บทที่ 5

สรุปผลการวิจัย

1. การเพาะเลี้ยง *Rhizopus* sp. ในอาหารเหลวต้องใช้ขวดก้นบุบ (baffled flask) ในการเพาะสปอร์เป็นเชื้อเริ่มต้น หลังจากนั้นสามารถนำเชื้อเริ่มต้นไปเพาะเลี้ยงในขวดธรรมดา หรือถังหมักได้ โดยเชื้อราไม่เป็นก้อน

2. *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II เป็นเชื้อราจากโรงงานสุราที่ผลิตเอนไซม์ย่อยแป้งที่มีปริมาณสูงกว่า และเร็วกว่า *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ I ซึ่งเป็นเชื้อราจากโรงงานสุราเช่นเดียวกัน

3. เอนไซม์ที่ *Rhizopus* sp. สายพันธุ์ II ผลิตได้คือ กลูโคอะไมเลสที่ย่อยแป้งได้กลูโคส เป็นผลิตภัณฑ์อย่างเดียวในอะซิเตตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 40 °ซ

4. แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลสในขวดแก้วทรงกรวย คือแป้งข้าวเหนียว,กากรำที่ไม่ได้ย่อย และแอมโมเนียมซิเตรต หรือแป้งข้าวเจ้า, กากรำที่ย่อยและแอมโมเนียมซิเตรต

5. อัตราส่วนคาร์บอน/ไนโตรเจน ที่เหมาะสมต่อการผลิตกลูโคอะไมเลสคือ 25

6. อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ในระดับขวดแก้วทรงกรวย ประกอบด้วย แป้งข้าวเหนียวที่ย่อยด้วยอัลฟาอะไมเลส 9.4% กากรำ 1% แอมโมเนียมซิเตรต 0.3% KH_2PO_4 0.18% Na_2HPO_4 0.02% $MgSO_4$ 0.1% $FeSO_4$ 0.005% พีเอช 5.5 บ่มที่อุณหภูมิ 40 °ซ เป็นเวลา 9 ชั่วโมง ให้ผลผลิตกลูโคอะไมเลส 7.1 หน่วย/มล. โดยใช้เชื้อเริ่มต้น 10%

7. อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ประกอบด้วย แป้งข้าวเหนียวที่ย่อยด้วยอัลฟาอะไมเลส 9.4% กากรำ 1% แอมโมเนียมซิเตรต 0.3% KH_2PO_4 0.2% $MgSO_4$ 0.1% $FeSO_4$ 0.005% เชื้อเริ่มต้น 8% ควบคุมพีเอชระหว่าง

5.0-5.5 อุณหภูมิ 40°ซ ใช้น้ำมันรำข้าวเป็นสารกำจัดฟอง อัตราการกวน 200 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 2 ปริมาตร/ปริมาตร/นาที ใช้เวลา 22 ชั่วโมง

8. การทำ dynamic measurement สำหรับการหมักในถังหมัก 5 ลิตร ที่อัตราการกวน 200 รอบ/นาที อัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตร/ปริมาตรอาหาร/นาที เมื่อมีปริมาณเซลล์ 8.5 มก. กลูโคซามีน/กรัมน้ำหนักแห้ง ปรากฏว่า อัตราการใช้ออกซิเจนของเซลล์ (volumetric oxygen demand rate) rX = 2.7 ppm/นาที สัมประสิทธิ์การถ่ายเทออกซิเจน (volumetric oxygen transfer coefficient) k_La = 42 (ชั่วโมง)$^{-1}$ ความเข้มข้นออกซิเจนที่ละลายที่สมดุลย์ (equilibrium dissolved oxygen concentration) C^* = 10.3 ppm (ซึ่งเป็นค่าที่สูงกว่าเป็นจริง เพราะตั้งออกซิเจนที่ละลายเริ่มต้น = 15 ppm)

9. การทำเอนไซม์เข้มข้นด้วยอุลตราฟิลเตรชันด้วยเยื่อสังเคราะห์ขนาดกักโมเลกุล 100,000 และ 30,000 ปรากฏว่า กลูโคอะไมเลสมีขนาดโมเลกุลเล็กกว่า 100,000 และใหญ่กว่า 30,000 ดาลตัน สามารถทำเอนไซม์ให้เข้มข้นขึ้น 6.9 เท่า โดยมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น 9.7 เท่า

10. แอคทิวิตีของเอนไซม์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้นตามขั้นตอนการปรับปรุงสภาพแวดล้อมอาหาร แสดงในตารางที่ 11

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 แอคทิวิตีของกลูโคอะไมเลสในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้นตามขั้นตอนการปรับปรุงสภาพแวดล้อมอาหาร

ขั้นตอนการปรับปรุงการผลิต	แอคทิวิตีของเอนไซม์ (หน่วย/มล.)	แอคทิวิตีของเอนไซม์เพิ่มขึ้น (เท่า)
1. ก่อนปรับปรุงการผลิต	0.6	1
2. ปรับปรุงพีเอชและอุณหภูมิ	5.9	9.8
3. ปรับปรุง C/N ในอาหาร	7.1	11.8
4. ปรับปรุงสภาพการผลิตในถังหมักขนาด 5 ลิตร	12.3	20.5

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย