บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 บทสรุป

ในการคัดเลือกเชื้อราที่แยกได้จากแป้งเชื้อโรงงานสุรา และหาสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการย่อยแป้งได้สูง ได้เชื้อรา 2 สายพันธุ์ คือ Rhizopus sp. และ Aspergillus oryzae จากโรงงานสุรา จังหวัดนครปฐมและชลบุรี ตามลำดับ และพบว่าจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดมีความสามารถในการย่อยทั้งแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบ จากการตรวจสอบชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยแป้งโดยวิธีโครมาโตกราฟฟีกระดาษ พบว่า Aspergillus oryzae ย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกได้กลูโคส มอลโตส และมอลโตไตรโอส แต่ในการย่อยแป้งดิบจะได้กลูโคสอย่างเดียว ส่วน Rhizopus sp. ย่อยแป้งสุกและแป้งดิบได้กลูโคสอย่างเดียว เช่นเดียวกับการย่อยแป้งสุกและแป้งดิบโดยเซลที่ถูกตรึงหรือเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ร่วมกันในอัตราส่วน 1:1 และพบว่าการย่อยแป้งสุกและแป้งดิบโดยใช้จุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิดร่วมกันจะได้ผลผลิตสูงกว่าการใช้จุลินทรีย์แต่ละชนิด

สปอร์ของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. จะถูกตรึงในแคลเซียม-อัลจิเนตชนิด 300 cps. ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ โดยใช้ปริมาณสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต และแคลเซียมคลอไรด์ ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ (1.47 เปอร์เซนต์น้ำหนักต่อปริมาตร) เมื่อนำสปอร์ที่ถูกตรึงมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยแป้งมันสำปะหลัง 4.0 เปอร์เซนต์, กากถั่วเหลือง 1.0 เปอร์เซนต์ และ 4.0 เปอร์เซนต์สำหรับเซลที่ถูกตรึงที่ใช้ในการย่อยแป้งสุกและแป้งดิบ ตามลำดับ, แอมโมเนียมซิเตรต 0.3 เปอร์เซนต์, โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซนต์, แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 เปอร์เซนต์, เฟอร์รัสซัลเฟต 0.005 เปอร์เซนต์ และปรับความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็น 5.5 และ 4.0 สำหรับ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ตามลำดับ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 250 รอบต่อนาที เป็นเวลา 52 ชั่วโมง จะได้เซลที่ถูกตรึงที่มีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูง และความสามารถในการย่อยจะเกิดขึ้น

ได้ดีที่ความเป็นกรดด่าง 3.5 และ 4.5 ตามลำดับ โดยความสามารถในการย่อยแป้งสุกและแป้งดิบจะสูงขึ้นเมื่อเพิ่มอุณหภูมิจาก 30 องศาเซลเซียส เป็น 37 และ 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แต่เนื่องจากเซลของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ไม่คงทนต่ออุณหภูมิสูง จึงเลือกใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสซึ่งใกล้เคียงกับอุณหภูมิห้องซึ่งใช้ในการย่อยแป้งแบบต่อเนื่องในหอปฏิกิริยา

เนื่องจาก Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงมีความสามารถในการย่อยแป้งสุกดีที่สุด จึงนำมาทดลองย่อยแป้งแบบต่อเนื่องและไม่ต่อเนื่อง พบว่าในการย่อยแป้งแบบไม่ต่อเนื่อง เซลที่ถูกตรึงจะมีความสามารถในการย่อยลดลงภายในระยะเวลา 4 วัน และจากการทดลองย่อยแป้งโดยใช้ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงแบบต่อเนื่องในหอปฏิกิริยาชนิดฟลูอิดไดเซชั่น ก็ให้ผลการทดลองใกล้เคียงกับที่พบในการทดลองแบบไม่ต่อเนื่อง แต่การลดลงของความสามารถในการย่อยจะเกิดขึ้นช้ากว่า เนื่องจากในการย่อยแบบต่อเนื่อง การที่เอนไซม์ย่อยแป้งซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ Rhizopus sp. ขับออกมานอกเซลและละลายอยู่ในสารละลายภายในหอปฏิกิริยา จะถูกพาออกไปจากหอปฏิกิริยาพร้อม ๆ กับผลิตภัณฑ์เกิดขึ้นอย่างช้า ๆ ต่างกับการย่อยแบบต่อเนื่องซึ่งเซลต้องสร้างเอนไซม์ขึ้นใหม่ภายหลังการเปลี่ยนน้ำแป้ง และเมื่อทดลองเติมสารอาหารให้แก่เซลเป็นระยะ ๆ (ทุก 3 วัน) จะทำให้เซลที่ถูกตรึงสามารถรักษาความสามารถในการย่อยได้คงที่จนถึงวันที่ 6 ของการทดลองคือ ย่อยได้ถึง 90 เปอร์เซนต์ และความสามารถจะลดลงเหลือครึ่งหนึ่งในวันที่ 10 ของการทดลอง

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 เนื่องจากเซลที่ถูกตรึงของ Rhizopus sp. มีความสามารถในการย่อยแป้งสูงถึง 90 เปอร์เซนต์ ซึ่งเป็นอัตราการย่อยที่สูง แต่เนื่องจากเซล Rhizopus sp. มีความสามารถในการย่อยคงอยู่ในระยะเวลาสั้น คือมีระยะครึ่งชีวิตเพียง 10 วัน ดังนั้นจึงควรหาวิธีในการรักษาความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงให้ยาวออกไปอีก เพื่อนำมาปรับปรุงเซลที่ถูกตรึงให้เหมาะสมในการขยายสเกลต่อไป

5.2.2 ทดลองทำเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ให้บริสุทธิ์ และศึกษากลไกการทำงานร่วมกันในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุก

5.2.3 ศึกษาการย่อยแป้งดิบของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ในหอปฏิกิริยา เนื่องจากการย่อยแป้งดิบจะเป็นการช่วยประหยัดพลังงานที่ใช้ให้ลดลง

5.2.4 ปรับปรุงสายพันธุ์ของเชื้อให้มีความสามารถในการย่อยแป้งสูงทั้งแป้งดิบและแป้งสุก และมีความคงทนต่อสภาวะแวดล้อมได้ดี

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย