บทที่ 5

วิจารณ์และสรุปผลการวิจัย

จากการวิเคราะห์หาองค์ประกอบทางเคมีของฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมขั้นต้น พบว่า มีลิกนินคงเหลืออยู่ในฟางข้าว 10.6 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักแห้งของฟางข้าว ซึ่งลิกนินที่คงเหลืออยู่ในฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมขั้นต้น มีปริมาณใกล้เคียงกับฟางข้าวตามธรรมชาติที่มีอยู่ 10.4 เปอร์เซนต์ (รุ่งอรุณ วัฒนวงศ์ และ สมชาติ รุ่งอินทร์, 2523) และแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างสายโมเลกุลเซลลูโลส ซึ่งสามารถป้องกันเซลลูโลสจากการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

จากผลการศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลส ในระหว่างการหมักฟางข้าว พบว่า ในวันที่ 0 ของการหมักค่าแอคติวิตีของเอนไซม์ทุกตัวอย่างมีค่าเพิ่มขึ้น ทั้งนี้อาจจะเนื่องมาจาก ค่าการดูดกลืนแสงจากการวัดด้วยเครื่อง spectrophotometer เพื่อวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น มีค่าต่ำกว่า 0.05 ซึ่งต่ำกว่าค่าที่ยอมรับ คือ 0.1-0.9 (ชูชาติ อารีจิตรานุสรณ์, 2534) ดังนั้น เมื่อนำมาคำนวณหาแอคติวิตีของเอนไซม์ในวันที่ 0 ของการหมักจึงทำให้ค่าแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสไม่เท่ากับ 0

5.1 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วยจุลินทรีย์ชนิดเดียวในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

5.1.1 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp.ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

จากผลการศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส พบว่า ในช่วงแรกของการหมัก *Cellulomonas* sp. ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาน้อย อาจเนื่องมาจาก *Cellulomonas* sp. สามารถใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีองค์ประกอบที่ย่อยสลายง่ายในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวก่อน จากนั้นจึงเริ่มต้นผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมาย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งมีองค์ประกอบย่อยสลายยากให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เพื่อใช้ในเซลล์ (วิศิษฐ์พร เผื่อนพิภพ, 2529)

จากผลการศึกษาแอคติวิตีเซลลูเลสรวมซึ่งเป็นดัชนีแสดงการทำงานของเอนไซม์

เซลลูเลส (Mandels และ Reese, 1957; Mandels, 1975; Mandels และ Sternberg, 1976) พบว่า มีแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมต่ำ อาจจะเนื่องมาจาก *Cellulomonas* sp. สามารถผลิตเอกโซกลูคาเนส และเอนโดกลูคาเนสได้ดี (Han และ Srinivasan, 1968)จึงสามารถย่อยเซลลูโลสให้เป็นเซลโลไบโอสได้มาก แต่แบคทีเรียนี้ผลิต เบต้า-กลูโคซิเดสได้น้อย การย่อยสลายเซลโลไบโอสไปเป็นกลูโคสในปริมาณต่ำ จึงเกิดการสะสมของเซลโลไบโอสขึ้นในระหว่างการหมัก ซึ่ง *Cellulomonas* sp.อาจจะนำเซลโลไบโอสที่สะสมอยู่ไปใช้แทนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลส อีกประการหนึ่ง คือ การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เพิ่มขึ้นในระหว่างการหมัก ซึ่งเกิดจาก *Cellulomonas* sp. นำกลูโคสไปใช้ในเมตาโบลิซึมของเซลล์และปล่อยกรดระเหยง่าย (Gray, Sherman และ Biddlestone, 1971) ซึ่ง *Cellulomonas* sp. สามารถใช้กรดเหล่านี้เป็นแหล่งอาหารและพลังงานได้ ทำให้มีการปลดปล่อยไนโตรเจนออกมาในรูปแอมโมเนีย (NH_4^+) ทำให้พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเพิ่มสูงขึ้น (Dayi และ Iyenger, 1971) และสูงกว่าพีเอชที่เหมาะสม คือ 6.6 ทำให้มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของ *Cellulomonas* sp. (Han และ Srinivasan, 1968) ประการสุดท้าย การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวทำให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนเปลี่ยนแปลงดังนั้น ความจำเพาะของเอนไซม์กับสับสเตรทย่อมลดลง แอคติวิตีของเอนไซม์ย่อมได้รับผลกระทบด้วย (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2532) ซึ่งจากสาเหตุเหล่านี้ อาจทำให้แนวโน้มของแอคติวิตีของเซลลูเลสรวม มีแนวโน้มต่ำ

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก ซึ่งการเพิ่มหรือลดลงของปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจะสัมพันธ์กับแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจาก *Cellulomonas* sp. นำน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสไปใช้ในเซลล์ ภายหลังจากการแยกส่วนที่เป็นของเหลวออก นำส่วนที่เหลือซึ่งประกอบด้วย ฟางข้าว, เซลล์จุลินทรีย์มาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีน พบว่า ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจะเพิ่มขึ้น และมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าฟางข้าวที่ผ่านการย่อยขั้นต้น เนื่องจากเซลล์ *Cellulomonas* sp. มีปริมาณโปรตีนสูง (Han, และคณะ 1971) เมื่อร่วมกับฟางข้าวหมักจะทำให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักสูงขึ้น

5.1.2 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

จากผลการศึกษาแอคติวิตีเซลลูเลสรวมซึ่งเป็นดัชนีแสดงการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส) (Mandels และ Reese, 1957; Mandels,1975; Mandels และ Sternberg, 1976) พบว่า มีแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงอย่างรวดเร็วในวันที่ 6 อาจจะเนื่องมาจาก *T. viride* สามารถผลิตเอนไซม์ คือ เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดส ได้อย่างเหมาะสม (Mandels และ Sternberg, 1976, Selby และ Maitland, 1967) ทำให้เซลลูโลสถูกย่อยเป็นเซลโลไบโอส กลูโคสและน้ำตาลรีดิวซ์ได้ดี มีปริมาณแหล่งคาร์บอนเพียงพอสำหรับเชื้อรา หลังจากนั้นแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมลดลงอาจจะเนื่องมาจาก เชื้อรา *T. viride* เองสามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่สะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อไปใช้ในเมตาโบลิซึมของเซลล์ แทนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยสลายเซลลูโลส เมื่อพิจารณาที่พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า พีเอชลดลง เนื่องจาก การเจริญของเชื้อราใช้น้ำตาลรีดิวซ์เป็นแหล่งคาร์บอนและสร้างกรดอินทรีย์ออกมา ซึ่งกรดที่สร้างออกมามีปริมาณสูงกว่าระดับ NH_4^+ ที่เป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้พีเอชของอาหารลดต่ำลง (Mandels และ Sternberg, 1976) ส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์ของ *T. viride* (วรรณดี สุประดิษฐ์อาภรณ์, 2532, Sternberg, 1976) และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนเปลี่ยนแปลง ดังนั้น ความจำเพาะของเอนไซม์กับสับสเตรทมากขึ้น จะมีผลต่อแอคติวิตีของเอนไซม์ (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2532)

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก ซึ่งการเพิ่มหรือลดลงของปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจะสัมพันธ์กับแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจาก *T. viride* นำน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดจากการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลสไปใช้ ภายหลังจากการแยกส่วนที่เป็นของเหลวออก นำส่วนที่เป็นตะกอน ซึ่งประกอบด้วย ฟางข้าว และจุลินทรีย์มาวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก พบว่า ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจะเพิ่มขึ้น และมีปริมาณโปรตีนสูงกว่าฟางข้าวที่ผ่านการย่อยขั้นต้น เนื่องจากเชื้อรานี้มีปริมาณโปรตีนสูง (Peiterson, 1975a) เมื่อร่วมกับฟางข้าวหมักจะทำให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักสูงขึ้น

5.2 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วยจุลินทรีย์ชนิดเดียวใน buffer medium

5.2.1 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. และควบคุมพีเอชที่ 6.6 ด้วย buffer medium

จากผลการศึกษาแอคติวิตีของเซลลูเลสรวม พบว่า แอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงอย่างรวดเร็วในวันที่ 4 ของการหมัก อาจจะเนื่องมาจาก การใช้ buffer medium ซึ่งเป็นสารประกอบ (ภาคผนวก ข.) ที่สามารถควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในระหว่างการหมักให้เปลี่ยนแปลงน้อยที่สุดมีค่าใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสม คือ 6.6 ทำให้ *Cellulomonas* sp. ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดี (Han และ Srinivasan, 1969) อีกประการหนึ่ง คือ การเปลี่ยนแปลงพีเอชเล็กน้อย ความจำเพาะของเอนไซม์กับสับสเตรทไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก แอคติวิตีของเอนไซม์จึงเพิ่มขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2532) หลังจากนั้นแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมจะลดลง เนื่องจาก *Cellulomonas* sp.ผลิตเบต้า-กลูโคซิเดสออกมาน้อย (Han และ Srinivasan, 1969) ทำให้การย่อยสลายเซลโลไบโอสไปเป็นกลูโคสในปริมาณต่ำ ทำให้เกิดการสะสมของเซลโลไบโอสในระหว่างการหมัก ซึ่ง *Cellulomonas* sp. จะเลือกใช้เซลโลไบโอสที่สะสมอยู่ไปใช้ในเซลล์แทนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลส นอกจากนี้อาจเกิดจาก exocellular proteolytic enzyme บางชนิดที่สามารถย่อยสลายเอนไซม์เซลลูเลสทำให้เสียสภาพไป (Han และ Srinivasan, 1968)

เมื่อเปรียบเทียบการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. และควบคุมพีเอชที่ 6.6 ด้วย buffer medium กับ *Cellulomonas* sp. พบว่า แอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลสจากการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. และควบคุมพีเอชที่ 6.6 ด้วย buffer medium มีค่าแอคติวิตีของเอนไซม์สูงกว่าการหมักด้วย *Cellulomonas* sp. เนื่องจากผลของการใช้ buffer medium เพื่อควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวให้ใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสม ซึ่งทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์สูงขึ้น ดังเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักการใช้ buffer medium ทำให้พีเอชระหว่างการหมักไม่เปลี่ยนแปลงจาก 6.6 มากนัก ซึ่งที่พีเอช 6.6 *Cellulomonas* sp. สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้มาก ทำให้ได้น้ำตาลรีดิวซ์มาก ซึ่งเทียบกับการหมักโดยไม่ควบคุมพีเอช ดังเหตุผลที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น ซึ่งเพียงพอที่ *Cellulomonas* sp. จะใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์โปรตีน ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักสูงขึ้น แต่หลังจากวันที่ 6

ของการหมัก แอคติวิตีของเซลลูเลสรวมลดลง น้ำตาลรีดิวซ์ย่อมลดลงไปด้วย แต่ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักเพิ่มขึ้นเล็กน้อย เนื่องจาก น้ำตาลรีดิวซ์ที่เหลืออยู่ ทำให้แบคทีเรียนี้สามารถใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวนต่อไปได้อีกระยะเวลาหนึ่ง จึงทำให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักเพิ่มขึ้น (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก จากการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. ที่ใช้ buffer medium กับไม่ใช้ buffer medium พบว่า ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก จากการหมักที่ใช้ buffer medium จะมีแนวโน้มสูงกว่าการหมักที่ไม่ใช้ buffer medium นั่นคือ buffer medium มีผลต่อปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักที่เพิ่มขึ้น

5.2.2 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* และควบคุมพีเอชที่ 5.3 ด้วย buffer medium

จากผลการศึกษาแอคติวิตีของเซลลูเลสรวม พบว่า แอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงอย่างรวดเร็วในวันที่ 4 ของการหมัก เนื่องจาก การใช้ buffer medium เพื่อช่วยควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวให้มีค่าใกล้เคียงกับพีเอชเหมาะสม คือ 5.3 ทำให้ *T. viride* ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาได้ดีขึ้น (วรรณดี สุประดิษฐ์อาภรณ์, 2532, Sternberg, 1976) และการเปลี่ยนแปลงพีเอชเล็กน้อย ความจำเพาะของเอนไซม์กับสับสเตรทมากขึ้น จะทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เพิ่มขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2532) จากนั้นแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมลดลง เนื่องจาก *T. viride* ผลิตเอนไซม์ย่อย คือ เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดส ได้สัมพันธ์กัน (Mandels และ Sternberg, 1976, Selby และ Maitland, 1967) ทำให้เซลลูโลสเปลี่ยนเป็นน้ำตาลรีดิวซ์มาก ซึ่ง *T. viride* สามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่สะสมอยู่ไปใช้แทนการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลส นอกจากนี้ อาจเกิดจาก exocellular proteolytic enzyme บางชนิดที่ย่อยสลายเอนไซม์เซลลูเลสให้เสียสภาพไปจากเดิม (Han และ Srinivasan, 1968)

เมื่อเปรียบเทียบการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* และควบคุมพีเอช 5.3 ด้วย buffer medium กับ *T. viride* พบว่า แอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลสจากการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* และควบคุมพีเอชที่ 5.3 มีค่าแอคติวิตีของเอนไซม์สูงกว่าการหมักด้วย *T. viride* เนื่องจากผลของการใช้ buffer medium เพื่อควบคุมพีเอชของ

อาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ให้ใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสม ซึ่งทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์สูงขึ้น ดังเหตุผลที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก ซึ่งการใช้ buffer medium จะกระตุ้นให้ *T. viride* เร่งสร้างเอนไซม์ออกมาย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์มากขึ้น ดังเหตุผลกล่าวมาข้างต้น ซึ่งเพียงพอที่ *T. viride* จะใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวน ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจากการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* ที่ใช้ buffer medium กับไม่ใช้ buffer medium พบว่า โปรตีนของฟางข้าวหมักจากการหมักที่ใช้ buffer medium จะมีแนวโน้มสูงกว่าการหมักที่ไม่ใช้ buffer medium นั่นคือ buffer medium มีผลต่อปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักที่เพิ่มขึ้น

5.3 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วยจุลินทรีย์ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

5.3.1 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

จากผลการศึกษาแอคติวิตีของเซลลูเลสรวม พบว่า แอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงขึ้น เมื่อหมักฟางข้าวด้วยแบคทีเรียผสม ระหว่าง *Cellulomonas* sp. กับ *A. faecalis* ซึ่งจะช่วยกันย่อยเซลลูโลสอย่างมีประสิทธิภาพ เพราะว่า *Cellulomonas* sp. ผลิต เอกโซกลูคาเนส และเอนโดกลูคาเนสได้ดี แต่ผลิตเบต้า-กลูโคซิเดสได้ต่ำ (Han และ Srinivasan, 1968) ส่วน *A. faecalis* ผลิตเบต้า-กลูโคซิเดสได้ดี (Han และ Srinivasan, 1969) ดังนั้น การใช้แบคทีเรียผสมนี้ทำให้สัดส่วนของ เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดส สัมพันธ์กัน ทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสไปเป็นเซลโลไบโอสและกลูโคสมีประสิทธิภาพดีขึ้น (Tong และคณะ, 1980) และ *A. faecalis* นอกจากผลิต เบต้า-กลูโคซิเดส แล้ว ยังสามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่สะสมอยู่ไปใช้ในเมตาโบลิซึมต่าง ๆ ของเซลล์ได้ด้วย ทำให้น้ำตาลริดิวซ์ที่สะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง เมื่อปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่สะสมอยู่ลดลง *Cellulomonas* sp. จึงเร่งผลิตเอนไซม์ย่อยออกมาย่อยเซลลูโลส

เมื่อเปรียบเทียบการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis* กับ *Cellulomonas* sp. ชนิดเดียว พบว่า แอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยที่เป็นองค์

ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลสจากการหมักฟางข้าวด้วยแบคทีเรียผสม มีแนวโน้มสูงกว่าการหมักด้วยแบคทีเรียชนิดเดียว

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก ซึ่งการใช้แบคทีเรียผสมจะช่วยเร่งการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์มากขึ้น ดังเหตุผลกล่าวมาข้างต้น ซึ่งแบคทีเรียผสมจะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้นในการเจริญและเพิ่มจำนวน ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักสูงขึ้น หลังจากวันที่ 8 ของการหมักแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมลดลง น้ำตาลรีดิวซ์ย่อมลดลงด้วย แต่ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งสามารถอธิบายได้ด้วยเหตุผลเดียวกับ 5.2.1 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก จากการหมักด้วยแบคทีเรียผสมกับ *Cellulomonas* sp.ชนิดเดียว พบว่าปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจากการหมักด้วยแบคทีเรียผสมมีแนวโน้มสูงกว่าการหมักด้วย *Cellulomonas* sp. ชนิดเดียว นั่นคือ *A. faecalis* มีผลต่อปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักที่เพิ่มขึ้น

5.3.2 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว

จากผลการศึกษาแอคติวิตีเซลลูเลสรวม พบว่า มีแอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงอย่างรวดเร็ว ในวันที่ 6 ของการหมัก อาจจะเป็นเพราะ *T. viride* สามารถผลิตเอนไซม์ย่อยคือ เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดสได้สัมพันธ์กัน (Mandels และ Sternberg, 1976, Selby และ Maitland, 1967) ทำให้เซลลูโลสถูกย่อยเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้มาก แต่เมื่อมีการใช้ยีสต์ *C. utilis* ร่วมกับรา *T. viride* ซึ่งยีสต์ *C. utilis* สามารถใช้น้ำตาลเพนโตสและเฮกโซสได้ดี (สุมาลี เหลืองสกุล, 2527) และจะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวในการเจริญ ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ที่อยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวลดลงรวดเร็ว ส่งผลให้ *T. viride* เร่งผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลสมากขึ้น ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์สูงขึ้นมาก หลังจากวันที่ 6 แล้ว แอคติวิตีของเอนไซม์เริ่มลดลง อาจจะเกิดขึ้นจาก exocellular proteolytic enzyme บางชนิดที่ทำให้เอนไซม์เซลลูเลสเสียสภาพไป (Han และ Srinivasan, 1968)

เมื่อเปรียบเทียบการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* ร่วมกับ *c. utilis* กับ *T. viride* พบว่า แอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลสจากการหมักฟางข้าวด้วยเชื้อราผสมยีสต์ มีแนวโน้มสูงที่กว่าการใช้เชื้อราชนิดเดียว ดังเหตุผลข้างต้น

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก ซึ่งการใช้ *C. utilis* นอกจากจะกระตุ้นให้ *T. viride* เร่งสร้างเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์แล้ว *C. utilis* ยังสามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ (สุมาลี เหลืองสกุล, 2527) ซึ่งเหมือนกับเป็นการจำกัดการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการเจริญและเพิ่มจำนวนโปรตีน (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) ประกอบกับจุลินทรีย์เองเกิดการสลายหรือแตกเซลล์ ทำให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักที่วิเคราะห์ได้นี้มีปริมาณลดลงเล็กน้อย เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจากการหมักฟางข้าวด้วยเชื้อราร่วมกับยีสต์กับเชื้อราชนิดเดียว พบว่า ปริมาณโปรตีนจากการหมักด้วยเชื้อราร่วมกับยีสต์จะมีแนวโน้มสูงกว่าการหมักฟางข้าวด้วยเชื้อราชนิดเดียว

5.4 <u>การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วยจุลินทรีย์ผสมใน buffer medium</u>

5.4.1 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis* และควบคุมพีเอชที่ 6.6 ด้วย buffer medium

จากผลการศึกษาแอคติวิตีของเซลลูเลสรวม พบว่า แอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงขึ้นอย่างรวดเร็ว อาจจะเนื่องมาจาก *Cellulomonas* sp. ผลิตเอกโซกลูคาเนส และ เอนโด-กลูคาเนสได้ดี (Han และ Srinivasan, 1968) ส่วน *A. faecalis* ผลิต เบต้า-กลูโคซิเดสได้ดี (Han และ Srinivasan, 1969) ดังนั้นการใช้แบคทีเรียผสมนี้ ทำให้สัดส่วนของ เบต้า-กลูโคซิเดสเพิ่มขึ้น อีกประการหนึ่ง คือ การใช้ buffer medium ทำให้พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการหมักเปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย มีค่าใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสมคือ 6.6 ทำให้การย่อยสลายเซลลูโลสมีประสิทธิภาพมากขึ้น ทำให้แบคทีเรียผสมผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีขึ้น (Han และ Srinivasan, 1968) และ การเปลี่ยนแปลงพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว ทำให้ความจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสกับสับสเตรทมากขึ้น ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสเพิ่มขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2532) และ *A. faecalis* นอกจากผลิต เบต้า-กลูโคซิเดส ยังสามารถนำน้ำตาลรีดิวซ์ที่สะสมอยู่ไปใช้ในเซลล์ด้วย ทำให้น้ำตาลริดิวซ์ที่สะสมในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง เมื่อปริมาณ

น้ำตาลรีดิวซ์ที่สะสมลดลง *Cellulomonas* sp. จึงเร่งผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้น

เมื่อเปรียบเทียบการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis* และควบคุมพีเอชที่ 6.6 ด้วย buffer medium กับแบคทีเรียผสมที่ไม่ได้ควบคุมพีเอช พบว่า แอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยของเอนไซม์เซลลูเลสจากการควบคุมพีเอชด้วย buffer medium มีแนวโน้มที่สูงกว่าการหมักฟางข้าวด้วย *Cellulomonas* sp. เพราะว่าการใช้ buffer medium เพื่อควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวให้ใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสม ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสสูงขึ้น ดังเหตุผลในข้างต้น

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก ซึ่งการใช้แบคทีเรียผสมพร้อมกับการควบคุมพีเอชในระหว่างการหมักด้วย buffer medium จะช่วยเร่งการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์มากขึ้น ดังเหตุผลที่กล่าวมาในข้างต้น ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจากการหมักฟางข้าวด้วยแบคทีเรียผสมกับแบคทีเรียชนิดเดียว พบว่า ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก จากการหมักฟางข้าวด้วยแบคทีเรียผสมที่ควบคุมพีเอชด้วย buffer medium จะมีแนวโน้มสูงกว่าแบคทีเรียผสมที่ไม่ใช้ buffer medium นั่นคือ การใช้ buffer medium มีผลทำให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักสูงขึ้น

5.4.2 การศึกษาการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* และควบคุมพีเอชที่ 5.3 ด้วยอาหาร buffer medium

จากผลการศึกษาแอคติวิตีของเซลลูเลสรวม พบว่า แอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงอย่างรวดเร็ว อาจจะเนื่องมาจาก *T. viride* สามารถผลิตเอนไซม์ย่อย คือ เอกโซกลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และเบต้า-กลูโคซิเดส สัมพันธ์กัน (Mandels และ Sternberg, 1976, Selby และ Maitland, 1967) ทำให้เซลลูโลสถูกย่อยเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ได้มาก แต่เมื่อใช้ยีสต์ *C. utilis* ร่วมกับรา *T. viride* ซึ่งยีสต์จะใช้น้ำตาลรีดิวซ์ ทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวลดลง ซึ่งกระตุ้นให้ *T. viride* เร่งผลิตเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลสมากขึ้น ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์สูงขึ้น อีกประการ คือ การใช้ buffer medium ทำให้พีเอช

ของอาหารเลี้ยงเชื้อระหว่างการหมักเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย มีค่าใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสม คือ 5.3 ทำให้เชื้อผสมผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีขึ้น และการเปลี่ยนแปลงพีเอชเพียงเล็กน้อย ทำให้ความจำเพาะของเอนไซม์เซลลูเลสกับสับสเตรทมากขึ้น ทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสเพิ่มขึ้น (ปราณี อ่านเปรื่อง, 2532)

เมื่อเปรียบเทียบการหมักฟางข้าวด้วย *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* และควบคุมพีเอชที่ 5.3 ด้วย buffer medium กับเชื้อผสมที่ไม่ได้ใช้ buffer medium พบว่า แอคติวิตีของเอนไซม์ย่อยที่เป็นองค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลส จากการหมักฟางข้าวด้วยเชื้อผสมพร้อมกับการควบคุมพีเอชที่ 5.3 ด้วย buffer medium จะมีแนวโน้มที่สูงกว่าการไม่ใช้ buffer medium เนื่องจากว่า การใช้ buffer medium จะช่วยควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวให้ใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสมทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสสูงขึ้น ดังเหตุผลที่กล่าวมาข้างต้น

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก ซึ่งการใช้ *C. utilis* พร้อมกับควบคุมพีเอชในระหว่างการหมักด้วย buffer medium นอกจากกระตุ้นให้ *T. viride* เร่งสร้างเอนไซม์เซลลูเลสออกมาย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลรีดิวซ์แล้ว *C. utilis* ยังสามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ได้ (สุมาลี เหลืองสกุล, 2527) ซึ่งเหมือนกับเป็นการจำกัดการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ในการเจริญและเพิ่มจำนวนของ *T. viride* (นฤมล เรืองฤทธินนท์, 2526) ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักที่เกิดขึ้นจากการใช้เชื้อผสมนี้มีปริมาณค่อนข้างคงที่ แม้แอคติวิตีของเซลลูเลสรวมสูงก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก จากการหมักฟางข้าวด้วยเชื้อราผสมยีสต์และใช้ buffer medium กับไม่ใช้ buffer medium พบว่า ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักจากการหมักด้วยเชื้อราผสมยีสต์ และใช้ buffer medium จะมีแนวโน้มสูงกว่าการหมักฟางข้าวที่ไม่ใช้ buffer medium

5.5 <u>การวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของโปรตีนเซลล์เดียว</u>

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของโปรตีนเซลล์เดียว ที่ได้จากการหมักฟางข้าว พบว่าปริมาณโปรตีนของ *Cellulomonas* sp. และ *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* เท่ากับ 26.57 และ 31.67 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนเซลล์เดียว ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนจาก *Cellulomonas* sp. และ *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis* กับอาหาร

ชนิดต่าง ๆ พบว่า ปริมาณโปรตีนของแบคทีเรียใกล้เคียงกับโปรตีนของ ถั่วเหลือง ถั่วลิสง และนมผงขาดมันเนย ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 28.6, 34.6 และ 35.7 กรัมต่อ 100 กรัมอาหาร ตามลำดับ (กองโภชนาการ, 2533) ส่วนปริมาณโปรตีนของ *T. viride* และ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* ที่แยกได้จากการหมักฟางข้าวเท่ากับ 13.08 และ 15.67 กรัมต่อ 100 กรัม โปรตีนเซลล์เดียว ซึ่งมีปริมาณใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบปริมาณโปรตีนของ *T. viride* และ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* กับอาหารชนิดต่าง ๆ พบว่า มีปริมาณโปรตีนใกล้เคียงกับโปรตีนของ ถั่วมะแฮะ, ถั่วเล็บมือนาง และตับไก่ ซึ่งมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 17.7, 19.9 และ 15.0 กรัมต่อ 100 กรัมอาหาร ตามลำดับ (กองโภชนาการ, 2533)

จากการวิเคราะห์หาปริมาณโปรตีนของโปรตีนเซลล์เดียวที่ได้จากการหมักฟางข้าวด้วยจุลินทรีย์ผสม แล้วนำไปสกัดโปรตีน พบว่า ปริมาณของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านการสกัดมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น กล่าวคือ *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* และ *T. viride* ร่วมกับ *C.utilis* มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 32.56 และ 17.93 ด้วย กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนเซลล์เดียว ตามลำดับ อาจจะเนื่องมาจาก ผลของการสกัดจะแยกเอาองค์ประกอบที่ไม่ใช่โปรตีนที่เป็นส่วนของผนังเซลล์จุลินทรีย์ เช่น ไกลแคนหรือโพลีแซคคาไรด์ กรดไทโคอิก เป็นต้น (นุ่มนวล อุดมพงษานนท์, 2527) ออกจากโปรโตพลาสึม ทำให้ปริมาณโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านการสกัดมีปริมาณโปรตีนสูงขึ้น

5.6 <u>การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของผลผลิตโปรตีนเซลล์เดียว</u>

5.6.1 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของ *Cellulomonas* sp. และ *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* ที่ผ่านการสกัด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของ *Cellulomonas* sp.และ *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* พบว่า ปริมาณกรดอะมิโนของ *Cellulomonas* sp. และ *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* มีปริมาณใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ของแบคทีเรียชนิดเดียวและผสมกับปริมาณกรดอะมิโนมาตรฐานที่ WHO กำหนด พบว่า กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของเซลล์แบคทีเรียจะ มีค่า เป็นที่น่าพอใจตามมาตรฐานกรดอะมิโนที่ WHO กำหนด ตามตารางที่ 14 นอกจากปริมาณ cystine ที่มีต่ำกว่า การที่นำกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมาเปรียบเทียบกับมาตรฐาน WHO กำหนด เนื่องจากว่ากรดอะมิโน

ที่จำเป็นต่อร่างกายตาม WHO กำหนดนั้นเป็นปริมาณต่ำสุดที่ร่างกายต้องการสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนภายในร่างกาย และเมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนของ เนื้อ, ปลา, นมผง และถั่วเหลือง (ภาคผนวก ง.) ก็ให้ผลที่ดีกว่า

แต่การที่จะนำโปรตีนเซลล์เดียวมาเป็นอาหารสำหรับคน การวัดคุณค่าทางอาหารทางเคมี โดยวิธีการหาปริมาณโปรตีนและกรดอะมิโนเปรียบเทียบกับมาตรฐานที่ WHO กำหนดนั้นเป็นเพียงส่วนหนึ่ง ยังต้องมีการทดสอบโดยละเอียดต่าง ๆ อีก (อรพิน ภูมิภมร, 2527) เช่น

1. การนำโปรตีนเซลล์เดียวมาทดลองกับสัตว์ทดลอง (หนู) เพื่อวัดคุณค่าทางอาหารจากการทดสอบ เช่น Protein Digestibility, PER, BV และ NPU เป็นต้น

2. ความปลอดภัยในการบริโภค เช่น ปริมาณกรดนิวคลีอิกที่มีปริมาณสูงในผลผลิตโปรตีนเซลล์เดียวและผลต่อลำไส้และกะเพาะอาหาร

5.6.2 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของ *T. viride* และ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* ที่ผ่านการสกัด

จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของ *T. viride* และ *T. viride* รวมกับ *C. utilis* พบว่า กรดอะมิโนของ *T. viride* และ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* จะสอดคล้องกับรายงานของ Peiterson (1975b) ที่รายงานผลกรดอะมิโนจากการหมักฟางข้าวบาร์เล่ย์ด้วย *T. viride* และ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* ว่ามีกรดอะมิโนใกล้เคียงกัน เมื่อเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ของ *T. viride* และ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* กับมาตรฐานกรดอะมิโนที่ WHO กำหนด พบว่า กรดอะมิโนของ *T. viride* และ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* จะให้ผลเป็นที่น่าพอใจดังมาตรฐานกรดอะมิโนที่ WHO กำหนดดังตารางที่ 15 นอกจากปริมาณ cystine ที่มีต่ำกว่า การที่นำกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมาเปรียบเทียบกับมาตรฐาน WHO กำหนด เนื่องจากว่ากรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายตาม WHO กำหนดนั้นเป็นปริมาณต่ำสุดที่ร่างกายต้องการสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนของร่างกาย และเมื่อเปรียบเทียบกับกรดอะมิโนของ เนื้อ, ปลา, นมผง และถั่วเหลือง (ภาคผนวก ง.) ก็จะให้ผลที่ดีกว่า แต่การนำผลผลิตโปรตีนเซลล์เดียวมาเป็นอาหารคนก็ควรพิจารณาถึงความปลอดภัยเช่นเดียวกับ 5.6.1

5.7 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านการสกัด

5.7.1 จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของ *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis* ที่ผ่านการสกัดเซลล์โปรตีน พบว่า ปริมาณกรดอะมิโนของ *Cellulomonas* sp.และ *A. faecalis* มีปริมาณสูงกว่าเซลล์โปรตีนที่ไม่ได้ผ่านการสกัด เนื่องจาก ผลของการสกัดจะแยกเอาองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น ไกลแคน หรือ โพลีแซคคาไรด์ กรดไทโคอิก เป็นต้น (นุ่มนวล อุดมพงษานนท์, 2527) ออกจากโปรโตพลาสึมทำให้กรดอะมิโนของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านการสกัดมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ของแบคทีเรียผสมที่ผ่านการสกัดกับปริมาณกรดอะมิโนมาตรฐานที่ WHO กำหนด พบว่า กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของเซลล์แบคทีเรียจะมีค่า เป็นที่น่าพอใจตามมาตรฐานกรดอะมิโน WHO กำหนดตามตารางที่ 14 นอกจากปริมาณ cystine ที่มีต่ำกว่า การที่นำกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมาเปรียบเทียบกับมาตรฐาน WHO กำหนด สำหรับร่างกายที่ต้องการสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนภายในร่างกาย

5.7.2 จากการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะมิโนของ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* ที่ผ่านการสกัดโปรตีน พบว่า ปริมาณกรดอะมิโนของ *T. viride* ร่วมกับ *C. utilis* มีปริมาณสูงขึ้น เนื่องจาก ผลของการสกัดจะแยกเอาองค์ประกอบของผนังเซลล์ที่ไม่ใช่โปรตีน เช่น ไกลแคน หรือโพลีแซคคาไรด์ กรดไทโคอิก เป็นต้น (นุ่มนวล อุดมพงษานนท์, 2527) ออกจากโปรโตพลาสึมทำให้กรดอะมิโนของโปรตีนเซลล์เดียวที่ผ่านการสกัดมีปริมาณสูงขึ้น เมื่อเปรียบเทียบกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมนุษย์ของแบคทีเรียผสมที่ผ่านการสกัดกับปริมาณกรดอะมิโนมาตรฐานที่ WHO กำหนด พบว่า กรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของเซลล์แบคทีเรียจะมีค่า เป็นที่น่าพอใจตามมาตรฐานกรดอะมิโน WHO กำหนดตามตารางที่ 14 นอกจากปริมาณ cystine ที่มีต่ำกว่า การที่นำกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายมาเปรียบเทียบกับมาตรฐาน WHO กำหนด สำหรับร่างกายที่ต้องการสำหรับการสังเคราะห์โปรตีนภายในร่างกาย

5.8 สรุปผลการทดลอง

5.8.1 ลิกนินที่คงเหลืออยู่ในฟางข้าวที่ผ่านการเตรียมขั้นต้นมีประมาณ 10.6 เปอร์เซนต์ต่อน้ำหนักแห้งของฟางข้าว จะทำหน้าที่ป้องกันเซลลูโลสจากการย่อยสลายด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ทำให้มีผลกระทบต่อแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส มีความพยายามที่จะปรับปรุงเพื่อเพิ่มแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส โดยอาศัยคุณสมบัติของจุลินทรีย์ด้วยวิธีการ คือ

5.8.1.1 การใช้ buffer medium เพื่อควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเหลวให้มีค่าใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสม ในระหว่างการหมักฟางข้าวแบบ single culture ด้วย *Cellulomonas* sp. หรือ *T. viride* ซึ่งทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส มีแนวโน้มสูงกว่าการหมักฟางข้าวที่ไม่ใช้ buffer medium เช่นเดียวกับการหมักแบบ mixed cultures ด้วย *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* และ *T. viride* กับ *C.utilis* ที่ใช้ buffer medium ก็จะทำให้แอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสมีแนวโน้มสูงกว่าการหมักแบบ mixed cultures ที่ไม่ใช้ buffer medium สรุปได้ว่า การหมักฟางข้าวที่มีการใช้ buffer medium จะช่วยเร่งให้มีแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสสูงขึ้น

5.8.1.2 การหมักฟางข้าวแบบ mixed culture ด้วยการใช้ *A. faecalis* ร่วมกับ *Cellulomonas* sp. หรือ *C. utilis* ร่วมกับ *T. viride* จะช่วยเร่งให้แอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส มีแนวโน้มสูงกว่าการหมักฟางข้าวแบบ single culture

5.8.2 ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก คือ ส่วนที่เป็นจุลินทรีย์ร่วมกับฟางข้าวหมักที่เกิดขึ้นจากการหมักฟางข้าวแบบ single culture ด้วย *Cellulomonas* sp. หรือ *T. viride* ที่มีการใช้ buffer medium เพื่อควบคุมพีเอชของอาหารเลี้ยงเหลว ให้มีค่าใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสม ทำให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมัก มีแนวโน้มสูงกว่าการหมักฟางข้าวที่ไม่ใช้ buffer medium เช่นเดียวกับการหมักแบบ mixed cultures ด้วย *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* และ *T. viride* กับ *C.utilis* ที่ใช้ buffer medium ก็จะทำให้ปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักมีแนวโน้มสูงกว่าการหมักแบบ mixed cultures ที่ไม่ใช้ buffer medium สรุปได้ว่า การหมักฟางข้าวที่มีการใช้ buffer medium จะช่วยเร่งให้มีปริมาณโปรตีนของฟางข้าวหมักเพิ่มขึ้น

5.8.3 ในระหว่างการหมักฟางข้าวด้วยจุลินทรีย์แบบ single culture หรือ mixed culture จะเกิดน้ำตาลรีดิวซ์ขึ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวเข้มข้น ไม่เกิน 0.8 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ทำให้ไม่มีผลกระทบต่อการเกิดปฏิกิริยา คะตาโบลิก รีเพรชชั่น

5.8.4 ปริมาณโปรตีนของผลผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากการหมักฟางข้าวแบบ mixed culture ด้วย *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* และ *T. viride* กับ *C.utilis* มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 31.67 และ 15.67 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนเซลล์เดียว และการหมักฟางข้าวแบบ single culture ด้วย *Cellulomonas* sp. และ *T. viride* มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 26.57 และ 13.08 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนเซลล์เดียวส่วนปริมาณโปรตีนจากการสกัดโปรตีนของ *Cellulomonas* sp.ร่วมกับ *A. faecalis* และ *T. viride* ร่วมกับ *C.utilis* มีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 32.56 และ 17.53 กรัมต่อ 100 กรัมโปรตีนเซลล์เดียว

5.8.5 ปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายที่มีอยู่ของ *Cellulomonas* sp., *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis*, *T. viride* และ *T. viride* กับ *C.utilis* ที่ได้จากการหมักฟางข้าวจะมีปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายเป็นที่น่าพอใจ เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณที่ WHO อ้างถึง นอกจาก cystine ที่มีปริมาณต่ำกว่า ส่วนปริมาณกรดอะมิโนที่จำเป็นต่อร่างกายของ *Cellulomonas* sp. ร่วมกับ *A. faecalis* และ *T. viride* ร่วมกับ *C.utilis* จากการสกัดโปรตีนจะมีปริมาณสูงขึ้น แต่ก็มี cystine ต่ำเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบกับอาหารโปรตีนบางชนิดและปริมาณที่ WHO กำหนดก็จัดได้ว่าโปรตีนจากจุลินทรีย์มีปริมาณกรดอะมิโนเป็นที่น่าพอใจ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการผลิตโปรตีนเซลล์เดียวจากฟางข้าว ดังผลการศึกษาที่กล่าวมาแล้วในข้างต้น แต่มีปัจจัยที่น่าสนใจและควรนำมาพิจารณาร่วม คือ

1.การเลือกใช้จุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายฟางข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพกว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลองนี้ หรือใช้การปรับปรุงสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

2.การปรับปรุงกรรมวิธีการเตรียมฟางข้างขั้นต้นเพื่อที่จทำให้เกิด depolymerization, decrystallization และ delignification ของฟางข้าวให้เหมาะสมกับจุลินทรีย์ที่จะสามารถผลิตเอนไซม์ได้สูงสุด

จากข้อมูลที่ได้รับจากงานวิจัยนี้เพื่อเป็นพื้นฐานสำหรับการทดลองต่อไป สิ่งที่น่าสนใจ คือ การใช้แหล่งเซลลูโลสจากวัตถุดิบชนิดต่าง ๆ ผสมกัน เช่น ฟางข้าวผสมกับรำข้าว ซึ่งน่าจะมีแนวโน้มที่เป็นไปได้ด้วยดี สำหรับการศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและผลผลิตโปรตีนเซลล์เดียว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย