้งสองชนิด พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ช่วง 40 - 50°C ด้านผลของอุณหภูมิที่มีต่อความคงตัวของเอนไซม์เอนไซม์แอมิเลส (เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที , pH 7) และโปรติเอส (เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, pH7) อยู่ที่ 40 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษา ค่าพีเอชที่เหมาะสมในการทำงาน ของเอนไซม์แอมิเลสและโปรติเอส พบว่า ค่าพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานอยู่ที่ช่วง pH 5.5 - 6.5 ด้านผลของพีเอช ที่มีต่อความคงตัวของเอนไซม์แอมิเลส (เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที อุณหภูมิ 30 °C) และ เอนไซม์โปรติเอส (เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที อุณหภูมิ 30 °C) อยู่ที่ pH 5.5 จากนั้น เมื่อนำค่าอุณหภูมิที่เหมาะสม และค่าพีเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิด มาศึกษาถึงผลของความเข้มข้นเอทานอลที่มีต่อการทำงานของเอนไซม์ปรากฏว่า เอนไซม์แอมิเลสและเอนไซม์โปรติเอสในโคจิข้าวทั้งสองชนิด มีปริมาณเอนไซม์สูงที่สุดที่ระดับความเข้มข้นเอทานอล 25%

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิมล งามเนตร

(นางสาวกิติยา งามเนตร)

จรัสรัตน์ สมนอุดม

(นางสาวจรัสรัตน์ สมนอุดม)

สุพิศตรา ยิงยง

(นางสาวสุพิศตรา ยิงยง)

(ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอกราบขอบพระคุณ ท่านอาจารย์บุญเทียม พันธุ์เพ็ง เป็นอย่างยิ่งที่ช่วยสละเวลาดูแล เอาใจใส่ ตลอดจนให้คำปรึกษายามเกิดปัญหาในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ จนสามารถสำเร็จลุล่วงลงได้ด้วยดี ขอขอบคุณกำลังใจดีใจจากเพื่อนๆ คอยอยู่เป็นเพื่อนเวลาทำ LAB และความช่วยเหลือยามเกิดการขาดแคลน เครื่องมือและอุปกรณ์ต่างๆในการทำ LAB ที่ๆ เข้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการทุกท่านที่สละเวลาให้คำแนะนำและความช่วยเหลือในทุกด้าน รวมถึงกำลังใจจากครอบครัว พ่อแม่และญาติพี่น้องที่คอยช่วยส่งแรงใจและให้การสนับสนุนจนปัญหาพิเศษสำเร็จลุล่วงลงด้วยดี



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ.....	ก
กิตติกรรมประกาศ.....	ค
สารบัญ.....	ง
สารบัญตาราง.....	ฉ
สารบัญภาพ.....	ช
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญ.....	1
1.2 วัตถุประสงค์.....	1
บทที่ 2 ข้าว	
2.1 ความหมายของข้าว.....	2
2.2 ชนิดของข้าว.....	4
2.3 ลักษณะที่สำคัญบางประการของข้าว.....	5
2.4 ข้าวขาวคอกมะลิ.....	9
2.5 ข้าวญี่ปุ่น.....	11
บทที่ 3 เชื้อรา <i>Aspergillus oryzae</i>	
3.1 เชื้อรา <i>Aspergillus oryzae</i>	14
3.2 กระบวนการย่อยแป้งเป็นน้ำตาล.....	15
3.3 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง.....	16
3.4 ผลของเอนไซม์แอมิเลสที่มีต่อแป้ง.....	17
3.5 สภาพการเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตแป้ง.....	18
3.6 คุณสมบัติหรือสถานะทางอุตสาหกรรม.....	20
บทที่ 4 เอนไซม์	
4.1 ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์.....	22
4.2 เอนไซม์แอมิเลส.....	23
4.3 เอนไซม์โปรติเอส.....	25
บทที่ 5 วัสดุอุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	29
บทที่ 6 ผลการทดลอง.....	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 7 สรุปผลการทดลอง.....	45
บรรณานุกรม	46
ภาคผนวก	48



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
ตารางที่ 2.1 ลักษณะที่สำคัญของข้าว <i>japonica</i> , <i>indica</i> และ <i>javanica</i>	4
ตารางภาคผนวกที่	
ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการศึกษาระยะเวลาการบ่มโคจิจที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ในโคจิจข้าวหอมมะลิ และโคจิจข้าวญี่ปุ่น.....	50
ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการศึกษาอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ในโคจิจข้าวหอมมะลิและโคจิจข้าวญี่ปุ่น.....	50
ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการศึกษาที่เอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์ ในโคจิจข้าวหอมมะลิและโคจิจข้าวญี่ปุ่น.....	51
ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการศึกษาอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์ ในโคจิจข้าวหอมมะลิและโคจิจข้าวญี่ปุ่น	51
ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการศึกษาที่เอชต่อความคงตัวของเอนไซม์ ในโคจิจข้าวหอมมะลิและโคจิจข้าวญี่ปุ่น.....	52
ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการศึกษาศึกษาประสิทธิภาพการทำงาน ของเอนไซม์เอมีเลสและโปรตีเอสใน โคจิจในสภาวะที่มีเอทานอลสูง.....	52

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
ภาพที่ 2.1 ลักษณะข้าวหอมมะลิ.....	9
ภาพที่ 2.2 ลักษณะข้าวญี่ปุ่นพันธุ์ ก.ว.ก. 1.....	13
ภาพที่ 2.3 ลักษณะข้าวญี่ปุ่นพันธุ์ ก.ว.ก. 2	13
ภาพที่ 3.1 แสดงลักษณะเชื้อรา <i>Aspergillus oryzae</i>	20
ภาพที่ 6.1 ผลของกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสต่อระยะเวลาการบ่มโคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น	34
ภาพที่ 6.2 ผลของกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ต่อระยะเวลาการบ่มโคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น.....	34
ภาพที่ 6.3 ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลส ในโคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น ที่ pH 7.....	36
ภาพที่ 6.4 ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอส ในโคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น ที่ pH 7.....	36
ภาพที่ 6.5 ผลของpHต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสในโคจิช้าวหอมมะลิและ โคจิช้าวญี่ปุ่น ที่ pH 7 ที่ อุณหภูมิ 37 °C.....	38
ภาพที่ 6.6 ผลของpHต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในโคจิช้าวหอมมะลิและ โคจิช้าวญี่ปุ่นที่ pH 7 ที่ อุณหภูมิ 40 °C	38
ภาพที่ 6.7 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์แอมิเลสในโคจิช้าวหอมมะลิและ โคจิช้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, ที่ pH 7 , อุณหภูมิ 30 °C.....	40
ภาพที่ 6.8 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์โปรติเอสในโคจิช้าวหอมมะลิและ โคจิช้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, ที่ pH 7 , อุณหภูมิ 30 °C	40
ภาพที่ 6.9 ผลของpHต่อความคงตัวของเอนไซม์แอมิเลสในโคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, ที่อุณหภูมิ 30 °C	42
ภาพที่ 6.10 ผลของpHต่อความคงตัวของเอนไซม์โปรติเอสในโคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที, ที่อุณหภูมิ 30 °C	42
ภาพที่ 6.11 ผลของความเข้มข้นเอทานอลต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสในโคจิช้าวหอมมะลิ และโคจิช้าวญี่ปุ่น, ที่อุณหภูมิ 50 °C	44
ภาพที่ 6.12 ผลของความเข้มข้นเอทานอลต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในโคจิช้าวหอมมะลิ และโคจิช้าวญี่ปุ่น, ที่อุณหภูมิ 40 °C	44

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญ

ข้าวขาวดอกมะลิเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่สำคัญมากของประเทศไทย มีปริมาณการผลิตต่อปี สูงที่สุดในบรรดาผลิตผลจากภาคการเกษตรทั้งหมด แม้ว่ารายได้หลักของประเทศไทยส่วนใหญ่มาจาก ภาคอุตสาหกรรมและการลงทุนจากต่างประเทศก็ตาม ประเทศไทยตั้งอยู่ในเขตพื้นที่ร้อนชื้น ผลิตผลทาง การเกษตรหรือการทำเกษตรกรรมจึงมีความหลากหลายทั้งในด้านผลผลิตและการแปรรูปผลผลิต การค้าการ ส่งออกของประเทศไทยจึงมาจากผลิตภัณฑ์อาหารประเภทต่างๆ ดังคำที่มีผู้กล่าวไว้ว่า ประเทศไทยเปรียบดังอยู่ ข้าวผู้นำของโลก อาชีพตั้งแต่บรรพบุรุษของคนไทยคือ เกษตรกรซึ่งเป็นที่เข้าใจกันว่าเป็นชาวนา โดยเฉพาะการ ปลูกข้าวขาวดอกมะลิเมื่อที่การเพาะปลูกจำนวนมากในทั่วทุกภาคของประเทศไทย โดยเฉพาะพื้นที่ในแถบภาค กลางและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของไทย จัดได้ว่าข้าวขาวดอกมะลิเป็นสินค้าทางการเกษตรที่ส่งออก ต่างประเทศรายได้ปีละหลายพันล้านบาท อีกประการหนึ่ง เนื่องจากคนไทยรับประทานข้าวเป็นอาหารหลัก การ แปรรูปวัตถุดิบข้าวขาวดอกมะลิจึงมีให้เห็นบ้างแต่เป็นเพียงธุรกิจขนาดเล็กหรือประกอบตามฤดูกาลเท่านั้น แนวทางหนึ่งในการเพิ่มมูลค่าให้กับข้าวขาวดอกมะลิไทย ซึ่งถือเป็นหัวใจหลักของผลผลิตทางการเกษตรและ เพื่อเป็นการนำเอาวิวัฒนาการทางวิทยาศาสตร์ ความรู้และเทคโนโลยีสมัยใหม่มาใช้ จึงได้มีความคิดเกี่ยวกับการ นำเอาข้าวขาวดอกมะลิไทยมาทำโคจิ ซึ่งเป็นการเลี้ยงเชื้อราที่เจริญได้ดิบบนข้าวเจ้า โดยมีต้นกำเนิดมาจาก ประเทศญี่ปุ่น ชาวญี่ปุ่นนำข้าวเจ้าทำเป็นโคจิไว้เพื่อเตรียมเป็นกล้าเชื้อในการทำอาหารหมักพื้นบ้าน อาทิเช่น สาเก ไวน์ข้าวญี่ปุ่น มิริน เป็นต้น โดยใช้โคจิที่ได้จากการเลี้ยงด้วยเชื้อราตามธรรมชาติมาเป็นกล้าเชื้อ จึงทำให้มี ความคิดที่จะนำเอาข้าวขาวดอกมะลิไทยมาใช้ทำโคจิ เพื่อศึกษาแนวทางความเป็นไปได้ ตลอดจนประยุกต์ใช้ กับความรู้และเทคโนโลยีทางวิทยาศาสตร์เพื่อทดสอบแนวทางดังกล่าว อีกทั้งเพื่อเป็นแนวทางในการนำผลจาก การศึกษาการทำโคจิจากวัตถุดิบข้าวขาวดอกมะลิไทยดังกล่าวไปใช้เป็นกล้าเชื้อในการทำผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้อง กับอาหารหมักพื้นบ้านต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของการทดลอง

1.2.1 เพื่อศึกษาผลการผลิตและสมบัติของเอนไซม์แอมิเลสและ โปรตีเอสในการใช้ข้าวขาวดอก มะลิ 105 แทนข้าวเจ้าญี่ปุ่นในการทำโคจิโดยใช้ *Aspergillus oryzae* TISTR 3088

1.2.2 เพื่อศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและ โปรตีเอสในโคจิในสภาวะเอทานอลสูงซึ่งเป็นสภาวะของการหมักมิริน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ข้าว(rice)

2.1 ความหมายของ “ข้าว”

พจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยสถานพ.ศ. 2525ให้ความหมายของคำว่า “ข้าว” ไว้ดังนี้ คือ “ชื่อไม้ล้มลุกหลายชนิด หลายสกุล ในวงศ์ Gramineae โดยเฉพาะชนิด *Oryza sativa* Linn. ซึ่งใช้เมล็ดเป็นอาหารหลัก มีหลายพันธุ์ เช่น ข้าวเจ้า ข้าวเหนียว”

ข้าว เป็นพืชวงศ์หญ้า (family Gramineae) เผ่าพันธุ์ (tribe) โอไรซี (*Oryza*) พืชเผ่าพันธุ์นี้มีอยู่ประมาณ 25 ชนิด (species) ในจำนวนนี้มีอยู่สองชนิดเท่านั้นที่ปลูกเพื่อใช้เป็นอาหาร (cultivated varieties) คือ โอไรซ่า ซาไคว่า (*Oryza sativa*) ที่ปลูกกันทั่วไปในประเทศผู้ปลูกข้าว และโอไรซ่า กลาเบอร์ริมา (*Oryza glaberrima*) ที่ปลูกกันในบางส่วนของทวีปแอฟริกา ชนิดที่เหลือถือเป็นข้าวป่า

ถิ่นกำเนิด และ วิวัฒนาการของข้าว

ปัจจุบันมีข้าวปลูกกันสองชนิดคือ *Oryza sativa* ซึ่งถือเป็นข้าวเอเชีย และ *Oryza glaberrima* ซึ่งถือเป็นข้าวแอฟริกา จากการประมวลข้อคิดเห็นของนักวิทยาศาสตร์และนักโบราณคดีหลายท่าน ทำให้เห็นว่า ข้าวมีถิ่นกำเนิดและวิวัฒนาการดังนี้ คือ พืชในสกุล *Oryza* มีถิ่นกำเนิด ณ ดินแดนที่เรียกว่า กอนด์วานาแลนด์ (Gondwanaland) ดินแดนแห่งนี้ได้แยกตัวออกจากกันตามทฤษฎีการเลื่อนไหลของทวีป (continental drift) โดยกลายเป็นทวีปออสเตรเลียทวีปแอฟริกา และส่วนหนึ่งเคลื่อนตัวขึ้นมาทางเหนือ เรียกว่า อนุทวีป ซึ่งก็คือประเทศอินเดีย เคลื่อนเข้ามาต่อกับทวีปเอเชียตามแนวเทือกเขาหิมาลัยในปัจจุบัน ทำให้พืชสกุล *Oryza* ชนิดต่างๆกระจายออกไปยังส่วนต่างๆของโลก

ข้าวเอเชีย (*Oryza sativa*)

ข้าวป่าชนิด โอไรซ่า นิวาร่า (*Oryza nivara*) โอไรซ่า ออฟิซินาลิส (*Oryza officinalis*) โอไรซ่า รูฟีโปกอน (*Oryza rufipogon*) และ โอไรซ่า มินูตา (*Oryza minuta*) ได้แพร่กระจายอยู่ในบริเวณตั้งแต่อินเดียตอนเหนือของบังกลาเทศ บริเวณดินแดนสามเหลี่ยมติดกับพม่า ไทย ลาว เวียดนาม ส่วนข้าวชนิดโอไรซ่า ออสเตรเลียนิลิส (*Oryza australiensis*) แพร่กระจายในทวีปออสเตรเลีย เนื่องจากข้าวในปัจจุบันปลูกกันมาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในเอเชีย ฉะนั้น จึงเป็นไปได้ที่ข้าวป่าชนิด *Oryza australiensis* จะเป็นต้นตระกูลของข้าวปลูก จากการศึกษาทางด้านเซลล์วิทยา เชื่อว่า ข้าวป่าชนิด *Oryza minuta* และชนิด *Oryza officinalis* ก็ไม่มีทางที่จะเป็นบรรพบุรุษของข้าวปลูกได้เช่นเดียวกัน จึงเหลือเพียงข้าวป่าชนิด *Oryza nivara* และข้าวป่าชนิด *Oryza perennis* (ข้าวป่าชนิดข้ามปี มีชื่อวิทยาศาสตร์อีกชื่อหนึ่งว่า *Oryza rufiogon*) เท่านั้นที่น่าจะเป็นต้นตระกูลของข้าวปลูก (*Oryza sativa*) ในปัจจุบัน

แหล่งกำเนิดของข้าว

ข้าวที่เกิดขึ้นในท้องที่ต่างๆของโลกแบ่งออกได้เป็น 3 พวกคือ *Oryza sativa* มีปลูกกันทั่วไป *Oryza glaberrima* มีปลูกเฉพาะในแอฟริกาเท่านั้น และข้าวป่าซึ่งเกิดขึ้นเองตามธรรมชาติในประเทศต่างๆที่ปลูกข้าว มีด้วยกันหลาย species แต่ที่สำคัญและควรทราบได้แก่ *Oryza spontanea*, *Oryza spontanea*, *Oryza perennis*, *Oryza officinalis* และ *Oryza nivara* และเป็นที่ยอมรับกันว่าข้าวป่าพวก *Oryza perennis* ได้เป็นต้นตระกูลของข้าวที่เราปลูกบริโภคกันทุกวันนี้ ซึ่งได้แก่ *Oryza sativa* และ *Oryza glaberrima* ดังนั้น *Oryza perennis* จะต้องมีการเปลี่ยนแปลงทางพันธุกรรมในธรรมชาติ และได้ผ่านการคัดเลือกโดยธรรมชาติและมนุษย์ จนได้กลายเป็นข้าวที่ปลูกกันทุกวันนี้

นักวิทยาศาสตร์ชาวญี่ปุ่น ได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับชนิดต่างๆของข้าว และได้สรุปว่าข้าวพวก *Oryza sativa* ยังแบ่งได้เป็น 3 พวก คือ *japonica*, *indica* และ *javanica* โดยยึดถือลักษณะภายนอกของต้น เมล็ด และเปอร์เซ็นต์เมล็ดลึบของข้าวลูกผสมระหว่างข้าวทั้ง 3 ชนิดดังกล่าว (hybrid sterility) เป็นหลัก *japonica* เป็นข้าวที่ปลูกในประเทศจีนตอนเหนือและตะวันออกเฉียงใต้ ญี่ปุ่น เกาหลี และประเทศอื่นๆที่อยู่ในเขตอบอุ่น *indica* เป็นข้าวที่ปลูกในประเทศเขตร้อน เช่น ศรีลังกา จีนตอนใต้และตอนกลาง อินเดีย อินโดนีเซีย บังกลาเทศ ไทย ฟิลิปปินส์ เป็นต้น ส่วน *javanica* เป็นพันธุ์ข้าวที่พบในประเทศอินโดนีเซียเท่านั้น อย่างไรก็ตาม แหล่งข้าวที่ปลูกกันมากจะอยู่ระหว่างเส้นรุ้งที่ 50 องศาเหนือและ 35 องศาใต้

ตารางที่ 2.1 ลักษณะที่สำคัญของข้าว *japonica*, *indica* และ *javanica* พอสรุปได้ดังนี้

ลักษณะ	<i>indica</i>	<i>japonica</i>	<i>javanica</i>
ใบ	กว้าง สีเขียวอ่อน	แคบ สีเขียวแก่	กว้าง แข็ง สีเขียวอ่อน
เมล็ด	ยาว ค่อนข้างแบน	สั้น กลม	กว้าง หนา
การแตกกอ	แตกกอมาก	แตกกอปานกลาง	แตกกอน้อย
ต้น	สูง อ่อน	เตี้ย แข็ง	สูง แข็ง
หางของเมล็ด	สั้นมาก	สั้นมาก - ยาว	สั้นมาก - ยาว
ขนของข้าวเปลือก	สั้น	ขนมากและยาว	ขนยาว

(ที่มา : ประพาส วีระแพทย์ ,2521)

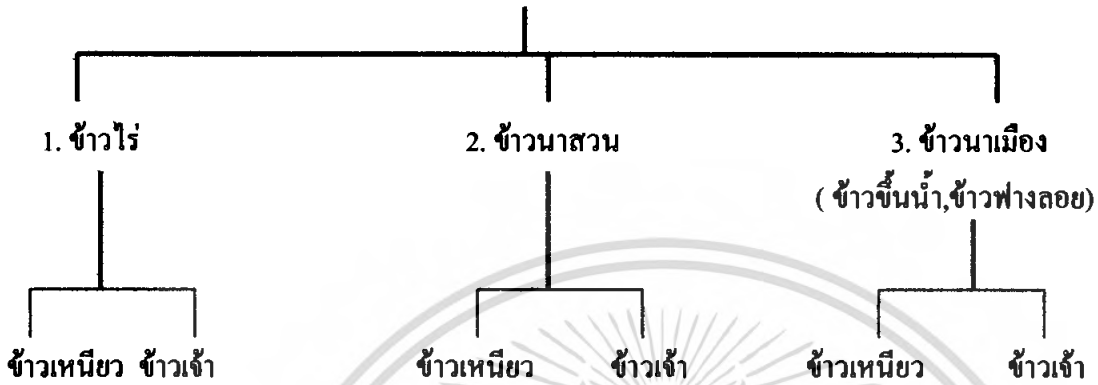
ดังนั้น พันธุ์ข้าวที่ปลูกในประเทศไทยจึงเป็นพวก *indica* ยกเว้นข้าวไร่ทางภาคเหนือ ซึ่งมีลักษณะบางอย่างของข้าว *japonica* รวมอยู่ด้วย

2.2 ชนิดของข้าว

ข้าวที่ปลูกเพื่อการค้าสามารถแบ่งออกได้เป็นชนิดต่างๆ ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสิ่งที่ใช้เป็นมาตรการสำหรับการแบ่งแยกข้าวนั้น ถ้าแบ่งตามสภาพพื้นที่ปลูก ก็จะได้เป็น ข้าวไร่ ข้าวนาสวน และ ข้าวนาเมือง หรือข้าวขึ้นน้ำ แต่ถ้าแบ่งตามชนิดของแป้งในเมล็ดที่บริโภค ก็จะได้เป็น ข้าวเจ้า และ ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า และข้าวเหนียวมีต้นและลักษณะอย่างอื่นเหมือนกันทุกอย่าง ต่างกันที่เมล็ดข้าวเจ้าประกอบด้วยแป้ง amylose ประมาณ 15-30 % ส่วนเมล็ดของข้าวเหนียวประกอบด้วยแป้ง amylopectin เป็นส่วนใหญ่ และมี amylose เป็นส่วนน้อยประมาณ 5-7 % นอกจากนี้ ชนิดของข้าวยังแบ่งออกเป็นประเภทต่างๆ ได้อีก ดังนี้

ประเภทของพันธุ์ข้าวในเมืองไทย

อินดิกา (*Oryza sativa* L.)



พันธุ์ข้าว 3 ประเภทนี้ แยกออกเป็น 2 พวก

1.1 พวกที่ไม่ไวต่อช่วงแสง มีอายุแน่นอน ออกดอกเมื่ออายุครบตามกำหนด ออกดอกได้ในทุกฤดูกาล ใช้ปลูกได้ตลอดปี แต่นิยมปลูกในช่วงฤดูนาปรังหรือฤดูร้อน

1.2 พวกที่ไวต่อช่วงแสง มีอายุไม่แน่นอน ออกดอกเฉพาะในช่วงที่มีความยาวของกลางวันสั้นกว่า 12 ชั่วโมง ใช้ปลูกได้เฉพาะในฤดูฝนหรือฤดูนาปีเท่านั้น

นอกจากนี้พันธุ์ข้าวก็ยังมีลักษณะ ความสูงของต้น สีของกาบใบและใบ ความยาวของเมล็ด และสีของเมล็ด

ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือของประเทศไทย ยกเว้นในท้องที่อำเภอเมือง จังหวัดแม่ฮ่องสอน ประชาชนนิยมบริโภคข้าวเหนียวมากกว่าข้าวเจ้า ซึ่งตรงกันข้ามกับประชาชนในภาคกลางและภาคใต้ที่ชอบบริโภคข้าวเจ้ามากกว่าข้าวเหนียว โดยเหตุนี้ในภาคเหนือและภาคตะวันออกเฉียงเหนือจึงมีการปลูกข้าวเหนียวมากกว่าภาคกลางและภาคใต้

2.3 ลักษณะที่สำคัญบางประการของข้าว

2.3.1 ลักษณะที่เกี่ยวข้องกับองค์ประกอบทางเคมีข้าว

เมล็ดข้าวที่ใช้ในการบริโภคเป็นอาหารเท่านั้น จะเป็นแป้งประมาณ 90 เปอร์เซ็นต์ แป้งที่ประกอบกันเป็นเมล็ดข้าวนั้น มีอยู่ด้วยกันสองชนิดคือ อะไมโลส (amylase, ซึ่งเป็น polymer ของ D-glucose ที่มีโครงสร้างต่อกันเป็นแขนง) ความมาน้อยของแป้งสองชนิดดังกล่าวซึ่งประกอบกันเป็นเมล็ดข้าวนั้น ทำให้ข้าวมีลักษณะแตกต่างกัน 2 ประเภทคือ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.1 ข้าวเจ้า (non-glutinous rice, non-sticky rice, non-waxy rice)

ข้าวเจ้าประกอบด้วยแป้งอะไมโลส 15-31 เปอร์เซ็นต์ จะมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับพันธุ์ข้าว แป้งที่เหลือจะเป็นอะไมโลเปคติน ปริมาณอะไมโลสในข้าวเจ้า ทำให้ข้าวเมื่อหุงสุกแล้วมีลักษณะอ่อนนุ่มหรือ แข็งกระด้างต่างกันไป เรียกว่า มีคุณภาพหุงต้ม (cooking quality) ต่างกัน กล่าวคือข้าวพันธุ์ที่ยังมี อะไมโลสมาก เมื่อหุงสุกจะยิ่งแข็ง เช่น ข้าวพันธุ์ กข.1 มีอะไมโลส 30 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหุงสุกแล้วจะแข็ง ส่วนพันธุ์ขาวดอกมะลิ 105 มีอะไมโลส 22 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหุงสุกแล้วจึงอ่อนนุ่ม นำมารับประทาน ข้าวญี่ปุ่น มีอะไมโลสเพียง 10-24 เปอร์เซ็นต์ เมื่อหุงสุกแล้วจึงเหนียวมากกว่าข้าวไทยซึ่งเป็นข้าวประเภทอินดิกา ฉะนั้น ชาวญี่ปุ่นที่อยู่ในประเทศไทยจึงมักใช้ข้าวเจ้า 3 ส่วน ผสมกับข้าวเหนียวหนึ่งส่วน แล้วจึงหุง ซึ่งเมื่อ หุงสุกแล้วจะเหนียวและอ่อนนุ่มคล้ายข้าวญี่ปุ่น

1.2 ข้าวเหนียว (glutinous rice, sticky rice, waxy rice)

ข้าวเหนียวประกอบด้วยอะไมโลเปคตินถึง 95 เปอร์เซ็นต์ มีแป้งประเภทอะไมโลสน้อยมาก หรือบางพันธุ์ก็ไม่มีเลย มีแต่แป้งอะไมโลเปคตินล้วนๆ เมื่อหุงสุกง่ายและอ่อนนุ่ม

2.3.2 ท้องไข่ (chalkiness)

ในเมล็ดข้าวเจ้า บางครั้งจะพบลักษณะขุ่น-ขาวในเมล็ด ลักษณะขุ่นขาวดังกล่าวเรียกว่า “ท้อง ไข่” หรือ “ท้องปลาชิว” ท้องไข่อาจปรากฏอยู่ตรงกลางเมล็ด ริมเมล็ด (ด้านเดียวกับงอกข้าว) หรือด้านหลัง เมล็ด (ด้านตรงข้ามงอกข้าว) ก็ได้ (IRRI-1) ลักษณะท้องอาจเกิดจากสภาพแวดล้อมไม่เหมาะสม หรือเป็น ลักษณะประจำพันธุ์ของข้าว เช่น กข.9 ตรงท้องไข่ แป้งจะสะสมกันอย่างหลวมๆ ลักษณะดังกล่าวจึงมีข้อเสีย คือ ทำให้เมล็ดหักง่ายเมื่อนำไปสี ทำให้ข้าวนั้นมีเปอร์เซ็นต์ดินข้าวต่ำ

2.3.3 โปรตีน

ในเมล็ดข้าวสารจะมีโปรตีนประมาณ 6-7 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น ฉะนั้น ผลเมืองของประเทศที่ บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักจึงได้รับ โปรตีนน้อยกว่าผลเมืองของประเทศที่บริโภคข้าวสาลีในรูปของอาหาร ต่างๆเป็นหลัก เพราะข้าวสาลีมีโปรตีนประมาณ 13 เปอร์เซ็นต์ ชาวเอเชียจึงตัวเล็กกว่าชาวยุโรปหรืออเมริกา โดยเฉลี่ย เมื่อก้าวในเชิงวิชาการแล้ว มีทางทำให้โปรตีนในเมล็ดข้าวสูงขึ้นได้โดยการผสมพันธุ์ คงต้องใช้ เวลานานสักหน่อย และนั่นหนึ่งข้างหน้าเราคงจะมีพันธุ์ข้าวที่มีโปรตีนสูง

2.3.4 ลักษณะทางกายภาพ

ลักษณะทางกายภาพ หมายถึง ความยาว ความกว้าง ความหนาของเมล็ดข้าว ข้าวที่ปลูกกันทั่วโลก มีขนาดของเมล็ดต่างกันไป แบ่งประเภทของข้าวตามขนาดของเมล็ด ได้ดังนี้คือ

- | | |
|-------------------------|--|
| 1.1 ข้าวเมล็ดสั้น | มีความยาวของเมล็ดไม่เกิน 5.50 มิลลิเมตร |
| 1.2 ข้าวเมล็ดยาวปานกลาง | มีความยาวของเมล็ดระหว่าง 5.51-6.60 มิลลิเมตร |
| 1.3 ข้าวเมล็ดยาว | มีความยาวของเมล็ดระหว่าง 6.61-7.50 มิลลิเมตร |
| 1.4 ข้าวเมล็ดยาวพิเศษ | มีความยาวของเมล็ดตั้งแต่ 7.51 มิลลิเมตร ขึ้นไป |

นอกจากนี้ ลักษณะทางกายภาพยังรวมถึงคุณภาพในการสีเป็นข้าวสาร คือ เมื่อสีแล้วเมล็ดหักมากน้อยเพียงไร ความมากน้อยของท้องไข ข้าวพันธุ์พื้นเมืองของไทยที่มีลักษณะทางกายภาพดีที่สุดคือ พันธุ์พวงนาค รองลงมาคือพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 การผสมพันธุ์ข้าวเพื่อให้ได้พันธุ์ดีพันธุ์ใหม่ๆ จึงต้องให้ได้พันธุ์ที่เมื่อสีเป็นข้าวสารแล้ว อย่างน้อยต้องมีลักษณะทางกายภาพที่เทียบกับพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105

2.3.5 คุณภาพของเมล็ด (grain quality)

คุณภาพของเมล็ดแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภทด้วยกันคือ คุณภาพเมล็ดทางกายภาพ ซึ่งหมายถึง ลักษณะรูปร่างและขนาดของเมล็ดที่มองเห็นได้ และคุณภาพเมล็ดทางเคมี ซึ่งหมายถึง องค์ประกอบทางเคมีที่รวมกันเป็นเมล็ดแป้งของข้าวที่หุงต้มเพื่อบริโภค

1. คุณภาพเมล็ดทางกายภาพ

เป็นลักษณะที่เกี่ยวกับความยาว ความกว้าง และความหนาของเมล็ดข้าว ตลอดจนการมีท้องไขของข้าวเจ้า นอกจากนี้ คุณภาพในการสีเป็นข้าวสารก็ถือว่าเป็นคุณภาพทางกายภาพของเมล็ดด้วย เมล็ดข้าวที่ตลาดต้องการและถือว่าเป็นเมล็ดได้มาตรฐานนั้น เมล็ดข้าวกล้องจะต้องมีความยาวประมาณ 7.0-7.5 มิลลิเมตร ความกว้างและความหนาประมาณ 2 มิลลิเมตร ซึ่งมีหน้าตัดของเมล็ดค่อนข้างกลม ถ้าเป็นข้าวเจ้าเมล็ดค่อนข้างใสไม่มีท้องไข การมีท้องไขของเมล็ดข้าวกล้องนั้น ทำให้เมล็ดหักง่ายเมื่อเอาไปสีเป็นข้าวสาร ซึ่งทำให้ได้เมล็ดข้าวสารที่หักมาก

2. คุณภาพเมล็ดทางเคมี

เป็นลักษณะขององค์ประกอบของแป้งในเมล็ดข้าวกล้อง ข้าวเหนียวและข้าวเจ้าแตกต่างกันในปริมาณของแป้งที่รวมกันเป็น endosperm เมล็ดข้าวเหนียวประกอบด้วยแป้งชนิด amylopectin เป็นส่วนใหญ่ มี amylose น้อยมาก คือประมาณ 5-7 เปอร์เซ็นต์ เท่านั้น ส่วนเมล็ดข้าวเจ้าประกอบด้วยแป้งชนิด amylose ประมาณ 15-30 เปอร์เซ็นต์ เปอร์เซ็นต์ของ amylose ในเมล็ดข้าวเจ้าของพวก *indica* และ *japonica* ก็แตกต่างกันด้วย ข้าว *indica* มี amylose ประมาณ 20-30 เปอร์เซ็นต์ ส่วนข้าวพวก *japonica* มีเพียง 15-20 เปอร์เซ็นต์ ข้าวไทยมีเปอร์เซ็นต์ของ amylose ต่ำ ได้แก่ ข้าวขาวดอกมะลิ 105 (22 เปอร์เซ็นต์) และข้าวไทยที่มีเปอร์เซ็นต์แป้ง amylose สูง ได้แก่ กข. 1 (30 เปอร์เซ็นต์) เปอร์เซ็นต์ของแป้ง amylose ในเมล็ดข้าวมีความสัมพันธ์กับคุณภาพในการหุงต้มและการบริโภค ข้าวเหนียวมีแป้ง amylose น้อยกว่าข้าวเจ้า ข้าวเหนียวที่หุงสุกแล้วจึงเหนียวกว่าข้าวเจ้า การเปลี่ยนสภาพจากข้าวสารเป็นข้าวสุก เรียกว่า gelatinization ในจำพวกข้าวเจ้า เมล็ดของพันธุ์ที่มีปริมาณแป้ง amylose สูงเมื่อหุงสุกแล้ว เมล็ดข้าวสุกจะแข็งกว่าข้าวที่มีปริมาณแป้ง amylose ต่ำ ดังนั้น ผู้บริโภคที่ชอบรับประทานข้าวที่อ่อนนุ่ม จะต้องเลือกพันธุ์ที่มีปริมาณแป้ง amylose ประมาณ 20-25 เปอร์เซ็นต์

นอกจากชนิดของแป้ง amylopectin และแป้ง amylose ที่เป็นองค์ประกอบทางเคมีของเมล็ดแล้ว ปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าวสารก็มีความสำคัญด้วย เพราะโปรตีนเป็นชนิดของอาหารที่ร่างกายต้องการมาก สำหรับการเจริญเติบโต ปกติเมล็ดข้าวจะมีปริมาณโปรตีนประมาณ 7-10 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณของโปรตีนนี้จะผันแปรไปตามสภาพแวดล้อมที่ปลูกข้าว เช่น การใส่ปุ๋ยทำให้ปริมาณโปรตีนเพิ่มขึ้น และรวงข้าวที่มีจำนวนเมล็ดต่อรวงน้อย เมล็ดมักจะมีปริมาณโปรตีนสูง เหล่านี้เป็นต้น

2.3.6 ประโยชน์ของข้าว

ข้าวนอกจากจะบริโภคเป็นอาหารหลักประจำวันของประชาชนแล้ว ยังใช้ทำเป็นของหวานชนิดต่างๆ ทำเป็นแป้งข้าวเหนียว แป้งข้าวเจ้า โดยเฉพาะข้าวเหนียวใช้ทำเป็นของหวานมากกว่าข้าวเจ้า ซึ่งได้แก่ขนมชนิดต่างๆ ในโรงงานอุตสาหกรรมที่ผลิตแอลกอฮอล์ใช้ข้าวเหนียวไปหุงแล้วผสมกับน้ำตาลและเชื้อยีสต์เพื่อทำให้เกิดการหมัก (fermentation) โดยมีจุดประสงค์ให้ยีสต์เปลี่ยนแป้งเป็นแอลกอฮอล์สำหรับใช้ผลิตวิสกี้และอื่นๆ และส่งเป็นสินค้าขายออกไปขายยังต่างประเทศ

2.4 ข้าวขาวดอกมะลิ

ประเทศในภูมิภาคเอเชียเป็นแหล่งผลิตข้าวที่สำคัญของโลก ซึ่งเป็นแหล่งพันธุกรรมที่หลากหลายของข้าวประเภทต่างๆ ประเทศเหล่านี้ส่วนใหญ่มีพันธุ์ข้าวเป็นของตนเองที่ปลูกติดต่อกันมาช้านานและมีความเหมาะสมกับสภาพพื้นที่ เรียกว่า "พันธุ์พื้นเมือง" ข้าวพันธุ์พื้นเมืองของแต่ละประเทศมักมีบางพันธุ์ที่มีคุณสมบัติพิเศษกว่าพันธุ์ข้าวที่รู้จักกันโดยทั่วไปรวมอยู่ด้วยเสมอ คุณสมบัติพิเศษอย่างหนึ่งคือ "ความหอม" หรือ "กลิ่นหอม" ซึ่งเป็นสิ่งจูงใจให้ข้าวมีความน่ารับประทานมากขึ้นและพบว่าสารที่กลิ่นหอมนั้นคือ 2-acetyl-1-pyrroline ปัจจุบันประชากรของประเทศที่บริโภคข้าวเป็นอาหารหลักได้รู้จักข้าวหอมและกำลังได้รับความนิยมมากขึ้น จึงทำให้มีราคาสูงกว่าข้าวคุณภาพดีโดยทั่วไป พันธุ์ข้าวหอมของไทยที่มีชื่อเสียงเป็นที่รู้จักในตลาดโลกมีอยู่พันธุ์เดียวคือ ข้าวหอมมะลิ 105 หรือข้าวหอมมะลิ



ภาพที่ 2.1 ลักษณะข้าวหอมมะลิ

ที่มา : <http://www.ricethailand.go.th>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 การผลิตและการค้าข้าวที่สำคัญ

ในตลาดโลก ข้าวเป็นธัญพืชที่มีความสำคัญเป็นอันดับสองรองจากข้าวสาลี แต่หากนับธัญพืชที่มนุษย์ใช้บริโภคโดยตรงแล้ว ถือได้ว่าข้าวเป็นธัญพืชที่ใช้บริโภคมากที่สุด แหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในภูมิภาคเอเชียถึงร้อยละ 90 ประเทศผู้ผลิตที่สำคัญได้แก่ จีน อินเดีย อินโดนีเซีย บังกลาเทศ เวียดนาม และไทย ในการส่งออกข้าวไทย เป็นข้าวคุณภาพดีร้อยละ 40 ในส่วนนี้เป็นข้าวหอมมะลิถึง 3 ใน 4 ส่วน โดยมีแหล่งผลิตที่สำคัญอยู่ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือถึงร้อยละ 45 ในภาคนี้ส่วนใหญ่จะปลูกข้าวหอมมะลิเพื่อขายและปลูกข้าวเหนียวเพื่อบริโภค แหล่งผลิตรองลงมาแก่ ภาคกลางและภาคเหนือผลิตได้ร้อยละ 25 เท่ากัน ตลาดข้าวของไทยมีอยู่ในทุกภูมิภาคของโลก การส่งออกในระยะหลังของข้าวไทยได้เปลี่ยนจากข้าวคุณภาพปานกลางและคุณภาพต่ำมาเป็นข้าวคุณภาพดีมากขึ้น โดยข้าวหอมมะลิมีการขยายตัวของตลาดก่อนข้างสูงและมูลค่าการส่งออกข้าวหอมมะลียังมีอัตราการขยายตัวสูงมากยิ่งขึ้น ประเทศนำเข้าข้าวหอมมะลิที่สำคัญได้แก่ ออสเตรเลีย สิงคโปร์ สหรัฐอเมริกา ญี่ปุ่น จีน มาเลเซีย ซาอุดีอาระเบีย แคนาดา และอิหร่าน ประเทศเหล่านี้นำเข้าข้าวหอมมะลิรวม 9 แสนตันหรือประมาณร้อยละ 85 ของการส่งออกข้าวหอมมะลิไทย ในขณะที่สภาวะการแข่งขันการค้าข้าวของโลกได้ทวีความรุนแรงเพิ่มมากขึ้น ประเทศไทยจำเป็นต้องดำเนินการวิจัย เพื่อพัฒนาพันธุ์ข้าวและเทคโนโลยีการผลิตให้ได้ทั้งคุณภาพและปริมาณให้เพียงพอและสอดคล้องกับความต้องการของตลาด รัฐบาลจึงมีนโยบายส่งเสริมการปลูกข้าวหอมมะลิโดยกำหนดเป้าหมายไว้ในนโยบายข้าว ปี พ.ศ. 2537-2544 ในช่วงที่เหลือของแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 7 จนถึงสิ้นสุดแผนพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติฉบับที่ 8 พร้อมกับสนับสนุนให้มีการพัฒนาพันธุ์ข้าวหอมของไทย โดยเฉพาะพันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 ให้มีผลผลิตสูงขึ้นและลดต้นทุนการผลิต

2.4.2 พันธุ์ข้าวหอม

ข้าวหอมเป็นที่รู้จักแพร่หลายในกลุ่มผู้ปลูกข้าว พ่อค้า และผู้บริโภคมาเป็นเวลานานแล้ว มีปลูกกระจายทั่วไปในประเทศที่เป็นแหล่งปลูกข้าวที่สำคัญของโลก ข้าวหอมที่มีชื่อเสียงที่ได้รับความนิยมในตลาดโลกมี 2 พันธุ์คือ ข้าวบาสมาดิของประเทศอินเดียและปากีสถาน ซึ่งเป็นข้าวหอมที่มีลักษณะพิเศษคือ ข้าวที่หุงหรือนึ่งสุก นอกจากจะมีกลิ่นหอมแล้วยังมีการขยายตัวดี(ข้าวสุกยาวกว่าข้าวสาร 2 เท่า) ข้าวสุกร่วน นุ่ม และมีรสชาติดี ข้าวที่หุงหรือนึ่งสุกนุ่ม เหนียว และมีกลิ่นหอม เป็นที่นิยมของประชากรในประเทศแถบเอเชียตะวันออกเฉียงกลางและอเมริกา พันธุ์ข้าวหอมที่มีชื่อเสียงของประเทศอื่นๆ ได้แก่ พันธุ์ Malagkit Sungsong, Azucena และ Milagrosa ของฟิลิปปินส์ พันธุ์ Seratus Malam ของอินโดนีเซีย พันธุ์ Hierri ของญี่ปุ่น พันธุ์

Goolarah ของออสเตรเลียและพันธุ์ Della ของอเมริกา ประเทศไทยได้มีการปลูกข้าวหอมในทุกภาคของประเทศ จากการสำรวจและรวบรวมพันธุ์ข้าวหอมของนที(2520) และของศูนย์ปฏิบัติการและเก็บเมล็ดพันธุ์ข้าวแห่งชาติ อ.ธัญบุรี จ.ปทุมธานี ในปีพ.ศ. 2526-2533 มีข้าวหอม 120 พันธุ์ เป็นข้าวเจ้า 77 พันธุ์ และข้าวเหนียว 43 พันธุ์ ปลูกอยู่ตามจังหวัดต่างๆของประเทศ ซึ่งบางพันธุ์เช่น ข้าวเจ้าพันธุ์หอมมะลิ เหลืองหอม หอมจัน หอมคง ข้าวเหนียวพันธุ์หอมพม่า หอมทุ่ง และหอมนางนวล ข้าวหอมของไทยที่มีชื่อเสียงเป็นที่นิยมของผู้บริโภคทั้งในตลาดโลกและตลาดภายในประเทศมีอยู่พันธุ์เดียวคือ พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 หรือข้าวหอมมะลิ หรือที่ต่างประเทศรู้จักในชื่อ jasmine rice

สถาบันค้นคว้าวิจัยเรื่องข้าวระหว่างชาติได้ร่วมมือกับ USDA (United States Department of Agriculture) โดย Western Regional Resgional Research Center (WRRC) ในปลายปี พ.ศ.2524 ทำการวิเคราะห์ข้าวหอมโดยใช้ objective gas-chromatographic screening method ศึกษาพันธุ์ข้าวหอมจากประเทศต่างๆ ได้แก่ พันธุ์ Seratus Malam จากอินโดนีเซีย พันธุ์ Hieri จากญี่ปุ่น พันธุ์ Basmati 370 จากปากีสถาน พันธุ์ข้าวดอกมะลิ 105 จากไทย พันธุ์ IR 841-76-1 จากสถาบันค้นคว้าวิจัยเรื่องข้าวระหว่างชาติ (IRRI) พันธุ์ Malagkit Sungsong, Milagrosa และ Azucena จากฟิลิปปินส์ เปรียบเทียบกับข้าวไม่หอม 2 พันธุ์คือ พันธุ์ Labelle และ Calrose จากสหรัฐอเมริกา สามารถจำแนกและวิเคราะห์สารหอมระเหยที่ทำให้เกิดกลิ่นหอมในข้าวกล้องและข้าวสารที่หุงสุกแล้วคือ 2-acetyl-1-pyrroline (IRRI 1983) จากการศึกษพบว่าปริมาณของ 2-acetyl-1-pyrroline ในข้าวกล้องมีมากกว่าในข้าวสารและความเข้มข้นของสารนี้จะมีอยู่ในส่วนของรำข้าวมากกว่าในข้าวสารกลิ่นหอมของข้าวสามารถตรวจสอบได้จากใบและเมล็ด เนื่องจากใบและเมล็ดสามารถระเหย 2-acetyl-1-pyrroline ได้พอๆกัน

2.5 ข้าวญี่ปุ่น

ข้าวที่ปลูกเพื่อการบริโภคทั่วโลกอาจแบ่งได้ 2 ชนิดใหญ่ๆคือ ชนิด Indica และ Japonica สำหรับชนิดแรกสามารถเจริญเติบโตได้ดีในอุณหภูมิอากาศแบบร้อน (Tropics) เพราะมีถิ่นกำเนิดในเขตร้อน ซึ่งตั้งอยู่ระหว่างเขตรัฐ (Latitude) 23 องศาเหนือและใต้ ประเทศไทยและประเทศเพื่อนบ้านอยู่ในเขตร้อนภูมิอากาศดังกล่าวนี้ ดังนั้นข้าวพันธุ์พื้นเมืองดั้งเดิม (Traditional cultivars) ที่ปลูกในประเทศไทย และในเขตนีเกือบทั้งหมดจึงจัดอยู่ในกลุ่มนี้ ส่วนข้าวอีกกลุ่มหนึ่งที่เรียกว่า Japonica type รวมทั้งข้าวญี่ปุ่นด้วยสามารถเจริญเติบโตได้ดีในเขตอบอุ่น (Temperate) เพราะมีถิ่นกำเนิดในเขตอบอุ่น คือตั้งแต่เส้นรุ้งที่ 23 องศาขึ้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จนกระทั่งถึงประมาณเส้นรุ้งที่ 50 องศา เช่น ประเทศญี่ปุ่น เกาหลี จีนตอนเหนือ ประเทศในทวีปยุโรปตอนใต้ และบางส่วนของประเทศอเมริกา และออสเตรเลีย ลักษณะภูมิอากาศในฤดูปลูกข้าวของประเทศเหล่านี้ เช่น ด้านอุณหภูมิ ความยาวของช่วงแสง อาทิตย์/วัน (Sunshine hours/day) เมฆ ฝน และความชื้นในอากาศ จึงแตกต่างจากฤดูปลูกข้าวในประเทศไทยค่อนข้างมาก นอกจากนี้ ข้าวญี่ปุ่นยังแตกต่างจากข้าวไทยในด้าน ความสูง การแตกกอ และความต้องการปุ๋ยไนโตรเจน แม้กระนั้นก็ตามด้วยความพยายามของบุคลากรของ สถาบันวิจัยข้าวที่ได้ทุ่มเทให้กับข้าวญี่ปุ่นเป็นเวลาหลายปีจึงได้ค้นพบว่า ถ้าได้มีการเลือกพันธุ์ สถานที่ปลูก ฤดูปลูก วิธีปลูก การใช้อัตราปุ๋ยที่เหมาะสม และการปฏิบัติดูแลรักษาที่ถูกต้อง จะสามารถปลูกข้าวญี่ปุ่นที่ ได้ผลระหว่าง 740-830 กิโลกรัมต่อไร่ ในเขตภาคเหนือตอนบน 740-800 กิโลกรัมต่อไร่ ในเขตภาค ตะวันออกเฉียงเหนือตอนบนและในเขตภาคเหนือตอนล่าง 620-680 กิโลกรัมต่อไร่ ข้าวญี่ปุ่นเป็นพืชที่มี ศักยภาพดีในการนำมาปลูกในประเทศไทย เนื่องจากสามารถปรับตัวเข้ากับสภาพแวดล้อมภูมิอากาศของ ภาคเหนือตอนบนของประเทศไทยได้ แม้ว่าข้าวญี่ปุ่นจะเป็นข้าวในกลุ่มจาโปนิกา(Japonica) ซึ่งมีแหล่งกำเนิด ในเขตอบอุ่น มีสภาพอากาศหนาวเย็นกว่าในประเทศไทย ปัจจุบันประเทศไทยสามารถปลูกข้าวญี่ปุ่นได้ทั้งฤดู นาปีและฤดูนาปรังในเขตชลประทาน ในเขตบริเวณภาคเหนือตอนบน ภาคตะวันออกเฉียงเหนือตอนบน และ ภาคเหนือตอนล่าง เนื่องจากราคาข้าวญี่ปุ่นค่อนข้างสูงกว่าข้าวชนิดอื่น และสืบเนื่องจากสนธิสัญญา GATT มี ผลบังคับใช้กับประเทศสมาชิกขององค์การการค้าโลก(WTO) รวมทั้งประเทศญี่ปุ่นต้องเปิดตลาดการนำเข้าข้าว จึงเป็นโอกาสให้ประเทศไทยสามารถผลิตข้าวญี่ปุ่นเพื่อเป็นสินค้าส่งออกได้

ปัจจุบันกรมวิชาการเกษตรได้แนะนำข้าวพันธุ์ญี่ปุ่น 2 พันธุ์คือ พันธุ์ข้าวญี่ปุ่น ก.ว.ก.1 (ชาซานิชิกิ) และ ก.ว.ก.2 (อากิตาโกมาชิ) เป็นพันธุ์ข้าวที่ไม่ไวต่อช่วงแสง ปลูกได้ทั้ง 2 ฤดู และเป็นพันธุ์ที่สามารถปรับตัว เข้ากับสภาพแวดล้อมและภูมิอากาศในประเทศไทยได้ดี ให้ผลผลิตสูงและคุณภาพดี แต่ทั้ง 2 พันธุ์ยังขาดข้อมูล ทางด้านต่างๆอยู่มาก แม้ว่าจะนำมาปลูกในประเทศไทยเป็นระยะเวลานานแล้วก็ตาม โดยเฉพาะอย่างยิ่งข้อมูล ทางด้านวิชาการด้านเมล็ดพันธุ์เช่น ระยะเวลาเก็บเกี่ยวที่เหมาะสมเมื่อปลูกในฤดูนาปรัง เป็นต้น เนื่องจาก ข้าวญี่ปุ่นต้องการอุณหภูมิของอากาศค่อนข้างต่ำในด้านการเจริญเติบโต ถ้าอุณหภูมิอากาศค่อนข้างสูงจะทำให้ ข้าวญี่ปุ่นมีอายุสั้น การผสมเกสรเกิดขึ้นเร็ว รวงจะเล็ก ผลผลิตต่ำ บริบูรณ์,2535 ได้สรุปว่าข้าวญี่ปุ่นสามารถ ปลูกได้ในช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมระหว่าง 18-25 องศาเซลเซียส และในฤดูปลูกที่มีช่วงแสงสั้นหรือในช่วง เดือนพฤศจิกายนถึงมกราคมของประเทศไทย จำาง ,2537 กล่าวว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ ข้าวญี่ปุ่นอยู่ในช่วง 15-25 องศาเซลเซียส ไม่น้อยกว่า 130 วัน ที่สำคัญที่สุดคือ ในช่วงระยะตั้งท้องถึงออกรวง บุญเลิศ,2533 กล่าวว่าข้าวญี่ปุ่นที่ปลูกในช่วงฤดูหนาวหรือกลางเดือน

พฤศจิกายนถึงปลายเดือนธันวาคม อายุข้าวญี่ปุ่นจะอยู่ระหว่าง 120-135 วัน ขณะที่ปลูกในฤดูนาปีจะมีอายุระหว่าง 80-100 วัน จันทริกา,2537 ได้แนะนำว่าควรเก็บเกี่ยวข้าวญี่ปุ่นที่ระยะเวลาที่ข้าวสุกแก่พอประมาณ หรือระยะพลับพลึงหรือที่อายุประมาณ 29-33 วันหลังข้าวออกดอก 75% จะให้ผลผลิตน้ำหนัก 1,000 เมล็ด ความมีชีวิตและความแข็งแรงของเมล็ดพันธุ์ดีที่สุด รองลงมาคือต้น พ.ย. และ ต้นธ.ก. อานนท์และคณะ,2536 รายงานว่าข้าวญี่ปุ่นพันธุ์ อมิตาโกมาชิ ซึ่งมีอายุประมาณ 110 วัน ให้ผลผลิตดีที่สุด เมื่อปลูกในช่วงเดือน พ.ย.- กลาง ม.ค. โดยวิธีปักดำ



ภาพที่ 2.2 ลักษณะข้าวญี่ปุ่นพันธุ์ ก.ว.ค. 1

ที่มา : <http://www.ricethailand.go.th>



ภาพที่ 2.3 ลักษณะข้าวญี่ปุ่นพันธุ์ ก.ว.ค. 2

ที่มา : <http://www.ricethailand.go.th>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

เชื้อรา *Aspergillus oryzae*

3.1 เชื้อรา *Aspergillus oryzae*

3.1.1 ลักษณะที่สำคัญของเชื้อรา *A. oryzae* (บัญญัติ, 2538)

1. เส้นใยมีผนังกัน
2. สปอร์ไม่เคลื่อนที่
3. sexual spore สร้างภายใน ascus มีจำนวน 8 ascospores
4. asexual spore ไม่สร้างภายใน ascus
5. ไม่ต้องการความชื้นมากในการเจริญ

การเจริญของเชื้อ *A. oryzae* เส้นใยมีการเจริญได้สองทิศทาง ด้านตามขวางจะเจริญไปอย่างเต็มที่แล้ว จึงหยุดเจริญ ส่วนการเจริญตามยาวของเส้นใยจะขยายยาวออกไปและแตกแขนงอย่างไม่จำกัดราบเท่าที่ สภาวะแวดล้อมยังเหมาะแก่การเจริญ

3.1.2 การสืบพันธุ์

3.1.2.1 การสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ เกิดได้หลายวิธี ดังนี้

1. fission
2. budding
3. fragmentation
4. chlamydospore
5. conidia

ซึ่งการจะสร้างสปอร์แบบโคนั้นขึ้นอยู่กับชนิดของรา หรือสภาพแวดล้อมขณะที่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ

3.1.2.2 การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศ

การสืบพันธุ์แบบมีเพศโดยวิธีนี้มีหลักการโดยที่นิวเคลียสเข้าไปอยู่ในเซลล์เดียวกันแต่ยังไม่รวมกัน ทำให้ลักษณะ 1 เซลล์มี 2 นิวเคลียส ที่เรียกว่า dikaryon และนิวเคลียสแบ่งตัวหลายๆ ครั้งได้ dikaryotic cell ใหม่อีกหลายอัน ต่อมานิวเคลียสทั้ง 2 อัน ในเซลล์จะรวมกันในส่วนที่จะเจริญเป็น ascus จากนั้น นิวเคลียสซึ่งเป็น diploid zygote nucleuse จะเกิดไมโอซิสและได้นิวเคลียส 4 อัน ต่อมา haploid nucleuse ทั้ง 4 นี้จะแบ่งแบบไมโทซิสอีกครั้งหนึ่งได้ 8 นิวเคลียส ซึ่งจะเจริญไปเป็น ascospore 8 อันอยู่ภายใน ascus

การสืบพันธุ์ของเชื้อ *A. oryzae* ส่วนมากจะสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการสร้างสปอร์ ที่เรียกว่า conidia เป็นสปอร์ที่ไม่มีสิ่งหุ้ม เกิดที่บริเวณปลายของเส้นใยที่ทำหน้าที่ชูสปอร์ (conidiospore) ซึ่งที่ปลายของเส้นใยจะมีเซลล์ที่เรียกว่า sterigma ทำหน้าที่สร้าง conidia ในเชื้อราบางชนิดมี conidia หลายๆ อันมาเรียงตัวกันเป็นแบบลูกโซ่เรียกว่า microconidia สปอร์ที่สร้างแบบนี้จะมีขนาดเล็กและมีรูปร่างเป็นลักษณะกลม ไม่มีสิ่งหุ้ม

เชื้อ *A. oryzae* เป็นเชื้อที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลผลิตเอนไซม์อะไมเลสที่สามารถย่อยแป้งได้ ซึ่งเอนไซม์อะไมเลสที่เชื้อราเชื้อ *A. oryzae* ผลิตนั้น เป็นทั้งชนิด endoamylase และ exoamylase จึงสามารถย่อยพันธะ $\alpha - 1,4$ glycosidic และ พันธะ $\alpha - 1,6$ glycosidic นอกจากนั้น ยังสามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสย่อยโปรตีนได้และสามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสส่งออกนอกเซลล์ (Extracellular protease) และเชื้อชนิดนี้จัดเป็น G.R.A.S (Generally Recognized As Safe) คือ เชื้อที่ปลอดภัยและไม่ก่อให้เกิดโรค จึงถูกนำไปใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหลายประเภท เช่น เหล้าสาเก จากข้าว และ เต้าเจี้ยว, ซีอิ้ว จากถั่วเหลือง

3.2 กระบวนการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล

มี 2 ขั้นตอน คือ (เกสร, 2545)

1) Liquefaction เป็นขั้นตอนเพื่อลดความหนืดของแป้งที่เจลาติไนซ์แล้ว โดยการย่อยโมเลกุลของแป้งแบบสุ่ม (random hydrolysis) ของลูกโซ่กลูโคส เมื่อการไฮโดรไลซิสเกิดขึ้นจะทำให้แยกเป็นเส้นสายสั้นๆ และมีขนาดของโมเลกุลเล็กลงและความหนืดลดลงด้วย

2) Saccharification เป็นการไฮโดรไลซิสแป้งให้เป็นโมเลกุลของน้ำตาล ดังนั้น หลังจากการย่อยแล้วจะได้โมโนแซ็กคาไรด์ หรือ ไดแซ็กคาไรด์ หรือน้ำตาลที่มีโมเลกุลสูงกว่าบ้างเล็กน้อย ซึ่งจะเกิดเป็นกลูโคส มอลโทส หรือ มอลโทโทรโอส

2.2.1 วิธีการย่อยแป้ง

2.2.1.1 การย่อยแป้งด้วยกรด

จากการเปรียบเทียบการใช้กรดต่างๆ พบว่ากรดไนตริก (HNO_3) สามารถย่อยสลายแป้งได้ดีกว่ากรดเกลือ (HCl) หรือ กำมะถัน (H_2SO_4) (Sriroth, 1976) ปัจจุบันในต่างประเทศเลิกใช้กรดในการย่อยสลายแป้งในอุตสาหกรรมแล้ว เพราะหลังจากการย่อยสลายจะต้องทำให้เป็นกลางโดยใช้ด่างทำให้เกิดเกลือขึ้น ซึ่งเกลือของกรดต่างๆ เหล่านี้จะมีผลต่อรสชาติของน้ำเชื่อม (glucose syrup) ที่จะนำไปใช้อุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์หรือผลิตภัณฑ์อื่นๆ

2.2.1.2 การย่อยแป้งด้วยเอนไซม์

ในปัจจุบันมีหลายบริษัทที่ผลิตเอนไซม์จำหน่ายอยู่ในหลายรูปแบบจากแหล่งต่างๆ เพื่อใช้ในอุตสาหกรรม การผลิตน้ำเชื่อมจากแป้งโดยใช้เอนไซม์จะสามารถควบคุมสัดส่วนของส่วนประกอบน้ำเชื่อมเกี่ยวกับเดกซ์ทริน น้ำตาลโมเลกุลใหญ่ๆ มอลโทส และกลูโคสได้ตามต้องการ เอนไซม์ที่นิยมใช้ได้แก่ แอลฟาและเบตาอะไมเลส ทลอคจนกลูโคอะไมเลส

3.3 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง

อะไมโลไลติกเอนไซม์ เป็นกลุ่มของโปรตีนย่อยสลายที่สำคัญในอุตสาหกรรมอาหารและเป็นเอนไซม์กลุ่มแรกที่น่ามาผลิตทางการค้าโดยใช้จุลินทรีย์ (Wiseman, 1978) ชนิดของเอนไซม์ย่อยแป้งแบ่งตามตำแหน่งของพันธะที่ถูกไฮโดรไลซ์เป็น 2 ประเภท คือ endoamylase และ exoamylase

1) endoamylase

จะย่อยแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่ง $\alpha - 1,4$ ทำให้ได้น้ำตาลรีดิซ และเด็คซ์ทริน ซึ่งมีสายกลูโคสขนาดต่างๆ กัน เอนไซม์ประเภทนี้ คือ อัลฟาอะไมเลส หรือ amylo 1,4 dextrinase (Undukofler, 1954) ซึ่งสามารถพบได้ในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ ถ้าการย่อยไม่สมบูรณ์จะได้เด็คซ์ทริน มอลโทส และกลูโคส แต่ถ้าสมบูรณ์จะได้มอลโทส และกลูโคส (Corman และ Langlykke, 1948)

2) exoamylase

จะย่อยแป้งจากปลาย non reducing โดยการย่อยที่ตำแหน่ง $\alpha - 1,4$ และ $\alpha - 1,6$ ได้ D-glucose เพียงอย่างเดียว เอนไซม์ประเภทนี้ คือ เบต้าอะไมเลส หรือ amylo 1,4 maltosidase และกลูโคอะไมเลสหรือ amylo 1,4 – 1,6 lucosidase (Undukofler, 1954) ซึ่งกลูโคอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยโพลีแซคคาไรด์ หรือ โอลิโกแซคคาไรด์ ได้ผลผลิตเป็นกลูโคสทีละหน่วย แต่มี โพลีแซคคาไรด์ หรือโอลิโกแซคคาไรด์บางชนิดที่กลูโคอะไมเลสย่อยไม่ได้เลย เช่น methyl $\alpha -D$ glucopyranoside, nigerose, isomaltose, dextrin, cellobiose, lactose เป็นต้น และย่อยสารบางชนิดได้ช้ามาก เช่น sucrose, raffinose, isomaltotetraose, pantose เป็นต้น แต่กลูโคอะไมเลส สามารถย่อยมอลโทส น้ำแป้ง มอลโตรไตรโอส อะไมโลส ได้รวดเร็วมาก (Baker et al, 1957)

3.3.1 เชื้อราที่เกี่ยวข้องกับการย่อยแป้ง

3.3.1.1 เชื้อราที่ผลิตอัลฟาแอมิเลส ได้แก่ *Aspergillus niger*, *A. oryzae* (Wiseman, 1978) *Penicillium* sp., *Monilia* sp. (Le Mense et al., 1947; Sukumavase, 1973) และราในกลุ่ม Mucoraceous fungi เช่น *Mucor* sp., *Amylomyces* sp. และ *Rhizopus* sp. (Wiseman, 1978)

3.3.1.2 เชื้อราที่ผลิตกลูโคแอมิเลส ได้แก่ *A. niger*, *A. oryzae*, *Rhizopus delemar* (Lineback และ Boaman, 1970) *A. awamori* Var. *kawachi* (Yoshino และ Hayashuda, 1978) *P. oxalicum* (Tsuboi et al., 1974) *M. rouxinanus.*, *Rhizopus* sp., *R. niveus* (Takahashi et al., 1978) แต่อย่างไรก็ตาม *A. niger* สร้างเอนไซม์ทรานซ์กลูโคซิเดส ซึ่งจะเปลี่ยนกลูโคสและโคแซคคาไรด์ไปเป็นโอลิโกแซคคาไรด์ ซึ่งโพลีแซคคาไรด์นี้จะไปขัดขวางการเกิดผลิตภัณฑ์กลูโคสทำให้ผลผลิตกลูโคสลดลง

3.4 ผลของเอนไซม์แอมิเลสที่มีต่อแป้ง

แป้งคิบบิคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ (nondispersible) และต้านทานต่อการย่อยด้วยเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่ำ เพราะในเม็ดแป้งมีการรวมตัวของลูกโซ่อะไมโลสและอะไมโลเพกตินด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) โดยปกติต้องให้ความร้อนแก่แป้งให้อยู่ในรูปสารละลาย จะทำให้เกิดเจลาตไนซ์เกิดความหนืดเพิ่มขึ้น เนื่องจากเม็ดแป้งขยายตัวดูดซึมน้ำเข้าไป จึงถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์เร็วขึ้น (Reed, 1975)

ปฏิกิริยาการย่อยแป้งของเอนไซม์แอมิเลสขึ้นกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ ชนิดของแป้ง ชนิดของเอนไซม์ ชนิดของจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์ อุณหภูมิ และพีเอช เช่น อัลฟาแอมิเลสมีกิจกรรมสูงสุดในช่วงพีเอช 5-6 อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส (Sandstedt, 1939)

3.5 สภาพการเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์ย่อยแป้ง

สภาพการเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์ขึ้นกับปัจจัยหลายอย่าง(Feniksova, 1957)

คือ

1. ระดับส่วนประกอบทางเคมีของอาหารเลี้ยงเชื้อ
2. สภาพทางฟิสิกส์ของสารเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์แต่ละชนิด
3. ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ
4. คุณสมบัติเฉพาะตัวของจุลินทรีย์แต่ละชนิด

ส่วนประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อที่ผลิตเอนไซม์ที่ย่อยแป้งมีผลต่อปริมาณและชนิดของเอนไซม์ที่ได้ด้วย(Hockenull, 1967) เพราะอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อที่ทำให้การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์สูงสุดไม่ได้หมายความว่าจะให้เอนไซม์สูงสุด อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ที่ย่อยแป้งได้นั้นจะต้องประกอบด้วย

1. ธาตุอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญของเชื้อรารวมทั้งสารที่ให้พลังงานด้วย
2. สารที่เป็นตัวนำในการสังเคราะห์เอนไซม์ เช่น กรดอะมิโน ซึ่งเชื้อราไม่สามารถสังเคราะห์ขึ้นมาเองได้
3. ความสมดุลของธาตุอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตเอนไซม์
4. มีความเป็นกรดเป็นด่างที่เหมาะสมแก่การเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ
5. ต้องมีสารที่เป็นตัวชักนำของเอนไซม์

ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สำหรับผลิตเอนไซม์แอมิเลสนั้น ปรากฏว่าสารพวกคาร์โบไฮเดรตที่เป็นแหล่งพลังงานมีผลต่อการผลิตอัลฟาแอมิเลสมากกว่าการผลิตกลูโคแอมิเลส(Hockenull, 1967)

แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เอมีเลสของเชื้อราควรจะต้องประกอบด้วยมอลโตส เค้กซ์ตริน หรือแป้ง (Hockenhull, 1967) แป้งมันสำปะหลังเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีสำหรับการผลิตเอนไซม์เอมีเลสจาก *A. oryzae* เมื่อเลี้ยงแบบ submerged culture (Kunda *et al.*, 1973)

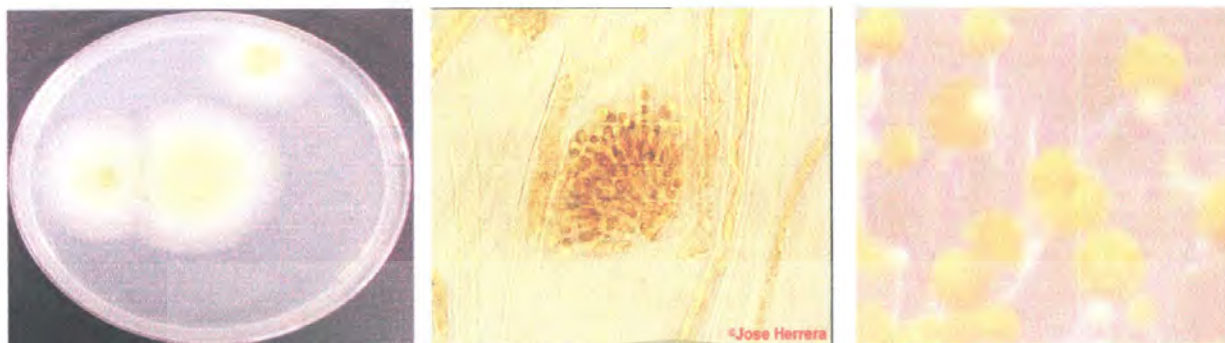
แหล่งไนโตรเจนนอกจากมีความจำเป็นต่อการเจริญของเชื้อราแล้ว ยังมีความสำคัญในการให้สารที่เป็นตัวนำ เช่น กรดอะมิโน เพื่อสร้างโมเลกุลเอนไซม์ เชื้อ *A. niger* ต้องการแหล่งไนโตรเจนที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ในการผลิตเอนไซม์ให้ได้ปริมาณสูง นอกจากนั้นในการเลี้ยงแบบ submerged culture แหล่งไนโตรเจนจะเป็นตัวควบคุมความเป็นกรด ค่าง ของขบวนการหมักด้วย ซึ่งมีความสำคัญอย่างยิ่ง ทั้งนี้เพราะเอนไซม์ผลิตได้ดีในระดับความเป็นกรดค่างที่เฉพาะเท่านั้น เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต หลังจากเชื้อราใช้แล้วจะได้กรดอิสระออกมารถทำให้ความเป็นกรดค่างเปลี่ยนแปลงได้ ดังนั้นเพื่อควบคุมความเป็นกรดค่างให้เหมาะสมจึงมักมีการเติมแคลเซียมคาร์บอเนตหรือฟอสเฟตลงไปด้วยเสมอ (Hockenhull, 1967)

การเลี้ยง *A. niger* และ *A. oryzae* สายพันธุ์ต่างๆ โดยใช้รำข้าวสาลีเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อพบว่า ได้อัลฟาเอมีเลสเป็นปริมาณมาก (Le Mense *et al.*, 1947) และจากการเปรียบเทียบ *Aspergillus* 23 สายพันธุ์ พบว่า *A. oryzae* BI 3 ให้ผลผลิตที่สูงสุดเมื่อเลี้ยงในวัตถุดิบที่หาได้ง่ายเช่น รำข้าวสาลี เป็นต้น (Gandhi *et al.*, 1974)

เชื้อ *Aspergillus oryzae*

อยู่ใน คิวชั้น คิวเทอโรไมโคตา (Division Deuteromycota) ไม่มีการสืบพันธุ์แบบใช้เพศในวงจรหรือวัฏจักรชีวิต สืบพันธุ์โดยการสร้างโคนิเดีย (Conidia) มีลักษณะเป็นเส้นใยมีสีขาวยถึงสีครีม อัดแน่น โคนิเดียสีเหลืองเทา (greyish yellow) ถึงสีน้ำตาล (olive brown) โคนิเดียมีลักษณะเป็นรูปกลมถึงรูปไข่ บางครั้งเป็นรูปรี มีผิวเรียบถึงขรุขระเล็กน้อย แอสเพอจิลัมแตกต่างกันมากอาจจะเป็นยูนิเวอริเอทหรือไบเซอริเอท เวลิจิเลรูปกระบอง (clavate) ถึงค่อนข้างกลม ก้านชูหนัังไม่มีสี เรียบถึงขรุขระ (วิลาวันย์ เจริญจิระตระกูล. 2536)

เป็นราที่เรียกว่า Imperfect fungi มีลักษณะสำคัญคือ เป็นราที่ยังไม่พบการสืบพันธุ์แบบมีเพศแต่มีการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ โดยการสร้างโคนิเดียเท่านั้น มีเส้นใยสีขาว โคนิเดียสีเหลืองเทาถึงสีน้ำตาลรูปกลมหรือรูปไข่ มีสเพอจิลัมเป็นยูนิเวอริเอทหรือไบเซอริเอท เวลิจิเลรูปกระบอง หนังก้านชูไม่มีสี (วิลาวันย์ เจริญจิระตระกูล. 2536)



ภาพที่ 3.1 แสดงลักษณะเชื้อรา *Aspergillus oryzae*

(ที่มา: ข้อมูลออนไลน์ www.foodprocessing-technology.com, www.mold.ph, www.saga-syoyu.org)

3.6 คุณสมบัติ/สถานะทางอุตสาหกรรม

การใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมนิยมใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารหมักและใช้เป็นแหล่งเอนไซม์ย่อยแป้ง (ดวงพร กัณทร โสติ. 2530.)

ใช้ในการผลิตอาหาร

- เป็นราที่สร้างสปอร์สีเหลืองปนเขียว ใช้หมักถั่วเหลืองในขั้นตอนการทำโคจิ ก่อนนำไปหมักในน้ำเกลือ เพื่อผลิตเป็น ซอิ๋ว และ เต้าเจี้ยว
- ใช้ในการหมักโคจิข้าว เพื่อนำไปใช้หมัก เหล้าสาเก
- ใช้ในการทำไวน์ เบียร์ และน้ำผลไม้
- ใช้ในการหมักน้ำปลา

ใช้ในการผลิตเอนไซม์

- ใช้ในการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ย่อยตะกอนโปรตีนในเครื่องคั้มแอลกอฮอล์ และน้ำผลไม้เพื่อให้ใส
- ใช้ในการผลิตเอนไซม์เอมิเลส ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยแป้ง
- ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง
- เป็นส่วนผสมในผงซักฟอก
- ใช้ในอุตสาหกรรมทอผ้าและน้ำตาล
- ผลิตยาช่วยย่อยอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

— เกษีขกรรม

โทษของ *Aspergillus oryzae*

- ทำให้เกิดโรคแก่พืช ได้แก่ โรคใบเหี่ยวของยาสูบ ใบสีน้ำตาลของข้าว ใบไหม้ของมะพร้าว
- ส่วนในคน ทำให้เกิดโรค กลาก เกลื้อน โรคเท้าเปื่อยหรือฮ่องกงฟุต
- ทำลายอาหารและผลิตภัณฑ์ทางการเกษตร

แหล่งอาศัย/นิเวศวิทยา

พบได้ในสภาพแวดล้อมทั่วไปใน ดิน พืช เมล็ดพืชต่างๆ (วิลาวัลย์ เจริญจิระตระกูล.2536)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

เอนไซม์(Enzyme)

4.1 ลักษณะทั่วไปของเอนไซม์

เอนไซม์เป็นโปรตีนที่มีสมบัติในการเร่งปฏิกิริยาเคมี โดยมีความสามารถในการกระตุ้นให้เกิดปฏิกิริยาอย่างจำเพาะเจาะจง

4.1.1 เอนไซม์เป็นโปรตีน

1. เมื่อย่อยสลายเอนไซม์ด้วย กรด ค่าง หรือ เอนไซม์โปรตีเอส พบว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้ประกอบด้วย กรดอะมิโน และมีองค์ประกอบอื่นๆที่ไม่ใช่โปรตีน (non-protein components) เช่น คาร์โบไฮเดรต ไขมัน ไอออนของโลหะ เป็นต้น
2. เอนไซม์ให้ผลการทดสอบโดยวิธีทางชีวเคมี เช่น Biuret sakaguchi เป็นต้น เหมือนกับโปรตีนโดยทั่วไป
3. ผลการศึกษาโครงสร้างของเอนไซม์โดย X-ray crystallography ให้ผลเหมือนโปรตีนทั่วไป
4. เอนไซม์ถูกทำให้เสียสภาพธรรมชาติ (denaturation) ได้ด้วยความร้อน ตัวทำละลายอินทรีย์ กรดแก่หรือด่างแก่

4.1.2 เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

เอนไซม์มีสมบัติเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา เนื่องจากเอนไซม์ปริมาณเล็กน้อย สามารถทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเคมีเพิ่มขึ้นมาก โดยที่โมเลกุลของเอนไซม์ ยังคงสภาพเดิมไม่เปลี่ยนแปลง

4.1.3 เอนไซม์มีความจำเพาะ

เอนไซม์มีความจำเพาะต่อสับสเตรทสูงมาก เอนไซม์ชนิดหนึ่งสามารถเร่งปฏิกิริยาสำหรับสับสเตรท ประเภทใดประเภทหนึ่งที่มีโครงสร้างเหมาะสมเท่านั้น เช่น amylase เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายแป้ง แต่ไม่ย่อยสลายเพคตินหรือเซลลูโลส ซึ่งเป็นคาร์โบไฮเดรตเหมือนกัน

4.1.4 เอนไซม์มีความสามารถในการกระตุ้น

เอนไซม์ทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเคมีสูงเพิ่มขึ้น เนื่องจากเอนไซม์สามารถลดพลังงานกระตุ้นของปฏิกิริยาเคมี (activation energy , E_a) จึงทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นได้ดี

4.2 เอนไซม์แอมิเลส(Amylases)

Amylases เป็นกลุ่มเอนไซม์ที่ย่อยสลายพันธะ α -1,4 glycosidic ในโมเลกุลของแป้ง โกลโคเจน และ พอลิแซ็กคาไรด์ที่เกี่ยวข้อง โดยที่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะ α -1,6 glycosidic หรือบางชนิดอาจย่อยได้แต่ช้ามาก

Amylases แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม คือ

1. Endo - amylase ได้แก่ α - amylase ซึ่งย่อยสลายพันธะ α -1,4 glycosidic ในโมเลกุลของ สับสเตรทในลักษณะสุ่ม(random)
2. Exo – amylase มี 2 ชนิด คือ
 - 2.1 เบต้า – amylase ย่อยสลายพันธะ α -1,4 glycosidic จากปลาย non-reducing ได้มอลโตสครั้ง ละ 1 โมเลกุล
 - 2.2 Glucoamylase ย่อยสลายพันธะ α -1,4 glycosidic จากปลาย non-reducing ได้กลูโคสครั้งละ 1 โมเลกุล และสามารถย่อยสลายพันธะ α -1,6 glycosidic ได้ในอัตราที่ช้ามาก

4.2.1 การวัดแอกติวิตีของเอนไซม์อะมิเลส

วิธีวัดแอกติวิตีของเอนไซม์อะมิเลส โดยใช้แป้งเป็นสับสเตรททำได้ 4 วิธี คือ

1. ติดตามความหนืดที่ลดลง
2. ติดตามการเกิดสีน้ำเงินกับสารละลายไอโอดีนที่ลดลง
3. ติดตามปริมาณ reducing group ที่เพิ่มขึ้น
4. ติดตามปริมาณมอลโตส กลูโคส หรือเด็คซ์ทรินที่เพิ่มขึ้น

4.2.2 ชนิดของเอนไซม์ amylase

1. α - amylase

มีชื่อทางการค้าเป็นที่รู้จักกันว่า Termamyl และมีชื่อสามัญว่า ไคเอสเทส (diastase) และมีชื่อตามระบบว่า แอลฟา-1,4-glucan 4-glucanohydrolase, EC 3.2.1.1 พบทั่วไปทั้งในอาณาจักรพืชและสัตว์ตลอดทั้งในจะพบในส่วนของน้ำลาย (salivary amylase) และ พบในตับอ่อน (pancreatic amylase) ซึ่งมีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายแป้งเป็นโอลิโกและไดแซ็กคาไรด์ ลักษณะที่สำคัญของเอนไซม์ในการย่อยสลายคือ เจาะจงต่อการย่อยสลายพันธะไกลโคซิดของแป้งที่แอลฟา -1,4 ในลักษณะตัดภายในสายพอลิเมอร์อย่างได้ผลผลิตเป็นกลูแคนและลิมิตเดกซ์ทรินที่มีหน่วยกลูโคสประมาณ 2-6 หน่วย และยังมีโครงสร้างเดิม ซึ่ง α -amylase โดยทั่วไปมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000 และมี Ca^{2+} เป็นโคแฟกเตอร์เกาะติดแน่นกับ โมเลกุลของเอนไซม์ การดึง Ca^{2+} ออกโดยใช้ chelating agents มีผลทำให้ α - amylase สูญเสียแอกติวิตีและไม่เสถียร

2. β - amylase

มีชื่อเรียกตามระบบว่า β -1,4-glucan maltohydrolase, EC 3.2.1.2 ซึ่งพบโดยทั่วไปในพืชชั้นสูง เช่น ข้าวบาร์เลย์ในลักษณะกำลังออกเป็นข้าวมอลต์ ข้าวสาลี ข้าวไรย์ ถั่วเหลือง และมันเทศ และมักพบร่วมกับแอลฟา-แอมิเลส ปฏิบัติการย่อยสลายของบีตา-แอมิเลสจะเจาะจงต่อพันธะไกลโคซิดของแป้งที่ แอลฟา-1,4 ในลักษณะการตัดสายพอลิเมอร์อย่างเป็นระเบียบจากปลายสาย ด้านไม่มีหมูรีควิซเข้าสู่ภายในสายไปทีละ 1 หน่วยของมอลโทส หรือทีละ 2 หน่วยของกลูโคส และจะหยุดปฏิบัติที่พันธะไกลโคซิดที่แอลฟา -1,6 ดังนั้นผลผลิตที่ได้จากปฏิกริยาย่อยสลายแป้งหรือไกลโคเจนจะเป็นกลูแคน, ลิมิตเดกซ์ทริน และส่วนใหญ่เป็นมอลโทสที่มีโครงสร้างต่างไปจากเดิม คือได้ β -configuration หรือบีตา-มอลโทส

ส่วนใหญ่พบในพืชชั้นสูง ได้แก่ ธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวสาลี ข้าวฟ่าง เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบในถั่วเหลืองและมันเทศด้วย พืชเหล่านี้นอกจากเป็นแหล่งของ β -amylase ยังพบ α - amylase รวมอยู่ด้วย β -amylase จากมันเทศ มีน้ำหนักโมเลกุล 152,000 ซึ่งโดยทั่วไป β -amylase จะมีน้ำหนักโมเลกุลสูงกว่า α - amylase Optimum pH ของ β -amylase อยู่ในช่วง 5-6 นอกจากนี้ β -amylase เมื่อย่อยสลายสับสเตรทแล้วจะทำให้โครงสร้าง (configuration) ของ C_1 ในมอลโทสซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนั้นเปลี่ยนจาก α เป็น β

3. Glucoamylase

แหล่งของ glucoamylase คือ แบคทีเรีย และรา เป็น exo -amylase ที่ต้องการสับสเตรทขนาดใหญ่ นอกจากพันธะ α -1,4 glycosidic แล้ว ยังสามารถย่อยสลายพันธะ แอลฟา-1,6 และ แอลฟา-1,3 ได้ด้วย แต่ย่อยสลายได้ช้ากว่าพันธะ แอลฟา 1,4

4.3 เอนไซม์โปรตีเอส (Proteases)

โปรตีน เป็นองค์ประกอบหลักของร่างกาย ความสำคัญของพอลิเมอร์โปรตีนนี้เป็นที่รู้จักกันคืออยู่แล้ว ตลอดทั้งความสำคัญในการสังเคราะห์ในร่างกายด้วย อย่างไรก็ตาม โปรตีนถูกทำให้สูงค่าขึ้นได้ด้วยบทบาทที่สำคัญของเอนไซม์ คือ โปรตีเอส ซึ่งนำเข้ามาสู่อุตสาหกรรมอาหาร โปรตีน โปรตีเอสเป็นเอนไซม์ที่สำคัญชนิดหนึ่งในระบบการย่อยอาหารสู่ร่างกาย เช่น เปปซิน ทริปซิน โคโมทริปซิน เปปติเดส นอกจากนี้ยังมีโปรตีเอสในส่วนของกระบวนการแข็งตัวของเลือด ควบคุมการจับเชื้อโรค โดยการย่อยสลายโปรตีนจากภายนอก เช่น คาเทปซิน

4.3.1 ลักษณะที่สำคัญของโปรตีเอส

โปรตีเอสมีชื่อสามัญหลายชื่อ ได้แก่ เปปติเดส โปรตีนเนส เปปไทด์ไฮโดรเลส และเอนไซม์โปรตีไลติก มีลักษณะปฏิกิริยา ดังนี้คือ การสลายพันธะเปปไทด์ $-CO-NH-$ ด้วยน้ำ

4.3.2 ประเภทของเอนไซม์โปรตีเอส ได้แก่

1. The serine proteases

เอนไซม์ในกลุ่ม serine proteases ทั้งหมดเป็น endopeptidases โดยมีหมู่ imidazole และ seryl residue ในบริเวณเร่ง ถูกยับยั้งได้โดย diisopropyl phosphofluoridate (DEP) สำหรับ Optimum pH ของเอนไซม์กลุ่มนี้อยู่ในช่วง 6.7-9 จัดว่าเป็น alkali protease ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้ได้แก่ chymotrypsine (EC3.4.4.5), trypsin (EC 3.4.4.5), elastase (EC 3.4.4.7) ซึ่งพบในตับอ่อนของสัตว์ชั้นสูง เช่น วัว ควาย หมู รวมทั้งมนุษย์

2. The sulfhydryl protease

เป็นเอนไซม์ โปรตีเอสที่มีหมู่ sulfhydryl หรือหมู่ thiol (-SH) ในบริเวณเร่ง ซึ่งอาจมีมากกว่า 1 หมู่ และถูกยับยั้งได้โดยสารประกอบที่สามารถทำปฏิกิริยากับหมู่ sulfhydryl ได้ เช่น ไอออนของโลหะหนักหรืออนุพันธ์ของโลหะหนัก เป็นต้น แหล่งของเอนไซม์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่มาจากพืชชั้นสูงและจุลินทรีย์บางชนิด เช่น papain (EC 3.4.4.10) เป็นต้น Optimum pH ไซม์กลุ่มนี้อยู่ในช่วง 6-7.5 และทนความร้อนได้ดีในช่วง 60-80 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้คัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. The metal containing protease

เป็นกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสที่ประกอบด้วยไอออนของโลหะ เช่น Zn^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Co^{2+} เป็นต้น อยู่ในบริเวณเร่งโปรติเอสในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็น exopeptidases และถูกยับยั้งโดย metal-chelating agent เช่น EDTA , 1,10-phenanthroline เป็นต้น

3. The acid proteases

เป็นกลุ่มเอนไซม์โปรติเอสที่เร่งปฏิกิริยาได้ดีที่ภาวะที่เป็นกรดและบริเวณเร่งจะมีหมู่คาร์บอกซิลมากกว่า 1 หมู่ ตัวอย่างของเอนไซม์กลุ่มนี้คือ pepsin และ rennin เป็นต้น

4.3.3 การวัดแอกติวิตีของเอนไซม์โปรติเอส

1. ใช้โปรตีนเป็นสับสเตรท

สับสเตรทที่ใช้ได้แก่ เกซีน หรือ denatured hemoglobin

1.1 ติดตามปริมาณของกรดอะมิโนที่เพิ่มขึ้น โดยทำปฏิกิริยา ninhydrin ซึ่งจะให้สารประกอบเชิงซ้อนสีม่วง จึงสามารถวัดสีได้ที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของ leucine

1.2 ติดตามปริมาณ tyrosine ที่ละลายใน Trichloroacetic acid (TCA) ซึ่งเกิดขึ้นหลังจากปฏิกิริยาของเอนไซม์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 275 หรือ 280 นาโนเมตร หรือให้ tyrosine ที่เกิดขึ้นทำปฏิกิริยากับสารเคมี ที่ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีสี ซึ่งสามารถวัดสีที่เกิดขึ้นที่ความยาวคลื่นที่เหมาะสมได้

2. ใช้สับสเตรทสังเคราะห์

สับสเตรทสังเคราะห์อาจมีพันธะเอสเทอร์ เอ ไมค์ หรือ เปปไทด์

ใช้ nitrophenyl ester เป็นสับสเตรท ซึ่งติดตามปฏิกิริยาได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 340 นาโนเมตร

บทที่ 5

วัสดุอุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

5.1 สารเคมีที่ใช้

1. Tris (hydroxymethyl) aminomethane (THAM)
2. Dinitrosalicylic reagent (DNS reagent)
3. กลูโคส ($C_6H_{12}O_6$)
4. กรดไฮโดรคลอริก (HCl)
5. แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$)
6. สตาร์ช (soluble starch)
7. กรดซिटริกแอซิด ($C_6H_8O_7 \cdot H_2O$)
8. โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na_2HPO_4)
9. โทเทสเทียมไฮเดียมคาเตรท ($COOK(CHOH)COONa$)
10. ไฮเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
11. ไฮเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3)
12. ไตรครอโรอะซิติคแอซิด (TCA)
13. น้ำยาโฟลีน (Folin –Ciocalteu reagent)
14. เคซีน (casein)
15. กรดอะมิโนไทโรซีน (tyrosine)

5.2 วัสดุและอุปกรณ์

1. ตู้เพาะเชื้อที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้
2. หม้อนึ่งข้าว
3. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อแบบไอน้ำ (autoclave)
4. ตู้แช่เชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง
6. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง
7. เครื่องแก้วอื่นๆเช่น บีกเกอร์,ปิเปต, บิวเรต ,หลอดทดลอง ,จานอาหารเลี้ยงเชื้อ และอื่นๆ
8. เครื่องวัดการดูดกลืนแสง
9. เครื่อง centrifuge
10. เครื่องวัดพีเอช
11. ตู้อบ hot air oven
12. เครื่องเขย่า (votex)
13. เครื่อง Spectrometer
14. กิวเวตแก้ว

5.3 วัสดุดิบ

- ข้าวขาวคอกมะลิ 105
- ข้าวเจ้าญี่ปุ่น

5.4 จุลินทรีย์

Aspergillus oryzae TISTR 3088 จากสถาบันวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

5.5 วิธีการทดลอง

5.5.1 การนึ่งข้าวเจ้า

ข้าวสารที่ผ่านการขัดสี ล้างและแช่ข้าวค้างคืนไว้ที่อุณหภูมิห้องนาน 12-24 ชั่วโมง รินน้ำออกแล้วสะเด็ดน้ำออกจากข้าวโดยการเทข้าวใส่ตะแกรงสแตนเลส นำข้าวที่สะเด็ดน้ำแล้วในตะแกรงสแตนเลสไปนึ่งในรังถึง โดยนึ่งข้าวภายใต้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที

5.5.2 การทำโคจิ

ข้าวเจ้านึ่งสุกชั่งน้ำหนัก 200 กรัม ถ่ายสปอร์เชื้อรา *Aspergillus oryzae* TISTR 3088 น้ำหนัก 0.2 กรัมที่เลี้ยงได้จากอาหารร่วนเปียกในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 500 มิลลิลิตร จากนั้นเก็บกล้าเชื้อที่ได้ภายใต้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง ทำการเก็บตัวอย่างวันที่ 2,4,6 และ 8 วัน เก็บตัวอย่างที่ได้ไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำไปวัดกิจกรรมของเอนไซม์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.5.3 การสกัดเอนไซม์จากโคจิ

ชั่งโคจิที่ได้จากข้อ 5.5.2 น้ำหนัก 2 กรัม บดให้ละเอียดในโกร่ง ถ่ายใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 125 มิลลิลิตร ล้างโกร่งด้วย 0.05 M Tris - HCl buffer pH 7.0 ถ่ายใส่ขวดรูปชมพู่เดิม โดยใช้บัฟเฟอร์ทั้งหมด 80 มิลลิลิตร เขย่า 2-3 นาที แช่ไว้ในอ่างน้ำแข็ง 30 นาที นำออกมาเขย่า 2-3 นาที ทิ้งไว้ให้ตกตะกอน รินส่วนใสไป centrifuge ด้วยความเร็ว 5000 rpm ที่อุณหภูมิ 4 °C เวลา 10 นาที รินส่วนใสเก็บไว้วัดกิจกรรมของเอนไซม์

5.5.4 การศึกษาสมบัติของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอสในโคจิ

5.5.4.1 การวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอส

โดยทำการวัดกิจกรรมของเอนไซม์เอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอสในโคจิที่ผลิตจากข้าวขาวดอกมะลิ 105 และข้าวญี่ปุ่นที่บ่มเป็นเวลา 2, 4, 6 และ 8 วัน

5.5.4.2 อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ (optimal temperature)

- การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสในโคจิ

โดยทำการสกัดเอนไซม์ในโคจิด้วยวิธีการจากข้อ 5.5.3 จากนั้นนำเอนไซม์ที่สกัดได้ มาศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด โดยการปิเปตสับสเตรท(ละลาย soluble starch) 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง นำไป incubate ที่ อุณหภูมิต่างๆ คือ 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับเป็นเวลา 3 นาที เติมเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 ลงไปในหลอดทดลอง หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป incubate ต่อ 20 นาที จากนั้นเติม DNS – reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร ทันทีพร้อมกับเขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่น้ำเดือด 3 นาที แล้วเขย่าเย็นทันที เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้ว เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

- การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสในโคจิ

โดยทำการสกัดเอนไซม์ในโคจิด้วยวิธีการจากข้อ 5.5.3 จากนั้นนำเอนไซม์ที่สกัดได้ มาศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แต่ละชนิด โดยการปิเปตสับสเตรท(สารละลายเคซีน) 1 มิลลิลิตร นำไป incubate ที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เติมเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 ลงไปในหลอดทดลอง หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไป incubate ต่อ 10 นาที หยดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติมสารละลาย TCA ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเกิดตะกอนที่ก้นหลอด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรองตะกอนโปรตีนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 นำส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน เติมสารละลายฟอสฟอรัส 0.5 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร เขียนกราฟความสัมพันธ์ระหว่างกิจกรรมเอนไซม์กับอุณหภูมิ

5.5.4.3 พืเอชเหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์ (optimal pH)

- การศึกษาพืเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสในโคจิ

โดยการปีเปตสับสเตรท (ละลาย soluble starch) 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติม buffer pH ต่างๆ ดังนี้ พืเอชที่ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร นำหลอดทั้งหมดไป incubation ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที เติมเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 ลงไปในหลอดทดลองที่เติม buffer pH ไว้แล้ว หลอดละ 0.5 มิลลิลิตร จากนั้น นำไป incubation 20 นาที จากนั้นเติม DNS – reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร ทันทีพร้อมกับเขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ในน้ำเดือด 3 นาที แล้วแช่น้ำเย็นทันที เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้ว เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

- การศึกษาพืเอชที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสในโคจิ

โดยการปีเปตสับสเตรท(สารละลายเคซีน) 1 มิลลิลิตร เติม buffer pH ต่างๆ ดังนี้ พืเอชที่ 4, 5, 6 และ 7 ปริมาตร 1 มิลลิลิตร นำหลอดทั้งหมดไป incubation ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 ลงไปในหลอดทดลองที่เติม buffer pH ไว้แล้ว หลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้นนำไป incubation ต่อไป 10 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติมสารละลาย TCA ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้จนตกตะกอนที่ก้นหลอด กรองตะกอนโปรตีนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 นำส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน เติมสารละลายฟอสฟอรัส 0.5 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

5.5.4.4 ความคงตัวของเอนไซม์ต่ออุณหภูมิ (thermostability)

- ความคงตัวของเอนไซม์แอมิเลสต่ออุณหภูมิ

นำเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 ลงไปในหลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 30,40,50,60 และ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ดูดสารละลายเอนไซม์มา 0.5 มิลลิลิตร เติมสับสเตรท(ละลาย soluble starch) 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง

จากนั้นเติม DNS – reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร ทันทีพร้อมกับเขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ในน้ำเดือด 3 นาที แล้วแช่น้ำเย็นทันที เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้ว เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

- ความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสต่ออุณหภูมิ

นำเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 ลงไปในหลอดทดลอง หลอดละ 3 มิลลิลิตร นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 30,40,50 ,60 และ70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเปิดสับสเตรท (สารละลายเจซิน) 1 มิลลิลิตร เติมเอนไซม์ที่ผ่านการบ่มแล้ว ลงไปในหลอดทดลอง หลอดละ 1 มิลลิลิตร นำไป incubate ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จับเวลาเมื่อครบ 10 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติมสารละลาย TCA ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเกิดตะกอนที่ก้นหลอด กรองตะกอนโปรตีนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 นำส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร สารละลายทั้งหมดให้เข้ากันเติมสารละลายโพลิน 0.5 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

5.5.4.5 ความคงตัวของเอนไซม์ต่อพีเอช (pH stability)

- การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์แอมิเลสต่อพีเอช

นำเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติม buffer pH ที่ 3,4,5,6,7 และ 8 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที ดูดสารละลายมา 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเติมสับสเตรท (ละลาย soluble starch) 0.5 มิลลิลิตร นำหลอดทั้งหมดไปเข้าตู้อบ (incubation) ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที จากนั้นเติม DNS – reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร ทันทีพร้อมกับเขย่าให้เข้ากัน นำไปแช่ในน้ำเดือด 5 นาที แล้วแช่น้ำเย็นทันที เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้ว เติมน้ำกลั่นหลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

- การศึกษาความคงตัวของเอนไซม์โปรตีนเอสต่อพีเอช

นำเอนไซม์ที่สกัดได้จากข้อ 5.5.3 3 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติม buffer pH ที่ 3,4,5,6,7 และ 8 ปริมาตร 3 มิลลิลิตร เป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นเปิดสับสเตรท(สารละลายเจซิน) 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง นำหลอดไปเข้าตู้อบ (incubation) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เติมเอนไซม์ที่ผ่านการบ่มลงไปในหลอดทดลอง หลอดละ 1 มิลลิลิตร จากนั้น นำไป incubation ต่อครบ 10 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติมสารละลาย TCA ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเกิดตะกอนที่ก้น

หลอด กรองตะกอนโปรตีนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 นำส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง ที่มีสารละลายโซเดียมคาร์บอเนต ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร สารละลายทั้งหมดให้เข้ากันเติมสารละลายฟอสฟอรัส 0.5 มิลลิลิตร เขย่า ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

5.5.5 ศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอสในโคจิในสภาวะที่มีเอทานอลสูง

โดยการไม่เติมเอทานอลและ เติมเอทานอลที่มีความเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ , 30 เปอร์เซ็นต์ ,35 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ นำมาวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอสที่ทราบสภาวะที่เหมาะสม จากข้อ 5.5.4.2 และ ข้อ 5.5.4.3



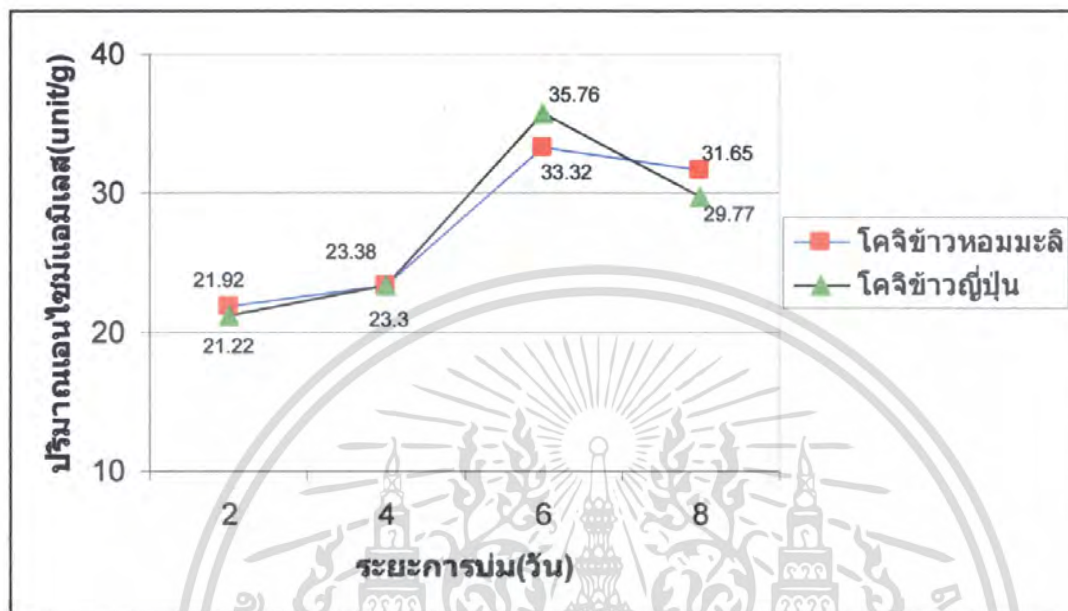
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 6

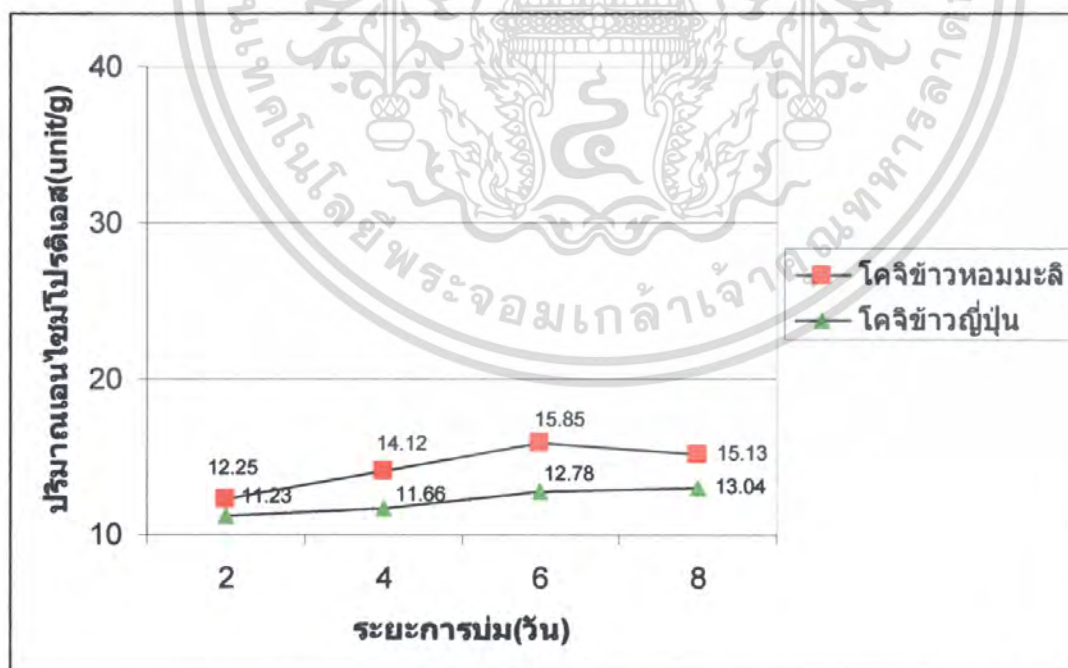
ผลการทดลองและวิจารณ์การทดลอง

6.1 ผลการศึกษาระยะเวลาการบ่มโคจิที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในโคจิข้าวหอมมะลิ และโคจิข้าวญี่ปุ่น

จากการทดลองเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus oryzae* TISTR 3088 ในข้าวหอมมะลิและข้าวญี่ปุ่นที่ผ่านการนึ่งแล้ว โดยมีระยะเวลาการบ่มที่แตกต่างกัน คือ 2, 4, 6, และ 8 วัน หลังจากนั้นนำไปตรวจวิเคราะห์หาปริมาณของกิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลสและโปรติเอส จากการทดลองจะพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลส และโปรติเอส ที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นจะสูงกว่าโคจิที่ได้จากข้าวหอมมะลิ ซึ่งจะพบว่าโคจิที่ผ่านการบ่มเป็นระยะเวลา 6 วัน จะมีปริมาณของกิจกรรมเอนไซม์เอมีเลสและโปรติเอสสูงสุด โดยจะพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลสที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและจากโคจิข้าวหอมมะลิ คือ 35.76 หน่วย/กรัม และ 33.32 หน่วย/กรัม ตามลำดับ ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ คือ 15.85 หน่วย/กรัม และ 12.78 หน่วย/กรัม ตามลำดับ และจะพบว่าการบ่มโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิเป็นเวลา 6 วัน มีกิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลสและโปรติเอสในโคจิที่ได้จากข้าวทั้งสองชนิด สูงสุดแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ จากปริมาณการบ่มโคจิที่ระยะเวลาอื่นๆ ดังภาพที่ 6.1 และ 6.2 ดังนั้นจึงใช้โคจิที่ได้จากข้าวทั้งสองชนิด ที่ผ่านการบ่มโคจิเป็นระยะเวลา 6 วัน มาใช้ในการทดลองเพื่อหาการทำงานที่เหมาะสมของเอนไซม์ในสภาวะอื่นๆ ต่อไป



ภาพที่ 6.1 ผลของกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสต่อระยะเวลาการบ่มโคจข้าวหอมมะลิและโคจข้าวญี่ปุ่น



ภาพที่ 6.2 ผลของกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสต่อระยะเวลาการบ่มโคจข้าวหอมมะลิและโคจข้าวญี่ปุ่น

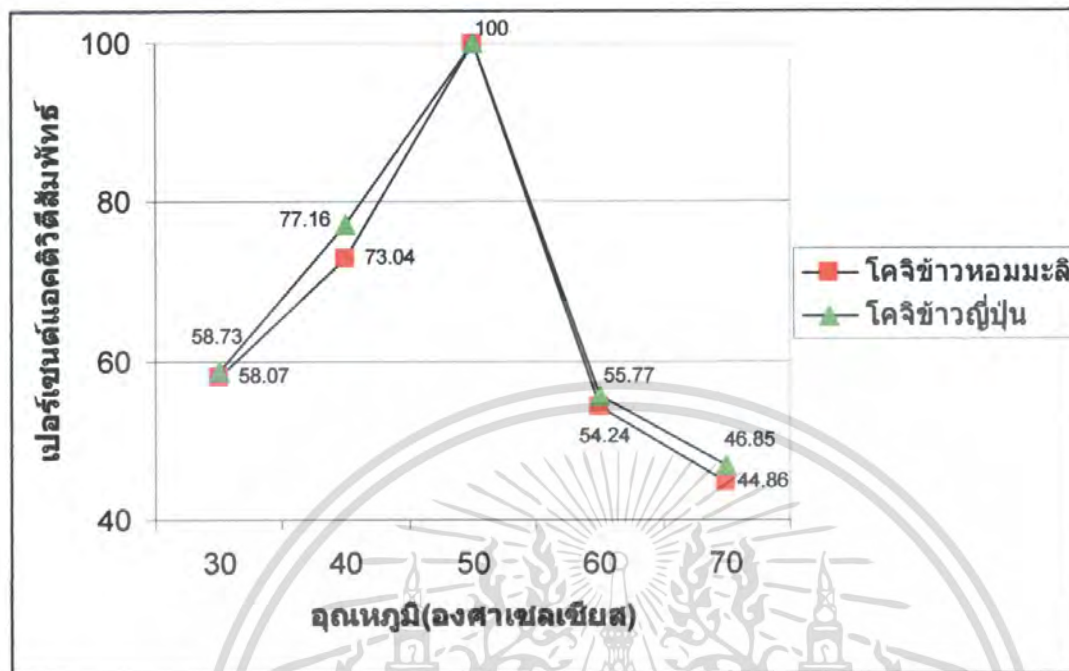
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.2 ผลการศึกษาอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในโคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น

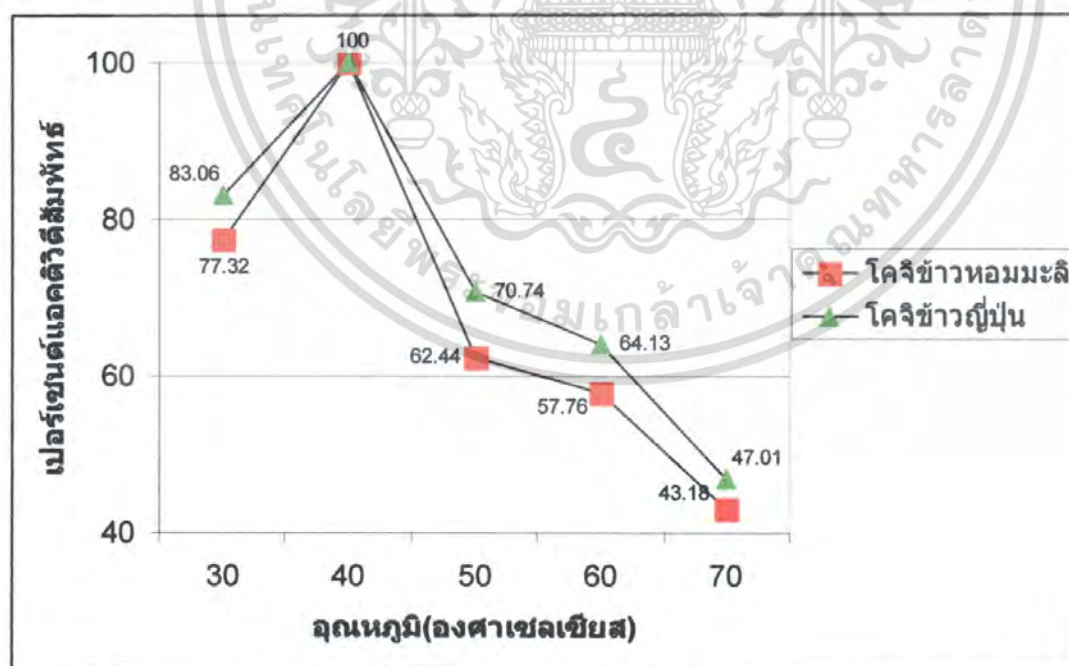
จากการทดลองจะพบว่า เมื่อทำการสกัดเอนไซม์ที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ ที่ pH 7 นำไปศึกษาหาสภาวะของอุณหภูมิที่ระดับต่างๆ ดังนี้ 30, 40, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลสมีมากที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส รองลงมา คือ 40, 30, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่น และโคจิข้าวหอมมะลิทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 100 รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์ของโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ มีค่าเท่ากับ 77.16 และ 73.04 ตามลำดับ ดังแสดงใน ภาพที่ 6.3 ซึ่งจากผลการทดลอง พบว่า ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ให้กิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลสสูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากอุณหภูมิอื่นๆ แสดงว่า ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เอมีเลสและทำให้เอนไซม์เอมีเลสทำงานได้ดีที่สุด

จากผลการทดลองพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสมีมากที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส รองลงมา คือ 30, 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ซึ่งพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่น และโคจิข้าวหอมมะลิทำงานได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์มีค่าเท่ากับ 100 รองลงมาคือที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์ของโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ มีค่าเท่ากับ 83.06 และ 77.32 ตามลำดับ ดังแสดงใน ภาพที่ 6.4 ซึ่งจากผลการทดลองแสดงว่า ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรตีเอสและทำให้เอนไซม์โปรตีเอสทำงานได้ดีที่สุด

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เอมีเลสและโปรตีเอส คือ 40-50 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ 45 องศาเซลเซียส เนื่องจากว่าที่อุณหภูมิดังกล่าว ยังคงทำให้ กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดทำงานยังได้ดีพอสมควร และมีประสิทธิภาพในการเข้าทำปฏิกิริยากับ สับสเตรทได้ดี



ภาพที่ 6.3 ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสใน โคจข้าวหอมมะลิและ โคจข้าวเหนียว ที่ pH 7



ภาพที่ 6.4 ผลของอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสใน โคจข้าวหอมมะลิและ โคจข้าวเหนียว ที่ pH 7

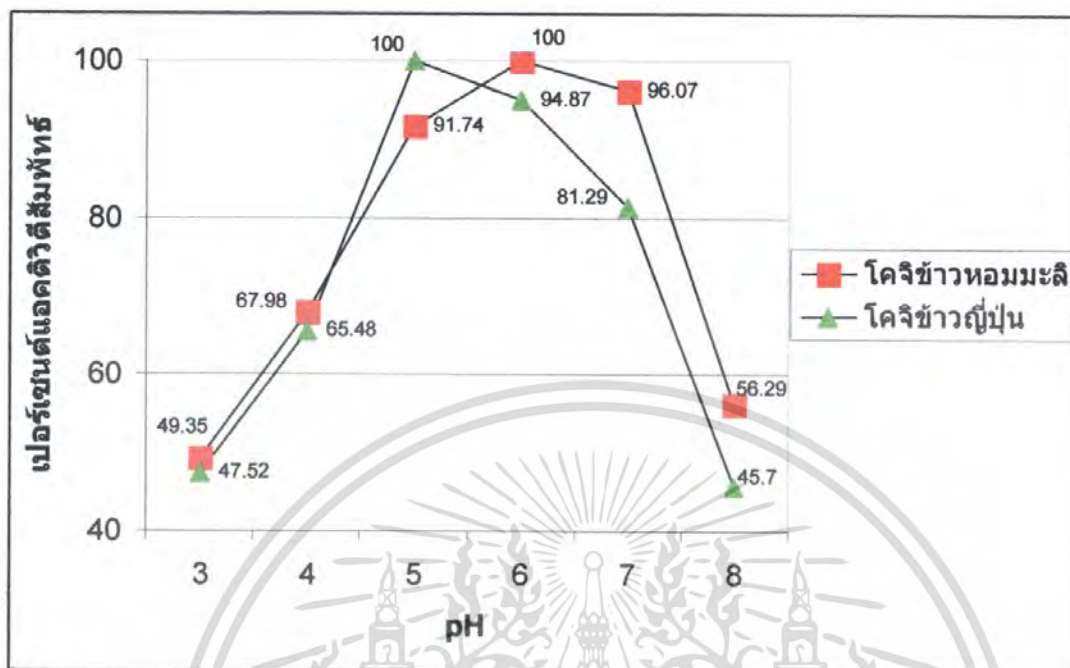
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.3 ผลการศึกษาที่เอชต่องิจกรรมของเอนไซม์ในโคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น

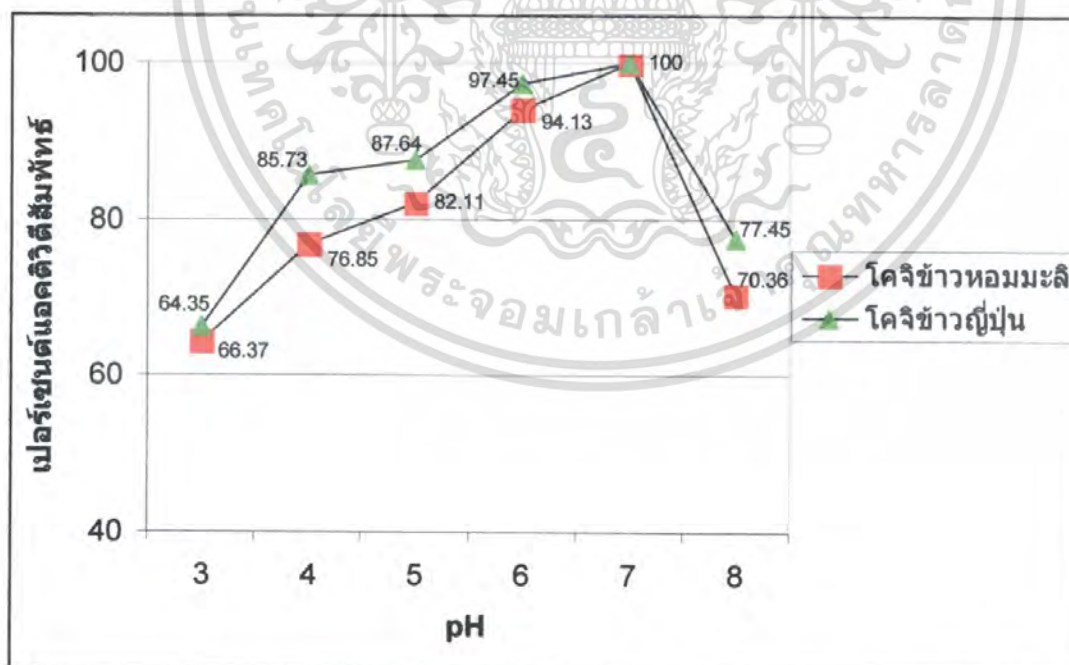
จากการทดลองจะพบว่าจากการทดลองจะพบว่า เมื่อทำการสกัดเอนไซม์ที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ ที่ pH 7 นำไปศึกษา pH ที่ระดับต่างๆ ดังนี้ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นมีมากที่สุดที่ pH 5 รองลงมาอยู่ที่ pH 6 โดยพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่น มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์เท่ากับ 100 และ 94.87 ตามลำดับ ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่สกัดได้จากโคจิข้าวหอมมะลิมียุทธที่สุดที่ pH 6 รองลงมาอยู่ที่ pH 5 ตามลำดับ โดยพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่น มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์เท่ากับ 100 และ 91.74 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 6.5 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ สามารถทำงานได้ดีที่ pH 5 และ 6 ตามลำดับ

จากผลการทดลองพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิมียุทธที่สุดที่ pH 7 รองลงมา คือ pH 6 ตามลำดับ โดยพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ ที่ pH 7 มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์เท่ากับ 100 และกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิที่ pH 6 มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์เท่ากับ 97.45 และ 94.13 ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 6.6 จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่ากิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสที่สกัดได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ สามารถทำงานได้ดีที่ pH 7

ดังนั้นจะเห็นได้ว่า ดังนั้นจะเห็นได้ว่าช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอส คือ 5.5 – 6.5 ซึ่ง pH ที่เหมาะสมที่สุดคือ pH 6 เนื่องจากว่าที่ pH ดังกล่าว ยังคงทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดทำงานยังได้ดี โดยเฉพาะเอนไซม์แอมิเลสจะสามารถทำงานที่ pH นี้ได้ดีที่สุด อีกทั้งประสิทธิภาพในการเข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรทอยู่ในเกณฑ์ที่ดี



ภาพที่ 6.5 ผลของpHต่อกิจกรรมของเอนไซม์เอมิเลสในโคจข้าวหอมมะลิและโคจข้าวญี่ปุ่น ที่ pH 7 อุณหภูมิ 37 °C



ภาพที่ 6.6 ผลของpHต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในโคจข้าวหอมมะลิและโคจข้าวญี่ปุ่นที่ pH 7 อุณหภูมิ 40 °C

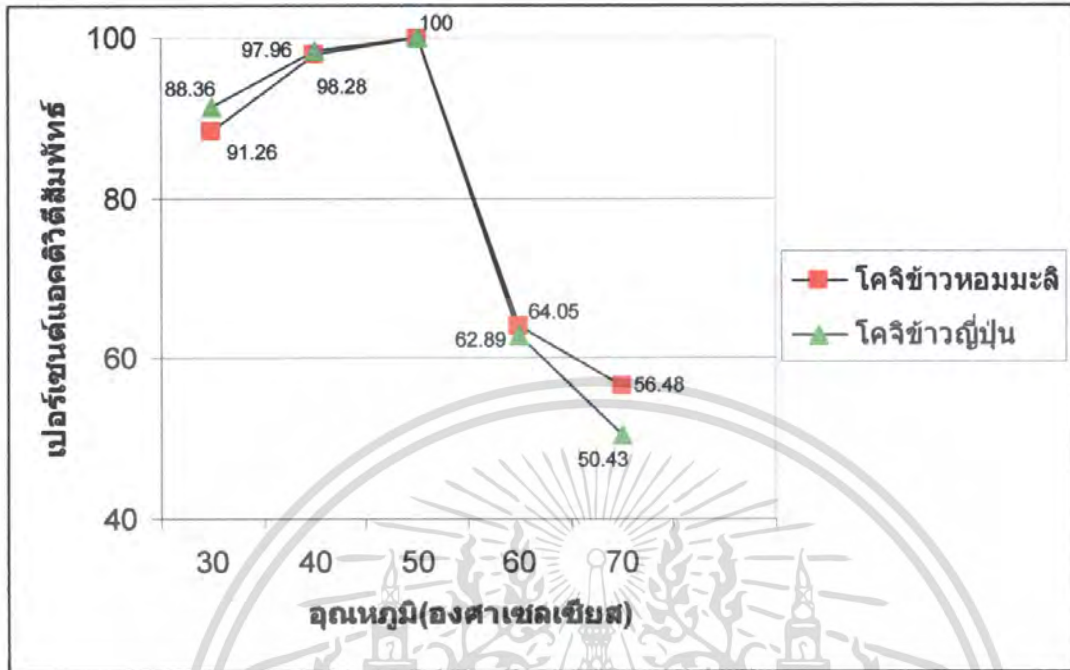
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4 ผลการศึกษาอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์ในโคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น

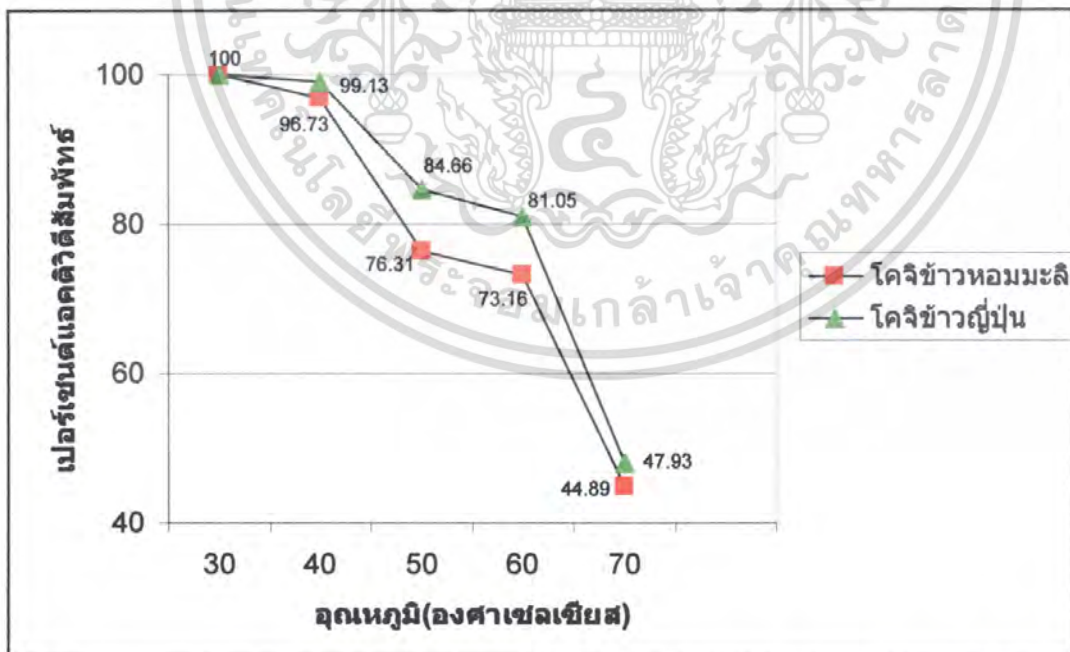
จากการทดลอง จะพบว่า เมื่อทำการสกัดเอนไซม์ที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิที่ pH 7 นำเอนไซม์ที่สกัดได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนที่จะนำไปศึกษาหาสภาวะของอุณหภูมิต่อระดับต่างๆ ดังนี้ 30 ,40 , 50, 60 และ 70 องศาเซลเซียส เพื่อศึกษาอุณหภูมิตี่เหมาะสมต่อการคงตัวของเอนไซม์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ มีความคงตัวได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียส มีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตี้สัมพันธ์เท่ากับ 100 ดังแสดงในภาพที่ 6.7 ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ที่อุณหภูมิ 40-50 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิตี่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและทำให้เอนไซม์แอมิเลสยังคงทำงานได้ดีเมื่อเวลาผ่านไป

จากผลการทดลอง พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ มีความคงตัวได้ดีในช่วงของอุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียส และมีเปอร์เซ็นต์แอกติวิตี้สัมพันธ์เท่ากับ 100 ดังแสดงใน ภาพที่ 6.8 ซึ่งจากผลการทดลอง แสดงว่าที่อุณหภูมิ 30-40 องศาเซลเซียสเป็นอุณหภูมิตี่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสและทำให้เอนไซม์โปรติเอสทำงานได้ดีเมื่อเวลาผ่านไป

ดังนั้น จะเห็นได้ว่าช่วงอุณหภูมิตี่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและโปรติเอสเมื่อเวลาผ่านไป คือ 35-40 องศาเซลเซียส ซึ่งอุณหภูมิตี่เหมาะสมที่สุดคือ 40 องศาเซลเซียส เนื่องจากว่า ที่อุณหภูมิตี่ดังกล่าว ยังคงทำให้ กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดทำงานได้ดี



ภาพที่ 6.7 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์แอมิเลสในโคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที ที่ pH 7 , อุณหภูมิ 30 °C



ภาพที่ 6.8 ผลของอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์โปรติเอสในโคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที , ที่ pH 7 , อุณหภูมิ 30 °C

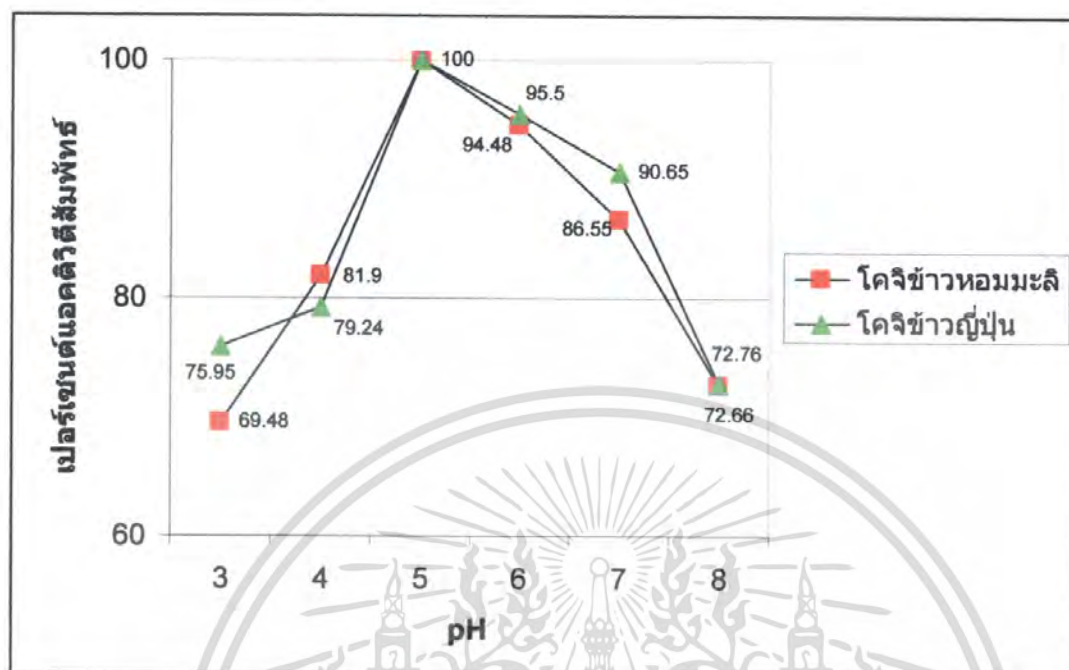
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.5 ผลการศึกษาที่เอซต่อความคงตัวของเอนไซม์ในโคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น

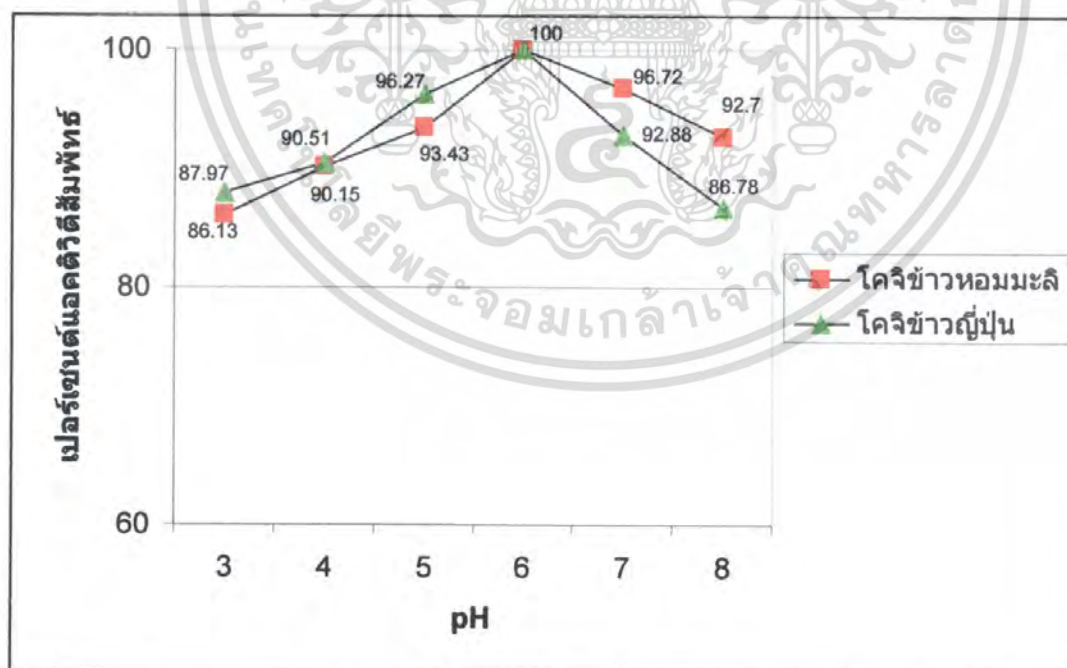
จากการทดลองจะพบว่า เมื่อทำการสกัดเอนไซม์ที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ นำเอนไซม์ที่สกัดได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนที่จะนำไปศึกษาหาสภาวะของ pH ที่ระดับต่างๆ ดังนี้ 3, 4, 5, 6, 7 และ 8 องศาเซลเซียส เพื่อหา pH ที่เหมาะสมต่อการคงตัวของเอนไซม์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ มีความคงตัวได้ดีในช่วงของ pH 5 และ pH 6 ดังแสดงใน ภาพที่ 6.9 ซึ่งจากผลการทดลอง แสดงให้เห็นว่า ที่ pH ดังกล่าวมีความเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและยังคงทำงานได้ดีเมื่อเวลาผ่านไป

จากผลการทดลองพบว่า กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ มีความคงตัวได้ดีในช่วงของ pH 5-7 ดังแสดงใน ภาพที่ 6.10 แสดงให้เห็นว่าที่ pH ดังกล่าวมีความเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์โปรติเอสและทำให้เอนไซม์โปรติเอสทำงานได้ดีเมื่อเวลาผ่านไป

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าช่วง pH ที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและโปรติเอสเมื่อเวลาผ่านไป คือ pH 5-6 ซึ่งค่าที่เหมาะสมที่สุดคือ pH 5.5 เนื่องจากว่าที่ pH นี้ มีผลต่อความคงตัวของเอนไซม์ กล่าวคือ ทำให้ กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดยังทำงานได้ดี โดยจะเห็นได้ว่าถ้าระดับ pH สูงกว่านี้ มีผลทำให้ กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง



ภาพที่ 6.9 ผลของ pH ต่อความคงตัวของเอนไซม์แอมิเลสในโคจข้าวหอมมะลิและโคจข้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที ที่อุณหภูมิ 30 °C



ภาพที่ 6.10 ผลของ pH ต่อความคงตัวของเอนไซม์โปรติเอสในโคจข้าวหอมมะลิและโคจข้าวญี่ปุ่น เมื่อเวลาผ่านไป 30 นาที ที่อุณหภูมิ 30 °C

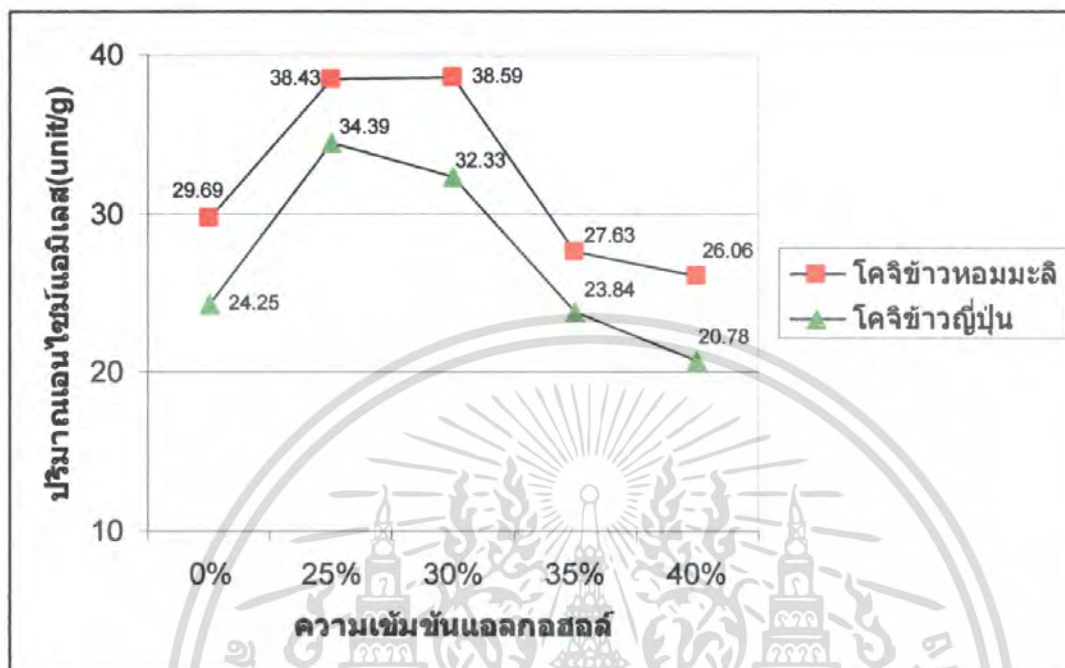
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.6 ผลการศึกษาศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอสในโคจิในสภาวะที่มีเอทานอลสูง

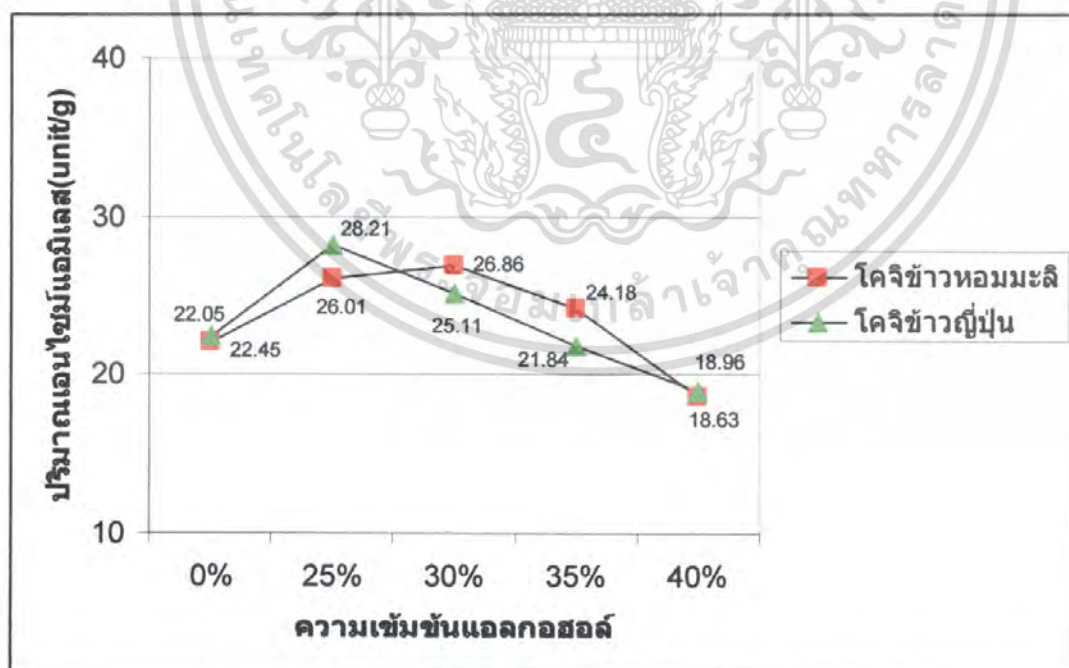
จากการทดลองจะพบว่า เมื่อทำการสกัดเอนไซม์ที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ นำเอนไซม์ที่สกัดได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนที่จะนำไปศึกษาหาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในโคจิในสภาวะที่มีเอทานอลสูง โดยทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ ดังนี้ คือ แบบไม่เติมกลูโคส และแบบเติมกลูโคส 25 เปอร์เซ็นต์, 30 เปอร์เซ็นต์, 35 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่ได้จากโคจิข้าวหอมมะลิและจากโคจิข้าวญี่ปุ่น ที่สภาวะการเติมเอทานอลเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ มีหน่วยกิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุด คือ 38.43 หน่วย/กรัม และ 34.39 หน่วย/กรัมตามลำดับ แม้ว่าในโคจิข้าวหอมมะลิในสภาวะที่เติมเอทานอลความเข้มข้น 30 เปอร์เซ็นต์ จะมีกิจกรรมสูงถึง 38.59 หน่วย/กรัม แต่สูงกว่ากิจกรรมของเอนไซม์ในโคจิในสภาวะเติมเอทานอลเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์เพียงเล็กน้อยเท่านั้น กิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่ได้จากโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิ มีดังแสดงในภาพที่ 6.11 ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า ที่ความเข้มข้นเอทานอล ดังกล่าวมีความเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและยังคงทำงานได้ดีเมื่อเวลาผ่านไป

ส่วนกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอสนำเอนไซม์ที่สกัดได้ไปบ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ก่อนที่จะนำไปศึกษาหาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ในโคจิในสภาวะที่มีเอทานอลสูง โดยทำการศึกษาที่สภาวะต่างๆ ดังนี้ คือ แบบไม่เติมกลูโคส และแบบเติมกลูโคส 25 เปอร์เซ็นต์, 30 เปอร์เซ็นต์, 35 เปอร์เซ็นต์ และ 40 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสที่ได้จากโคจิข้าวหอมมะลิและจากโคจิข้าวญี่ปุ่น ที่สภาวะการเติมเอทานอลเข้มข้น 25 เปอร์เซ็นต์ มีหน่วยกิจกรรมเอนไซม์สูงที่สุดคือ 26.01 หน่วย/กรัม และ 28.21 หน่วย/กรัม ตามลำดับ ดังแสดงใน ภาพที่ 6.12 ซึ่งจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าที่ความเข้มข้นเอทานอล ดังกล่าวมีความเหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและยังคงทำงานได้ดีเมื่อเวลาผ่านไป

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าสภาวะที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอส เมื่อเวลาผ่านไปคือระดับความเข้มข้นเอทานอล 25 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นค่าที่ทำให้เอนไซม์ทั้งสองชนิดสามารถทำงานได้ดี โดยจะเห็นว่าที่ระดับความเข้มข้นเอทานอลสูงกว่านี้หรือไม่เติมเอทานอลเลย จะทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองลดลง



ภาพที่ 6.11 ผลของความเข้มข้นเอทานอลต่อกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลสใน โคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น, ที่อุณหภูมิ 50 °C



ภาพที่ 6.12 ผลของความเข้มข้นเอทานอลต่อกิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสในโคจิช้าวหอมมะลิและโคจิช้าวญี่ปุ่น, ที่อุณหภูมิ 40 °C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 7

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

7.1 จากการศึกษาจากสภาวะทั้งหมดที่กล่าวมา จะเห็นได้ว่าการบ่มโคจิข้าวญี่ปุ่นและโคจิข้าวหอมมะลิเป็นเวลา 6 วัน มีกิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลสและโปรตีเอสในโคจิที่ได้จากข้าวทั้งสองชนิดสูงสุด ดังนั้นจึงใช้โคจิที่ได้จากข้าวทั้งสองชนิด ที่ผ่านการบ่มโคจิเป็นระยะเวลา 6 วัน อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ยังคงทำให้กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดทำงานยังได้ดีพอสมควร และมีประสิทธิภาพในการเข้าทำปฏิกิริยากับสับสเตรทได้ดีที่ค่า pH 5.5 มีผลต่อความคงตัวของเอนไซม์ กล่าวคือ ทำให้ กิจกรรมของเอนไซม์ทั้งสองชนิดยังทำงานได้ดี ซึ่งไม่ทำให้ผล กิจกรรมของเอนไซม์ลดลง และที่ระดับความเข้มข้นเอทานอล 25 เปอร์เซ็นต์ เหมาะสมที่จะนำไปใช้เป็นสภาวะในการหมักมิรินต่อไป

7.2 ข้อเสนอแนะ ผลการทดลองนี้เป็นข้อมูลพื้นฐานสำหรับการศึกษาถึงสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เอมีเลสและโปรตีเอสในการย่อยโคจิที่ได้จากข้าวหอมมะลิไทย ซึ่งเป็นส่วนหนึ่งของวัตถุประสงค์ในการทำมิริน อีกทั้งยังเป็นการพัฒนาข้าวหอมมะลิของไทย ดังนั้นเพื่อศึกษาแนวทางความเป็นไปได้ ตลอดจนประยุกต์ใช้กับความรู้และเทคโนโลยีทางวิทยาศาสตร์เพื่อทดสอบแนวทางดังกล่าวและอีกทั้งเพื่อเป็นแนวทางในการนำผลจากการศึกษาการทำโคจิจากวัตถุดิบข้าวหอมมะลิไทยดังกล่าวไปใช้เป็นกล้าเชื้อในการทำผลิตภัณฑ์ที่เกี่ยวข้องกับอาหารหมักพื้นบ้าน ซึ่งการพัฒนาเพื่อจะนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมจำเป็นต้องมีการศึกษาเพิ่มเติมในระดับที่สูงขึ้น เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อไป

บรรณานุกรม

- Uchida, M., and Oka, S. 1983. "Efficiency of Utilization of Raw Materials in Conventional Mirin-Making" **J. Ferment. Technol.** 61(1) : 13-18.
- Haruo Oyashiki ,Masahiro Uchida, Akira Obayashi and Satoru Oka 1989. Evaluation of Koji Prepared with Various Molds for Mirin-Making. **J. Ferment. Technol.** 67(3) : 163-168.
- Chalermpongse, A. 1991. Mycorrhizas in nursery techniques and forest establishment. Paper presented to SEMEO BIOTROP - Reginal Training Course in Biology and Technology of Mycorrhiza, February 25 - March 20, 1991. Chiang Mai University.
- Pelczar, M.J., Jr. and Chan, E.C.S. 1981. Elements of Microbiology. McGraw-Hill, Inc. 698 p.
- Seiverding, E. 1991. Vesicular-arbuscular Mycorrhiza Management in Tropical Agrosystems. Federal Rep, Germany. 371 p.
- Tortora, G.J., Funke, B.R. and Case, C.L. 1992. Microbiology an Introduction, 4th edition. The Benjamin/Cumming Publishing, Co. 810 p.
- Willcox, H.E. 1990. Mycorrhizal associations. In Biotechnology of Plant-Microbe Interactions, J.P. Nakas and C. Hagedorn (eds.) pp. 227-255. McGraw-Hill, Inc.
- C.wayne Smith Robert H. Dildal , Rice History ,Technology and Production ,Wile Series in Crop Sciewce page 19 ,2002
- R.E. Evenson ,R.W. Herdt and M. Hossain , rice Researh in Asia : Progress and Priorities .1996. page 217-220
- การสัมมนา เรื่อง การพัฒนาข้าวถั่วพิชมีเมืองหนาวครั้งที่ 8 5-6 มีนาคม 2539 ณ ศูนย์วิจัยข้าวพิษณุโลก ผศ.ชาญ มงคล .,เรื่องของข้าว 2536 .ตำราเอกสารวิชาการ ฉบับที่ 63 ภาคพัฒนาตำราและเอกสารวิชาการ ประพาส วีระแพทย์ .,ความรู้เรื่องข้าว .2521
- วราวุฒิ ครุส่ง ., รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต.2532 "เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม".
โอเคียนสโตร.กรุงเทพมหานคร
- อรอนงค์ นัยวิกุล. 2538 ." ข้าว : วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี".มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
- ปราณี อ่านเปรื่อง.2532.เอ็มไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 1 .ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร.คณะวิทยาศาสตร์.
สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
- ปราณี อ่านเปรื่อง.2534.เอ็มไซม์ทางอาหาร ตอนที่ 2 .ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร.คณะวิทยาศาสตร์.
สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นายชนาพัฒน์ ไกรกระโทก.การผลิตเอนไซม์โปรติเอสจากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* TISTR 3258 ในสภาวะอาหารแข็ง .ปัญหาพิเศษ คณะอุตสาหกรรมเกษตรลาดกระบัง.2546

นส. วัฒนา วัชรอาภาไพบูลย์ , นส. สุภาพร รัตนวิจิตร .ผลิตภัณฑ์ข้าวเจ้า .สัมมนา คณะอุตสาหกรรมเกษตรลาดกระบัง.2546

วิลาวัณย์ เจริญจิระตระกูล.(2536).ผลิตภัณฑ์อาหารหมักจากจุลินทรีย์. โดยการสนับสนุนของคณะวิทยาศาสตร์ มอ.

ดวงพร คันทิ. 2530. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม : ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. สำนักพิมพ์โอเคียนสตรี, กรุงเทพฯ. 191 น.

นภา โล่ห์ทอง.2534. ก้าวเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. ฟีนีฟับบลิชซิง, กรุงเทพฯ. 159น.

มาลิน จุลศิริ. 2532. ยาด้านจุลชีพ : ความรู้พื้นฐานและประยุกต์. โรงพิมพ์อักษรบัณฑิต, กรุงเทพฯ.173 น.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีการวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลส (เอกสารประกอบการสอน : อ.ประพันธ์, 2550)

1.1 วิธีเตรียมตัวสาร

ละลาย soluble starch 1 กรัม ใน 0.05 M Tris-HCL buffer pH 7.0 ปริมาตร 15 มิลลิลิตร จากนั้นเทบัฟเฟอร์ คัมเดือกลงไป 70 มิลลิลิตร พร้อมกับคนตลอดเวลา นำไปต้มให้เดือดอีก 2 นาที ทำให้เย็นถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยบัฟเฟอร์

1.2 วิธีเตรียม Dinitrosalicylic reagent (DNS reagent)

ละลาย 3,5-dinitrosalicylic acid 1 กรัม ใน 2N NaOH 20 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร คนให้ละลาย จากนั้นเติม potassium sodium tartrate 30 กรัม คนให้ละลายปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.2 การเตรียมกราฟมาตรฐาน

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานเข้มข้น 5 ไมโคร โมลต่อมิลลิลิตร โดยละลายกลูโคส 0.1802 กรัม ในน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ปิเปตสารละลายมอลโตสที่เตรียมได้ 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง 6 หลอด เติมน้ำกลั่นให้ปริมาตรในแต่ละหลอดเท่ากับ 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติม DNS-reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตร แซ่หลอดทดลองในน้ำเดือด 5 นาที แล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นทันที เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้วเติมน้ำกลั่น หลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร เขียนกราฟระหว่างค่าที่อ่านได้กับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส

1.3 วิธีการวัดกิจกรรมของเอนไซม์แอมิเลส

ปิเปตเอนไซม์ที่สกัดได้(เจือจางให้มีความเข้มข้นเหมาะสม) 0.5 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองนำไป incubate ที่ 37 องศาเซลเซียส 5 นาที ใส่ substrate ลงไป 0.5 มิลลิลิตร incubate ต่อไป 30 นาที จากนั้นเติม DNS-reagent หลอดละ 1 มิลลิลิตรทันที พร้อมกับเขย่าหลอดทดลอง แซ่หลอดทดลองในน้ำเดือด 5 นาที แล้วนำมาแช่ในน้ำเย็นทันที เมื่อเย็นถึงอุณหภูมิห้องแล้วเติมน้ำกลั่น หลอดละ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร โดยหลอดเปรียบเทียบกับ บัฟเฟอร์แทนเอนไซม์ อ่านค่าปริมาณกลูโคส จากกราฟมาตรฐาน แล้วคำนวณแอกติวิตีเป็นหน่วยเอนไซม์

2.การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส (เอกสารประกอบการสอน : อ. บุญเทียม , 2550)

2.1วิธีเตรียมสับสเตรท

สารละลายสับสเตรทเคซีนร้อยละ 2 เตรียมโดยชั่งเคซีน (เคซีนที่ใช้ต้องผลิตโดยวิธีแฮมเมอร์สไตน์ (Hammerstein method) 2 กรัม ใส่ลงใน 0.1 N NaOH ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ตั้งบนเตาอุ่นให้ร้อนพร้อมกับคนไปด้วยจนกระทั่งละลาย (หรือทิ้งไว้ในตู้เย็นข้ามคืนจนละลาย) ทำให้เย็นแล้วเติม 0.2 M Sodium phosphate dibasic หรือ Tris ปรับพีเอชด้วย 0.1 N NaOH หรือ 0.1 N HCl ให้มีพีเอชตามต้องการ เติมน้ำกลั่นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรในขวดตวงปริมาตร

2.2วิธีการวัดกิจกรรมของเอนไซม์โปรตีเอส

ปิเปตสับสเตรท(สารละลายเคซีน) 1 มิลลิลิตร นำไป incubate ที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ เติมเอนไซม์ที่สกัดได้ลงไปในหลอดทดลอง หลอดละ 1 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งสองนำไป incubate ต่อ 10 นาที หยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ด้วยการเติมสารละลาย TCA ปริมาตร 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเกิดตะกอนที่ก้นหลอด กรองตะกอนโปรตีนด้วยกระดาษกรอง Whatman No.4 นำส่วนใส 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายโซเดียมคาร์บอเนตความเข้มข้น 0.4 โมลาร์ ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร ผสมสารละลายทั้งหมดให้เข้ากัน เติมสารละลายฟอลิน 0.5 มิลลิลิตร เขย่าตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 นาที นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร

ภาคผนวก ข

ข้อมูล

ตารางภาคผนวกที่ 1 ผลการศึกษาระยะเวลาการบ่มโคจิที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในโคจิข้าวหอมมะลิ และโคจิข้าวญี่ปุ่น

ระยะเวลาการบ่มโคจิ (วัน)	กิจกรรมเอนไซม์เอมีเลส (หน่วย/กรัม)		กิจกรรมเอนไซม์โปรตีเอส (หน่วย/กรัม)	
	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น
2	21.92	21.22	11.23	12.25
4	23.38	23.30	11.66	14.12
6	33.32	35.76	12.78	15.85
8	29.77	31.65	13.04	15.13

ตารางภาคผนวกที่ 2 ผลการศึกษาอุณหภูมิต่อกิจกรรมของเอนไซม์ใน โคจิข้าวหอมมะลิและ โคจิข้าวญี่ปุ่น

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เอนไซม์เอมีเลส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)		เอนไซม์โปรตีเอส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)	
	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น
30	58.07	58.73	77.32	83.06
40	73.04	77.16	100	100
50	100	100	62.44	70.74
60	54.24	55.79	57.76	64.13
70	46.76	44.86	43.15	47.01

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3 ผลการศึกษาพีเอชต่อกิจกรรมของเอนไซม์ใน โคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น

พีเอช	เอนไซม์แอมิเลส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)		เอนไซม์โปรตีเอส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)	
	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น
3	49.35	47.52	64.35	66.37
4	67.98	65.48	76.64	85.73
5	91.74	100	82.11	87.64
6	100	94.87	94.13	97.45
7	96.07	81.29	100	100
8	56.29	45.70	70.36	77.45

ตารางภาคผนวกที่ 4 ผลการศึกษาอุณหภูมิต่อความคงตัวของเอนไซม์ใน โคจิข้าวหอมมะลิและโคจิข้าวญี่ปุ่น

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	เอนไซม์แอมิเลส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)		เอนไซม์โปรตีเอส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)	
	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น	โคจิข้าวหอมมะลิ	โคจิข้าวญี่ปุ่น
30	88.36	91.26	100	100
40	97.96	98.28	96.73	99.13
50	100	100	76.31	84.67
60	64.05	62.89	73.16	81.05
70	56.48	50.43	44.89	47.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5 ผลการศึกษาพีเอชต่อความคงตัวของเอนไซม์ในโคจิจ้าวหอมมะลิและโคจิจ้าวญี่ปุ่น

พีเอช	เอนไซม์แอมิเลส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)		เอนไซม์โปรตีเอส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)	
	โคจิจ้าวหอมมะลิ	โคจิจ้าวญี่ปุ่น	โคจิจ้าวหอมมะลิ	โคจิจ้าวญี่ปุ่น
3	69.48	75.95	85.91	49.18
4	81.90	79.24	100	53.36
5	100	100	97.94	52.18
6	94.48	95.50	97.25	100
7	86.55	90.66	96.91	52.81
8	72.76	72.66	70.45	31.03

ตารางภาคผนวกที่ 6 ผลการศึกษาศึกษาประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสและโปรตีเอสในโคจิจน
สภาวะที่มีเอทานอลสูง

ความเข้มข้น ของเอทานอล	เอนไซม์แอมิเลส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)		เอนไซม์โปรตีเอส (เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์)	
	โคจิจ้าวหอมมะลิ	โคจิจ้าวญี่ปุ่น	โคจิจ้าวหอมมะลิ	โคจิจ้าวญี่ปุ่น
0	29.69	24.25	22.65	22.42
25	38.43	34.39	26.01	28.21
30	38.59	32.33	25.10	26.86
35	27.63	23.84	21.84	24.18
40	26.06	20.78	18.36	18.62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์การวิเคราะห์ข้อมูล

1. การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์เอมีเลส

1.1 หากกราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคสมาตรฐาน จะได้สมการ $y = ax + b$

1.2 การคำนวณหาแอกติวิตีของเอนไซม์จากโคจิ

ตัวอย่างเช่น

อายุการบ่ม 2 วัน ; ตัวอย่างข้าวหอมมะลิ (มีค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร = 0.222)

$$\text{จากสมการ } y = 0.115X - 0.093$$

$$\text{แทนค่า } 0.222 = 0.115X - 0.093$$

$$X = 2.74 \text{ ไมโครโมล}$$

แต่เนื่องจากมีอัตราการเจือจาง มีค่าเท่ากับ 1:1 ดังนั้น ; $X = 2.74 \times 2 = 5.48 \text{ ไมโครโมล}$

Reaction time 20 นาที มีปริมาณกลูโคสทั้งหมด 5.48 ไมโครโมล

Reaction time 1 นาที มีปริมาณกลูโคสทั้งหมด 0.274 ไมโครโมล

เนื่องจากปริมาณเอนไซม์ที่ปีเปตมา มีค่าเท่ากับ 0.5 มิลลิลิตร ดังนั้นแอกติวิตีของเอนไซม์ที่สกัดได้จาก

โคจิ มีค่าเท่ากับ $0.274 \text{ ยูนิต} / 0.5 \text{ มิลลิลิตร} = 0.548 \text{ ยูนิต} / \text{มิลลิลิตร}$

เนื่องจากใช้โคจิ 2 กรัมต่อปริมาตร 80 มิลลิลิตร ดังนั้นจะได้

1 มิลลิลิตร มีแอกติวิตีของเอนไซม์ 0.548 ยูนิต

80 มิลลิลิตร มีแอกติวิตีของเอนไซม์ 43.84 ยูนิต

2 กรัม มีแอกติวิตีของเอนไซม์ 43.84 ยูนิต

1 กรัม มีแอกติวิตีของเอนไซม์ 21.92 ยูนิต

2. การคำนวณหา เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์

$$\text{เปอร์เซ็นต์แอกติวิตีสัมพัทธ์} = \frac{\text{ค่า OD}_{540} \text{ ที่ได้จากทรานสดักชันที่ระดับต่างๆ} \times 100}{\text{ค่า OD}_{540} \text{ สูงสุด}}$$

หมายเหตุ : การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์โปรติเอสวิธีการวิเคราะห์จะใกล้เคียงวิธีการข้างต้น เพียงแต่ใช้กราฟมาตรฐานสารละลายไทโรซีนแทน (ค่าการดูดกลืนแสงที่ OD 660 นาโนเมตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้