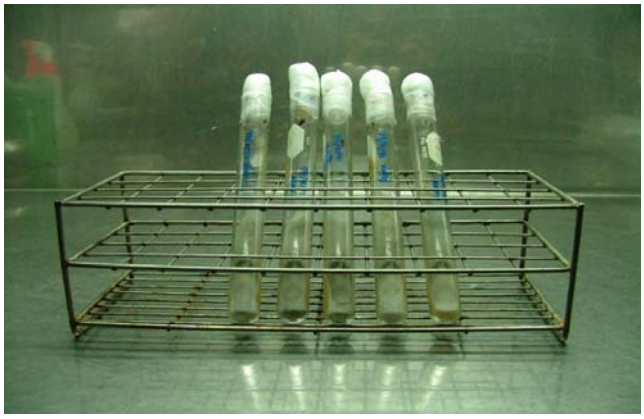
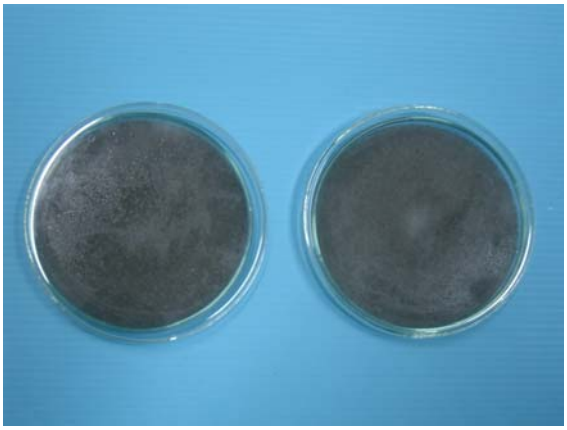
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

1. การเตรียมต้นเชื้อรา *R. oligosporus* สำหรับการศึกษาสภาวะในระดับห้องปฏิบัติการ

การศึกษาการเตรียมต้นเชื้อ *R. oligosporus* โดยนำต้นเชื้อสด *R. oligosporus* ในสแลนด์ แสดงดังภาพที่ 7 มาเขี่ยเชื้อเพื่อเพาะเลี้ยงรา *R. oligosporus* บนอาหารวุ้นที่ทำจากมันฝรั่ง potato dextrose agar (PDA) เป็นเวลา 4 วัน พบว่าราจะมีลักษณะการเจริญที่เปลี่ยนแปลง ในวันแรกที่ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราสร้างเส้นใยสีขาวแผ่ไปโดยรอบ และจะเริ่มสร้าง สปอร์เมื่อเวลาผ่านไป 2 วัน จากนั้นจะสร้างสปอร์และเจริญเติบโตเต็มที่จนเต็มจานเลี้ยงเชื้อที่เวลา 3-4 วันได้แสดงไว้ในภาพที่ 8 และได้ทำการขยายขนาดของรา *R. oligosporus* ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราลงบนปลายข้าวในถาด พบว่า เชื้อราจะเจริญได้ดี โดยลักษณะการเจริญของราจะเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวในวันที่ 2 และมีกลิ่นคล้ายข้าวสุก เส้นใยจะหนาและฟูกขึ้นในวันที่ 3 และเริ่มสร้างสปอร์สีเทาดำเมื่อครบ 4 วัน จึงสร้างสปอร์ขึ้นเต็มถาด ดังแสดงในภาพที่ 9 ลักษณะของเมล็ดข้าวหลังจากที่ราเจริญแล้วนั้นจะแห้ง ทั้งนี้อาจเป็นผลเนื่องมาจากถาดมีลักษณะของภาชนะที่เปิดกว้าง ทำให้ความชื้นของปลายข้าวที่อยู่สูญเสียได้มากกว่าในสแลนด์ เมื่อทำการอบแห้งที่ 45 องศาเซลเซียส ใช้เวลา 4 วันในการทำให้แห้ง และทำการนับจำนวนสปอร์พบว่าเท่ากับ 6.62×10^{9} สปอร์ต่อกรัมวัสดุหมักแห้ง จากนั้นจัดเก็บผงต้นเชื้อในขวดรูปชมพู่ ดังแสดงในภาพที่ 10 เพื่อเตรียมสำหรับใช้ในการทดลองต่อไป



ภาพที่ 7 ต้นเชื้อสด *R. oligosporus* ในสแลนด์



ภาพที่ 8 รา *R. oligosporus* บนอาหารวุ้น

ภาพที่ 9 การหมักรา *R. oligosporus* บนปลายข้าวในถาด

ภาพที่ 10 ต้นเชื้อในรูปของผงของ รา *R. oligosporus*

2. <u>ผลของระดับความชื้นที่เหมาะสม</u>

การทดลองนี้เป็นการทดลองเพื่อศึกษาระดับความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของรา *R oligosporus* บนรำข้าวสาลีในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยทดลองปรับอัตราส่วนรำข้าวสาลีต่อน้ำที่อัตราส่วนต่าง ๆ เพื่อให้ได้ความชื้นของรำข้าวสาลีเริ่มต้นที่ 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ โดยผลการทดลองวิเคราะห์ตัวแปรที่เป็นตัวบ่งชี้การเจริญของรา *R oligosporus* ต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสเป็นดังนี้

2.1 ผลของการศึกษาปริมาณกิจกรรมไลเปสที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก

เอนไซม์ที่สร้างขึ้นในเซลล์จะถูกขับออกมาภายนอกเซลล์ของจุลินทรีย์ และจะถูกปล่อยออกมาในช่วงปลายของการเจริญของช่วงระยะเติบโตทวีคูณ ซึ่งเป็นช่วงที่สารอาหารเริ่มขาดแคลนสารอาหาร (Suzuki *et al.*, 1988) จากการทดลองโดยใช้วัสดุหมักมีความชื้นเริ่มต้น 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ ในภาพที่ 11 พบว่าที่ความชื้นเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลเปส 3.93 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 120 ส่วนที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลเปส 7.83 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 96 และที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลเปส 8.60 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 144 ความชื้นเริ่มต้นที่ 55 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นความชื้นเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตไลเปส

2.2 ผลของการศึกษาปริมาณกลูโคซามีนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก

ปริมาณกลูโคซามีนเป็นตัวบ่งชี้การเจริญของรา เนื่องจากกลูโคซามีนเป็นสารประกอบที่พบบริเวณผนังเซลล์ของรา ดังนั้นปริมาณกลูโคซามีนที่สกัดได้จากตัวอย่างจะทำให้ทราบความสามารถในการเจริญและการสร้างเส้นใยของรา *R. oligosporus*

จากภาพที่ 12 พบว่าปริมาณกลูโคซามีนมีแนวโน้มที่เพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น การทดลองที่ระดับความชื้นของวัสดุหมักรำข้าวสาลีเริ่มต้น 50 เปอร์เซ็นต์จะมีปริมาณกลูโคซามีนสูงสุด 31.55 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 144 ที่ระดับความชื้นเริ่มต้นเป็น 55 เปอร์เซ็นต์จะมีปริมาณกลูโคซามีนสูงสุด 28.76 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมัก

แห้งชั่วโมงที่ 144 ส่วนที่ระดับความชื้นเริ่มต้นเป็น 60 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณกลูโคซามีน 44.96 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 144

2.3 ผลของการศึกษาความชื้นเริ่มต้นและการเปลี่ยนแปลงความชื้นระหว่างการหมัก

เมื่อรา *R. oligosporus* เจริญจากชั่วโมงที่ 0 จนถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่ารำข้าวสาลีจะมีระดับความชื้นในวัสดุหมักซึ่งได้แก่รำข้าวสาลีจะสูงขึ้นเรื่อย ๆ แสดงได้ดังภาพที่ 13 โดยราจะเริ่มสร้างเส้นใยสีขาวบางๆ เล็กน้อยในชั่วโมงที่ 12 และเส้นใยสีขาวจะเต็มทั่วทั้งฟลาสก์ในชั่วโมงที่ 24 และในชั่วโมงที่ 36 ก่อนจะเริ่มสร้างสปอร์ เหตุที่สร้างสปอร์เร็วเนื่องจากภายในฟลาสก์มีสภาวะที่ไม่เหมาะสม ราจึงต้องสร้างสปอร์เพื่อความอยู่รอดและจากการสังเกตมีหยดน้ำเกาะอยู่ที่ผิวด้านในของฟลาสก์ ทั้งนี้เนื่องจากเมื่อจุลินทรีย์เจริญจะมีการใช้ก๊าซออกซิเจนในกระบวนการเมแทบอลิซึมของกลูโคสที่ได้จากการย่อยแป้งในรำข้าวสาลี ซึ่งผลลัพธ์ที่ได้คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ น้ำและพลังงาน ดังนั้นความชื้นของระบบที่เพิ่มขึ้นแสดงให้เห็นว่ามีการเจริญของ *R. oligosporus*

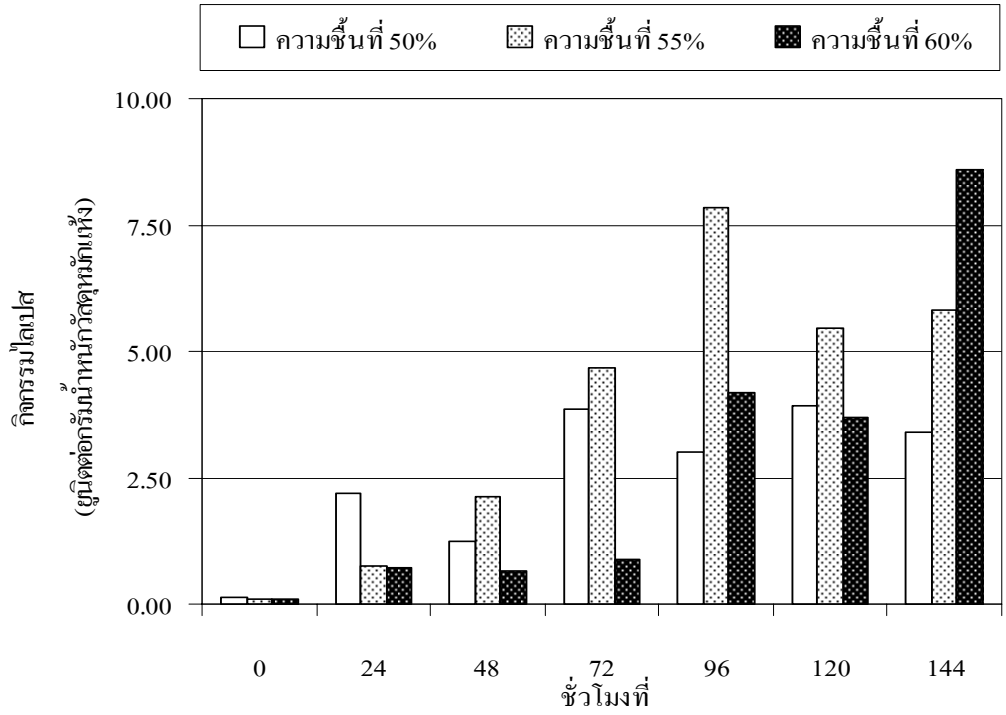
จากภาพที่ 13 จะเห็นได้ว่าลักษณะการเพิ่มขึ้นของระดับความชื้นของทุกการทดลองที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ จะมีลักษณะไปในแนวโน้มเดียวกัน โดยระดับความชื้นของทุกการทดลองจะเพิ่มขึ้นจนถึงชั่วโมงที่ 144 โดยเพิ่มขึ้น 5-15 เปอร์เซ็นต์จากระดับความชื้นเริ่มต้นที่ชั่วโมงที่ 0

2.4 ผลของการเปลี่ยนแปลงพีเอชระหว่างการหมัก

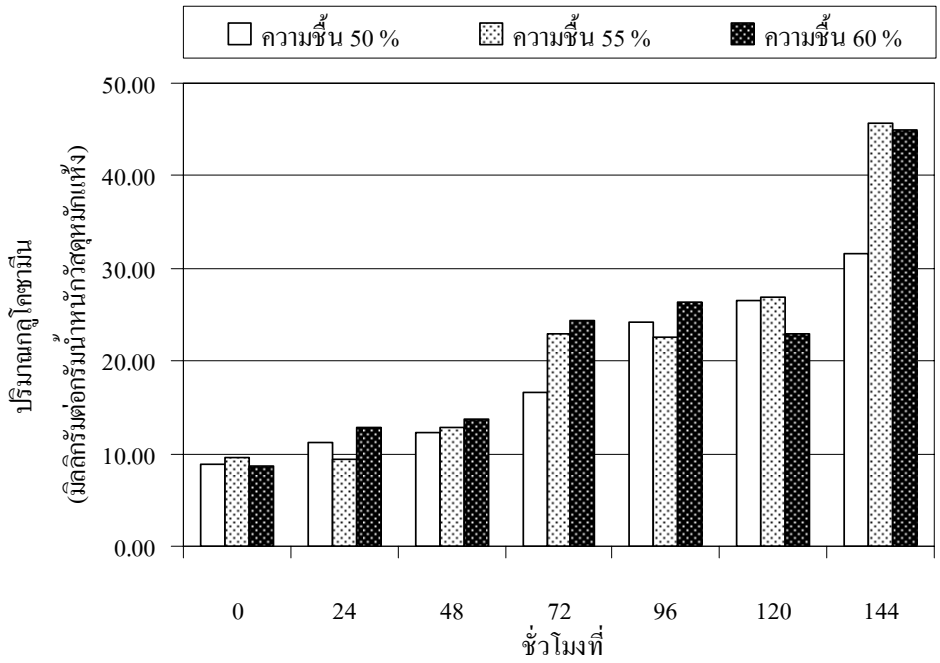
การทดลองนี้ไม่มีการควบคุมพีเอชเริ่มต้นของรำข้าวสาลี เนื่องจากการเจริญของ *R. oligosporus* ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ เมื่อค่าพีเอชเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 4-6.3 (Nagel *et al.*, 1999) จากภาพที่ 14 แสดงค่าพีเอชที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการเจริญของรา *R. oligosporus* จะพบว่าพีเอชของทุกการทดลองที่ควบคุมให้ระดับความชื้นเริ่มต้นเป็น 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์ จะอยู่ในช่วงพีเอชระหว่าง 5-6 เมื่อระยะเวลาการหมักเวลาผ่านไปค่าพีเอชมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย

ค่าพีเอชเป็นเพียงตัวบ่งชี้ถึงชนิดผลิตภัณฑ์ที่จุลินทรีย์สร้าง โดยจุลินทรีย์ที่สร้างผลิตภัณฑ์ประเภทกรดออกมาทำให้ค่าพีเอชลดลง หรือจุลินทรีย์มีการย่อยสารประกอบไนโตรเจนจะให้ให้ผลผลิตเป็นแอมโมเนียออกมา ทำให้ค่าพีเอชสูงขึ้น

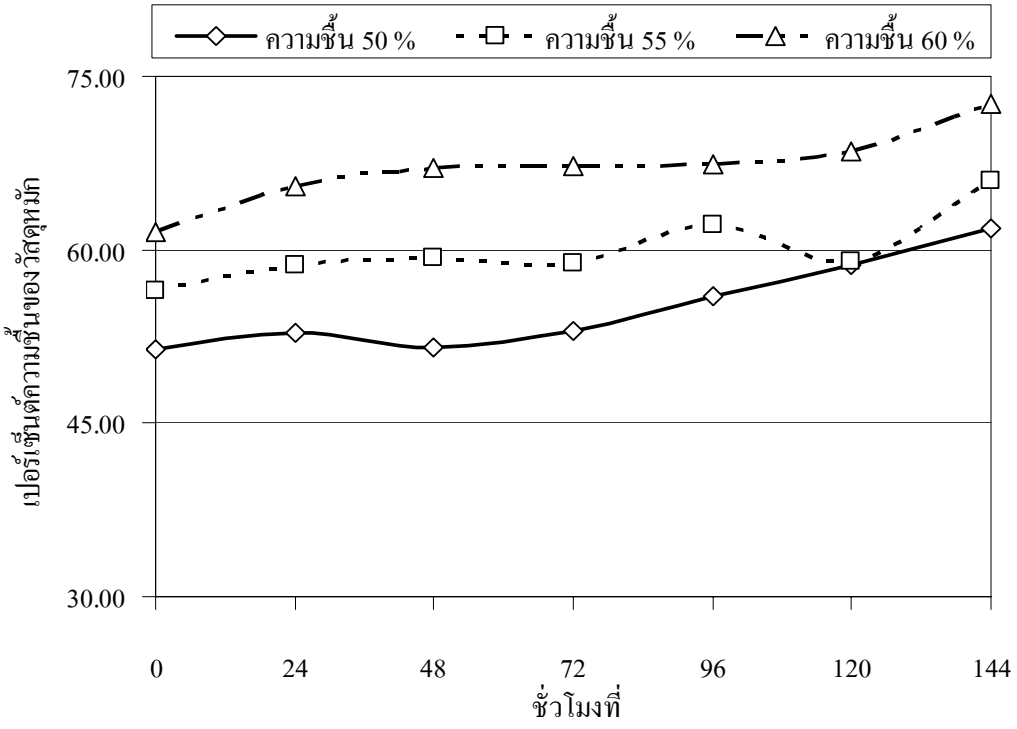
ดังนั้นในการทดลองส่วนนี้ วัสดุหมักรำข้าวสาลีที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปส ทั้งนี้เพราะมีค่ากิจกรรมไลเปสที่สูงในชั่วโมงที่ 96 ถึงแม้ว่าที่วัสดุหมักรำข้าวสาลีที่ระดับความชื้นเริ่มต้น 60 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลเปสที่สูงกว่า แต่อยู่ในชั่วโมงที่ 144 ซึ่งจะเป็นการสิ้นเปลืองการค่าใช้จ่ายในการหมักและใช้ระยะเวลาในการหมักนานเกินไป โดยจะเห็นได้ว่าค่าของกิจกรรมไลเปสของระดับความชื้นเริ่มต้นทั้งสองนั้นมีค่าใกล้เคียงกัน แต่ในขณะที่ช่วงระยะเวลาการหมักห่างกันถึง 2 วัน (48 ชั่วโมง)



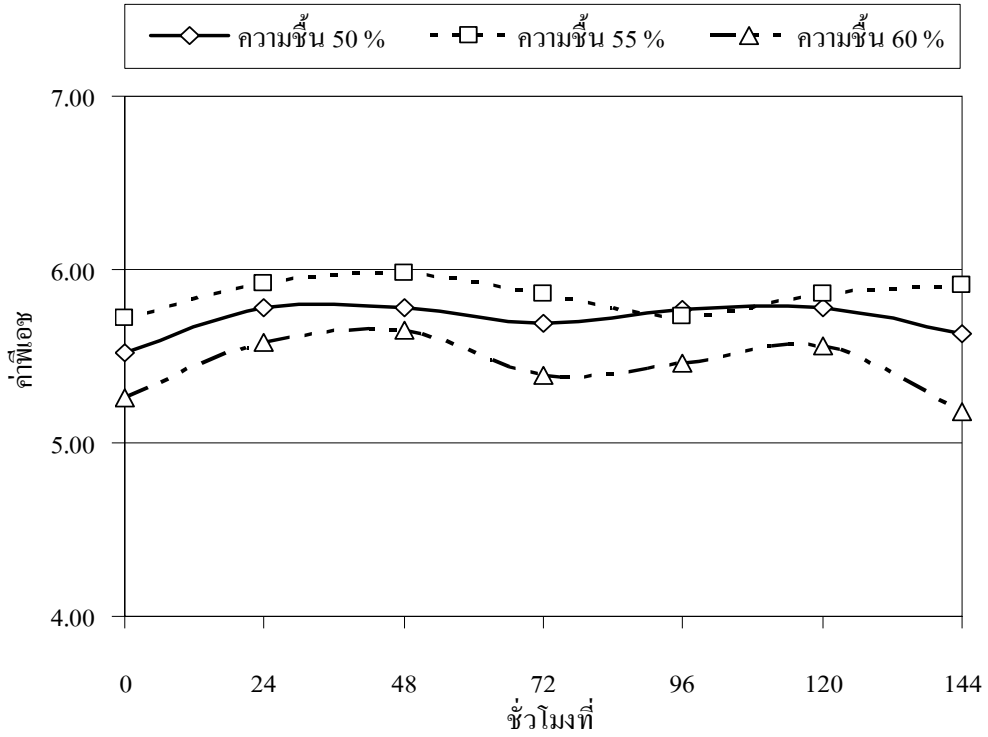
ภาพที่ 11 การเปลี่ยนแปลงค่ากิจกรรมไลเปสบนรำข้าวสาลีที่ความชื้นเริ่มต้น 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคซามีนบนรำข้าวสาลีที่ความชื้นเริ่มต้น 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 13 การเปลี่ยนแปลงระดับความชื้นบนรำข้าวสาลีที่ความชื้นเริ่มต้น 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 14 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชบนรำข้าวสาลีที่ความชื้นเริ่มต้น 50 55 และ 60 เปอร์เซ็นต์

3. ผลของการศึกษาชนิดของวัสดุหมักที่เหมาะสม

เนื่องจากประเทศไทยมีธัญพืชหลายชนิด ในการศึกษาจึงทดลองนำวัตถุดิบทางการเกษตรอื่น ๆ ที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบมาใช้ได้แก่ รำละเอียด ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง งา กากถั่วเหลือง และรำข้าวสาลี ในการผลิตเอนไซม์ไลเปสของรา *R. oligosporus* แสดงไว้ดังตารางที่ 7 ซึ่งอาจจะเป็นการกระตุ้นการผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ โดยในปี 2547 สาโรจน์พบว่าวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์สามารถผลิตเอนไซม์ไลเปสได้ เราจึงนำสัดส่วนผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่องาเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์มาเป็นวัสดุหมัก (เนื่องจากงาเป็นวัตถุดิบทางการเกษตรที่มีราคาสูง) เราจึงนำงาและรำข้าวสาลีมาผสมกัน โดยปรับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักให้ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นระดับความชื้นที่เหมาะสมที่สุดต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของ *R. oligosporus* (ผลจากการทดลองที่ 2)

3.1 ผลของการศึกษาปริมาณกิจกรรมไลเปสที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก

การผลิตเอนไซม์ไลเปสของวัสดุหมัก คือ รำละเอียด ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง งา และรำข้าวสาลี อย่างละ 100 เปอร์เซ็นต์ วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่องาเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ ทำการปรับความชื้นเริ่มต้นที่ 55 เปอร์เซ็นต์ จากภาพที่ 15 จะเห็นว่าการผลิตเอนไซม์เริ่มตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 พบว่าชนิดของวัสดุหมัก คือ เมล็ดทานตะวันมีค่ากิจกรรมไลเปส 1.97 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 48 ส่วนวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด 5.42 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 72 และในชั่วโมงที่ 96 มีวัสดุหมักที่ให้ค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุดดังนี้ รำข้าวสาลีมีค่ากิจกรรมไลเปส 7.83 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ถั่วเหลืองมีค่ากิจกรรมไลเปส 4.85 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง งามีค่ากิจกรรมไลเปส 3.34 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่องาเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์มีค่ากิจกรรมไลเปส 2.31 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ถั่วลิสงมีค่ากิจกรรมไลเปส 2.12 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และรำละเอียด ซึ่งจะเห็นว่าค่ากิจกรรมไลเปสที่ต่ำสุด 0.58 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมัก (ภาพที่ 15) เนื่องจากเมื่อทำการปรับความชื้นเริ่มต้นที่ 55 เปอร์เซ็นต์ รำละเอียดจะจับตัวเป็นก้อนแน่นทำให้ราไม่สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์ได้ เช่นเดียวกันกับวัสดุหมัก ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง ที่มีลักษณะดังกล่าว ซึ่งแตกต่างจากรำข้าวสาลีเมื่อปรับความชื้นจะมีลักษณะที่ร่วน ทำให้มีการถ่ายเทอากาศได้ดีกว่า

3.2 ผลของการศึกษาปริมาณกลูโคซามีนที่เปลี่ยนแปลงระหว่างการหมัก

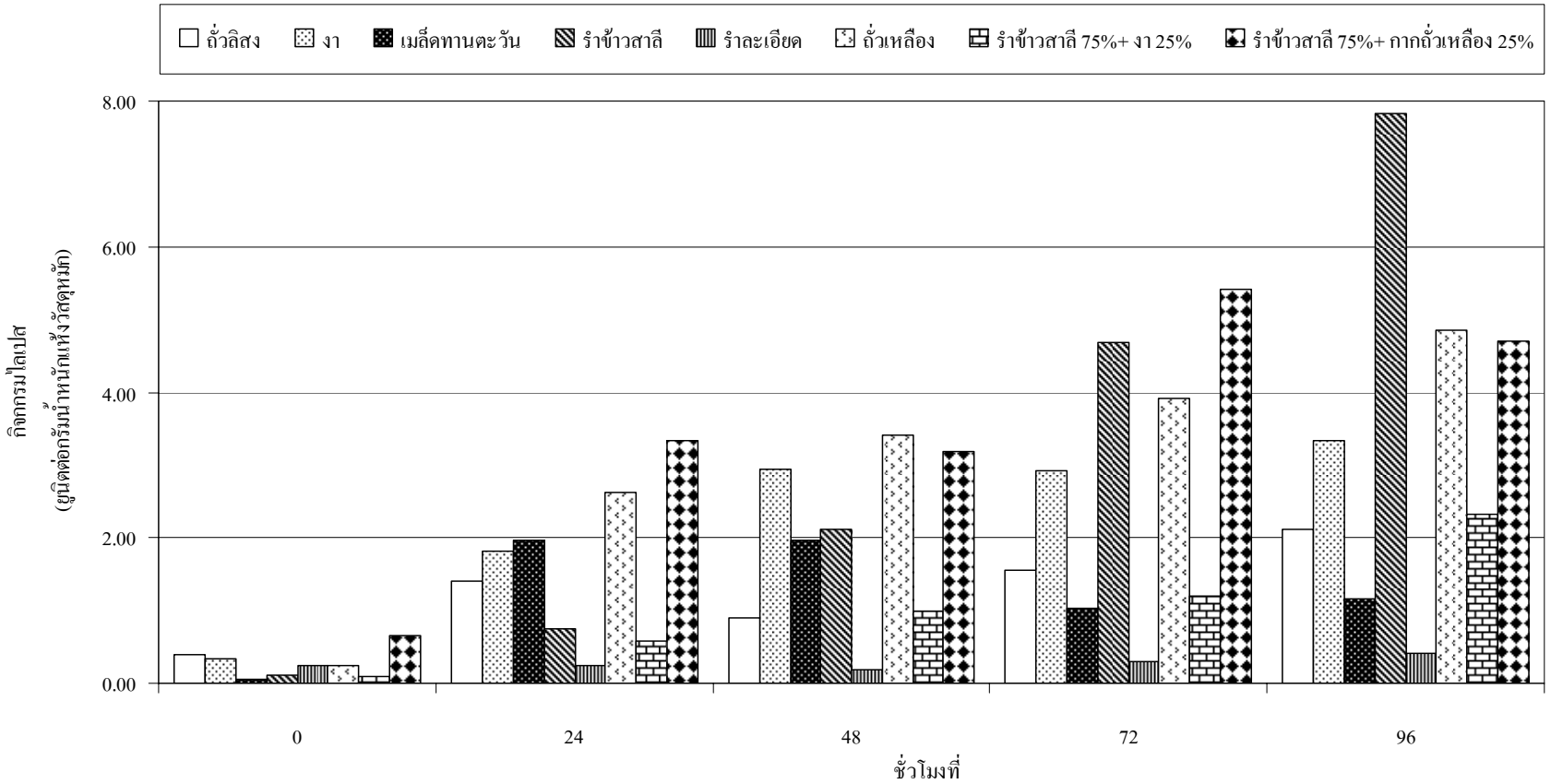
จากภาพที่ 16 จะพบว่าปริมาณกลูโคซามีนของแต่ละชนิดของวัสดุหมัก คือ รำละเอียด ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง งา รำข้าวสาลี วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่องาเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ และวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ มีแนวโน้มที่จะเพิ่มสูงขึ้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งแสดงว่ามีการเจริญของราที่ดี โดยชนิดของวัสดุหมัก ถั่วเหลืองมีปริมาณกลูโคซามีนสูงสุด 50.86 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และชนิดของวัสดุหมักที่มีปริมาณกลูโคซามีนรองลงมาคือ งา ถั่วลิสง วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่องาเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ เมล็ดทานตะวัน รำละเอียด วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ และรำข้าวสาลี

ดังนั้นในการทดลองส่วนนี้ จึงเลือกวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์เป็นวัสดุหมักซึ่งมีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด แม้จะมีค่ากิจกรรมไลเปสน้อยกว่าวัสดุหมักรำข้าวสาลี 100 เปอร์เซ็นต์ในชั่วโมงที่ 96 แต่เนื่องจากวัสดุหมักรำข้าวสาลีเป็นสินค้าที่นำเข้าจากต่างประเทศจึงมีราคาแพง ซึ่งถ้าหากเราเลือกวัสดุหมักรำข้าวสาลี 100 เปอร์เซ็นต์จะทำให้มีค่าใช้จ่ายในการหมักค่อนข้างสูง ในขณะที่กากถั่วเหลืองที่นำมาใช้เป็นสัดส่วนผสมเป็นวัสดุดิบเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรม จึงเป็นการประหยัดค่าใช้จ่ายในการหมักได้และใช้ระยะเวลาในการหมักของวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีและกากถั่วเหลืองมีค่ากิจกรรมไลเปสในชั่วโมงที่ 72 เร็วกว่าวัสดุหมักรำข้าวสาลี 100 เปอร์เซ็นต์ถึง 1 วัน (24 ชั่วโมง)

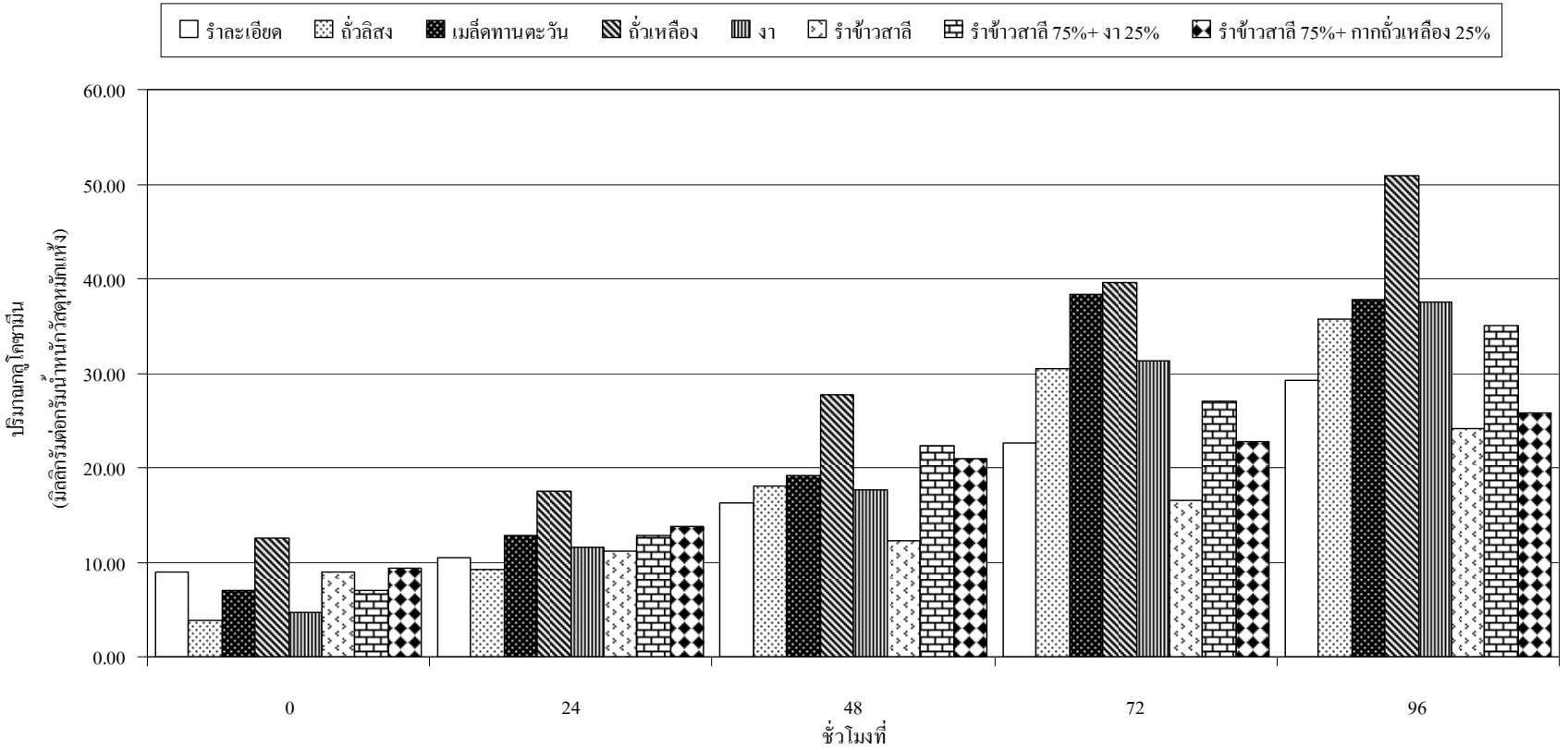
ตารางที่ 7 องค์ประกอบทางเคมีของวัสดุหมัก

องค์ประกอบ / ธัญพืช	ความชื้น	โปรตีน	ไขมัน	คาร์โบไฮเดรต	เอกสารอ้างอิง
งาดำ	5.26	17.62	48.10	21.25	กรมส่งเสริมการเกษตร (2525)
ถั่วเหลือง	8.42	35.60	17.78	32.32	กรมส่งเสริมการเกษตร (2525)
รำข้าวสาลี	14.00	3.50	12.05	52.00	พัธกุล (2525)
รำละเอียด	NA	14.30	12.05	65.50	พัธกุล (2525)
ถั่วลิสง	5.00	28.50	47.50	20	Woodroof (1983)
เมล็ดทานตะวัน	7.00	25.00	40.00	20.00	กองเกษตรเคมี (2528)
กากถั่วเหลือง	10.00	44.00	2.50	NA	กองอาหารสัตว์ (2547)

หมายเหตุ: (NA) = ไม่มีรายงาน



ภาพที่ 15 การเปลี่ยนแปลงค่ากิจกรรมไลเปสบนวัสดุหมัก รำละเอียด ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง งา รำข้าวสาลี 100 เปอร์เซ็นต์ วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่องาเป็น 75:25 เปอร์เซ็นต์ และวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75:25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 55 เปอร์เซ็นต์



ภาพที่ 16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคซามีนบนวัสดุหมัก รำละเอียด ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง งา รำข้าวสาลี 100 เปอร์เซ็นต์ วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่องาเป็น 75:25 เปอร์เซ็นต์ และวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75:25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 55 เปอร์เซ็นต์

4. <u>ผลของการเติมยูเรียและกลูโคสที่เหมาะสม</u>

ทำการหมักวัสดุหมักผสมที่มีสัดส่วนระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองที่ 3 ลงในฟลาสก์โดยทำการปรับความชื้นให้ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสารละลายเกลือแร่ที่ประกอบด้วยปริมาณกลูโคส 3 และ 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และปริมาณยูเรีย 1 และ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ทำการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมไลเปส และปริมาณกลูโคซามีน

จากภาพที่ 17 พบว่าเมื่อวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ที่มีการเติมปริมาณยูเรียต่อกลูโคส 1:3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด 13.06 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งในชั่วโมงที่ 84 ปริมาณยูเรียต่อกลูโคส 1.5:3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด 10.71 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 84 ปริมาณยูเรียต่อกลูโคส 1:8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด 11.54 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 72 และปริมาณยูเรียต่อกลูโคส 1.5:8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด 18.13 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 84 ซึ่งเมื่อเทียบกับเมื่อไม่เติมยูเรียลงในวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์เลยจะมีค่ากิจกรรมไลเปส 5.42 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 72

จากผลการทดลองที่ 4 เมื่อไม่เติมยูเรียลงในวัสดุหมักผสมเลยจะมีปริมาณกลูโคซามีนเท่ากับ 25.86 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง จากภาพที่ 18 พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณยูเรียลงไปในระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และปริมาณกลูโคส 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้งจะทำให้ปริมาณกลูโคซามีนมีค่าสูงสุดถึง 28.97 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง การที่เติมยูเรียลงไปแล้วทำให้มีปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้น เนื่องจากรามีการเจริญดีขึ้น ทั้งนี้ยูเรียเป็นแหล่งของไนโตรเจนให้กับรา โดยราสามารถนำไนโตรเจนจากยูเรียไปใช้ในการเจริญโดยเปลี่ยนไนโตรเจนจากยูเรียให้เป็นไนโตรเจนในตัวราเองซึ่งจะอยู่ในรูปของโปรตีนซึ่งเมื่อเติมลงไปในปริมาณที่เหมาะสมจึงจะทำให้ราเจริญได้ดี ในทางกลับกันหากเติมยูเรียมากจนเกินไปจะเกิดผลเสียต่อรา

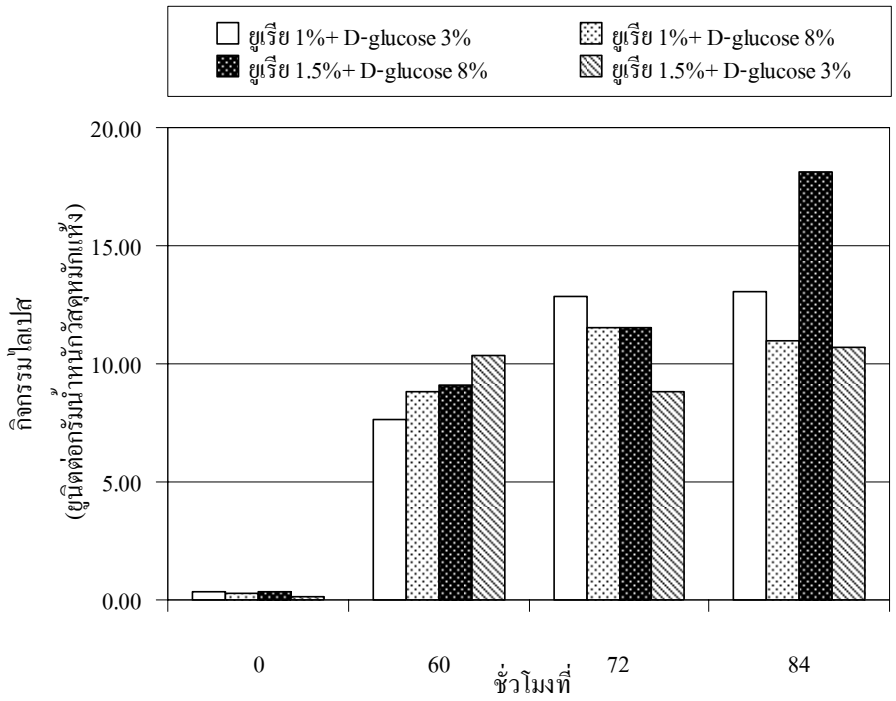
นอกจากนี้การเติมกลูโคสให้กับรา เพื่อใช้ในกระบวนการสร้างพลังงานในระหว่างการเจริญ ราสามารถนำไปใช้เป็นสารอาหารได้ง่าย และนำมาใช้เป็นแหล่งของคาร์บอนในกระบวนการเมตาบอลิซึมภายในเซลล์เพื่อใช้ในการเจริญซึ่งหมายถึงความอยู่รอดของเซลล์ ซึ่งเมื่อปริมาณกลูโกสหมดทำให้ราต้องใช้สารอาหารจากแหล่งอื่น ช่วงนี้ราจะเริ่มสร้างเอนไซม์ให้ออกมาย่อยวัสดุหมัก ทำให้มีปริมาณกลูโคซามีนสูงเรื่อย ๆ แสดงให้เห็นว่ารามีการเจริญได้ดี

ดังนั้นในการทดลองส่วนนี้ ทำการเลือกวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปส พบว่าวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์เพิ่มปริมาณยูเรียลงไปในระดับ 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และปริมาณกลูโคส 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้งมีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด 18.13 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ในชั่วโมงที่ 84

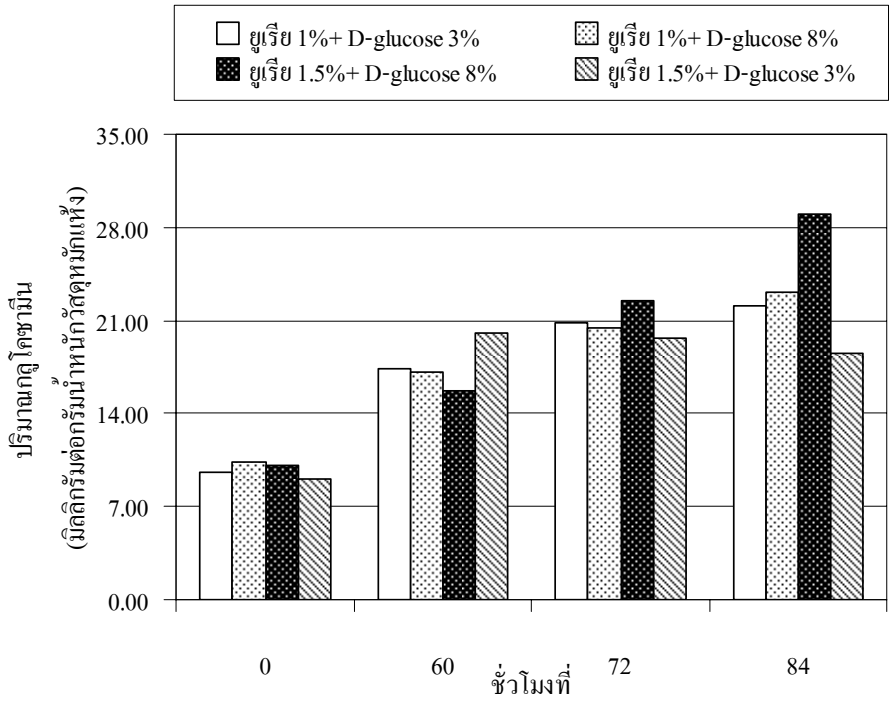
5. <u>ผลของการเติมน้ำมันบนวัสดุหมัก</u>

ทำการหมักวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ ในฟลาสก์ โดยทำการปรับความชื้นให้ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสาระละลายเกลือแร่ที่ประกอบด้วย ปริมาณ ปริมาณยูเรียและกลูโคส 1.5 และ 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ตามลำดับ ทำการเติมน้ำมัน 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง จากภาพที่ 19 พบว่าวัสดุหมักผสมที่ทำการเติมน้ำมันมีค่ากิจกรรมไลเปส 11.24 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 72 ซึ่งเมื่อเทียบกับเมื่อไม่เติมน้ำมันลงในวัสดุหมักมีค่ากิจกรรมไลเปส 18.13 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 84 ซึ่งมีค่าสูงกว่าประมาณ 38 เปอร์เซ็นต์ ส่วนของปริมาณกลูโคซามีนของวัสดุหมักที่มีการเติมน้ำมันลงไป 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง มีค่า 24.57 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง แสดงดังภาพที่ 20 ซึ่งเมื่อเทียบกับจากผลการทดลองที่ 4 ที่ไม่ทำการเติมน้ำมันลงในวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์เลยจะมีปริมาณกลูโคซามีนเท่ากับ 28.97 มิลลิกรัมต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง พบว่าการที่เติมน้ำมันลงในวัสดุหมักทำให้มีปริมาณกลูโคซามีนลดลงหมายความว่าราจะมีการเจริญที่ไม่ดี อาจเนื่องจากน้ำมันไปเคลือบผิวของวัสดุหมักทำให้ราไม่สามารถใช้สารอาหารเพื่อการเจริญได้ และน้ำมันถั่วเหลืองที่ทำการเติม ราอาจสามารถนำมาใช้ได้ทันที เนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองที่นำมาใช้ได้ถูกนำเอากรดไขมันอิสระออกไปแล้ว

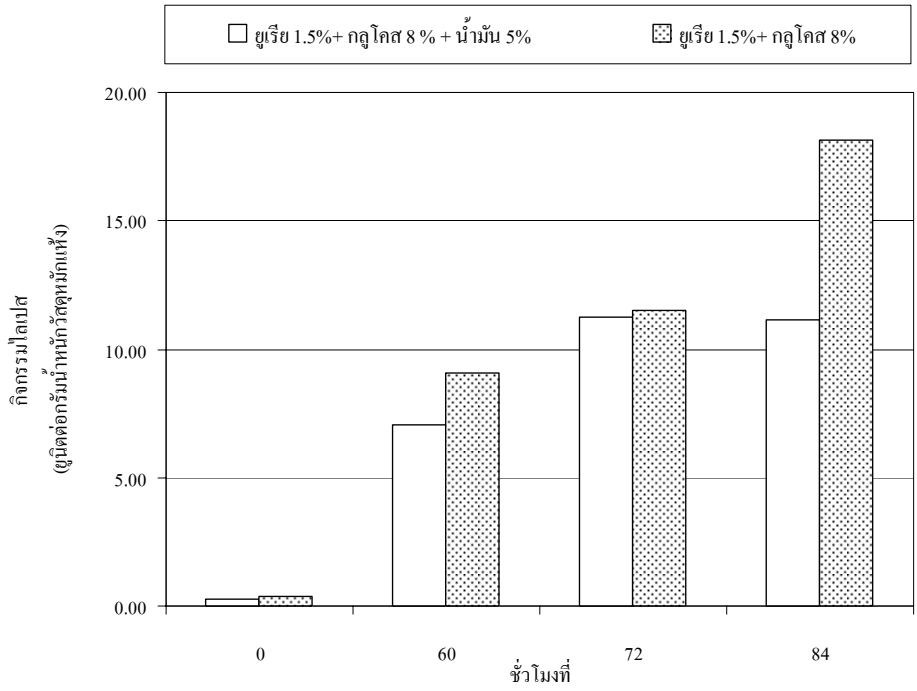
จากการทดลองในส่วนนี้ สรุปได้ว่า วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ ทำการปรับความชื้นให้ได้ 55 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสาระละลายเกลือแร่ที่ประกอบด้วยปริมาณยูเรีย 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และปริมาณกลูโคส 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง พบว่ามีค่ากิจกรรมไลเปสสูงกว่าการเติมน้ำมันลงในวัสดุหมัก



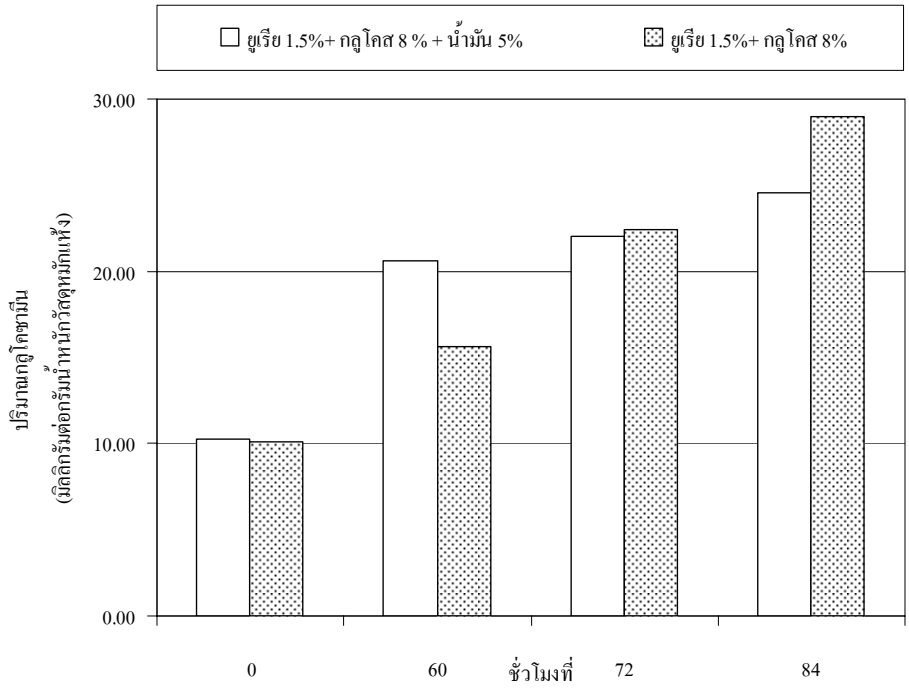
ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงค่ากิจกรรมไลเปสบนวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลือง เป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเติมยูเรียและกลูโคส



ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคซามีนบนวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ ที่มีการเติมยูเรียและกลูโคส



ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงค่ากิจกรรมไลเปสบนบนวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ กรณีที่มีการเติมน้ำมัน



ภาพที่ 20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคซามีนบนวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ กรณีที่มีการเติมน้ำมัน

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

งานวิจัยนี้ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของ *Rhizopus oligosporus* โดยกระบวนการหมักแบบแห้งบนวัสดุหมักชนิดต่าง ๆ ในระดับห้องปฏิบัติการ จากนั้นจึงนำสภาวะไปศึกษาสูตรอาหารที่ทำให้เกิดการผลิตเอนไซม์ของ *R. oligosporus* ในระดับห้องปฏิบัติการ ซึ่งผลการศึกษาสามารถสรุปได้ดังนี้

1. การศึกษาระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสของรา *R. oligosporus* เมื่อใช้รำข้าวสาลีเป็นวัสดุหมัก ทำการหมักด้วยต้นเชื้อ *R. oligosporus* 5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่า ที่ระดับความชื้นเริ่มต้นของรำข้าวสาลี 55 เปอร์เซ็นต์ จะมีการผลิตเอนไซม์ไลเปสสูงสุดมีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด คือ 7.83 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งในชั่วโมงที่ 96 และนำระดับความชื้นเริ่มต้นมาทำการศึกษาถึงวัสดุหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปส พบว่าจากการทดลอง วัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด คือ 5.42 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งในชั่วโมงที่ 72 จึงเลือกวัสดุหมักนี้มาทำการหาสูตรอาหารต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสต่อไป

2. จากการทดลองนำสัดส่วนวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ มาทำการหมักด้วยต้นเชื้อ *R. oligosporus* 1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง ปรับความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 55 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสารละลายเกลือแร่ที่ประกอบด้วยปริมาณยูเรีย 1.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง และปริมาณกลูโคส 8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง พบว่า มีค่ากิจกรรมไลเปสสูงกว่าที่ยังไม่ได้ทำการเติมยูเรียและกลูโคสถึง 70 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไลเปสในระดับห้องปฏิบัติการ และทำการศึกษาถึงความเป็นไปได้ต่อการผลิตเอนไซม์ไลเปสเมื่อมีการเติมน้ำมันถั่วเหลืองลงในวัสดุหมักผสมระหว่างรำข้าวสาลีต่อกากถั่วเหลืองเป็น 75 : 25 เปอร์เซ็นต์ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุหมักเป็น 55 เปอร์เซ็นต์ ด้วยสาระละลายเกลือแร่ที่ประกอบด้วยปริมาณยูเรียต่อกลูโคส 1.5:8 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักวัสดุหมักแห้ง พบว่ามีค่ากิจกรรมไลเปสสูงสุด11.24 ยูนิตต่อกรัมน้ำหนักวัสดุหมักแห้งชั่วโมงที่ 72

ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากวัสดุหมักคือ รำละเอียด ถั่วลิสง เมล็ดทานตะวัน ถั่วเหลือง เมื่อผ่านการปรับความชื้นเริ่มต้น 55 เปอร์เซ็นต์ แล้ว ลักษณะของวัสดุหมักยังมีลักษณะจับตัวกันเป็นก้อนและแน่น ทำให้การถ่ายเทความร้อนไม่ดีเท่าที่ควร การแก้ปัญหาทำได้อาจหาวิธีลดขนาดวัสดุหมักให้มีขนาดที่ไม่เล็กและละเอียดมากเกินไป เพื่อลดการจับตัวกันเป็นก้อนแน่นของวัสดุหมัก

2. เนื่องจากน้ำมันถั่วเหลืองที่ทำการเติมได้ผ่านกระบวนที่แยกกรดไขมันอิสระออก อาจทำให้ราต้องใช้เวลาในการย่อยสลายไขมันเป็นกรดไขมันก่อนจึงสามารถนำไปใช้งานได้ ในการศึกษาต่อไป อาจเติมกรดไขมันอิสระซึ่งมีราคาถูกและอาจมีผลกระตุ้นการสร้างไลเปส