บทที่ 4

วิจารณ์และสรุปผลการทดลอง

4.1 การคัดเลือกเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ไฮโดรเลสบางชนิด จากการหมักกากมัสตาร์ด ในสภาพอาหารแข็ง

การคัดเลือกเชื้อ *Aspergillus* สายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ไฮโดรเลสบางชนิด จากการหมักกากมัสตาร์ด ในสภาพอาหารแข็ง โดยทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Aspergillus* 4 ชนิด คือ *Aspergillus* spp.1, *Aspergillus* spp.2, *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 ในการทดลองขั้นต้นได้ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อทั้งสี่ชนิด ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร ใช้กากมัสตาร์ด 10.0 กรัม ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^7 สปอร์ ปรับความชื้นโดยเติมน้ำกลั่นปลอดเชื้อ 10.0 มิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 29 องศาเซลเซียส และสกัดเอนไซม์ในแต่ละเชื้อทุก 24 ชั่วโมงเป็นเวลา 120 ชั่วโมงหรือ 5 วัน ทั้งนี้เพื่อให้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา เช่น ในงานวิจัยของ Ebune และคณะ (1995) ที่ได้ทำการเพาะเลี้ยง *Aspergillus ficuum* NRRL 3135 บนกากมัสตาร์ด ในสภาพอาหารแข็ง เพื่อผลิตเอนไซม์ phytase โดยได้ทำการเพาะเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร ใช้กากมัสตาร์ด 50 กรัม และปรับความชื้นโดยใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมงโดยใช้เวลาในการศึกษา 5 วันเช่นเดียวกัน

ในการเก็บตัวอย่าง จะใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ 60 มิลลิลิตร เติมลงในกากมัสตาร์ดที่ใช้เลี้ยงเชื้อ นำไปเขย่าในเครื่องเขย่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที นำสารละลายส่วนใสกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 สารละลายเอนไซม์ที่ได้จะนำไปหาแอคติวิตีของเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส กลูตามิเนส และเซลลูเลสต่อไป ในขณะที่ส่วนที่ตกตะกอนจากการปั่นเหวี่ยง จะนำไปนึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปหาปริมาณกลูโคซามิน เพื่อวัดการเจริญเติบโตของเชื้อต่อไป ทั้งนี้ในงานวิจัยที่ผ่านมา การสกัดอาจจะใช้น้ำกลั่นปลอดเชื้อ สารละลายต่างๆหรือบัฟเฟอร์ที่เอนไซม์ที่ศึกษามีความเสถียรหรือมีแอคติวิตีสูงสุด นั่นคือใช้บัฟเฟอร์ตัวเดียวกับที่ใช้ในการหาแอคติวิตี แต่เนื่องจากในการทดลองนี้ศึกษาเอนไซม์หลายชนิด และแต่ละตัวก็มีความเสถียรและมีแอค

ติวิตีสูงสุดในบัฟเฟอร์ต่างชนิดกัน ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำกลั่นสำหรับสกัดเอนไซม์ เหมือนอย่างการทดลองของ Yano และคณะ (1988) ที่ใช้น้ำกลั่นในการสกัดเอนไซม์กลูตามิเนสจากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* ในรำข้าวสาลีในสภาพอาหารแข็ง หรือการทดลองของ Nakadai และ Nasuno (1976) ที่ใช้น้ำกลั่นในการสกัดกลุ่มของเอนไซม์ที่ใช้ย่อยโปรตีน จากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Aspergillus sojae* ในรำข้าวสาลีในสภาพอาหารแข็ง เป็นต้น สำหรับปริมาณน้ำกลั่นที่ใช้ในการสกัด ที่เลือกใช้ 60 มิลลิลิตร เพื่อให้ได้สารละลายเอนไซม์ที่ไม่เข้มข้นหรือเจือจางเกินไป เพราะจากการทดลองที่ผ่านมาจะพบว่ามีการใช้ตั้งแต่ 20 จนถึง 100 มิลลิลิตร สำหรับการสกัดเอนไซม์ในอาหาร 10 กรัม และในวิธีการสกัด เพื่อให้ได้ปริมาณเอนไซม์มากที่สุด จึงใช้การเขย่าในเครื่องเขย่าเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Battaglino และคณะ (1991) ที่ใช้การเขย่าในเครื่องเขย่าเป็นเวลา 30 นาที ในการสกัดเอนไซม์โปรติเอสจากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* ในรำข้าวสาลี รำข้าว และรำข้าวโพดในสภาพอาหารแข็ง หรือการทดลองของ Tao และคณะ (1997) ที่ใช้การเขย่าในเครื่องเขย่าที่ 130 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ในการสกัดเอนไซม์ที่ได้จากการเพาะเลี้ยง *Fusarium oxysporum* บนฟางข้าวในสภาพอาหารแข็ง สำหรับขั้นตอนสุดท้ายในการสกัด คือการแยกสารละลายเอนไซม์จากอาหาร เพื่อให้แน่ใจว่าไม่มีไมซีเลียมหรือสปอร์ของเชื้อที่เพาะเลี้ยงปนเปื้อนมา จึงใช้การปั่นเหวี่ยงที่ 10,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วนำไปกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ทั้งนี้จากการทดลองที่ผ่านมาส่วนมากจะพบเพียงการเลือกใช้การปั่นเหวี่ยงหรือการกรองเพียงอย่างใดอย่างหนึ่งเท่านั้น แต่ก็พบการใช้ทั้งสองวิธีร่วมกัน เช่นในการทดลองของ Zheng และ Shetty (2000) ที่ใช้การปั่นเหวี่ยงที่ 15,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที แล้วกรองด้วยกระดาษกรอง Whatman เบอร์ 1 ในการสกัดเอนไซม์ polygalacturonase จากการเลี้ยง *Lentinus edodes* บนของเสียชนิดต่างๆในสภาพอาหารแข็ง หรือการทดลองของ Ebune และคณะ (1995) ที่ใช้การกรองผ่านเยื่อกรอง (double layer cheese-cloth) แล้วนำไปปั่นเหวี่ยงที่ 5,000 x g อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ในการเพาะเลี้ยง *Aspergillus ficuum* NRRL 3135 บนกากมัสตาร์ด ในสภาพอาหารแข็ง เพื่อผลิตเอนไซม์ phytase

สารละลายเอนไซม์ที่ได้ ก่อนที่จะนำไปหาแอคติวิตีของเอนไซม์ชนิดต่างๆนั้น จะต้องนำไปตกตะกอนด้วยเอธานอล (ice cool ethanol) ความเข้มข้น 99.8 เปอร์เซนต์ในปริมาตร 3 เท่า ทั้งนี้เนื่องจากพบว่าสารละลายเอนไซม์ที่สกัดได้จะมีสีที่ดูดกลืนแสงในช่วง 200 ถึง 350 นาโนเมตร ซึ่งอาจไปรบกวนการหาแอคติวิตีของเอนไซม์ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะอย่างยิ่ง เอนไซม์โปรติเอสที่ใช้การดูดกลืนแสงที่ 280 นาโนเมตร ซึ่งสอดคล้องกำการทดลองของ Nakadai และ Nasuno (1988)

ที่ใช้เอธานอลปริมาตร 1.5-2 เท่า ในการตกตะกอนเอนไซม์ในโคจิ ที่ได้จากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae*

สำหรับการศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์ชนิดต่างๆนั้น ที่เลือกศึกษาเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส กลูตามิเนส และเซลลูเลส ทั้งนี้เนื่องจาก ในองค์ประกอบทางเคมีของกากมัสตาร์ดที่อุดมไปด้วยสารตั้งต้น (substrate) สำหรับเอนไซม์เหล่านี้ ไม่ว่าจะเป็นโปรตีน แป้ง กลูตามิน และเซลลูโลส จึงเป็นไปได้ว่าเชื้อที่มีคุณสมบัติในการผลิตเอนไซม์เหล่านี้จะสามารถเจริญและผลิตเอนไซม์เหล่านี้ได้ จากการศึกษาพบว่า เชื้อที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์โปรติเอสได้สูงสุดคือ เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 1905 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด (7.12 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.4, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 1600, 1204 และ 1104 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ เชื้อที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์อะไมเลสได้สูงสุดคือ เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 12.86 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด (0.37 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.3, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 8.30, 5.90 และ 1.86 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ ส่วนเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์กลูตามิเนสได้สูงสุดคือ เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 9.52 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด (45.90 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.3, *Aspergillus* spp.2 และ *Aspergillus* spp.1 ในปริมาณ 7.71, 5.50 และ 4.59 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ และเชื้อที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุดคือ เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 5.60 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด (58.30 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.2 *Aspergillus* spp.1 และ *Aspergillus* spp.4 ในปริมาณ 5.26, 3.26 และ 3.22 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ ดังนั้นจะพบว่าเชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถเจริญและผลิตเอนไซม์เอนไซม์กลูตามิเนส และอะไมเลส ได้ในปริมาณสูงสุด นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสและเซลลูเลส ได้ในปริมาณสูงสุด และยังสามารถผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส และอะไมเลส ได้ในปริมาณที่สูงรองจาก *Aspergillus* spp.4 เท่านั้น ดังนั้นจึงคัดเลือกเชื้อ *Aspergillus* spp.4 และ *Aspergillus* spp.3 ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์โปรติเอส อะไมเลส กลูตามิเนส และเซลลูเลส ให้ได้ปริมาณสูงสุดต่อไป

ในการศึกษาความสามารถในการเจริญของเชื้อชนิดต่างๆในกากมัสตาร์ด เนื่องจากเป็นการเลี้ยงในสภาพอาหารแข็ง เราไม่สามารถที่จะแยกไมซิเลียมเพื่อนำมาหาน้ำหนักเซลล์

(cell dry weight) ที่เพิ่มขึ้นได้ ดังนั้นจึงต้องใช้วิธีทางอ้อมในการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อ ซึ่งในที่นี้ใช้การวัดปริมาณกลูโคซามิน ที่ได้จากการย่อยไคตินซึ่งเป็นองค์ประกอบในผนังเซลล์ของเชื้อรา จากการศึกษา พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถวัดปริมาณกลูโคซามินได้สูงสุด 459 ไมโครโมลต่อกรัมของกากมัสตาร์ด รองลงมาคือ *Aspergillus* spp.2, *Aspergillus* spp.1 และ *Aspergillus* spp.3 ในปริมาณ 310, 232 และ 202 ไมโครโมลต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ

4.2 การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 และ *Aspergillus* spp.3

ในการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 โดยแปรผันปริมาณเชื้อตั้งต้น ความชื้นเริ่มต้น และอุณหภูมิ

ในการแปรผันปริมาณเชื้อตั้งต้นของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 ที่ 10^4, $5x10^4$, 10^5, $5x10^5$, 10^6 และ $5x10^6$ สปอร์ต่อกรัมของอาหาร จากผลการศึกษาพบว่า ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นต่างๆกันปริมาณเชื้อตั้งต้นไม่มีผลต่อความสามารถในการเจริญและปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตของเชื้อ แต่มีผลต่อช่วงเวลาในการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ ดังนั้นเพื่อให้เวลาในการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อเหมาะสมต่อการทดลอง จึงเลือกใช้ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 ต่อไป

ส่วนในการแปรผันปริมาณความชื้นเริ่มต้นของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 โดยเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไป 4, 7, 10, 16 และ 23 มิลลิลิตร จะทำให้ได้ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 38, 49, 58, 66 และ 74 เปอร์เซนต์ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา เช่น ในการศึกษาของ Malathi และ Chakraborty (1991) ที่ทำการเลี้ยง *Aspergillus flavus* บนรำข้าวสาลี ในสภาพอาหารแข็ง เพื่อผลิตเอนไซม์โปรติเอส ในการทดลองได้แปรผันปริมาณความชื้นเริ่มต้นที่ 52, 63 และ 70 เปอร์เซนต์ตามลำดับ หรือในการศึกษาของ Battaglino และคณะ (1991) ที่แปรผันความชื้นเริ่มต้นที่ 22, 28, 37 และ 47 เปอร์เซนต์ตามลำดับ จากการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* บนรำข้าวสาลี รำข้าว และรำข้าวโพดในสภาพอาหารแข็ง หรือแม้กระทั่งการศึกษาของ Nishio และคณะ (1979) ที่แปรผันความชื้นเริ่มต้นที่ 25, 33, 44, 52, 54, 64 และ 73 เปอร์เซนต์ตามลำดับ จากการเลี้ยง *Aspergillus niger* บนเปลือกส้มแมนดาริน

(mandarin orangge peel) ในสภาพอาหารแข็ง จากผลการศึกษาการแปรผันความชื้นเริ่มต้นในการเพาะเลี้ยง *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 พบว่า ที่ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซนต์ เชื้อ *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 สามารถที่จะผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส โปรติเอส อะไมเลส และเซลลูเลส ได้ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซนต์ ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 ต่อไป

ในการแปรผันอุณหภูมิของ *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 ที่ 10, 20, 25, 30 และ 40 องศาเซลเซียส เนื่องจากอุณหภูมิที่ระบุมาสำหรับเชื้อสองสายพันธุ์นี้คือ 25 องศาเซลเซียส และเพื่อให้สอดคล้องกับงานวิจัยที่ผ่านมา เช่น ในการศึกษาของ Roling และคณะ (1994) ที่แปรผันอุณหภูมิตั้งแต่ 21 จนถึง 42 องศาเซลเซียส ในการเลี้ยง *Aspergillus oryzae* CBS 817 และ *Zygosaccharomyces rouxii* CBS 4022 บนถั่วเหลือง ในสภาพอาหารแข็ง จากผลการศึกษาการแปรผันอุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 พบว่า ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *Aspergillus* spp.3 และที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับเชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส โปรติเอส อะไมเลส และเซลลูเลส ได้ในปริมาณสูงสุด ดังนั้นจึงเลือกใช้อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส เป็นอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 และ *Aspergillus* spp.4 ต่อไป

จากผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.3 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อคือ ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซนต์ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ที่เชื้อสามารถผลิตปริมาณเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลสได้สูงสุดในปริมาณ 11.52, 22.12, 2394 และ 5.04 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ (52.00, 0.52, 7.13 และ 78.80 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ)

จากผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อ *Aspergillus* spp.4 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ของเชื้อคือ ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้น 10^6 สปอร์ต่อกรัมของอาหาร ความชื้นเริ่มต้น 66 เปอร์เซนต์ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ที่เชื้อสามารถผลิตปริมาณเอนไซม์กลูตามิเนส อะไมเลส โปรติเอส และเซลลูเลสได้สูงสุดในปริมาณ 21.48, 22.47, 2950 และ 3.82 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด ตามลำดับ (67.10 0.89 8.24 และ 43.80 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ)

ในการผลิตเอนไซม์กลูตามิเนส พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 67.1 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน หรือคิดเป็น 21.48 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Ueki และคณะ (1994) ที่ทำการเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* K2 ร่วมกับ *Aspergillus oryzae* HG บนรำข้าวสาลี และถั่วเหลือง ในสภาพอาหารแข็ง พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ glutaminase ได้ 25 ยูนิตต่อกรัมของโคจิ จะเห็นได้ว่า การผลิตเอนไซม์ glutaminase จากกากมัสตาร์ดมีประสิทธิภาพและสามารถที่จะแข่งขันกับแหล่งอาหารอื่นๆได้

ในการผลิตเอนไซม์ amylase พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 0.891 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน หรือคิดเป็น 22.47 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Ramesh และ Lonsane (1989) ที่ทำการเพาะเลี้ยง *Bacillus licheniformis* M27 บนรำข้าวสาลี ในสภาพอาหารแข็ง พบว่า สามารถผลิตเอนไซม์ amylase ได้สูงสุดในปริมาณ 21,000 ยูนิตต่อกรัมของอาหาร จะเห็นได้ว่า การผลิตเอนไซม์ amylase จากกากมัสตาร์ดมีประสิทธิภาพด้อยกว่าอาหารจากแหล่งอื่นมาก ทั้งนี้เนื่องจากในกากมัสตาร์ดมีแป้งซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอนไซม์ amylase อยู่น้อยนั่นเอง

ในการผลิตเอนไซม์ protease พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.4 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 8.24 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน หรือคิดเป็น 2,950 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Battaglino และคณะ (1991) ที่ทำการเพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* NRRL 2160 บนรำข้าว ในสภาพอาหารแข็ง พบว่า สามารถเอนไซม์ protease ได้สูงสุด 8,000 ยูนิตต่อกรัมของอาหาร จะเห็นได้ว่า การผลิตเอนไซม์ glutaminase จากกากมัสตาร์ดมีประสิทธิภาพและสามารถที่จะแข่งขันกับแหล่งอาหารอื่นๆได้

ในการผลิตเอนไซม์ cellulase พบว่า เชื้อ *Aspergillus* spp.3 สามารถผลิตได้สูงสุดในปริมาณ 78.8 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน หรือคิดเป็น 5.04 ยูนิตต่อกรัมของกากมัสตาร์ด เมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Deshamps และคณะ (1985) ที่ทำการเพาะเลี้ยง *Trichoderma harizianum* บนฟางและรำข้าวสาลี ในสภาพอาหารแข็ง พบว่า สามารถผลิตเอนไซม์ cellulase ได้สูงสุดในปริมาณ 198.0 ยูนิตต่อกรัมของอาหาร จะเห็นได้ว่า การผลิตเอนไซม์ amylase จากกากมัสตาร์ดมีประสิทธิภาพด้อยกว่าอาหารจากแหล่งอื่นมาก ทั้งนี้เนื่องจากในกากมัสตาร์ดมีเซลลูโลสซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เอนไซม์ cellulase อยู่น้อยนั่นเอง