

งานวิจัยนี้ทำการศึกษาการย่อยตัวเองของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* สายพันธุ์ที่ใช้ในการทำซีอิ๊ว และมีการผลิตอัลคาไลน์ โปรติเอส ในระหว่างการหมัก ซึ่งเบื้องต้นสังเกตว่าหลังจากที่รา *Aspergillus oryzae* ปลดปล่อย อัลคาไลน์ โปรติเอส ออกมา ในตอนท้ายจะพบการย่อยตัวเองของรานี้เกิดขึ้น ดังนั้นงานวิจัยนี้ จึงทำการศึกษาสาเหตุและปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการย่อยตัวเองของรานี้

พบว่า เมื่อเลี้ยงราในอาหาร 2 ชนิดคือ ชนิดที่ทำให้เกิดการสร้างและไม่สร้างอัลคาไลน์ โปรติเอส จะพบการย่อยตัวเองของราเกิดขึ้นเสมอในอาหารที่รามีการผลิตอัลคาไลน์ โปรติเอสออกมา แต่ไม่พบการย่อยตัวเองเกิดขึ้นถ้าไม่มีการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอส จึงสรุปในเบื้องต้นว่าอัลคาไลน์ โปรติเอส ที่ผลิตจากรานี้เป็นปัจจัยหนึ่งที่ทำให้เกิดการย่อยตัวเองในราชนิดนี้ และเมื่อติดตามลักษณะสัญญาณวิทยาที่เปลี่ยนไปในระหว่างที่เกิดการย่อยตัวเอง จะพบการคลายตัว (loose) ของเส้นใยที่เดิมพันกันแน่น และมีการแตกหักเป็นท่อนใยเส้นสั้น ปลายเปิด ภายในเส้นใยว่างเปล่า ซึ่งลักษณะนี้ คือการเกิดการย่อยตัวเองของราที่สังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์ ส่วนลักษณะอื่น ๆ ที่สามารถตรวจพบได้ในระหว่างการเกิดการย่อยตัวเองในรานี้ หลังจากที่มีการผลิตอัลคาไลน์ โปรติเอส คือ ค่าน้ำหนักเซลล์จะลดลง และมีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมาสู่น้ำหมัก

เมื่อศึกษาเอ็นไซม์ในกลุ่มที่ย่อยสลายเซลล์ ซึ่งมีคุณสมบัติเป็นเอ็นไซม์ไลติก คือ β -1,3-glucanase, chitinase และ β -N-acetyl glucosaminidase พบว่า เอ็นไซม์ 2 ชนิด คือ β -1-3-glucanase และ chitinase สามารถตรวจพบได้เสมอในอาหารที่รามีการผลิตอัลคาไลน์ โปรติเอส และมีการย่อยตัวเองของราเกิดขึ้น ส่วนเอ็นไซม์ β -N-acetyl glucosaminidase สามารถตรวจพบได้ ทั้งในกรณีที่รามีการปลดปล่อยเอ็นไซม์อัลคาไลน์ โปรติเอส และมีการย่อยตัวเองเกิดขึ้น หรือไม่มีการสร้างอัลคาไลน์ โปรติเอส และไม่เกิดการย่อยตัวเอง ดังนั้นจึงสรุปเบื้องต้นว่า β -N-acetyl glucosaminidase อาจจะไม่มีความสัมพันธ์กับการเกิดการย่อยตัวเองในราชนิดนี้ แต่ β -1-3-glucanase และ chitinase น่าจะมีความสัมพันธ์กับการย่อยตัวเองในรานี้

การใช้เทคนิค image analysis ศึกษาการย่อยตัวเองของรา ให้ผลดีกว่าการศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์ธรรมดา โดยสามารถบอกปริมาณและช่วงเวลาตั้งแต่เริ่มเกิดการย่อยตัวเองในรานี้ได้ชัดเจน

The objective of the research is to study causes and factors related to autolysis of *Aspergillus oryzae*, an alkaline producing strain in soy sauces production. It was noticed earlier that autolysis occurred after cells produced alkaline protease to the fermented medium.

In the work, autolysis was always detected in the culture grown in alkaline producing medium, contrary to the non-alkaline protease production. It is then suggested that alkaline protease is one of a factor involving autolysis process of *Aspergillus oryzae*. The morphological change during autolysis was monitored under microscopy study. Pellet formation became loose and was degraded into hyphae fragment, which contained open-ended hypha tubes. The other physiological changes such as declining of cell dry weight and releasing of ammonium were found during autolysis.

Excretion of lytic enzymes such as β -1,3-glucanase, chitinase and β -N-acetyl glucosaminidase was also studied during cultivation of the fungi. It was found that β -1,3-glucanase and chitinase could be detected when autolysis occurred to the cells during secretion of alkaline protease. Whereas β -N-acetyl glucosaminidase is found in the broth before the occurrence of autolysis could be detected in the media. It is suggested that β -1,3-glucanase and chitinase involved the autolysis of *Aspergillus oryzae*, and β -N-acetyl glucosaminidase may not be a factor related to the autolysis of the fungi.

Image analysis is used to visualize the culture morphology to assess the proportion of autolysis of the culture. The method is clearly determined the autolysis process, in spite of growing phase culture. It is the most useful technique for determination the autolysis of the culture.