

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง

5.1 สรุปผลการทดลอง

เลี้ยง *A. oryzae* TISTR 3087 ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 250 rpm จำนวนสปอร์เท่ากับ 1×10^8 spores/50 ml พบการผลิตเอ็นไซม์อัลคาไลน์โปรติเอสมากที่สุด เท่ากับ 1232 ± 0.22 U/ml ที่ 48 ชั่วโมง จากราที่มีลักษณะเป็นเพลลีสขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 114.7 ± 52.5 μ m

เปรียบเทียบ กระบวนการเพาะเลี้ยงภายใต้สภาพบรรยากาศปกติ และการปรับปรุงสภาพบรรยากาศในถังหมักขนาด 2 ลิตร ที่อัตราการกวนต่ำ (200 rpm) และอัตราการกวนสูง (700 rpm) โดยใช้หัวเชื้อแบบสปอร์และหัวเชื้อแบบเพลลีส

ภายใต้สภาพบรรยากาศปกติ เมื่อใช้สปอร์เป็นหัวเชื้อตั้งต้น *A. oryzae* TISTR 3087 มีความสามารถในการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสมากที่สุด เท่ากับ 1068 ± 0.18 และ 1186 ± 0.21 U/ml โดยใช้อัตราการกวนเท่ากับ 250 และ 700 rpm ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชั่วโมง ที่อัตราการกวน 250 รอบต่อนาที พบว่าการเจริญส่วนใหญ่เป็นแบบเพลลีส โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเพลลีสใหญ่สุดภายใน 48 ชั่วโมง เท่ากับ 137.0 ± 58.2 μ m ส่วนที่อัตราการกวน 700 รอบต่อนาที พบการงอกของสปอร์เป็นเส้นใยเพียงอย่างเดียวและมีขนาดเส้นใยยาวสุด ในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 478.6 ± 141.1 μ m และค่าน้ำหนักแห้งในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 2.80 ± 0.23 และ 2.74 ± 0.04 g/L ที่อัตราการกวน 250 และ 700 รอบต่อนาที ตามลำดับ

ที่สภาพบรรยากาศปกติ เมื่อใช้หัวเชื้อเป็นเพลลีส *A. oryzae* TISTR 3087 สามารถผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสมากที่สุด 810 ± 0.14 และ 922 ± 0.16 U/ml ที่อัตราการกวน 250 และ 700 rpm ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชั่วโมง มีเพียงลักษณะที่เป็นเพลลีสเท่านั้นที่มีการพัฒนาขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเท่ากับ 396.4 ± 133.7 และ 322.5 ± 100.2 μ m ที่อัตราการกวน 250 และ 700 rpm ตามลำดับ และมีน้ำหนักเซลล์แห้ง เท่ากับ 3.18 ± 0.04 และ 2.49 ± 0.17 g/L ที่อัตราการกวน เท่ากับ 250 และ 700 rpm ตามลำดับ ที่เวลา 48 ชั่วโมง

เมื่อใช้หัวเชื้อรูปแบบเพลลีสทำการหมักโดยการปรับสภาพบรรยากาศ โดยใช้ก๊าซผสมระหว่างก๊าซออกซิเจนและก๊าซไนโตรเจนในอัตราส่วน ($O_2:N_2$) ที่ 50:50 ที่อัตราการกวน 250 และ 700 รอบต่อนาที พบว่ามีการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสสูงสุดที่ชั่วโมง 48 โดยได้ปริมาณเอ็นไซม์ เท่ากับ 1244 ± 0.22 และ 1430 ± 0.25 U/ml และพบการเจริญเป็นแบบเพลลีสอย่างเดียวย โดยมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางของเพลลีสใหญ่สุดที่ชั่วโมง 48 เท่ากับ 307.0 ± 77.1 และ 248.5 ± 91.2 μ m ที่อัตราการกวน 250 และ 700 รอบต่อนาที ตามลำดับ และค่าน้ำหนักแห้งในชั่วโมงที่ 48 เท่ากับ 3.62 ± 0.02 และ 3.06 ± 0.00 g/L ที่อัตราการกวน 250 และ 700 รอบต่อนาที ตามลำดับ

ผลการศึกษาสรุปได้ว่า การใช้หัวเชื้อตั้งต้นที่ต่างกันมีผลต่อสัณฐานวิทยาและการผลิตอัลคาไลน์โปรติเอส เมื่อใช้สปอร์เป็นหัวเชื้อตั้งต้น พบการเจริญส่วนใหญ่เป็นเพลเล็ทมากกว่าเส้นใย ที่อัตราการกวนต่ำ (250 รอบต่อนาที) แต่พบลักษณะที่เป็นเส้นใยที่อัตราการกวนสูง (700 รอบต่อนาที) เมื่อใช้เพลเล็ทเป็นหัวเชื้อตั้งต้นที่อัตราการกวนต่ำและสูง รมีลักษณะการเจริญเป็นเพลเล็ทอย่างเดียว การปรับสภาพบรรยากาศภายในถังหมักช่วยให้เราสามารถผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสได้ดีกว่าสภาพบรรยากาศปกติ ซึ่งเป็นวิธีการที่น่าสนใจในการนำไปใช้ทำให้จุลินทรีย์สามารถผลิตอัลคาไลน์โปรติเอสได้สูงขึ้น โดยไม่ต้องผ่านวิธีการทำพันธุ์วิศวกรรมในสายพันธุ์