หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 4

การอภิปรายผลการวิจัยและสรุป

งานวิจัยทางด้านอุตสาหกรรมการหมักนั้นมีขอบเขตกว้างไกลมาก มีการศึกษาค้นคว้ากันอย่างมากมายในหลาย ๆ ด้าน เช่น การศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับจุลินทรีย์ชนิดใหม่ ๆ ที่แยกได้จากแหล่งต่าง ๆ , พันธุกรรมและการปรับปรุงความสามารถของจุลินทรีย์, การหาวัตถุดิบราคาถูกมาใช้เป็นสารอาหารสำหรับจุลินทรีย์, การปรับปรุงเครื่องมือและเทคนิคในขบวนการผลิตเพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงขึ้น ซึ่งงานวิจัยนี้ได้ศึกษาถึงการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสในถังหมัก โดยพิจารณาถึงองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ (substrate composition), ค่าต่าง ๆ ที่มีความสัมพันธ์ต่อการหมัก (fermentation parameter) และผลผลิตของเอนไซม์ (enzyme yield) โดยพิจารณาปริมาณเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ผลิตได้และการเจริญของเซลควบคู่กันไป โดยปัจจัยต่าง ๆ ที่กล่าวมานี้มีผลต่อราคาต้นทุนของเอนไซม์ที่ผลิตได้ (2)

1. การนำวัสดุจากการเกษตรมาใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ประเทศไทยเป็นประเทศที่มีพื้นฐานทางเกษตรกรรม สินค้าที่ทำการเพาะปลูกมีมากมายหลายชนิด และส่วนใหญ่มีคุณภาพดี แต่อย่างไรก็ตามปรากฏว่าการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบทางการเกษตรดังกล่าวยังมีไม่เต็มที่นัก จึงมีการนำความรู้ทางเทคโนโลยีชีวภาพมาใช้ประโยชน์จากทรัพยากรที่ประเทศมีอยู่เป็นจำนวนมาก วิถีทางอันหนึ่งอาจทำได้โดยนำวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีราคาถูกและหาได้ง่ายมาใช้ทดแทนเป็นบางส่วนหรือทั้งหมดขององค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในอุตสาหกรรมการหมักที่ต้องสั่งซื้อจากต่างประเทศ วัตถุดิบทางการเกษตรที่เป็นที่สนใจของงานวิจัยนี้คือ รำข้าวที่สกัดน้ำมันแล้ว และกากถั่วเหลือง ซึ่งเป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันพืช จากการวิเคราะห์ส่วนประกอบของวัตถุดิบทั้ง 2 ชนิด (62) พบว่า กากรำข้าวมีปริมาณคาร์บอนอินทรีย์และไนโตรเจนอยู่ประมาณร้อยละ 35 และ 3 โดยน้ำหนักตามลำดับ กากถั่วเหลืองมีปริมาณคาร์บอนอินทรีย์และไนโตรเจนอยู่ประมาณร้อยละ 30 และ 8 โดยน้ำหนักตามลำดับ แสดงว่าวัตถุดิบทั้งสองชนิดนี้น่าจะนำมาใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ในงานวิจัยนี้ใช้วัตถุดิบทั้งสองชนิดในรูปของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถัน

ซึ่งจากการวิเคราะห์ส่วนประกอบของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของวัตถุดิบทั้งสองชนิด พบว่า สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าวมีปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ซึ่งใช้เป็นแหล่งคาร์บอนสูงกว่าในสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองถึง 1.7 เท่า แต่ปริมาณโปรตีนในสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองสูงกว่าในสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าวถึง 2 เท่า

นฤมล คุ้มจรรยา (49) รายงานว่า สเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 สามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ในปริมาณสูง เมื่อเลี้ยงจุลินทรีย์นี้ในขวดแก้วทรงกรวย โดยใช้สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกข้าวโพดเป็นสารแหล่งคาร์บอน และใช้มอลท์เอกซ์แทรกและยีสต์เอกซ์แทรกเป็นสารแหล่งไนโตรเจน และในงานวิจัยนี้ใช้สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลืองในปริมาณ 0.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ซึ่งสามารถทำให้สเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้ในปริมาณใกล้เคียงกับเมื่อใช้ 1 % มอลท์เอกซ์แทรกเป็นแหล่งไนโตรเจน แต่การเจริญของจุลินทรีย์ยังต่ำกว่ามาก และพบว่าจุลินทรีย์ไม่มีการเจริญเติบโตเมื่อไม่มี 0.3 % ยีสต์เอกซ์แทรกในอาหารเลี้ยงเชื้อ แสดงว่ายีสต์เอกซ์แทรกนอกจากจะเป็นสารแหล่งไนโตรเจนแล้ว ยังเป็นแหล่งไวตามินและสารเสริมการเจริญ (growth factor) ด้วย ซึ่งจุลินทรีย์ต้องการสารเหล่านี้ในการเจริญ

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาการใช้สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าวเป็นสารแหล่งคาร์บอนแทนสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกข้าวโพด ทั้งนี้เนื่องจากกากรำข้าวเป็นวัสดุพลอยได้จากโรงงานน้ำมันพืช จึงหาได้ง่ายกว่าเปลือกข้าวโพด และผลการศึกษาพบว่าสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าวสามารถทดแทนสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกข้าวโพดได้ทั้งในแง่ของการเจริญของเซลและการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส

เมื่อพิจารณาการผันแปรร่วมระหว่างสารแหล่งคาร์บอนและสารแหล่งไนโตรเจน พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าวและกากถั่วเหลืองในปริมาณ 1.5 % และ 0.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ตามลำดับ เป็นสารแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนทดแทน 3 % สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกข้าวโพด และ 1 % มอลท์เอกซ์แทรก สเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 สามารถผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสได้สูงถึง 210 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง และมีการเจริญของเซล 2.15 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร โดยที่ส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อเดิม (49) จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ได้ประมาณ 140

หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง และมีการเจริญของเซล 1.35 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร

2. ผลของไซโลส์และระยะเวลาในการเติมไซโลส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ในขวดแก้วทรงกรวย

กลูโคส์ไอโซเมอเรส์ที่ผลิตโดยส์เตรพโตมัยซีส์หลายส์ายพันธุ์ ถูกส์ร้างขึ้นโดยการชักนำของไซโลส์ (28, 30) สำหรับส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 ก็พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 0.5 % ไซโลส์ส์ามารถชักนำการผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ได้สูงถึง 1,000 หน่วย ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อไม่มีไซโลส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อถึง 5 เท่า แต่การเจริญของเซลนั้นเพิ่มขึ้นจากเติมเพียงเล็กน้อย แส์ดงว่าไซโลส์ส่วนใหญ่ถูกนำไปใช้ในการชักนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ในปริมาณสูงขึ้น นอกจากนี้ระยะเวลาของการเติมไซโลส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อก็มีผลต่อการชักนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ด้วย การเติมไซโลส์ในตอนเริ่มต้นของการเลี้ยงเชื้อหรือในระยะก่อนที่เซลจะเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่นั้น ไซโลส์ที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นส์ามารถชักนำให้จุลินทรีย์เพิ่มการผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณสูงถึง 5 เท่า แต่การเติมไซโลส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อหลังจากที่จุลินทรีย์มีการเจริญเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ คือหลังจากเลี้ยงจุลินทรีย์แล้วเป็นระยะเวลา 15 ชั่วโมง แล้วนั้น ส์ามารถชักนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ในปริมาณสูงขึ้นเพียง 4 เท่า จุลินทรีย์นอกจากใช้ไซโลส์เป็นส์ารชักนำแล้ว ยังส์ามารถใช้ไซโลส์เป็นส์ารแหล่งคาร์บอนได้ด้วย

3. ผลของส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายต่อการผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ในขวดแก้วทรงกรวย

ไซโลส์บริสุทธิ์เป็นส์ารที่มีราคาแพง ปรกติไซโลส์ไม่ได้อยู่ในรูปอิส์ระในธรรมชาติ แต่อยู่ในรูปของไซแลนซึ่งประกอบด้วยไซโลส์หลาย ๆ หน่วยเชื่อมต่อกัน ซึ่งพบมากในวัส์ดุจากการเกษตร เช่น ฟาง, ซังข้าวโพด และเปลือกเมล็ดพืชต่าง ๆ เมื่อย่อยส์ลายวัส์ดุที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบด้วยกรดจะได้น้ำตาลไซโลส์ ในทางอุตส์าหกรรมได้มีบริษัทต่าง ๆ เตรียมไซโลส์บริสุทธิ์จากวัส์ดุจากการเกษตร ดังแส์ดงในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 วัสดุจากการเกษตรที่ใช้เตรียมไซโลสบริสุทธิ์ในทางอุตสาหกรรม

วัสดุจากการเกษตร	บริษัท	ผลผลิต (% น้ำหนัก/น้ำหนัก)	เอกสารอ้างอิง
เปลือกเมล็ดฝ้าย	Okamura Seiyu-Kabushiki Kaisha, Japan	20	53
น้ำกรดย่อยเยื่อกระดาษ	Sydkemi Aktiebolag, Sweden	12	65
ไม้มะเดื่อ	Hoffmann-La Roche Incorporated; Switzerland	12	66
เปลือกผลไม้ชนิดเมล็ดแข็ง	Sud-Chemie, AG., Germany	7	67

จากตารางที่ 11 พบว่าในเปลือกเมล็ดฝ้ายนั้นมีปริมาณไซโลสอยู่สูงมาก นอกจากนี้เปลือกเมล็ดฝ้ายยังเป็นวัสดุจากการเกษตรที่เป็นผลพลอยได้จากอุตสาหกรรมการสกัดน้ำมันจากพืช โดยทางโรงงานจะใช้เปลือกเมล็ดฝ้ายนี้เป็นเชื้อเพลิงของโรงงาน ดังนั้นการนำเปลือกเมล็ดฝ้ายนี้มาใช้ในการเตรียมไซโลสนับได้ว่าเป็นการเพิ่มคุณค่าของวัสดุจากการเกษตรอีกวิธีหนึ่ง แต่การเตรียมไซโลสจากวัสดุจากการเกษตรให้ถึงขั้นบริสุทธิ์นั้นเป็นวิธีการที่ยุ่งยากมาก และสิ้นค่าใช้จ่ายสูง เนื่องจากต้องแยกไซโลสบริสุทธิ์ออกจากน้ำตาลชนิดอื่น ๆ ที่พบในวัสดุทางการเกษตรเหล่านั้น โดยเฉพาะน้ำตาลกลูโคส (53) ดังนั้นเพื่อลดค่าใช้จ่ายในการวิจัยนี้จึงใช้ไซโลสในรูปของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย ซึ่งจากรายงานของ Takasaki (61) พบว่าการเติมไซโลสในรูปของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถชักนำให้ Streptomyces albus YT4 เพิ่มการผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสสูงขึ้น และจากการวิจัยนี้พบว่า สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโลส 0.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) สามารถชักนำให้สเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์

190-1 ผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์สูงขึ้น 4 เท่า เมื่อเทียบกับไม่มีส์ารยักนำนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ นอกจากนี้การเจริญของเซลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เมื่อมีส์ารยักนำนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เมื่อพิจารณาจากส่วนประกอบของส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายแล้ว พบว่านอกจากจะมีไซโลส์อยู่ในปริมาณสูงแล้ว ยังมีกลูโคส์อยู่ในปริมาณเล็กน้อยด้วย ซึ่งจุลินทรีย์ส์ามารถใช้กลูโคส์นี้ในการเจริญเติบโตทำให้การเจริญของเซลเพิ่มขึ้นเล็กน้อย . อย่างไรก็ตามการยักนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์โดยส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโลส์ 0.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) ก็ให้ผลไม่สูงเท่ากับการยักนำด้วยไซโลส์บริสุทธิ์ 0.5 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) เนื่องจากการเตรียมส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายนั้นผ่านหลายขั้นตอน โดยผ่านขบวนการย่อยส์ลายด้วยกรด, การปรับส์ารละลายให้เป็นกลางด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต และการทำให้เข้มข้น ซึ่งส์ารละลายที่เตรียมได้นี้ยังมีสิ่งเจือปนอื่น ๆ ปะปนอยู่ เช่น กรดอะซิติก, แคลเซียมซัลเฟต และแคลเซียมอะซีเตท (53)

4. <u>การศึกษาส์ภาวะและปัจจัยที่เหมาะส์มต่อการผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์โดยส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 เมื่อเลี้ยงในถังหมักขนาด 5 ลิตร</u>

การผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์โดยส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 ในถังหมักนั้นเป็นการหมักในส์ภาวะที่มีออกซิเจน (aerobic fermentation) โดยจุลินทรีย์เข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ที่ชั่วโมงที่ 12 และมีการเจริญของเซลสูงสุดประมาณ 1.8 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร การผลิตเอนไซม์มีปริมาณสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 15 โดยจุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์นี้ได้สูงสุดประมาณ 350 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง จากการศึกษาการใช้ไซโลส์เป็นส์ารยักนำให้จุลินทรีย์นี้ผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ พบว่า เมื่อเติม 0.5 % ไซโลส์ (น้ำหนัก/ปริมาตร) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ส์ามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 1,200 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง ที่ชั่วโมงที่ 18 และมีการเจริญของเซลสูงสุดประมาณ 3 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร ที่ชั่วโมงที่ 15 การเติมส์ารยักนำนี้ทำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้น 3.5 เท่า และมีการเจริญของเซลเพิ่มขึ้น 1.7 เท่า เมื่อเทียบกับไม่มีส์ารยักนำนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่การเลี้ยงจุลินทรีย์นี้ภายใต้ส์ภาวะเดียวกันในขวดแก้วทรงกรวย พบว่าเมื่อมี 0.5 % ไซโลส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ส์ามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 1,000 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง และมีการเจริญของเซลสูงสุดประมาณ 2.5 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร และเมื่อไม่มีส์ารยักนำนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จุลินทรีย์ส์ามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 200 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง และมีการเจริญของเซลสูงสุด

ประมาณ 2 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร การเติม 0.5 % ไซโลส์ในอาหารเลี้ยงเชื้อของขวดแก้วทรงกรวย จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นถึง 5 เท่า และมีการเจริญของเซลเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย การเลี้ยงเชื้อในถังหมักนั้น จุลินทรีย์มีการเจริญที่เร็วกว่าการเลี้ยงเชื้อในขวดแก้วทรงกรวย ทำให้สารแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงอย่างรวดเร็ว ไซโลส์นั้นนอกจากจะเป็นสารชักนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นแล้ว ยังสามารถใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอนได้ด้วย (19, 20) ไซโลส์บางส่วนจึงอาจถูกนำมาใช้ในการเจริญของจุลินทรีย์เป็นผลทำให้การเจริญของเซลในถังหมักเพิ่มขึ้นในปริมาณที่สูงกว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อในขวดแก้วทรงกรวย นอกจากนี้การผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์นี้ในถังหมักเพิ่มขึ้นเพียง 3.5 เท่า เนื่องจากไซโลส์ซึ่งเป็นสารชักนำนี้ถูกนำไปใช้เป็นสารแหล่งคาร์บอนด้วย Shieh และคณะ (44) ได้รายงานถึงการเลี้ยง Actinoplanes sp. NRRL B-3312, ATCC 12427 และ ATCC 23342 ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี 1.0 % ไซโลส์เป็นสารชักนำในการผลิตเอนไซม์ พบว่าจุลินทรีย์เหล่านี้สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณเพิ่มขึ้นเป็น 1.4, 2.3 และ 3.5 เท่า ตามลำดับ เมื่อเทียบกับไม่มีสารชักนำในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งก็ให้ผลสอดคล้องกับงานวิจัยนี้

จากการศึกษาการใช้สารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโลส์ 0.5 % เป็นสารชักนำทดแทนไซโลส์บริสุทธิ์ให้สเตรพโตมัยซีส์ สายพันธุ์ 190-1 ผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ในถังหมักนั้น พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 850 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง ที่ชั่วโมงที่ 18 และมีการเจริญของเซลสูงสุดประมาณ 2.8 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร ที่ชั่วโมงที่ 15 การเติมสารชักนำนี้ทำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้น 2.5 เท่า และมีการเจริญของเซลเพิ่มขึ้น 1.5 เท่าเมื่อเทียบกับไม่มีสารชักนำนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่การเลี้ยงจุลินทรีย์นี้ภายใต้สภาวะเดียวกันในขวดแก้วทรงกรวย พบว่าเมื่อมีสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโลส์ 0.5 % จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุดประมาณ 800 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง และมีการเจริญของเซลสูงสุดประมาณ 2.3 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร การเติมสารชักนำนี้ในขวดแก้วทรงกรวย จุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นถึง 4 เท่า และมีการเจริญของเซลเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ซึ่งเหตุผลของงานวิจัยในข้อนี้ก็คล้ายคลึงกับการใช้ไซโลส์บริสุทธิ์เป็นสารชักนำ อย่างไรก็ตามไซโลส์บริสุทธิ์ก็ยังเป็นสารชักนำที่ดีกว่าสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโลส์เท่ากัน

กลูโคส์ไอโซเมอเรส์เป็นเอนไซม์ที่จุลินทรีย์ส์ร้างขึ้นและเก็บไว้ภายในเซล (13) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณเซลก็จะเป็นการเพิ่มปริมาณเอนไซม์ด้วย จากการศึกษาถึงผลของส์ารยักนำต่อการผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์นี้ก็ได้ผลเป็นที่น่าพอใจ แต่เมื่อพิจารณาถึงการเจริญของเซลควบคู่ไปด้วย พบว่าการเจริญของเซลนั้นค่อนข้างต่ำ คือประมาณ 3 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร การเลี้ยงเชื้อทั่วไปควรได้น้ำหนักแห้งของเซลประมาณ 0.2 - 50 กรัม นน.เซลแห้ง/ลิตร (68) ดังนั้นปริมาณเซลของส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 ยังจัดว่าต่ำไม่เป็นที่น่าพอใจ การที่การเจริญของส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 ค่อนข้างต่ำนั้นอาจมีส์าเหตุมาจากส์ารแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่ใช้ในการวิจัยนี้ซึ่งอยู่ในรูปของส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถัน และในการย่อยส์ลายวัส์ดุทางการเกษตรด้วยกรดนั้น จะมีสิ่งเจือปนหลายชนิด เช่น เฟอร์ฟูรัล (furfural), ไฮดรอกซีเมทธิล เฟอร์ฟูรัล (hydroxymethyl furfural) และกรดลีวูลินิค (levulinic acid) ซึ่งปกติส์ารเหล่านี้มีผลยับยั้งการเจริญและการส์ร้างเอนไซม์ของจุลินทรีย์ (36) นอกจากนี้การเตรียมส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันเหล่านี้ต้องใช้ส์ารละลายกรดและด่างในปริมาณมากเพื่อย่อยส์ลายและปรับพีเอชให้เป็นกลาง ซึ่งทำให้มีปริมาณอิออนเจือปนอยู่ในส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันเหล่านั้นในปริมาณสูง การนำส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันนี้ไปผ่านการกำจัดส์ารที่มีประจุด้วยขบวนการอิออน เอกซ์เชนจ์ ก่อนที่จะนำส์ารละลายเหล่านี้มาใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าการเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น 50 % แต่ปรากฏว่าการผลิตเอนไซม์ลดต่ำลง 30 % แส์ดงว่าการผ่านขบวนการอิออน เอกซ์เชนจ์นั้น ช่วยลดปริมาณสิ่งเจือปนที่อยู่ในส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันนั้น แต่สิ่งเจือปนบางชนิดที่จำเป็นต่อการส์ร้างเอนไซม์ก็อาจถูกกำจัดออกด้วย (7, 14) เช่น เกลืออนินทรีย์บางชนิดที่ปะปนมากับวัตถุดิบ ซึ่งในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเอนไซม์ทั่ว ๆ ไปไม่จำเป็นต้องเติมส์ารเหล่านี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพราะจุลินทรีย์ต้องการส์ารเหล่านี้ในปริมาณต่ำมาก ซึ่งอาจเป็นผลทำให้การผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์โดยส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 ลดต่ำลง

วิธีเพิ่มปริมาณส์ารแหล่งคาร์บอนก็เป็นการเพิ่มการเจริญของเซลด้วย โดยการเจริญของจุลินทรีย์ในส์ภาวะที่มีออกซิเจนนั้น 50 - 55 % ของส์ารแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อถูกนำไปใช้เป็นองค์ประกอบของเซล (68) เมื่อเพิ่มส์ารแหล่งคาร์บอนคือ ส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าวจาก 1.5 เป็น 2.0 % (น้ำหนัก/ปริมาตร) พบว่าการเจริญของเซลเพิ่มขึ้นเพียง 10 % แต่การผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์ไม่เพิ่มขึ้น เมื่อพิจารณาจากส่วนประกอบ

ของสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าว ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส และมีน้ำตาลไซโลสอยู่เล็กน้อย ซึ่งทำให้การผลิตเอนไซม์โดยจุลินทรีย์นี้ไม่เปลี่ยนแปลง อย่างไรก็ตาม จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือในสารอาหาร พบว่ายังมีปริมาณสารแหล่งคาร์บอนเหลืออยู่ ซึ่งจุลินทรีย์นำไปใช้ไม่หมด การเพิ่มปริมาณสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าวนั้น ปริมาณสิ่งเจือปนต่าง ๆ ก็มีปริมาณสูงขึ้นด้วย ซึ่งอาจมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นการเพิ่มการเจริญของเซลโดยวิธีการเพิ่มปริมาณสารอาหารนั้นก็ถูกจำกัดด้วยสิ่งเจือในต่าง ๆ ในสารอาหารนั้น นอกจากนี้มีรายงานของ Outtrup และคณะ (20) ว่าในการเลี้ยง Bacillus coagulans เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสนั้น เมื่อให้สารแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนในปริมาณสูง คือมากกว่า 1 % และ 3 % ตามลำดับ สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ได้

การเพิ่มผลผลิตของเอนไซม์โดยพิจารณาการเพิ่มปริมาณของเซลด้วยนั้น ค่อนข้างจะมีปัญหาดังกล่าวมาข้างต้น อีกวิธีหนึ่งที่อาจทำได้โดยทำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ให้ได้ในปริมาณสูงขึ้นกว่าเดิม โดยเพิ่มปริมาณสารชักนำ โดยเติมสารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้ายในปริมาณที่ให้ไซโลส 0.5 % ในอาหารเลี้ยงเชื้อขณะที่การเจริญของจุลินทรีย์อยู่ในช่วงระยะทวีคูณเพื่อชักนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ในปริมาณสูงขึ้นอีก โดยจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ในปริมาณเพิ่มขึ้นประมาณ 37 % นอกจากนี้การเจริญของเซลเพิ่มขึ้นประมาณ 20 % และจากรายงานของ Shieh และคณะ (17) ว่าการเติมสารชักนำ คือไซโลสในรูปของสารละลายน้ำกรดย่อยเยื่อกระดาษในการเลี้ยง Aerobacter levanicum เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสในถังหมัก โดยเติมสารชักนำนี้ในช่วงระยะการเจริญของเซลแบบทวีคูณนั้น สามารถชักนำให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้น

สภาพความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อก็มีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์และการผลิตเอนไซม์ในระหว่างการเลี้ยงเชื้อนั้น ผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้นจากเมตาโบลิสมของมันอาจทำให้ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อแปรเปลี่ยนไปจากเดิมอย่างรวดเร็วมาก อาจมีผลทำให้จุลินทรีย์หยุดชงักการเจริญได้ การควบคุมค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้ออาจทำได้โดยเติมสารบัฟเฟอร์ที่เหมาะสมและปริมาณพอเหมาะในอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับจุลินทรีย์ทั่ว ๆ ไปเพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสนั้นอยู่ในช่วง 6.2 - 8 (36) การเลี้ยงเชื้อสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรสในสภาวะที่ไม่มีสาร

บัฟเฟอร์ พบว่าระหว่างที่เซลมีการเจริญอยู่ในระยะทวีคูณนั้น ค่าพีเอชของอาหารเริ่มลดลงเรื่อย ๆ และมีสภาพเป็นกรด และเมื่อเซลเข้าสู่ระยะการเจริญคงที่ ค่าพีเอชของอาหารเพิ่มขึ้นเรื่อย ๆ และค่าพีเอชสุดท้ายของอาหารมีค่าเป็นด่าง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dworschack และคณะ (36) การที่ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนแปลงในช่วงกว้างนี้ จุลินทรีย์ยังสามารถเจริญได้ดี แต่เอนไซม์ที่ผลิตได้มีการทำงานลดลง อาจเนื่องมาจากในสภาวะที่ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นกรดนั้นมีผลต่อเสถียรภาพของเอนไซม์ มีรายงาน (2) โดยทั่ว ๆ ไป กลูโคส-ไอโซเมอเรสไม่เสถียรในสารละลายกรด โดยเฉพาะที่พีเอชต่ำกว่า 5 นอกจากนี้ ขจีนาฏ (50) รายงานว่า กลูโคสไอโซเมอเรสจากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 ที่ถูกทำให้บริสุทธิ์บางส่วนมีเสถียรภาพสูงที่พีเอช 8 การเติมฟอสเฟตบัฟเฟอร์เพื่อรักษาค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้เกือบคงที่ที่พีเอช 8 นั้น พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีการทำงานสูงขึ้น นอกจากนี้จุลินทรีย์ยังสามารถใช้ฟอสเฟตบัฟเฟอร์เป็นแหล่งเกลือแร่ด้วย โดยฟอสฟอรัสเป็นสิ่งจำเป็นที่ต้องมีอยู่ในสารอาหาร เพราะเป็นตัวเร่งในปฏิกิริยาการสร้างและถ่ายเทพลังงานในจุลินทรีย์ (69)

จุลินทรีย์หลายชนิดต้องการโคบอลท์ไอออนในการสร้างกลูโคสไอโซเมอเรสด้วย (7, 23, 24) เนื่องจากในผลึกของเอนไซม์นี้มีโคบอลท์ไอออนอยู่ด้วย (7) จากการศึกษาปริมาณโคบอลท์ไอออนในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าปริมาณของโคบอลท์ไอออนที่เหมาะสมคือ 0.01 % โดยปริมาณโคบอลท์ไอออนที่สูงกว่านี้มีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Chen (13) นอกจากนี้ Kasumi และคณะ (51) รายงานว่า นอกจากโคบอลท์ไอออนช่วยให้จุลินทรีย์ผลิตเอนไซม์ที่มีการทำงานสูงแล้ว ยังสามารถป้องกันเอนไซม์จากการถูกทำให้เสียสภาพด้วยความร้อน, กรด และโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต

จากการศึกษาผลของอุณหภูมิที่ใช้ในการเลี้ยงสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 เพื่อผลิตกลูโคสไอโซเมอเรส พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 องศาเซลเซียส โดยทั่ว ๆ ไป สเตรพโตมัยซีสเจริญและผลิตเอนไซม์ได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 28 - 32 องศาเซลเซียส (27, 28, 29, 30, 31)

ปัจจัยที่มีผลต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อก็คือ อัตราการกวนและอัตราการให้อากาศอาหารเลี้ยงเชื้อในถังหมัก จากการศึกษาอัตราการกวน พบว่าที่อัตราการกวน 400 และ 500 รอบต่อนาทีนั้น ทั้งการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์ไม่แตกต่างกัน เมื่อพิจารณาถึงอัตราการให้อากาศ พบว่าที่อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตร/ปริมาตรอาหาร/นาที จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดี แต่เอนไซม์ที่ผลิตได้ค่อนข้างต่ำ โดยที่อัตราการให้อากาศ

1.0 ปริมาตร/ปริมาตรอาหาร/นาที จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดี และมีการผลิตเอนไซม์สูง Diers และคณะ (63) รายงานว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อมีความสัมพันธ์กับการเจริญของจุลินทรีย์และการผลิตเอนไซม์ โดยจุลินทรีย์สามารถเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้สูงกว่าในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ แต่เสถียรภาพของกลูโคสไอโซเมอเรสในสภาวะที่มีออกซิเจนนั้นจะลดลง แต่จากผลการวิจัยมาแล้วข้างต้น พบว่าการเพิ่มไซโลสจะเพิ่มทั้งการเจริญของเซลและการผลิตเอนไซม์ ซึ่งอาจอธิบายได้ว่า ไซโลสทำหน้าที่เป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและสารชักนำ โดยกลูโคสไอโซเมอเรสอาจเปลี่ยนไซโลสเป็นไซลูโลส ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ในกระบวนการเมตาโบลิสมได้ แต่จากงานวิจัยนี้ พบว่าที่อัตราการให้อากาศ 1.5 ปริมาตร/ปริมาตรอาหาร/นาที การเจริญของเซลเพิ่มขึ้นในขณะที่การผลิตเอนไซม์ลดลง ซึ่งไม่สอดคล้องกับรายงานของ Diers และคณะ และสมมติฐานข้างต้น ซึ่งเหตุผลอันแท้จริงน่าจะได้มีการศึกษาเพิ่มเติมกันต่อไป

5. <u>เปรียบเทียบการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ได้จากสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 กับสวิทไซม์ ไทพ์ เอ</u>

กลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดยสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 เป็นเอนไซม์ที่สร้างอยู่ภายในเซล และถูกตรึงไว้ภายในเซลด้วยความร้อน (heat treatment) เนื่องจากรายงานของ Takasaki และคณะ (70) ที่ว่าเอนไซม์นี้มีโอกาสสูญเสียได้เมื่อเซลเกิดการแตกสลายที่อุณหภูมิ 15 - 50 องศาเซลเซียส แต่การตรึงเอนไซม์ไว้ภายในเซลโดยใช้ความร้อนที่ 60 - 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที เอนไซม์อื่น ๆ ภายในเซลจะถูกทำลายโดยที่กลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดยสเตรพโตมัยซีสนี้สามารถทนความร้อนที่อุณหภูมิสูง ๆ ได้ ส่วนสวิทไซม์ ไทพ์ เอ เป็นชื่อทางการค้าของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดย <u>Bacillus coagulans</u> NRRL B 5656 และถูกตรึงไว้ภายในเซล โดยใช้กลูทารัลดีไฮด์เป็นตัวเชื่อม (cross-linking) มีลักษณะเป็นเมล็ดละเอียดสีน้ำตาล ขนาด 0 - 0.4 มิลลิเมตร การตรึงเอนไซม์โดยกลูทารัลดีไฮด์มีผลทำให้การทำงานของเอนไซม์ลดลง 40 - 50 % (64) จากการเปรียบเทียบการทำงานของกลูโคสไอโซเมอเรสที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ในสองสภาวะที่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิด พบว่าเอนไซม์ที่ผลิตโดยสเตรพโตมัยซีส สายพันธุ์ 190-1 มีการทำงานที่สูงกว่าเอนไซม์ที่ผลิตโดย <u>Bacillus coagulans</u> NRRL B5656 แต่เนื่องจากเอนไซม์ที่ผลิตโดยจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดนี้ผ่านการตรึงเอนไซม์ไว้ภายในเซลด้วยวิธีที่แตกต่างกัน ดังนั้นถ้านำเอนไซม์เหล่านี้มาผ่านขบวนการตรึงเอนไซม์ไว้ภายในเซลของจุลินทรีย์ทั้งสองชนิดด้วยวิธีเดียวกันแล้วนำมาเปรียบเทียบการทำงานของเอนไซม์ ก็อาจได้ข้อสรุปที่ดีกว่านี้ การวิจัยในข้อนี้

เป็นเพียงแนวทางที่ชี้ให้เห็นว่า กลูโคส์ไอโซเมอเรส์ที่ผลิตโดยส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 นี้มีโอกาส์ที่จะนำมาศึกษาและใช้ในวงการอุตส์าหกรรมของประเทศ์ไทยในอนาคตได้

6. <u>ส์รุปและข้อเส์นอแนะ</u>

ส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 เป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากแหล่งดินในประเทศ์ไทย และได้ศึกษาถึงองค์ประกอบของอาหารและส์ภาวะที่เหมาะส์มในการเลี้ยงเชื้อในขวดแก้วทรงกรวย (ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ 50 มล./ขวด) โดยจุลินทรีย์นี้ส์ามารถผลิตกลูโคส์-ไอโซเมอเรส์ได้ประมาณ 171 - 299 หน่วยต่อกรัม นน.เซลแห้ง (49) สำหรับงานวิจัยนี้ ได้ศึกษาถึงองค์ประกอบของอาหารและส์ภาวะที่เหมาะส์มต่อการผลิตเอนไซม์นี้โดยส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร (ปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ 2 ลิตร) เนื่องจากการเลี้ยงเชื้อในถังหมักต้องใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณมาก จึงพยายามนำวัส์ดุจากการเกษตรที่มีราคาถูกและหาง่ายมาใช้เป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยพบว่าส์ามารถนำส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากรำข้าว (รำข้าวส์กัดน้ำมันออกแล้ว ราคากิโลกรัมละ 2 บาท) มาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเลี้ยงเชื้อได้, ส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของกากถั่วเหลือง (กากถั่วเหลืองกิโลกรัมละ 7 บาท) เป็นแหล่งไนโตรเจนทดแทนมอล์ทเอกซ์แทรก (1,500 บาท/454 กรัม) และส์ารละลายย่อยด้วยกรดกำมะถันของเปลือกเมล็ดฝ้าย (เปลือกเมล็ดฝ้ายเป็นวัส์ดุเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตน้ำมันพืช) เป็นส์ารชักนำทดแทนไซโลส์ (365 บาท/100 กรัม) ได้ จากการปรับปรุงอาหารเลี้ยงเชื้อและส์ภาวะที่เหมาะส์มในการผลิตกลูโคส์-ไอโซเมอเรส์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าจุลินทรีย์ส์ามารถผลิตเอนไซม์ได้ประมาณ 1,000 - 1,100 หน่วย/กรัม นน.เซลแห้ง เมื่อเปรียบเทียบกับเอนไซม์ที่ผลิตโดยบางส์ายพันธุ์ของต่างประเทศ์ที่ใช้ในอุตส์าหกรรมแล้ว (ตารางที่ 3) พบว่ากลูโคส์ไอโซเมอเรส์ที่ผลิตโดยส์เตรพโตมัยซีส์ ส์ายพันธุ์ 190-1 มีแนวโน้มที่จะนำมาใช้ในอุตส์าหกรรมได้ แต่ในงานวิจัยนี้พบว่าการเจริญของเซลที่ได้นี้ค่อนข้างต่ำ โดยอัตราการผลิตเซลของจุลินทรีย์เทียบกับปริมาณส์ารอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ (Yield cell mass/gram substrate) มีค่าประมาณ 10 % เมื่อเปรียบเทียบกับบางส์ายพันธุ์ของต่างประเทศ์ ซึ่งมีอัตราการผลิตของเซลประมาณ 20 - 50 % (17, 70) แต่จากรายงานของ Diers (63) ในการเลี้ยงเชื้อ <u>Bacillus coagulans</u> NRRL 5650 เพื่อผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ อัตราการผลิตของเซลมีค่าประมาณ 10.7 % ซึ่งให้ผลใกล้เคียงกับงานวิจัยนี้ มีรายงานว่า (63) การเติมอาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณน้อย

อย่างต่อเนื่อง (continuous feeding) ในถังหมัก โดยเติมในช่วงที่จุลินทรีย์มีการเจริญเข้าสู่ช่วงปลายของการเจริญแบบทวีคูณ (post-log phase) นั้น ทำให้การเจริญของจุลินทรีย์เพิ่มขึ้น

การศึกษาการผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์โดยส์เตรพโตมัยซีส์ สายพันธุ์ 190-1 ในถังหมักขนาด 5 ลิตรนี้ น่าจะมีการศึกษาต่อไปถึงการเพิ่มปริมาณการเจริญของจุลินทรีย์ และเพิ่มความสามารถในการผลิตเอนไซม์ของจุลินทรีย์นี้ อาจโดยวิธีการที่ใช้ปรับปรุงสายพันธุ์ในทางอุตสาหกรรม ได้แก่ การทำให้จุลินทรีย์กลายพันธุ์ (mutation) (37, 38, 39) หรือการใช้เทคนิคทางวิศวกรรมพันธุศาสตร์ (genetic engineering) อย่างไรก็ตาม จากการศึกษานี้สามารถใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นประกอบการผลิตกลูโคส์ไอโซเมอเรส์ระดับขยายส่วนซึ่งมีความเป็นไปได้ในการนำเอนไซม์นี้มาใช้ประโยชน์ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป