สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

การใช้เอนไซม์ย่อยสลายจากการเลี้ยงเชื้อ *Bacillus subtilis* GN156 ในอาหาร NB ที่ใช้ไซแลน 1 เปอร์เซ็นต์เป็นสารเหนี่ยวนำ และทำให้เข้มข้นโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต (เอนไซม์ย่อยสลาย E-NB) ที่ความเข้มข้นต่ำ และสูงเป็นสารเสริมร่วมกับแบคทีเรียกรดแลกติกสายพันธุ์ *Lactobacillus pentosus* ST10-1 สามารถเพิ่มปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ และคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำในไซเลจหญ้าเนเปียร์ในวันที่ 0-1 ของการหมัก ซึ่งแบคทีเรียกรดแลกติกที่ใช้เป็นสารเสริมไม่สามารถใช้น้ำตาลรีดิวซ์ที่เพิ่มขึ้นในการผลิตกรดแลกติกได้อย่างมีประสิทธิภาพ แต่เชื้อยีสต์ และจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteria สามารถใช้ในการเพิ่มปริมาณส่งผลให้ไซเลจหญ้าเนเปียร์ในวันที่ 60 ของการหมัก และหลังเปิดถุงหมัก 3 วันมีคุณภาพที่ไม่แตกต่างกับไซเลจที่ไม่ใช้เอนไซม์ย่อยสลาย E-NB เป็นสารเสริมอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

การใช้น้ำตาลกลูโคสเพื่อเพิ่มแหล่งคาร์บอนให้จุลินทรีย์ในไซเลจใช้ผลิตเอนไซม์ที่สามารถทำงานเสริมกับเอนไซม์ย่อยสลาย E-NB ในการย่อยสลายโครงสร้างผนังเซลล์ของหญ้าเนเปียร์ และได้น้ำตาลรีดิวซ์ที่แบคทีเรียกรดแลกติกที่ใช้เป็นสารเสริมสามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเพิ่มการผลิตกรดแลกติกเป็นวิธีที่ไม่ประสบผลสำเร็จ ไซเลจหญ้าเนเปียร์จึงยังมีการเจริญของยีสต์ และจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteria ที่สูง มีปริมาณกรดแลกติกที่ต่ำ และมีคุณภาพที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไซเลจที่ใช้เฉพาะน้ำตาลกลูโคส และแบคทีเรียกรดแลกติกเป็นสารเสริมทั้งก่อน และหลังเปิดถุงหมัก

การเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* GN156 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NM สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีค่ากิจกรรมการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ในหญ้าเนเปียร์สูงเป็น 1.69 เท่าของเอนไซม์ย่อยสลายที่ผลิตจากการเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร DXM การเพิ่มปริมาณการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NM โดยใช้ซีเอ็ม-เซลลูโลส 1 เปอร์เซ็นต์เป็นสารเหนี่ยวนำสามารถเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์เบตา-กลูคาเนสส่งผลให้ค่ากิจกรรมการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ในหญ้าเนเปียร์สูงเป็น 1.61 เท่าของการไม่ใช้สารเหนี่ยวนำ ในขณะที่การใช้ไซแลนเป็นสารเหนี่ยวนำไม่สามารถเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์ใดในระบบเอนไซม์ย่อยสลายส่งผลให้ค่ากิจกรรมการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ในหญ้าเนเปียร์มีค่า 0.61 เท่าของการไม่ใช้สารเหนี่ยวนำ

และการเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ย่อยสลายจากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NM โดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตส่งผลให้เกิดการสูญเสียค่ากิจกรรมของเอนไซม์เบตา-กลูคาเนสทั้งหมด ระบบของเอนไซม์ย่อยสลายเปลี่ยนแปลงไป ค่ากิจกรรมการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ในหญ้าเนเปียร์จึงลดลงกว่า 5 เท่า

เอนไซม์ที่ผลิตจากการเลี้ยงเชื้อ *B. subtilis* GN156 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร NM (เอนไซม์ย่อยสลาย E-NM) มีค่ากิจกรรมการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ในหญ้าเนเปียร์สูงเป็น 9.96 เท่าของเอนไซม์ย่อยสลาย E-NB และมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์เพคติเนส และไซลาเนส 19 และ 25 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับซึ่งแตกต่างจากเอนไซม์ย่อยสลาย E-NB ส่งผลให้น้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตจากการใช้เอนไซม์ย่อยสลาย E-NM เป็นสารเสริมมีปริมาณสูงกว่าน้ำตาลรีดิวซ์จากการใช้เอนไซม์ย่อยสลาย E-NB เป็นสารเสริม และเป็นน้ำตาลที่แบคทีเรียกรดแลกติกสามารถใช้ผลิตกรดแลกติกได้ส่งผลให้ไซเลจมีค่าความเป็นกรดด่าง และการย่อยสลายโปรตีนที่ต่ำกว่าไซเลจที่ใช้เอนไซม์ย่อยสลาย E-NB เป็นสารเสริมในช่วง 3 วันแรกของการหมัก อย่างไรก็ตามเอนไซม์ย่อยสลาย E-NM ยังมีประสิทธิภาพการทำงานเป็นสารเสริมไม่เพียงพอที่จะปรับปรุงกระบวนการผลิตหลังวันที่ 3 ของการหมัก ไซเลจหญ้าเนเปียร์ในวันที่ 60 ของการหมักจึงมีคุณภาพต่ำกว่าเกณฑ์ที่กองอาหารสัตว์กรมปศุสัตว์กำหนด

เอนไซม์ย่อยสลาย E-NB และเอนไซม์ย่อยสลาย E-NM สามารถย่อยสลายโอลิโกแซคคาไรด์ขนาดใหญ่กว่าเซลโลเพนตาโอสที่พบในหญ้าเนเปียร์สดได้เป็นโอลิโกแซคคาไรด์ที่มีขนาดระหว่างไตรแซคคาไรด์ และเตตราแซคคาไรด์ และสามารถย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตที่เป็นโครงสร้างของผนังเซลล์หญ้าเนเปียร์จนสามารถตรวจพบไรโบสจากภายในเซลล์หญ้าเนเปียร์ซึ่งเป็นน้ำตาลที่แบคทีเรียกรดแลกติกที่ใช้เป็นสารเสริมสามารถใช้ในการผลิตกรดแลกติกได้ อย่างไรก็ตามระบบที่แตกต่างกันของเอนไซม์ย่อยสลายทั้งสองไม่ส่งผลให้เกิดความแตกต่างของชนิดคาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำในไซเลจเมื่อใช้เอนไซม์ย่อยสลายทั้งสองเป็นสารเสริมที่ค่ากิจกรรมเท่ากัน จึงเป็นไปได้ว่าการที่น้ำตาลรีดิวซ์จากการทำงานของเอนไซม์ย่อยสลาย E-NB และเอนไซม์ย่อยสลาย E-NM ส่งผลแตกต่างกันต่อการใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของยีสต์ แบคทีเรียกรดแลกติก และจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteria ในไซเลจช่วง 3 วันแรกของการหมักไม่ได้เกิดจากการมีชนิดของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และคู่ที่แตกต่างกัน แต่เกิดจากการมีปริมาณที่แตกต่างกันของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และคู่แต่ละชนิดที่เอนไซม์ย่อยสลาย E-NM และ E-NB ผลิตขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. จากข้อสันนิษฐานที่ว่าการที่น้ำตาลรีดิวซ์จากการทำงานของเอนไซม์ย่อยสลาย E-NB และเอนไซม์ย่อยสลาย E-NM ส่งผลแตกต่างกันต่อการใช้เป็นแหล่งคาร์บอนของยีสต์ แบคทีเรียกรดแลกติก และจุลินทรีย์กลุ่ม Enterobacteria ในไซเลจช่วง 3 วันแรกของการหมักเกิดจากการมีปริมาณที่แตกต่างกันของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และคู่แต่ละชนิดที่เอนไซม์ย่อยสลายทั้งสองผลิตขึ้น สามารถหาข้อสรุปได้โดยการวิเคราะห์ด้วยวิธี HPLC ซึ่งจะนำไปสู่การพัฒนาการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายจากเชื้อ *B. subtilis* GN156 ที่มีระบบของการย่อยสลายคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ในหญ้าเนเปียร์ที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพสูงสุดในการใช้เป็นสารเสริมต่อไป

2. การเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานเป็นสารเสริมของเอนไซม์ย่อยสลาย E-NM เพื่อให้ไซเลจหญ้าเนเปียร์ในวันที่ 60 ของการหมักมีคุณภาพได้มาตรฐานตามเกณฑ์ของกองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ ทำได้โดยการปรับปรุงกระบวนการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตและค่ากิจกรรมของเอนไซม์ย่อยสลายด้วยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญ และผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *B. subtilis* GN156 การใช้สารเหนี่ยวนำอื่นเพื่อเหนี่ยวนำการผลิตเอนไซม์ และการทำให้เอนไซม์เข้มข้นโดยใช้วิธีอื่น เช่น การใช้เครื่อง Speed Vacuum Concentrator