การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสและเอนไซม์โปรติเอสลงในกากมันสำปะหลังผสมกากถั่วเหลืองเพื่อใช้เป็นอาหารสัตว์ โดยการหมักด้วยรา *Mucor* sp. ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากทั้งหมด 37 รหัสเชื้อ จากการทดสอบการสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งบนอาหาร starch agar และเอนไซม์ย่อยโปรตีนบนอาหาร skim milk พบว่ามีเชื้อถึง 23 รหัสเชื้อที่ย่อยแป้งได้ดี และ10 รหัสเชื้อที่ย่อยโปรตีนได้ดี และเมื่อนำทุกรหัสเชื้อนี้ไปทดสอบกิจกรรมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสโดยเลี้ยงในกากมันสำปะหลังและทดสอบกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสโดยเลี้ยงในถั่วเหลืองที่ปรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 60 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส พบว่าเชื้อรา *Mucor* sp. 15 รหัสเชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสและเอนไซม์โปรติเอสได้สูง จึงนำเชื้อรหัสดังกล่าวไปเลี้ยงในกากมันสำปะหลังผสมกากถั่วเหลืองในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 ที่สภาวะการเพาะเลี้ยงเดียวกัน พบว่ามี 4 รหัสเชื้อคือ 967-MI, SPm-KM1, SP-KM1 และ TG-KM1 สามารถสร้างเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสและโปรติเอสได้สูงเท่ากับ 440.64, 778.41, 226.80 และ 818.10 Unit/gds ตามลำดับ และโปรติเอส 10.20, 15.47, 7.63 และ 21.74 Unit/gds ตามลำดับ เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตเอนไซม์ในอาหารกากมันสำปะหลังผสมกากถั่วเหลืองในอัตราส่วน 1:1 ที่ผันแปรความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50, 60 และ 70 ผันแปร pH ที่ระดับ 5.0, 6.0 และ 7.0 และบ่มที่อุณหภูมิ 25, 30 และ 35 ^{o}C โดยวางแผนการทดลองแบบ Central composite design (CCD) และวิเคราะห์ผลทางสถิติโดยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM) พบว่าสมการค่าตอบสนองของกิจกรรมเอนไซม์อะไมโลกลูโคซิเดสสูงสุดของรารหัส 967-MI เท่ากับ 2321.01 Unit/gds ที่ระดับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 pH 5.0 เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 25 ^{o}C ส่วนกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสสูงสุดจากการทำนายด้วยสมการของรารหัส SPm-KM1 เท่ากับ 1316.27 Unit/gds ที่ระดับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 pH 6.94 ที่อุณหภูมิ 25 ^{o}C ส่วนการเจริญจากการทำนายสมการค่าตอบสนองพบว่ารารหัส 967-MI มีปริมาณกลูโคซามีนเท่ากับ 500.93 μg/gds ที่ระดับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 pH 5.0 และบ่มที่อุณหภูมิ 25 ^{o}C และจากการทดสอบสมการค่าตอบสนองของกิจกรรมเอนไซม์โปรติเอสของรหัส SPm-KM1 พบว่ามีกิจกรรมเอนไซม์เท่ากับ 1131.41 $\pm$ 40.32 Unit/gds ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าทำนายจากสมการโดยมีค่า R^2 เท่ากับ 0.98 และยังพบว่าการเลี้ยงเชื้อรารหัส SPm-KM1 ในอาหารกากมันสำปะหลังผสมกากถั่วเหลืองสามารถเพิ่มปริมาณโปรตีนจากร้อยละ 12.8 เป็นร้อยละ 14.31

208181

Abstract

The objective of this study was to increase digestive enzymes, amyloglucosidase and protease into cassava pulp and soybean meal by solid-state fermentation of *Mucor* fungus, isolated from Thai Look-palng Kaomak. From a primary screening, 23 from a total of 37 isolates can produced starch degradative enzyme and 10 isolates can produced protein degradative enzyme. From a total of 33, fifteen isolates can produce high amyloglucosidase in cassava pulp and protease in soybean meal at 60% initial moisture content and 30^{o}C. They were further cultivated in a medium containing cassava pulp and soybean meal at a ratio of 1 : 1, initial moisture content was adjusted at 60% and incubated at 30^{o}. The results found that high amyloglucosidase and protease of 440.64, 778.41, 226.80, 818.10 Unit/gds and 10.20, 15.47, 7.63, 21.74 Unit/gds were observed in *Mucor* 967-MI, SPm-KM1, SP-KM1 and TG-KM1 cultures, respectively. The central composite design (CCD) of the response surface methodology (RSM) was applied for the optimization. The impact on enzyme production and the fungal growth of 3 environmental conditions in cassava pulp and soybean meal at a ratio of 1 : 1, which the initial moisture contents were varied at 50%, 60% and 70%, pH of the media were varied at 5.0, 6.0 and 7.0 and incubated at 25, 30 and 35 ^{o}C. The results found that the highest amyloglucosidase activity was found in *Mucor* 967-MI. The activity predicted by quadratic equation analysis was 2,321.01 Unit/gds at 25 ^{o}C, 50% initial moisture content and pH 5.0. The protease activity was found in *Mucor* SPm-KM1 and the activity was 1,316.27 Unit/gds at 25 ^{o}C, 50% initial moisture content and pH 6.94. *Mucor* 967-MI was found to be the best in growth, the glucosamine of which was 500.93 μg/gds at 25 ^{o}C, 60% initial moisture content and pH 5.0. The actual protease activity of SPm-KM1 was 1331.41 $\pm$ 40.32 Unit/gds under the above optimal conditions. The validation of protease activity revealed high correlation (R^2=0.98) between the predict and the actual activities of *Mucor* SPm-KM1 in solid substrate cultivation on cassava pulp and soybean meal at 1:1 ratio.