บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 การคัดแยกเชื้อราที่สามารถผลิตเซลลูเลสจากก้านเครือกล้วย

4.1.1 การคัดแยกขั้นต้น (Primary isolation)

การแยกเชื้อราที่สามารถผลิตเซลลูเลสจากก้านเครือกล้วย ด้วยอาหารสูตร Czapex 's dox medium โดยมีกระดาษกรองเป็นแหล่งเซลลูโลส นำไปบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่ามีเชื้อราหลายชนิดที่สามารถเจริญได้ โดยมีการสร้างเส้นใยหรือสปอร์บนกระดาษกรอง สามารถแยกเชื้อราชนิดต่างๆได้ดังนี้คือ ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จำนวน 4 ชนิด ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส จำนวน 3 ชนิด ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จำนวน 2 ชนิด

4.1.2 การคัดแยกขั้นที่สอง (Secondary isolation)

เมื่อนำเชื้อราที่คัดแยกทั้ง 9 ชนิด มาเลี้ยงบนอาหาร Carboxymethyl cellulose agar (CMC agar) ตรวจสอบการการผลิตเซลลูเลส โดยการใช้สี Congo red 0.01 เปอร์เซ็นต์ ราดทับเป็นเวลา 10 นาที เทสีทิ้งและล้างสีส่วนเกินออกด้วยสารละลายโซเดียมคลอไรด์ 1.0 โมลาร์ และดูเกิดวงใส (clear zone) ที่เกิดขึ้น ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.1

จากตารางที่ 4.1 พบว่าจากเชื้อราที่คัดแยกได้ทั้งหมด 9 ชนิด มีเชื้อราที่สามารถสร้างวงใสได้ทั้งหมด 7 ชนิดดังนี้ คือ

อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีเชื้อราที่สามารถสร้างวงใสจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ B301.1 และ B305

อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีเชื้อราที่สามารถสร้างวงใสจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ B401 B402 และ BII

อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีเชื้อราที่สามารถสร้างวงใสจำนวน 2 ชนิด ได้แก่ B451 และ B452

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.1 อัตราส่วนของวงใสต่อการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อรา ชนิดต่างๆ ที่คัดแยกจากข้อ 2.1 บนอาหาร CMC agar

อุณหภูมิ $^{\circ}$C	เชื้อรา	อัตราส่วนของวงใสต่อการเจริญ*	ลักษณะทางสัณฐานวิทยา
30	B301.1	1.48	เชื้อสีเขียวหม่น การเจริญของเส้นใยไม่ฟู
	B302	1.00	เส้นใยและสปอร์มีสีขาว
	B303	1.00	เส้นใยและสปอร์มีสีขาวอมชมพู
	B305	1.74	เส้นใยสีขาวบริเวณขอบ ตรงกลางมีสีเขียว
40	B401	1.97	เส้นใยสีเขียวอมเทาด้านนอก ส่วนด้านในมีสีแสด
	B402	1.60	สปอร์และเส้นใยขนาดใหญ่สีดำ มีก้านชูสปอร์ยาว
	BII	1.10	สปอร์และเส้นใยมีสีเขียวเข้ม
45	B451	1.41	เส้นใยและสปอร์สีน้ำตาล สร้างสีเหลืองบนอาหาร
	B452	1.31	สปอร์และเส้นใยสีเทา

* หมายเหตุ ถ้าอัตราส่วนของวงใสต่อการเจริญมากกว่า 1.00 แสดงว่ามี clear zone ขนาดใหญ่กว่าโคโลนีของเชื้อรา

4.1.3 การคัดแยกขั้นที่สาม (Tertiary isolation)

นำเชื้อราที่สามารถผลิตเซลลูเลสที่คัดแยกได้จากข้อ 4.1.2 มาทดสอบการผลิตเซลลูเลสในอาหารสูตร Production medium ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารปริมาตร 100 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงเชื้อราที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความเร็วรอบของการเขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน จากนั้นจึงนำมาตรวจสอบการผลิตเซลลูเลสโดยการวัดค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนส ผลแสดงในตารางที่ 4.2

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.2 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสที่ผลิตจากเชื้อราชนิดต่างๆ ที่คัดแยกได้จากก้านเครือกล้วย

เชื้อรา	pH หลังการเลี้ยง	ปริมาณโปรตีนหลังการเลี้ยง	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
			เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
		มก./มล.	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)
B301.1	6.58	1.839	0.003	0.320	0.068	0.310
B305	3.41	5.966	0.191	0.966	0.025	0.000
B401	3.57	4.889	0.092	0.699	0.038	0.019
B402	3.53	2.303	0.021	0.753	0.030	0.000
BII	4.31	5.636	0.052	0.389	0.026	5.289
B451	4.40	3.163	0.093	1.009	0.036	3.367
B452	3.78	4.997	0.065	0.711	0.000	0.000

จากตารางสามารถคัดเลือกเชื้อราที่สามารถผลิตเซลลูเลสโดยเฉพาะเอนโดกลูคาเนสและไซแลนเนสได้ดี คือ B305 BII และ B451 เนื่องจาก

305 สามารถผลิตเอนโดกลูคาเนสได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ B301.1

BII สามารถผลิตผลิตเอนโดกลูคาเนสและไซแลนเนสได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ B401 และ B402

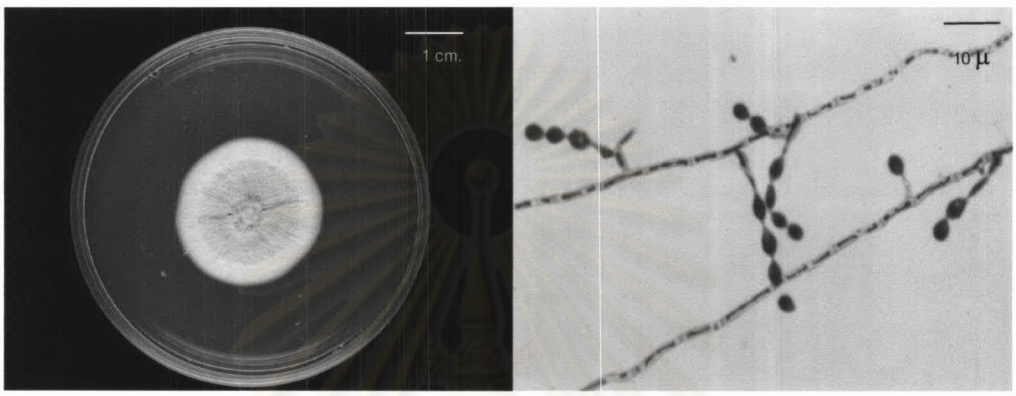
B451 สามารถผลิตผลิตเอนโดกลูคาเนสและไซแลนเนสได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับ B452

4.2 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่ใช้ในงานวิจัย

เมื่อนำเชื้อราสายพันธุ์ B305 BII และ 451 ที่คัดแยกได้จากข้อ 4.1.3 และเชื้อรามาตรฐาน *Acrophialophora* sp. และ *T. reesei* มาศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร และการทำสไลด์ถาวรเพื่อศึกษาโครงสร้างของการเจริญของเส้นใย สี ขนาด และการเรียงตัวของสปอร์ทำให้สามารถจำแนกเชื้อราได้ดังนี้ คือ

4.2.1 **เชื้อรามาตรฐาน** *Acrophialophora* sp.

ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตปานกลาง โคโลนีมีสีน้ำตาลอ่อนเมื่อเจริญนานขึ้นจะมีสีดำบริเวณขอบเส้นใย ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นเชื้อราที่เส้นใยมีผนังกั้น มีการสร้างก้านชูสปอร์ (conidiophores) ซึ่งมีสปอร์ (conidia) หลายๆอันเชื่อมติดกันคล้ายลูกปัด รูปร่างแบบไข่ มีปลายเรียวทั้ง 2 ด้านดังรูปที่ 4.1



ก. ข.

รูปที่ 4.1 ลักษณะการเจริญของ *Acrophialophora* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

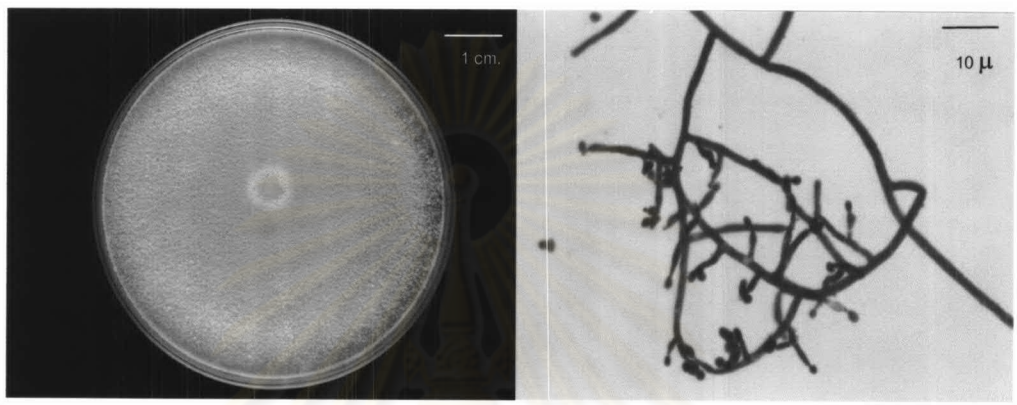
ก. ลักษณะเส้นใยและการเจริญบนอาหาร PDA

ข. ลักษณะเส้นใยและสปอร์ จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.2 **เชื้อรามาตรฐาน** *Trichoderma reesei*

ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตที่ดี มีเส้นใยสีขาว สปอร์มีสีเหลืองและจะค่อยๆ เปลี่ยนเป็นสีเขียวเมื่อเจริญเต็มที่ ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นเชื้อราที่เส้นใยมีผนังกั้น เส้นใยแตกกิ่งก้านสาขาหลายแขนง มีก้านชูสปอร์ (conidiopores) เจริญเป็นลักษณะคล้ายกิ่งไม้บนเส้นใยตรงปลายมีการสร้าง connidia รูปร่างกลม สีเขียว ดังรูปที่ 4.2



ก. ข.

รูปที่ 4.2 ลักษณะการเจริญของ *Trichoderma reesei* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

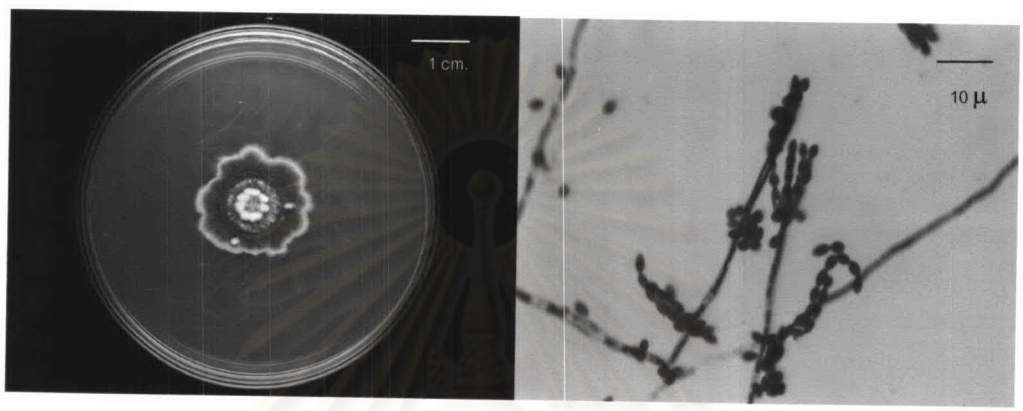
ก. ลักษณะเส้นใยและการเจริญบนอาหาร PDA

ข. ลักษณะเส้นใยและสปอร์ จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.3 *Penicillium* sp. (B305)

ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตค่อนข้างช้า โคโลนีมีสีเขียวบริเวณขอบมีสีขาว ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นเชื้อราที่เส้นใยมีผนังกั้น เส้นใยแตกกิ่งก้านสาขาหลายแขนง มี conidiopores แตกแขนงจากปลายเส้นใยคล้ายแปรงล้างขวด มีการสร้างสปอร์ conidia รูปร่างกลมรี สีเขียว เรียงต่อกันเป็นสายคล้ายโซ่ ดังรูปที่ 4.3



ก. ข.

รูปที่ 4.3 ลักษณะการเจริญของ *Penicillium* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

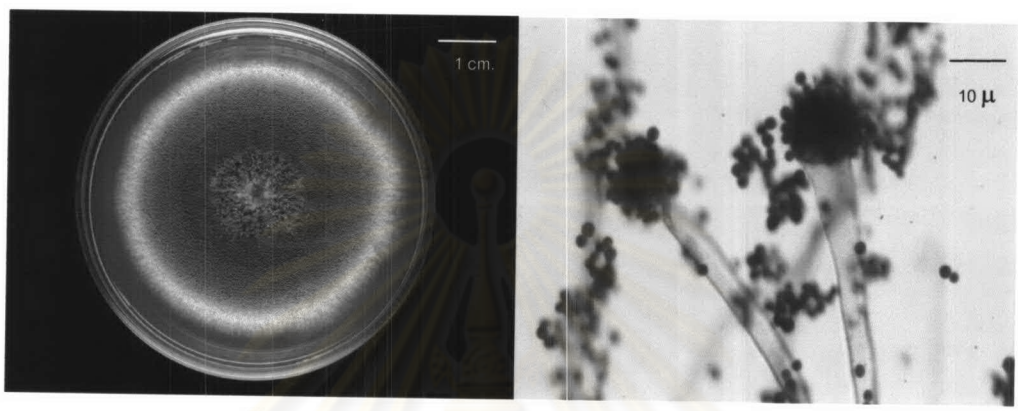
ก. ลักษณะเส้นใยและการเจริญบนอาหาร PDA

ข. ลักษณะเส้นใยและสปอร์ จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.4 *Aspergillus flavus* (BII)

เชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตดี โคโลนีมีสีเขียว บริเวณขอบมีสีขาว ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นเชื้อราที่เส้นใยมีผนังกั้น เส้นใยมีกิ่งก้านสาขาหลายอัน มี conidiopores ส่วนปลายเจริญพองออกเป็นลักษณะคล้ายกระบอง (vesicle) บน vesicle มี phialides หรือ sterigma เรียงเป็นแถว ตรงปลายมีการสร้าง conidia สีเขียวรูปร่างกลม ดังรูปที่ 4.4



ก. ข.

รูปที่ 4.4 ลักษณะการเจริญของ *Aspergillus flavus* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

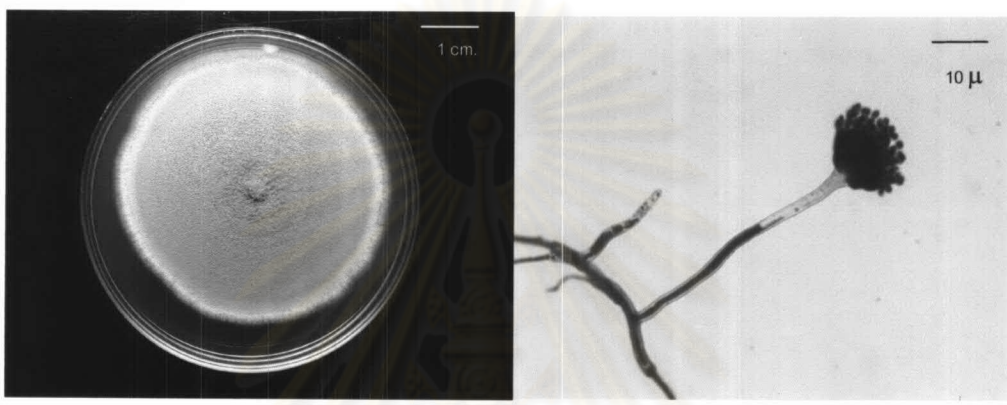
ก. ลักษณะเส้นใยและการเจริญบนอาหาร PDA

ข. ลักษณะเส้นใยและสปอร์ จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2.5 *Aspergillus terreus* (B451)

ลักษณะของเชื้อราที่เจริญบนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการเจริญเติบโตดี มีโคโลนีสีน้ำตาล บริเวณขอบมีสีขาว เปลี่ยนสีอาหารเป็นสีน้ำตาลอ่อน ลักษณะสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ เป็นเชื้อราที่เส้นใยมีผนังกั้น เส้นใยแตกกิ่งก้านสาขาหลายแขนง conidiopores ส่วนปลายเจริญพองออกเป็นลักษณะคล้ายกระบอง (vesicle) บน vesicle มี phialides หรือ sterigma เรียงเป็นแถว ตรงปลายมีการสร้าง connidia สีน้ำตาลรูปร่างกลม ดังรูปที่ 4.5



ก. ข.

รูปที่ 4.5 ลักษณะการเจริญของ *Aspergillus terreus* บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ก. ลักษณะเส้นใยและการเจริญบนอาหาร PDA

ข. ลักษณะเส้นใยและสปอร์ จากการส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์ที่กำลังขยาย 400 เท่า

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3 การผลิตเซลลูเลส

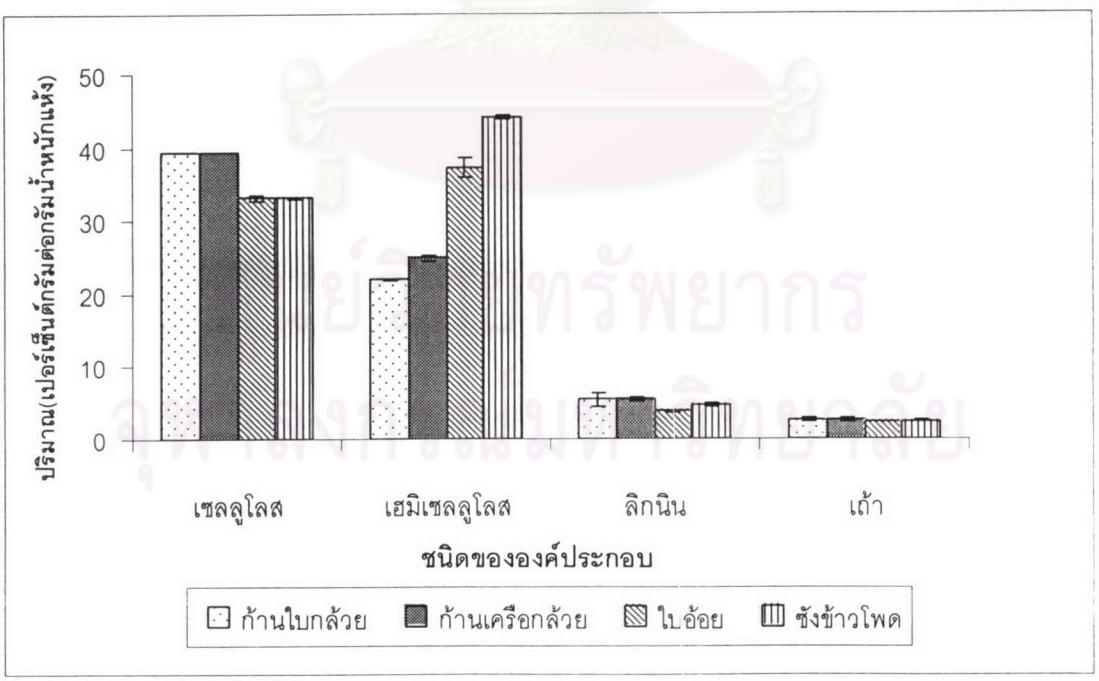
4.3.1 การวิเคราะห์องค์ประกอบของแหล่งเซลลูโลส

ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ของวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ก้านใบกล้วย ก้านเครือกล้วย ซังข้าวโพด และใบอ้อย ที่วิเคราะห์ได้จากห้องปฏิบัติการตามวิธีของ Goering and Van Soest (1970) แสดงในตารางที่ 4.3 และรูปที่ 4.6

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ของวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร

ชนิดของวัสดุทางการเกษตร	ปริมาณองค์ประกอบ (กรัมต่อน้ำหนักแห้ง)			
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน	เถ้า
ก้านใบกล้วย	39.3165[a]	21.9655[d]	5.4762[a]	2.6714*
ก้านเครือกล้วย	39.2959[a]	24.9357[c]	5.6030[a]	2.6629*
ใบอ้อย	33.1267[b]	37.2324[b]	3.9322[b]	2.4217*
ซังข้าวโพด	33.1489[b]	44.1807[a]	4.9118[b]	2.4850*

*ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.6 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ของวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร

จากผลการทดลองพบว่าก้านใบกล้วยและก้านเครือกล้วยมีปริมาณเซลลูโลสมากที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ คือเท่ากับ 39.3165 และ 39.2959 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ รองลงมาคือ ใบอ้อย และซังข้าวโพด คือ 33.1489 และ 33.1267 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อน้ำหนักแห้งตามลำดับ เมื่อพิจารณาองค์ประกอบอื่นๆ ของก้านใบกล้วยและก้านเครือกล้วย พบว่าก้านใบกล้วยมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสน้อยกว่าก้านเครือกล้วย ในขณะที่ปริมาณลิกนินและเถ้ามีปริมาณใกล้เคียงกันดังนั้นจึงได้คัดเลือกก้านใบกล้วยเป็นแหล่งเซลลูโลสเพื่อใช้ในการผลิตเซลลูเลสในการทดลองต่อไป

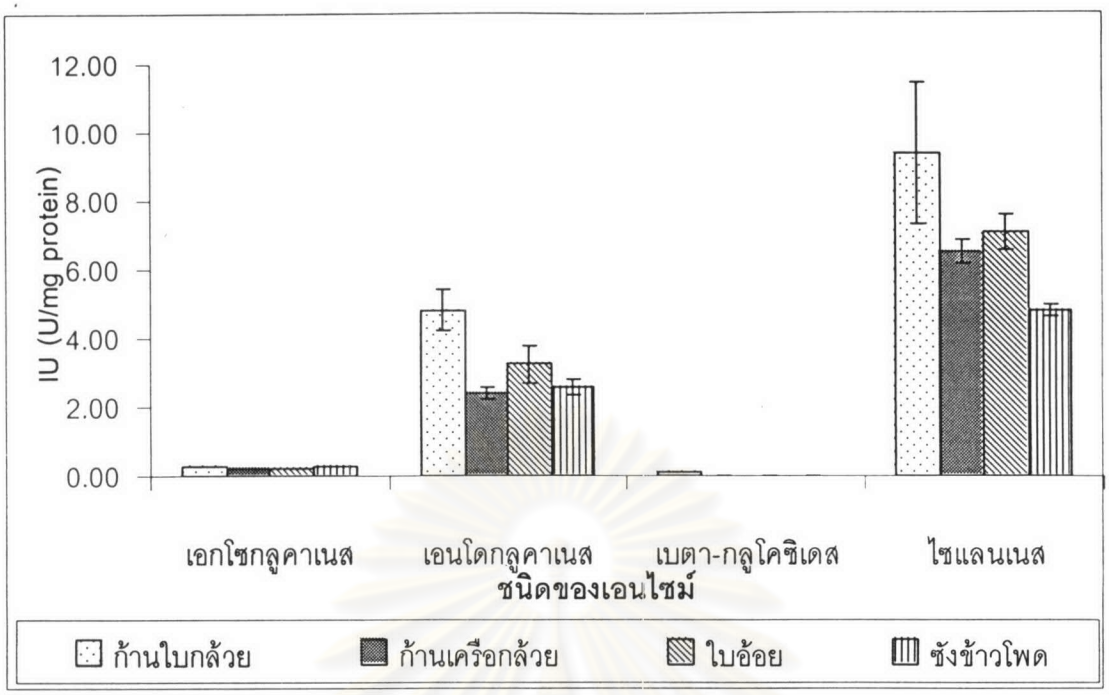
4.3.2 การศึกษาผลของการใช้แหล่งเซลลูโลสชนิดต่างๆ ต่อการผลิตเซลลูเลส

จากการนำวัสดุทางการเกษตรทั้ง 4 ชนิด ได้แก่ ก้านใบกล้วย ก้านเครือกล้วย ซังข้าวโพด และใบอ้อย มาเป็นแหล่งเซลลูโลสเพื่อทำการผลิตเซลลูเลสด้วย *T. reesei* ได้ผลดังตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.7

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสจากการใช้แหล่งเซลลูโลสชนิดต่างๆ ในการผลิตเอนไซม์ด้วย *T. reesei*

ชนิดแหล่งเซลลูโลส	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
	เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)
ก้านใบกล้วย	0.303^{a}	4.822^{a}	0.101^{a}	9.350^{a}
ก้านเครือกล้วย	0.237^{b}	2.378^{c}	0.021^{b}	6.523^{bc}
ใบอ้อย	0.231^{b}	3.247^{b}	0.021^{b}	7.093^{b}
ซังข้าวโพด	0.277^{a}	2.571^{bc}	0.027^{b}	4.802^{d}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.7 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสจาก *T. reesei* ที่มีการใช้วัสดุการเกษตรชนิดต่างๆ เป็นแหล่งเซลลูโลส

จากตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.7 พบว่าการผลิตเซลลูเลสโดย *T. reesei* และเมื่อใช้ก้านใบกล้วยเป็นแหล่งเซลลูโลสทำให้มีการผลิตเซลลูเลสทั้ง 3 กลุ่มดีที่สุดอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับก้านเครือกล้วย ใบอ้อย และซังข้าวโพด คือ เอกโซกลูคาเนส 0.303 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน เอนโดกลูคาเนส 4.822 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน และเบตา-กลูโคซิเดส 0.101 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน และไซแลนเนส 9.350 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

4.3.3 การปรับสภาพแหล่งเซลลูโลส

เมื่อนำแหล่งเซลลูโลสที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.3.1 และ 4.3.2 คือ ก้านใบกล้วยมาทำการปรับสภาพโดยทำการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 60 นาที ได้ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 4.5

เมื่อใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาปรับสภาพก้านใบกล้วย จะทำให้ปริมาณของน้ำหนักแห้งที่เหลือจากการปรับสภาพลดลงต่ำกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ เมื่อมีความเข้มข้นสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มากกว่า 10 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.5 น้ำหนักคงเหลือของก้านกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของ NaOH	น้ำหนักแห้งก่อนปรับสภาพ	น้ำหนักแห้งหลังปรับสภาพ	น้ำหนักคงเหลือ
(เปอร์เซ็นต์)	(กรัม)	(กรัม)	(เปอร์เซ็นต์)
0	40.000	39.221	99.980
5	40.000	20.544	51.360
10	40.000	16.830	42.075
15	40.000	14.577	36.443

4.3.4 ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่อการผลิตเซลลูเลส

เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ มาเป็นแหล่งเซลลูโลสสำหรับผลิตเซลลูเลสด้วย *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* ได้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์แสดงดังตารางที่ 4.6 และรูปที่ 4.8 ถึง 4.11

เอกโซกลูคาเนส

Acrophialophora sp. *T. reesei* และ *Penicillium* sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.009 0.362 และ 0.031 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.052 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.099 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

เอนโดกลูคาเนส

T. reesei และ *Penicillium* sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 3.057และ 1.063 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

Acrophialophora sp. *A. flavus* และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 1.188 1.835 และ 1.614 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

เบตา-กลูโคซิเดส

Acrophialophora sp. และ *T. reesei* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.022 และ 0.047 ยูนิต ต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. flavus และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.149 และ 0.130 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

Penicillium sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.096 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

ไซแลนเนส

พบว่า *Acrophialophora* sp. *T. reesei* และ *A. flavus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งเซลลูโลส มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 1.941 6.438 และ 6.304 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุด เมื่อใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งเซลลูโลส มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 6.908 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ส่วน *Penicillium* sp.ไม่พบการผลิตไซแลนเนส

จากผลการทดลองที่ 4.3.4 จึงสรุปได้ว่าสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นต่างๆในการปรับสภาพก้านในกล้วย มีผลต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเฉพาะเอนโดกลูคาเนสของเชื้อราทั้ง 5 สายพันธุ์ ซึ่งค่าที่เหมาะสมต่อการผลิตที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือ

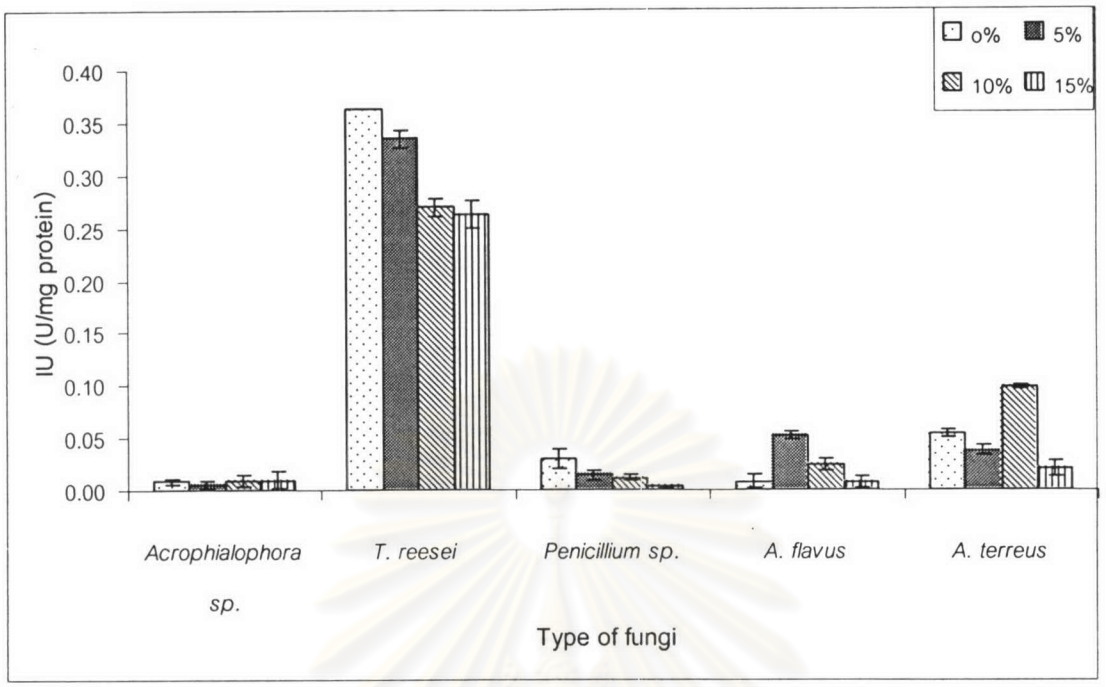
T. reesei Penicillium sp ใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์

Acrophialophora sp. *A. flavus* และ *A. terreus* ใช้ก้านใบกล้วยที่ปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์

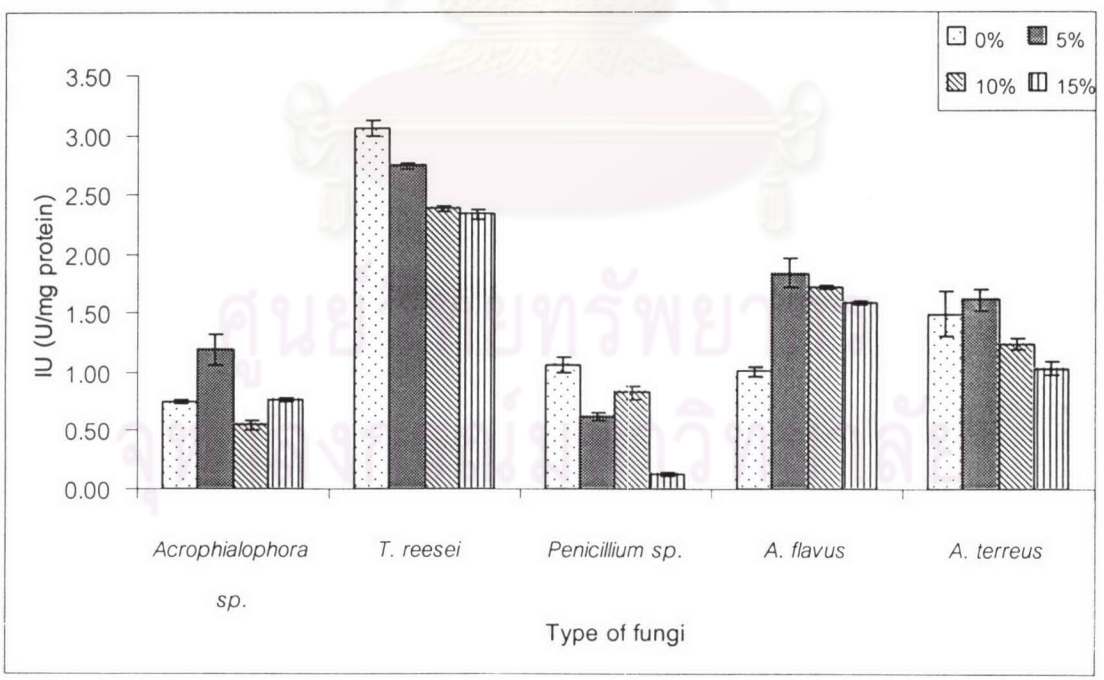
ตารางที่ 4.6 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์

เชื้อรา	%NaOH	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
		เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
		(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)
Acrophialophora sp.	0	0.009^{ij}	0.757^{i}	0.022^{l}	1.941^{i}
	5	0.006^{j}	1.188^{g}	0.009^{no}	1.897^{i}
	10	0.009^{ij}	0.549^{j}	0.008^{o}	1.150^{j}
	15	0.010^{ij}	0.772^{i}	0.013^{m}	1.241^{j}
T. reesei	0	0.362^{a}	3.057^{a}	0.047^{i}	6.438^{b}
	5	0.334^{b}	2.741^{b}	0.044^{j}	5.485^{c}
	10	0.269^{c}	2.383^{c}	0.030^{k}	3.763^{f}
	15	0.262^{c}	2.331^{c}	0.029^{k}	3.423^{g}
Penicillium sp.	0	0.031^{fg}	1.063^{h}	0.023^{l}	0.000^{k}
	5	0.014^{hij}	0.619^{j}	0.061^{h}	0.000^{k}
	10	0.012^{ij}	0.830^{i}	0.096^{f}	0.000^{k}
	15	0.003^{j}	0.131^{k}	0.009^{no}	0.000^{k}
A. flavus	0	0.008^{j}	1.007^{h}	0.126^{d}	6.304^{b}
	5	0.052^{e}	1.835^{d}	0.149^{a}	2.481^{h}
	10	0.024^{gh}	1.718^{de}	0.143^{b}	2.005^{i}
	15	0.007^{j}	1.583^{f}	0.094f	1.382^{j}
A terreus	0	0.054^{e}	1.493^{f}	0.110^{e}	2.239^{hi}
	5	0.038^{f}	1.614^{ef}	0.130^{c}	6.908^{a}
	10	0.099^{d}	1.246^{g}	0.075^{g}	5.130^{d}
	15	0.020^{hi}	1.032^{h}	0.011^{n}	4.334^{e}

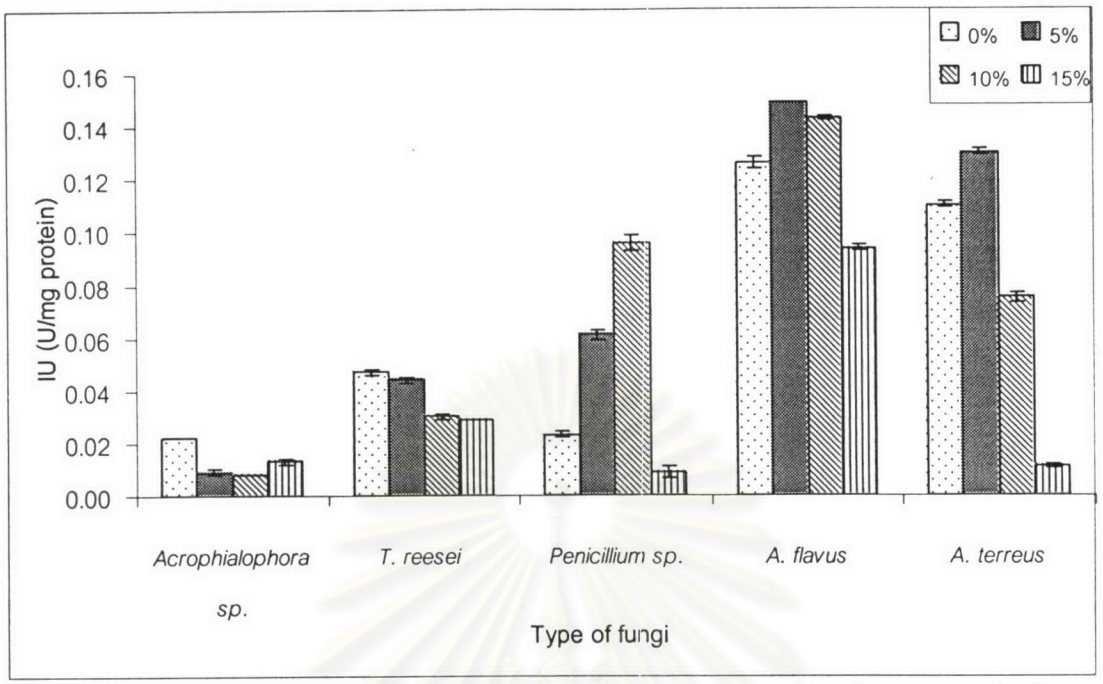
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



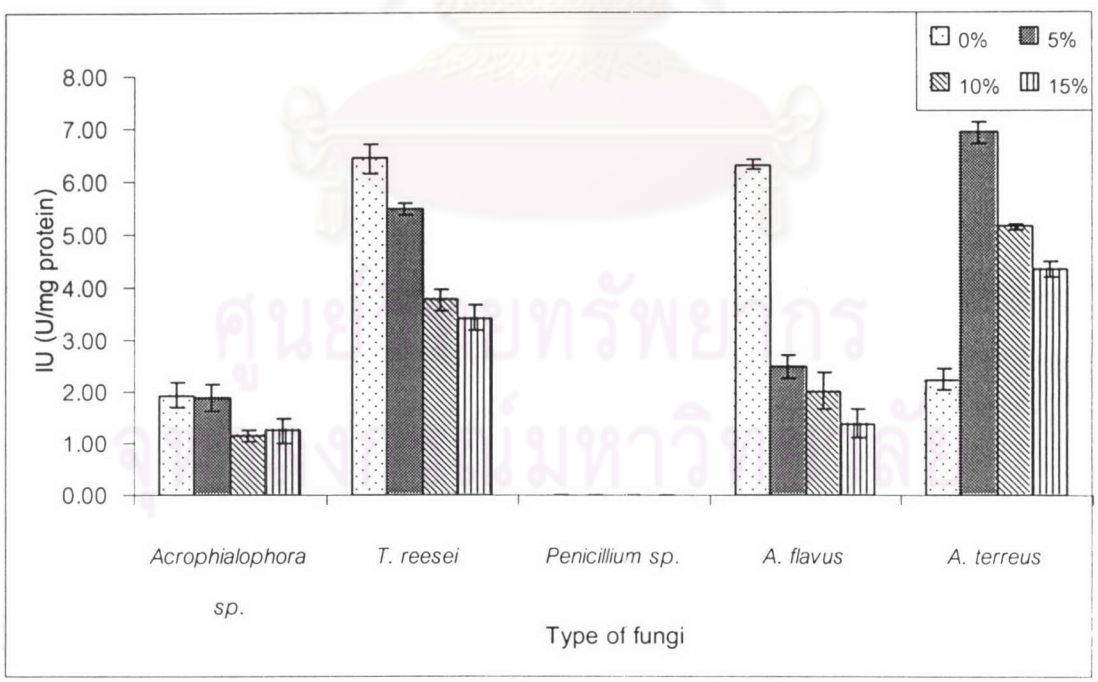
รูปที่ 4.8 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4.9 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4.10 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4.11 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ

4.3.5 การคัดเลือกแหล่งไนโตรเจน

ผลของการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ได้แก่ แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมไนเตรท แอมโมเนียมฟอสเฟต ยูเรีย และ เปปโตน เพื่อผลิตเซลลูเลสส จาก *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* ได้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์แสดงดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.12 ถึง 4.15

เอกโซกลูคาเนส

Acrophialophora sp. และ *Penicillium* sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรท มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.031 และ 0.041 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

T. reesei มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ แอมโมเนียมไนเตรท หรือ แอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.284 และ 0.286 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.058 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้เปปโตน หรือ แอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.076 และ 0.078 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

เอนโดกลูคาเนส

Acrophialophora sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ แอมโมเนียมไนเตรท หรือ เปปโตน มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 1.141 และ 1.135 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

T. reesei มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ แอมโมเนียมไนเตรท มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 3.297 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

Penicillium sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ แอมโมเนียมไนเตรท หรือ ยูเรีย มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 1.825 และ 2.078 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรท หรือ แอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 2.044 และ 2.122 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 2.035 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

เบตา-กลูโคซิเดส

Acrophialophora sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ เปปโตน มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.086 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

T. reesei มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรทหรือ แอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.036 และ 0.038 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

Penicillium sp. และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ แอมโมเนียมไนเตรท มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.180 และ 0.095ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมซัลเฟต มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.176 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

ไซแลนเนส

Acrophialophora sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ เปปโตนมีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 3.731 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

T. reesei มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ แอมโมเนียมไนเตรท มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 6.119 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

Penicillium sp. ไม่พบการผลิตไซแลนเนส

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมฟอสเฟตมีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 2.519 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้แอมโมเนียมไนเตรท หรือ เปปโตน มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 3.235 และ 3.221 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

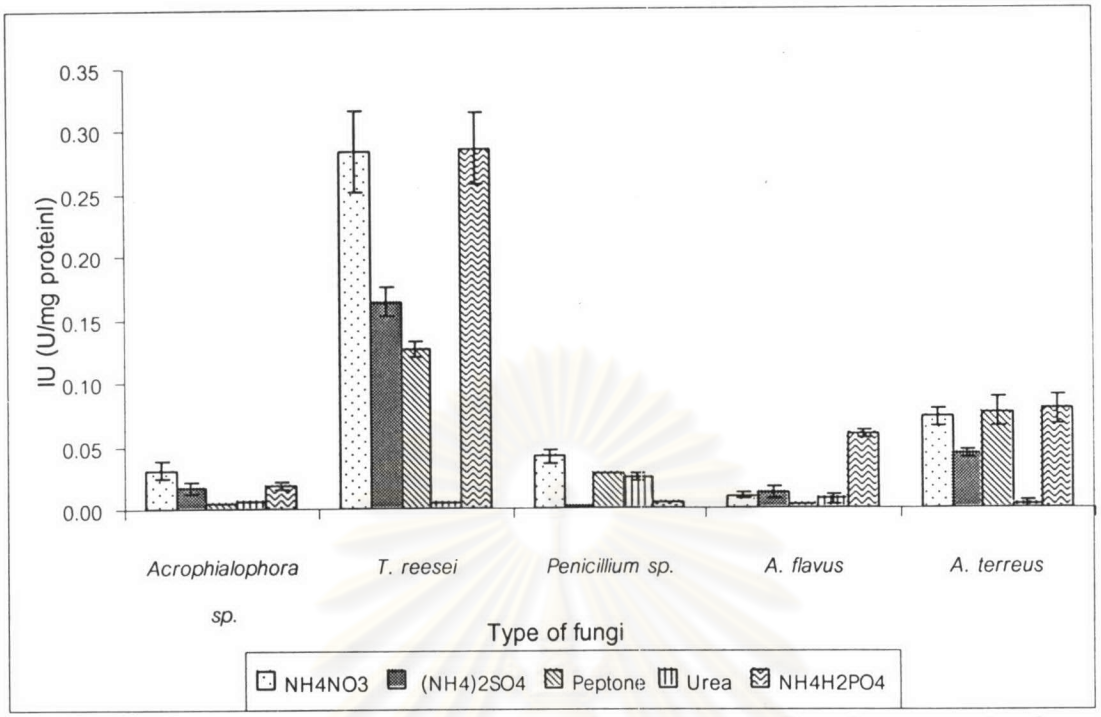
จึงสรุปได้ว่าแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ มีผลต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเฉพาะเอนโดกลูคาเนส ซึ่งชนิดที่เหมาะสมสำหรับเชื้อราแต่ละชนิดคือ

Acrophialophora sp. *T. reesei* และ *Penicillium* sp ใช้แอมโมเนียมไนเตรท เป็นแหล่งไนโตรเจน *A. flavus* และ *A. terreus* ใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต เป็นแหล่งไนโตรเจน

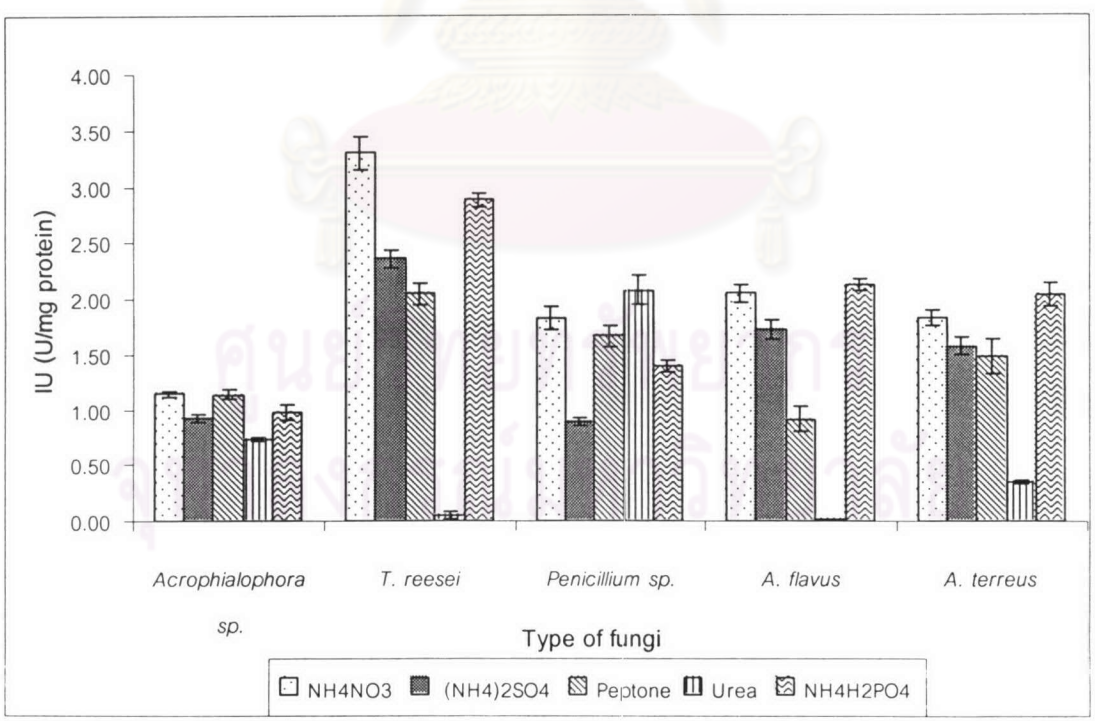
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.7 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงใน อาหาร Production ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ

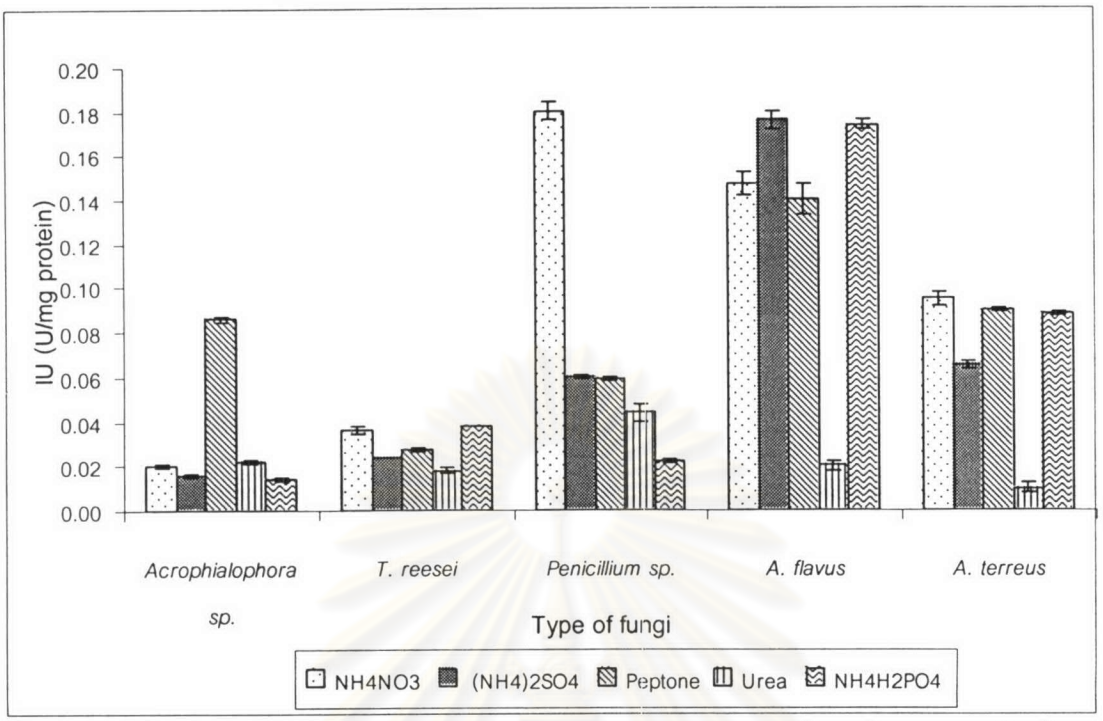
เชื้อรา	ชนิดแหล่งไนโตรเจน	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
		เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
		(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)
Acrophialophora sp.	NH_4NO_3	0.031^{gh}	1.141^{j}	0.020^{lmn}	2.589^{ef}
	$(NH_4)_2SO_4$	0.017^{hijk}	0.915^{k}	0.016^{no}	2.375^{fg}
	Peptone	0.004^{k}	1.135^{j}	0.086^{f}	3.731^{c}
	Urea	0.006^{ijk}	0.726^{l}	0.022^{lm}	2.788^{def}
	$NH_4H_2PO_4$	0.018^{hijk}	0.977^{k}	0.014^{o}	1.796^{hi}
T. reesei	NH_4NO_3	0.284^{a}	3.297^{a}	0.036^{j}	6.119^{a}
	$(NH_4)_2SO_4$	0.164^{b}	2.359^{c}	0.024^{kl}	4.855^{b}
	Peptone	0.126^{c}	2.047^{d}	0.027^{k}	3.685^{c}
	Urea	0.005^{k}	0.054^{n}	0.018^{mn}	1.615^{hij}
	$NH_4H_2PO_4$	0.286^{a}	2.880^{b}	0.038^{j}	4.807^{b}
Penicillium sp.	NH_4NO_3	0.041^{fg}	1.825^{e}	0.180^{a}	0.000^{k}
	$(NH_4)_2SO_4$	0.002^{k}	0.883^{k}	0.060^{h}	0.000^{k}
	Peptone	0.027^{ghi}	1.663^{fg}	0.059^{h}	0.000^{k}
	Urea	0.025^{ghij}	2.078^{d}	0.044^{i}	0.000^{k}
	$NH_4H_2PO_4$	0.005^{k}	1.397^{i}	0.022^{lm}	0.000^{k}
A. flavus	NH_4NO_3	0.010^{ijk}	2.044^{d}	0.147^{c}	1.799^{hi}
	$(NH_4)_2SO_4$	0.012^{ijk}	1.717^{ef}	0.176^{ab}	1.282^{ij}
	Peptone	0.003^{k}	0.910^{k}	0.140^{d}	1.148^{j}
	Urea	0.007^{ijk}	0.011^{n}	0.020^{lm}	0.040^{k}
	$NH_4H_2PO_4$	0.058^{ef}	2.122^{d}	0.174^{b}	2.519^{def}
A terreus	NH_4NO_3	0.072^{de}	1.827^{e}	0.095^{e}	3.235^{cd}
	$(NH_4)_2SO_4$	0.043^{fg}	1.571^{gh}	0.065^{g}	1.957^{gh}
	Peptone	0.07^{6d}	1.481^{hi}	0.090^{f}	3.221^{cd}
	Urea	0.003^{k}	0.343^{m}	0.010^{p}	0.487^{k}
	$NH_4H_2PO_4$	0.078^{d}	2.035^{d}	0.088^{f}	3.041^{de}



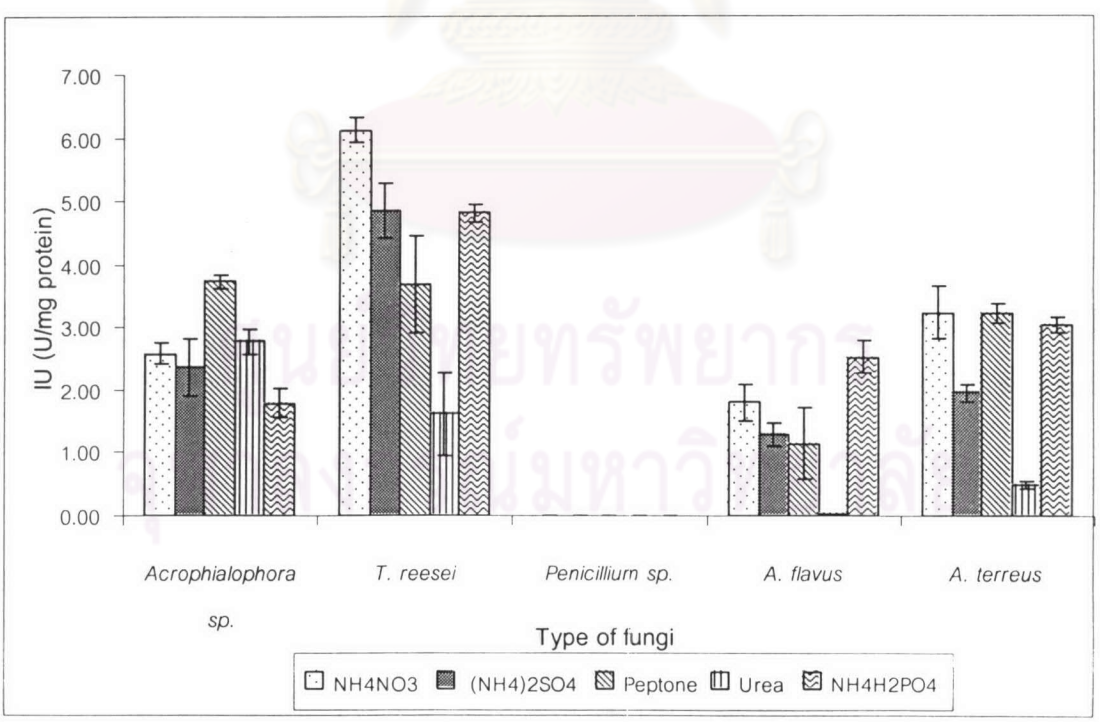
รูปที่ 4.12 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อ เลี้ยงในอาหาร Production ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ



รูปที่ 4.13 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ



รูปที่ 4.14 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส ((ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ



รูปที่ 4.15 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production medium ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ

4.3.6 แหล่งอาหารเสริม

ผลการทดลองของการใช้แหล่งอาหารเสริม 2 ชนิด ได้แก่ ถั่วเหลือง และ เคซีน ปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร เพื่อผลิตเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์แสดงดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.16 ถึง 4.19

เอกโซกลูคาเนส

Acrophialophora sp. *T. reesei* และ *Penicillium* sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้เคซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.062 0.355 และ 0.028 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อไม่เติมแหล่งอาหารเสริม มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.010 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ เคซีน หรือ ถั่วเหลือง 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.078 และ 0.081 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

เอนโดกลูคาเนส

Acrophialophora sp. *T. reesei* และ *A. flavus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ถั่วเหลือง 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.921 2.903 และ 0.935 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

Penicillium sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อไม่เติมแหล่งอาหารเสริม มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.669 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อไม่เติมแหล่งอาหารเสริม หรือใช้ เคซีน 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 1.886 และ 1.766 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

เบตา-กลูโคซิเดส

Acrophialophora sp. *T. reesei Penicillium* sp. และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อไม่เติมแหล่งอาหารเสริม มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.013 0.027 0.101 และ 0.129 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ ถั่วเหลือง 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.152 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

ไซแลนเนส

Acrophialophora sp. *T. reesei* และ*A. flavus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อไม่เติมแหล่งอาหารเสริม มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 1.717 6.094 และ 2.186 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ ในขณะที่ *Penicillium* sp. ไม่พบการผลิตไซแลนเนส

A. terreus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ถั่วเหลือง 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 5.411 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

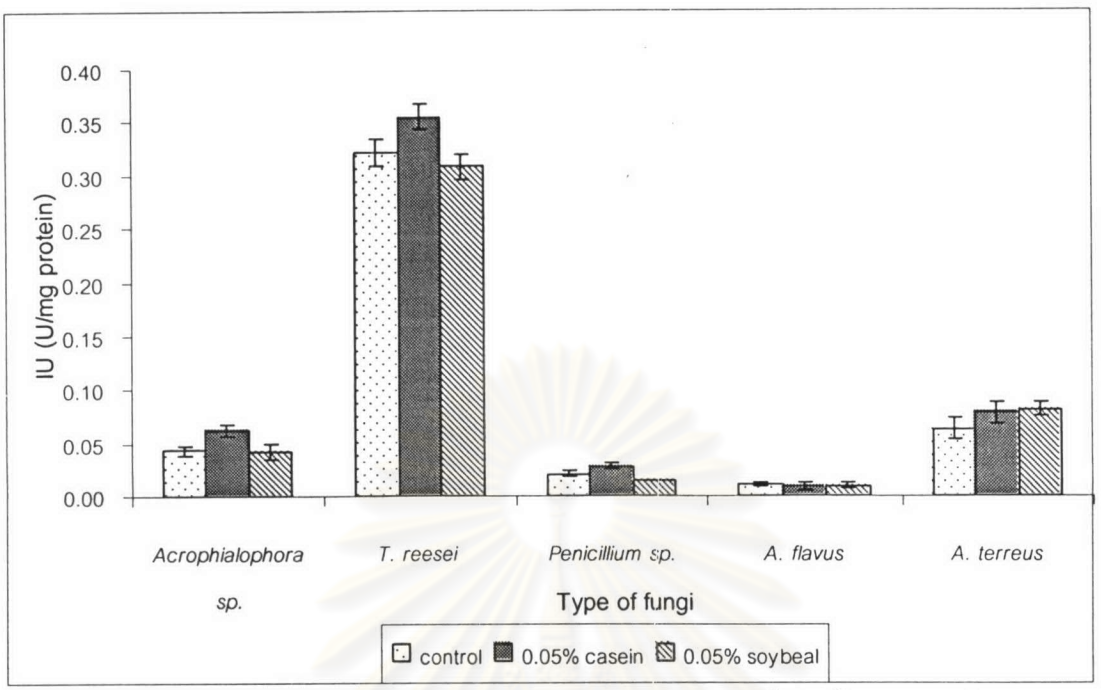
จึงสรุปได้ว่าการใช้แหล่งอาหารเสริม 2 ชนิด ได้แก่ ถั่วเหลือง และ เคซีน ปริมาณ 0.05 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร มีผลต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเฉพาะเอนโดกลูคาเนสจาก เชื้อรา คือ

เชื้อรา *Acrophialophora* sp. *T. reesei* และ *A. flavus* เติมแหล่งอาหารเสริมคือถั่วเหลือง 0.05 เปอร์เซ็นต์

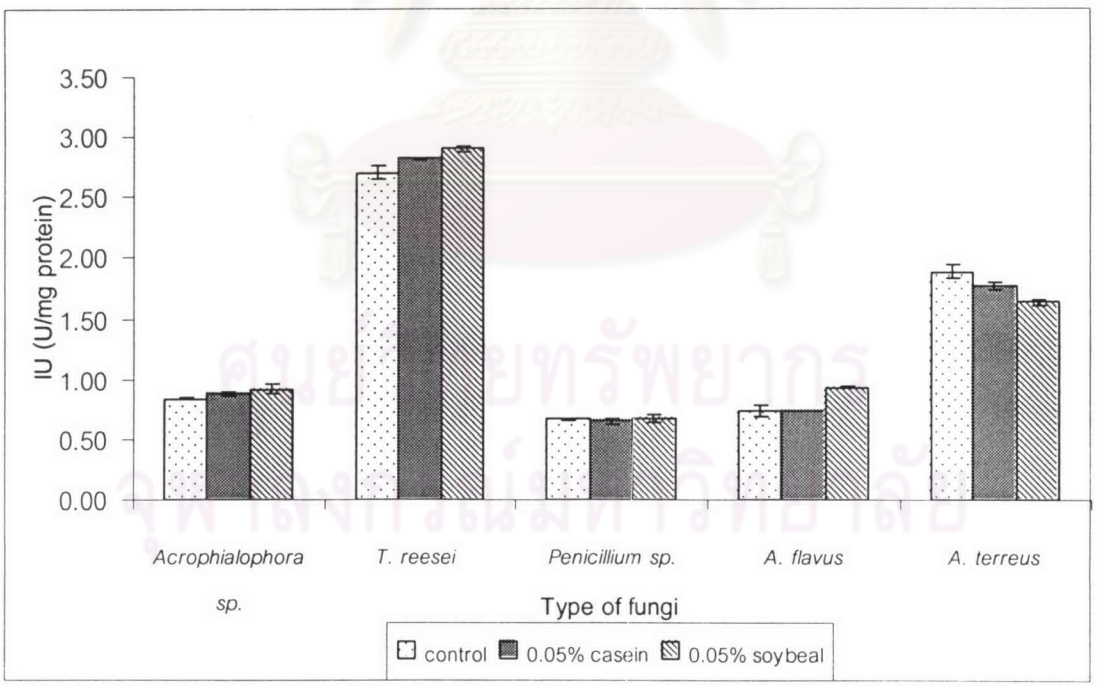
เชื้อรา *Penicillium* sp. และ *A. terreus* ไม่เติมแหล่งอาหารเสริม

ตารางที่ 4.8 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม

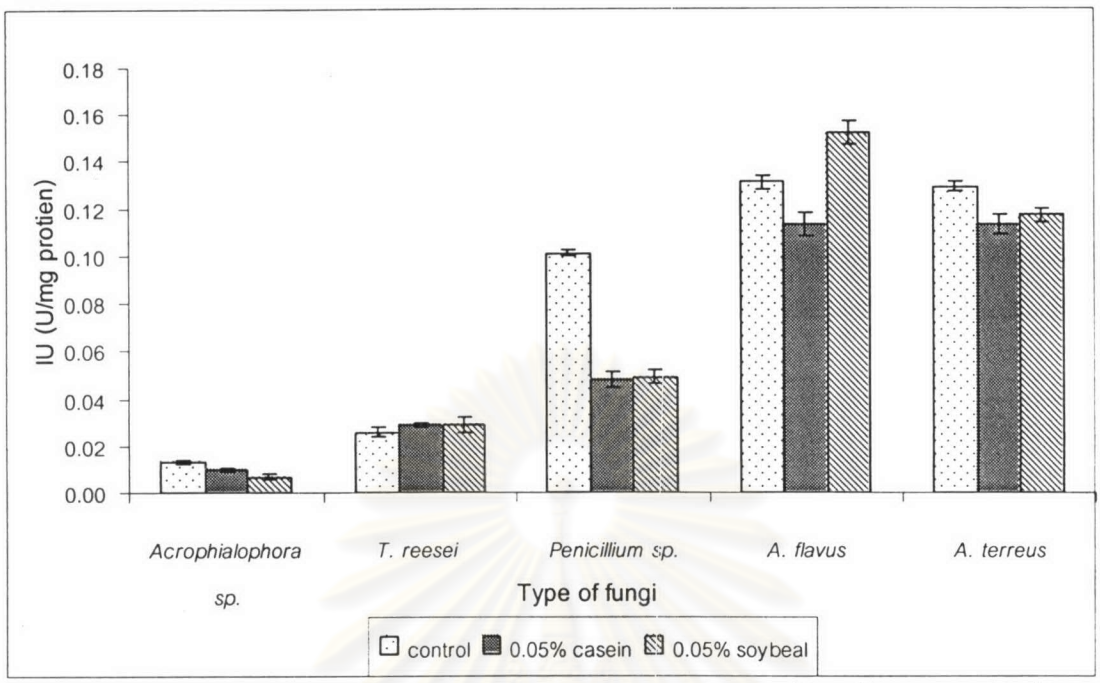
เชื้อรา	อาหารเสริม	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
		เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
		(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)
Acrophialophora sp.	control	0.043^{f}	0.838^{i}	0.013^{g}	1.717^{fg}
	0.05% casein	0.062^{e}	0.880^{hi}	0.010^{gh}	1.673^{fg}
	0.05% soybean	0.042^{f}	0.921^{gh}	0.007^{h}	1.188^{h}
T. reesei	control	0.321^{b}	2.705^{c}	0.026^{f}	6.094^{a}
	0.05% casein	0.355^{a}	2.826^{b}	0.029^{f}	6.317^{a}
	0.05% soybean	0.308^{c}	2.903^{a}	0.029^{f}	6.222^{a}
Penicillium spp.	control	0.021^{gh}	0.669^{k}	0.101^{d}	0.000^{i}
	0.05% casein	0.028^{g}	0.651^{k}	0.048^{e}	0.000^{i}
	0.05% soybean	0.015^{gh}	0.676^{k}	0.049^{e}	0.000^{i}
A. flavus	control	0.010^{h}	0.737^{j}	0.131^{b}	2.186^{e}
	0.05% casein	0.009^{h}	0.740^{j}	0.113^{c}	1.456^{gh}
	0.05% soybean	0.010^{h}	0.935^{g}	0.152^{a}	1.876^{ef}
A. terreus	control	0.063^{e}	1.886^{c}	0.129^{b}	4.627^{d}
	0.05% casein	0.078^{d}	1.766^{c}	0.113^{c}	5.000^{c}
	0.05% soybean	0.081^{d}	1.632^{d}	0.117^{c}	5.411^{b}



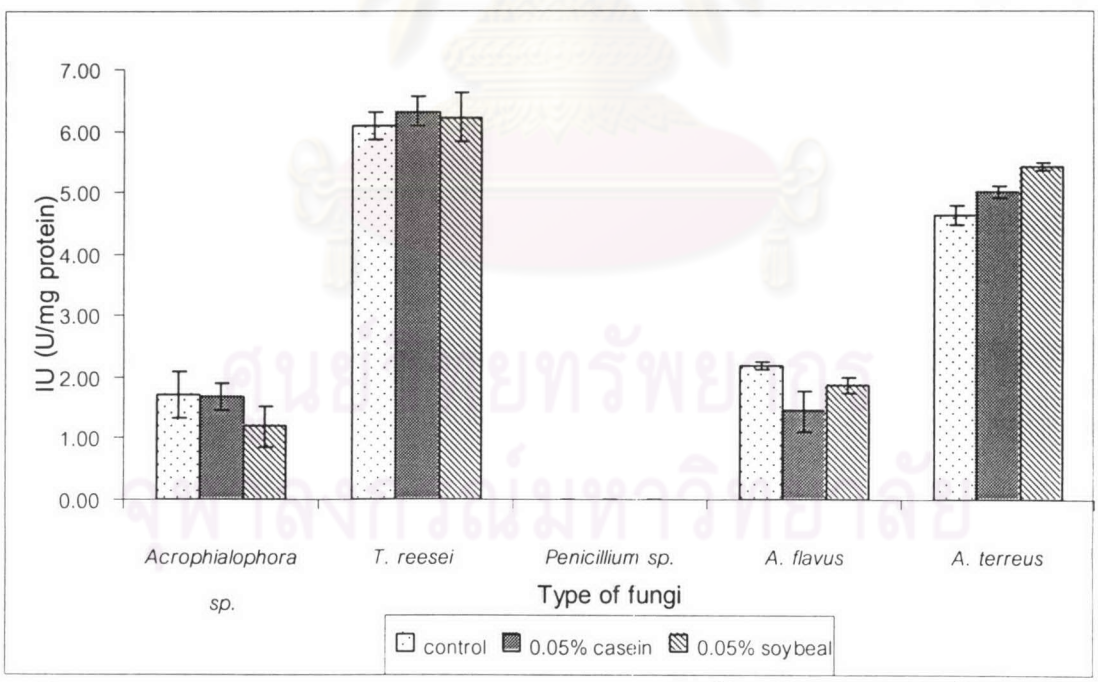
รูปที่ 4.16 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production medium ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม



รูปที่ 4.17 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม



รูปที่ 4.18 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม



รูปที่ 4.19 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม

4.3.7 ความเข้มข้นของแหล่งอาหารเสริม

ผลการทดลองของการใช้แหล่งอาหารเสริม ได้แก่ ถั่วเหลืองความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 0.05 0.10 0.15 และ 0.20 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร เพื่อผลิตเซลลูเลสด้วยเชื้อรา *Acrophialophora* sp. *T. reesei* และ *A. flavus* ได้ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนไซม์แสดงดังตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.20 ถึง 4.23

เอกโซกลูคาเนส

Acrophialophora sp. *T. reesei* และ *A. flavus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ถั่วเหลืองบดความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.077 0.342 และ 0.020 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

เอนโดกลูคาเนส

Acrophialophora sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ถั่วเหลือง 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 2.394 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

T. reesei และ *A. flavus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ถั่วเหลือง0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 3.482 และ 0.691ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

เบตา-กลูโคซิเดส

Acrophialophora sp. และ *T. reesei* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ถั่วเหลือง 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.030 และ 0.045 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ ใช้ ถั่วเหลือง 0.15 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.166 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

ไซแลนเนส

Acrophialophora sp. และ *T. reesei* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ถั่วเหลือง 0.10 เปอร์เซ็นต์ มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 6.080 และ 11.029 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

A. flavus มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อใช้ ใช้ ถั่วเหลือง 0.05 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งอาหารเสริมมีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 1.627 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

จากผลการทดลอง 4.6 จึงสรุปได้ว่าการเพิ่มความเข้มข้นของถั่วเหลืองเพื่อเป็นแหล่งอาหารเสริมมีผลต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเฉพาะเอนโดกลูคาเนสของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เพียงเล็กน้อย ซึ่งค่าที่เหมาะสมต่อการผลิตที่จะนำไปใช้ในการทดลองต่อไป คือ

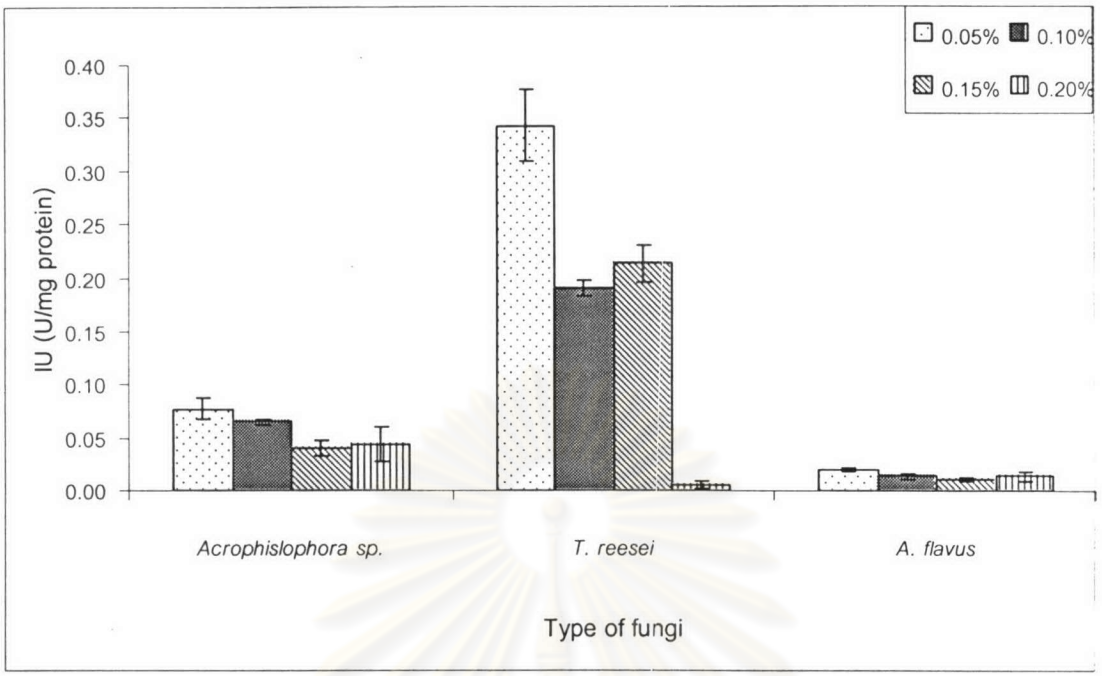
Acrophialophora sp. ใช้ถั่วเหลืองความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตรเป็นแหล่งอาหารเสริม

T. reesei และ *A. flavus* ใช้ถั่วเหลืองความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตรเป็นแหล่งอาหารเสริม

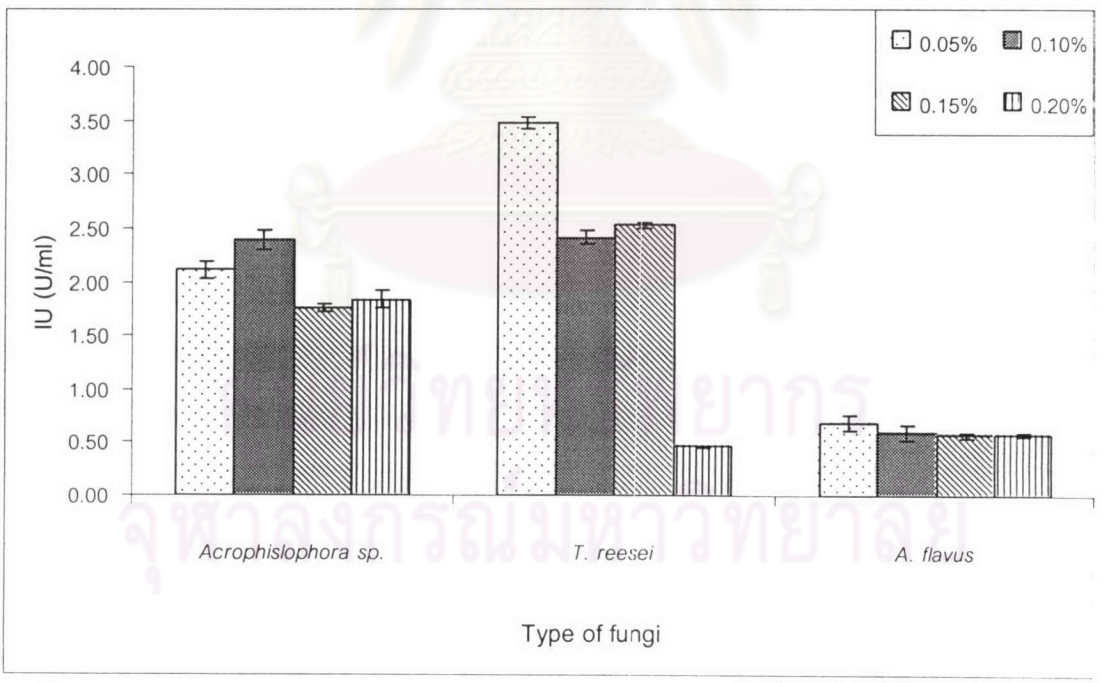
ตารางที่ 4.9 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบด (soy bean) ความเข้มข้นต่างๆ

เชื้อรา	ถั่วลิสงบด	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
		เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
	(เปอร์เซ็นต์)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)
Acrophialophora sp.	0.05	0.077^{d}	2.110^{d}	0.030^{f}	5.427^{e}
	0.10	0.065^{de}	2.394^{c}	0.025^{g}	6.080^{d}
	0.15	0.040^{fg}	1.759^{e}	0.020^{h}	5.597^{de}
	0.20	0.044^{ef}	1.829^{e}	0.029^{f}	4.518^{f}
T. reesei	0.05	0.342^{a}	3.482^{a}	0.045^{d}	11.029^{a}
	0.10	0.190^{c}	2.416^{c}	0.029^{f}	7.791^{b}
	0.15	0.213^{b}	2.529^{b}	0.034^{e}	7.032^{c}
	0.20	0.005^{h}	0.460^{h}	0.004^{i}	2.172^{g}
A. flavus	0.05	0.020^{f}	0.691^{f}	0.161^{b}	1.627^{gh}
	0.10	0.014^{g}	0.595^{g}	0.159^{bc}	0.975^{h}
	0.15	0.011^{g}	0.571^{g}	0.166^{a}	0.994^{h}
	0.20	0.014^{g}	0.577^{g}	0.158^{c}	0.993^{h}

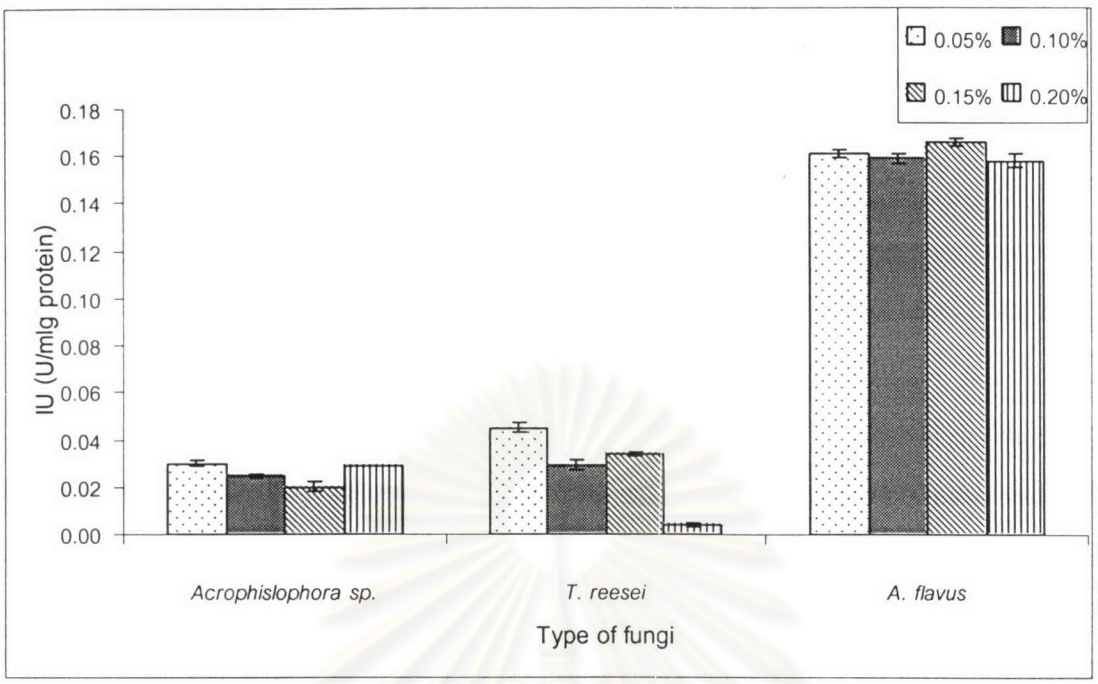
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



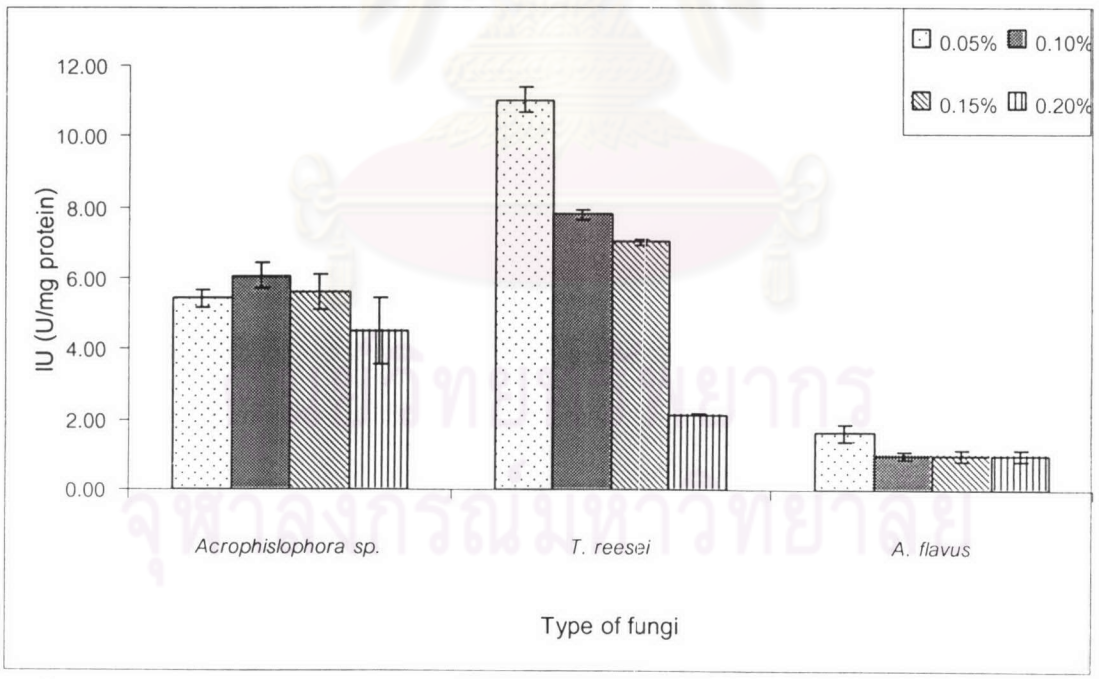
รูปที่ 4.20 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4.21 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 4.22 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production medium ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ

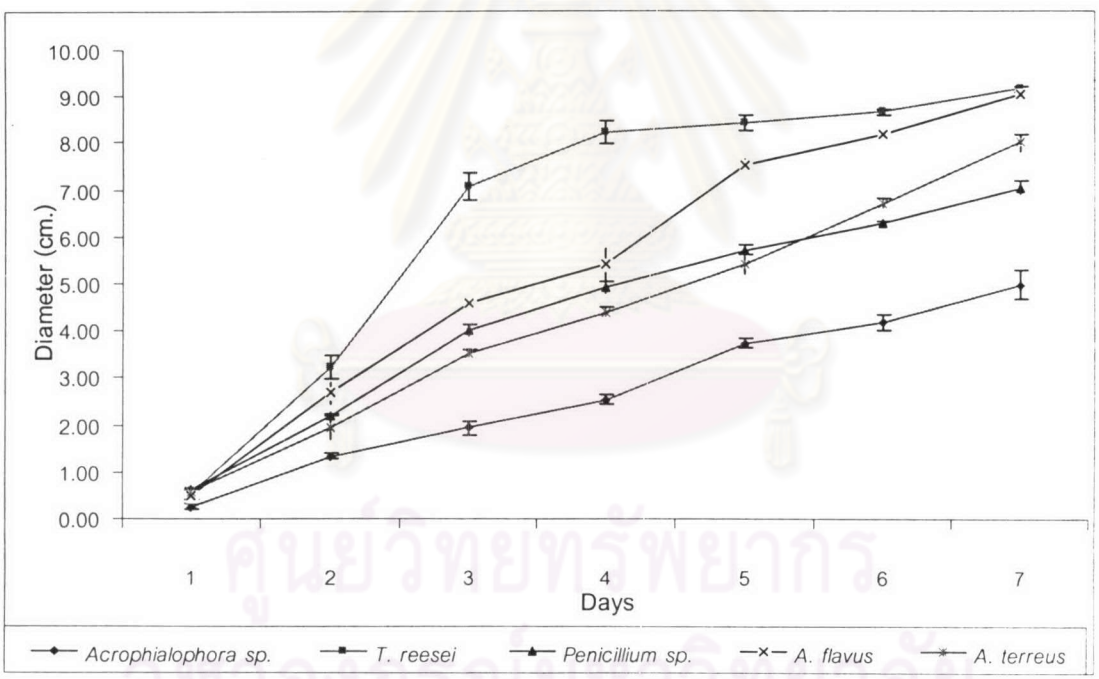


รูปที่ 4.23 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ

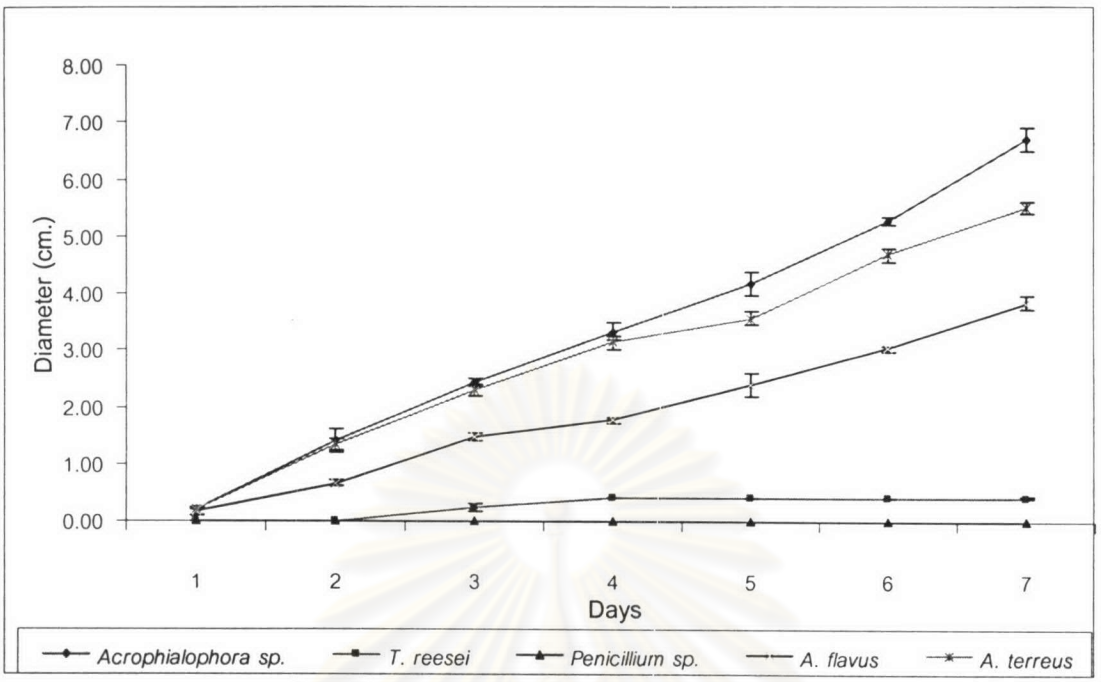
4.3.8 อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเซลลูเลส

การเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส แสดงดังรูปที่ 4.24 ถึง 4.26 และการผลิตเซลลูเลสแสดงดังตารางที่ 4.10 และ รูปที่ 4.27 ถึง 4.30

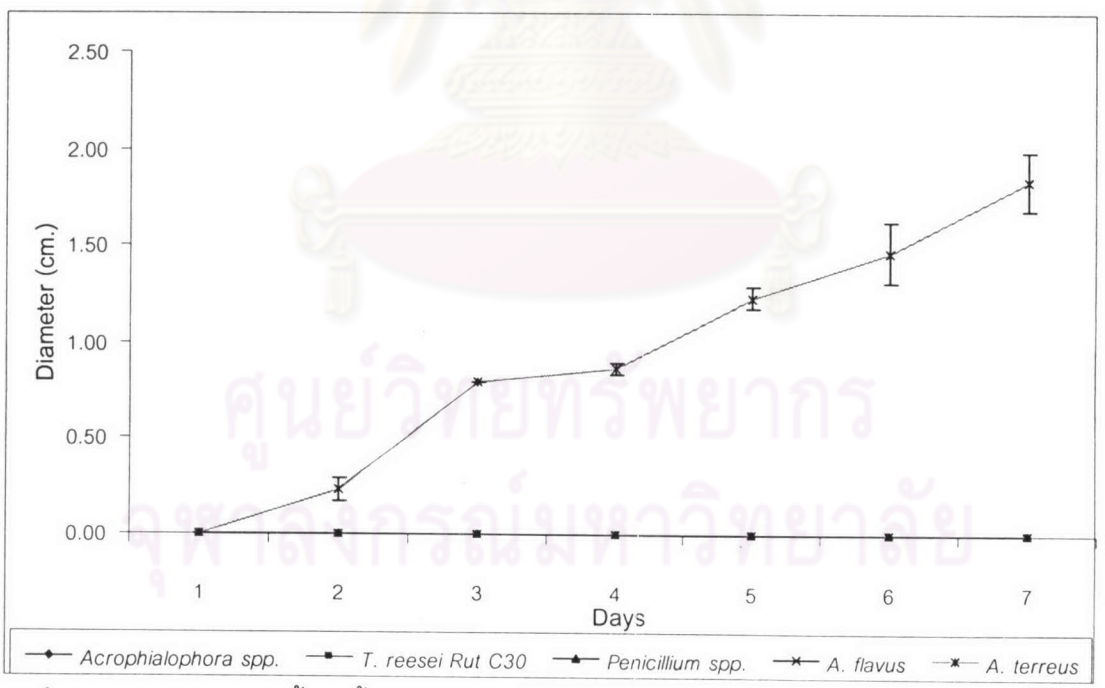
จากผลการทดลองของการเลี้ยงเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ *Acrophialophora* sp. *T. reesei* *Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* บนอาหาร PDA ที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส พบว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อราทั้ง 5 ชนิด มีการเจริญดีโดยเชื้อราที่มีการเจริญเติบโตดีที่สุดคือ *T. reesei* ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส *Acrophialophora* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* สามารถเจริญได้แต่อัตราการเจริญต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในขณะที่ *Penicillium* sp. และ *T. reesei* มีการเจริญเติบโตน้อยมาก และที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส มีเพียงเชื้อรา *A. terreus* เท่านั้นที่สามารถเจริญได้ แต่มีอัตราการเจริญต่ำมาก



รูปที่ 4.24 การเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.25 การเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิดบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.26 การเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อพิจารณาค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลส ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิดจาก ตารางที่ 4.10 และ รูปที่ 4.27 ถึง 4.30 พบว่าการเพิ่มของอุณหภูมิมีผลในทางลบต่อการสร้างผลิตเซลลูเลสทั้ง 3 กลุ่ม คือ เอกโซ กลูคาเนส เอนโดกลูคาเนส และ เบตา-กลูโคซิเดส และ ไซแลนเนส อย่างมีนัยสำคัญ โดยเชื้อราทั้ง 5 ชนิด สามารถผลิตเซลลูเลสทั้ง 3 กลุ่ม ได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส คือ

เอกโซกลูคาเนส

เชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* spp. *A. flavus* และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.059 0.342 0.024 0.067 และ 0.108 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ

เอนโดกลูคาเนส

เชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 1.357 3.482 0.615 1.252 และ 1.674 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน ตามลำดับ

เบตา-กลูโคซิเดส

เชื้อราทั้ง 3 ชนิด คือ *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* sp. และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 0.018 0.045 0.062 และ 0.072 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ *A. flavus.* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส มีค่าแอคติวิตีจำเพาะเท่ากับ 0.166 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน

ไซแลนเนส

เชื้อราทั้ง 4 ชนิด คือ *Acrophialophora* sp. *T. reesei A. flavus* และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะสูงสุดเมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีค่าเท่ากับ 2.269 11.029 2.781 และ 4.308 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ ส่วน *Penicillium* sp. ไม่พบการผลิตไซแลนเนส

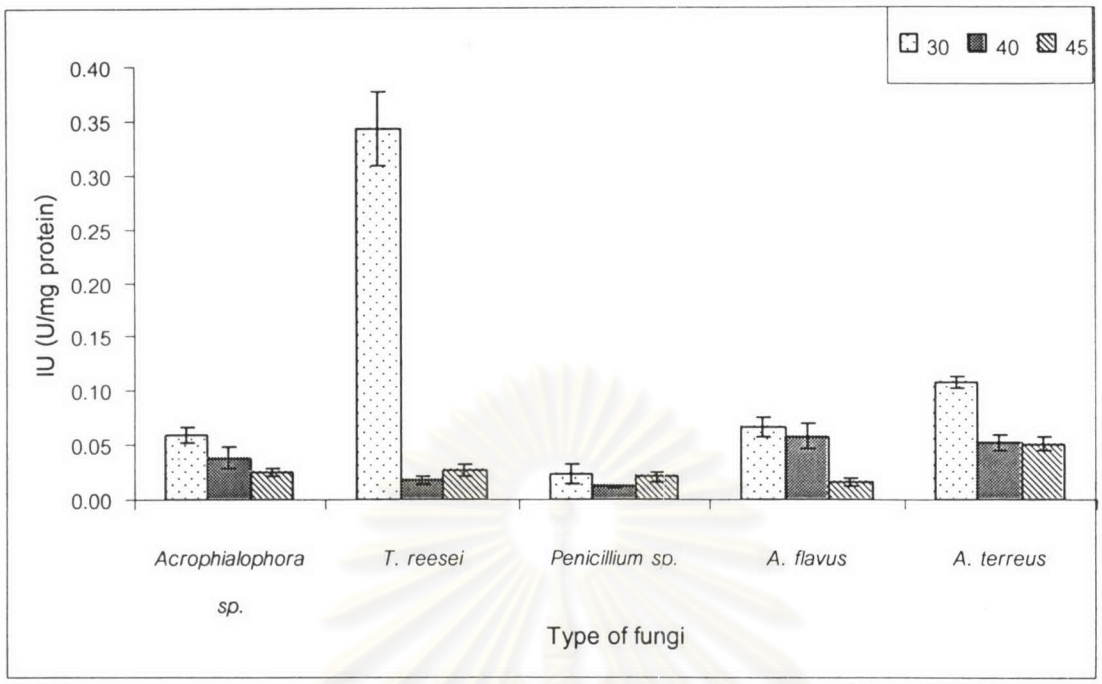
จากผลการทดลอง จึงสรุปได้ว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเฉพาะเอนโดกลูคาเนสของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้เชื้อราทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ *Acrophialophora* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* สามารถผลิตเซลลูเลสที่อุณหภูมิสูงได้ โดยเฉพาะ *A. terreus* สามารถผลิตเซลลูเลสได้ในภาวะอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

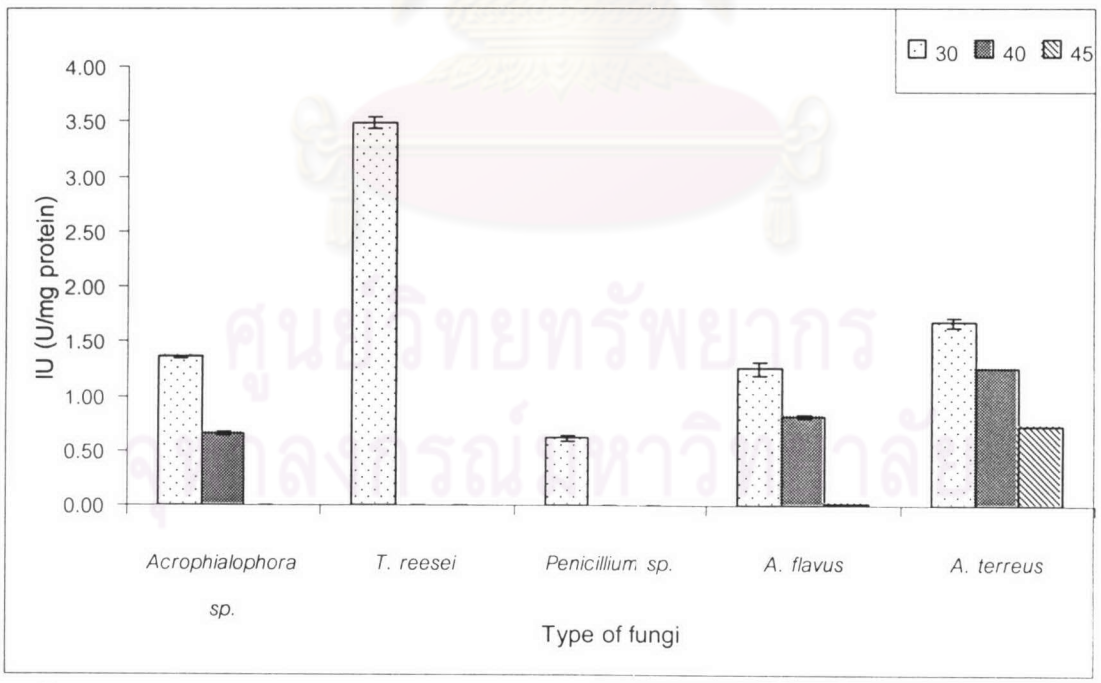
ตารางที่ 4.10 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส

เชื้อรา	อุณหภูมิ	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
		เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
	(องศาเซลเซียส)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)	(ยูนิต/มก.)
Acrophialophora sp.	30	0.059^{c}	1.357^{c}	0.018^{g}	2.269^{d}
	40	0.038^{de}	0.65^{g}	0.008^{h}	1.437^{f}
	45	0.025^{ef}	0.003^{h}	0.003^{hij}	0.000^{g}
T. reesei	30	0.342^{a}	3.482^{a}	0.045^{f}	11.029^{a}
	40	0.018^{ef}	0.000^{h}	0.000^{j}	0.255^{g}
	45	0.027^{ef}	0.000^{h}	0.001^{ij}	0.000^{g}
Penicillium sp.	30	0.024^{ef}	0.615^{g}	0.062^{e}	0.000^{g}
	40	0.012^{f}	0.000^{h}	0.005^{hi}	0.000^{g}
	45	0.021^{ef}	0.000^{h}	0.002^{ij}	0.000^{g}
A. flavus	30	0.067^{c}	1.252^{d}	0.123^{b}	2.781^{c}
	40	0.058^{cd}	0.821^{e}	0.166^{a}	0.183^{g}
	45	0.016^{f}	0.009^{h}	0.021^{g}	0.000^{g}
A. terreus	30	0.108^{b}	1.674^{b}	0.072^{d}	4.308^{b}
	40	0.052^{cd}	1.258^{d}	0.106^{c}	1.840^{e}
	45	0.051^{cd}	0.724^{f}	0.045^{f}	1.157^{fg}

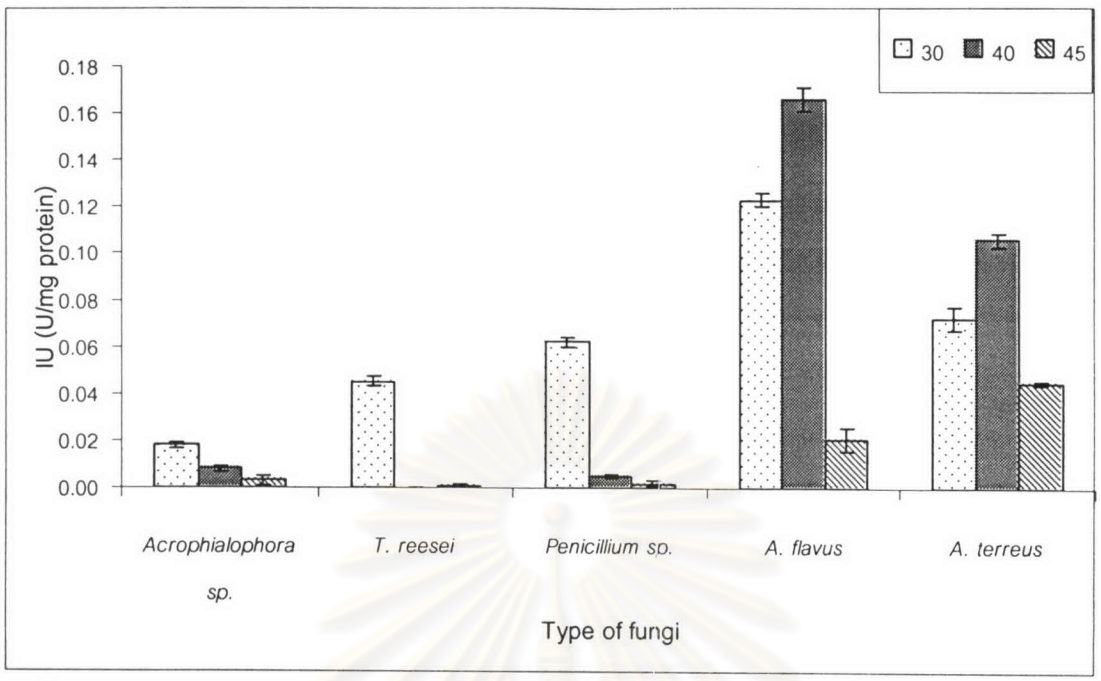
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



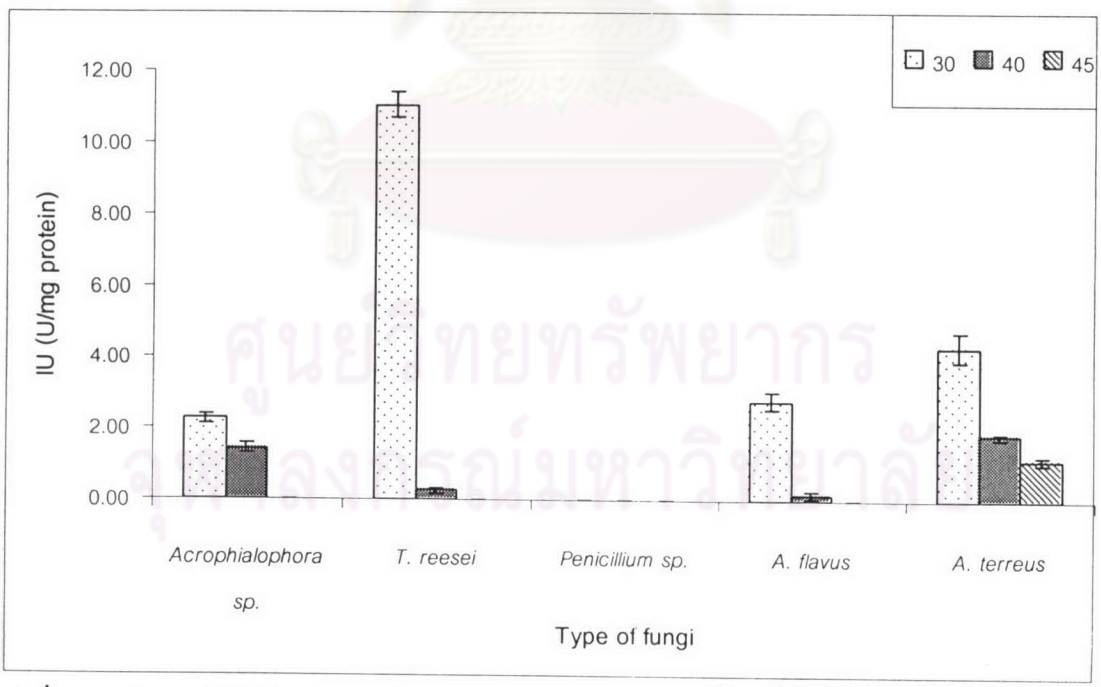
รูปที่ 4.27 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.28 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.29 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส



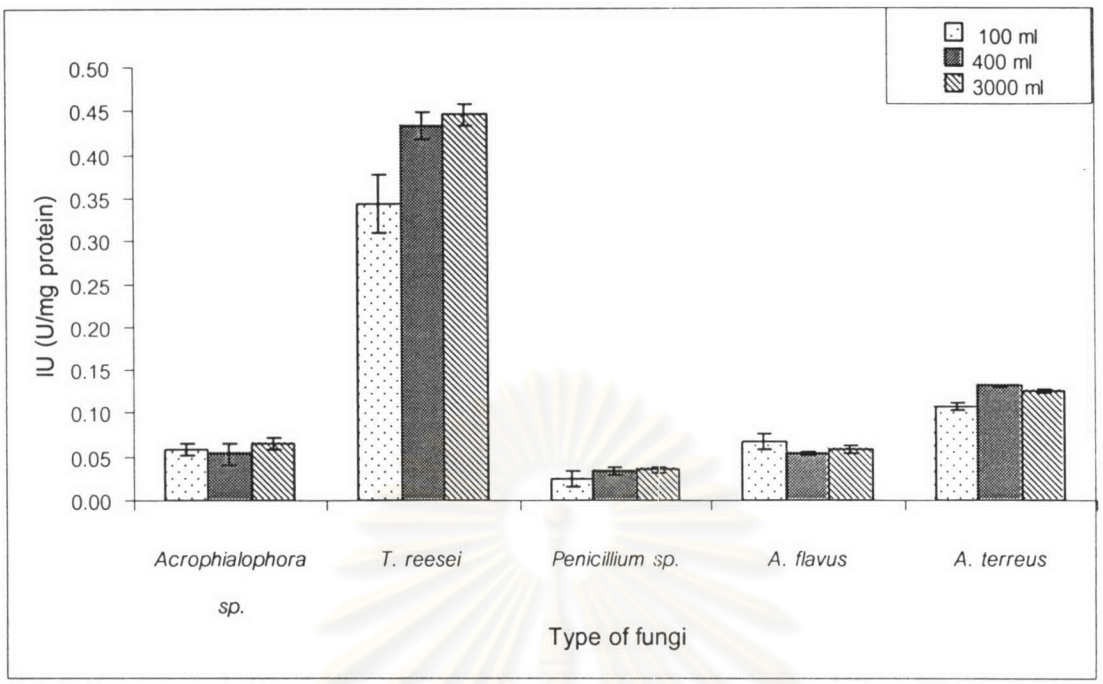
รูปที่ 4.30 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส

4.3.9 การศึกษาการขยายขนาดปริมาตรการผลิตเอนไซม์

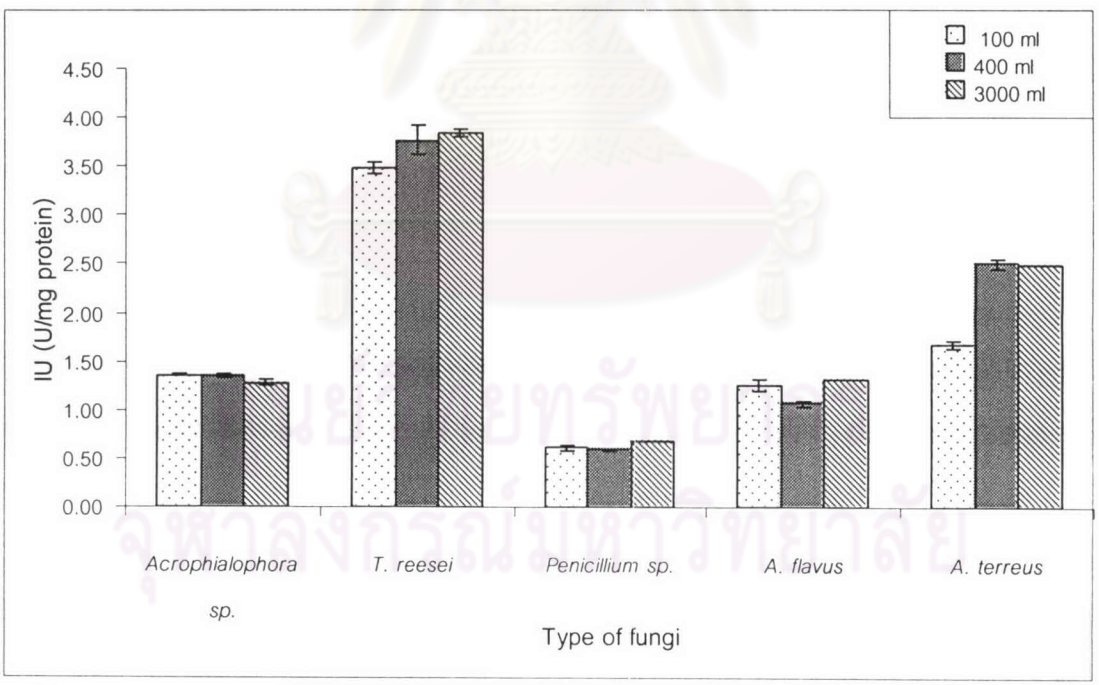
ผลิตเซลลูเลสด้วยเชื้อราทั้ง 5 สายพันธุ์ โดยใช้ภาวะการผลิตที่คัดเลือกได้จากข้อ 4.3.1 ถึง 4.3.8 แต่ขยายขวดรูปชมพู่จากขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร เป็นขวดรูปชมพู่ขนาด 1000 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 400 มิลลิลิตร และ เป็นถังหมักขนาด 5 ลิตร ปริมาตรอาหาร 3 ลิตร เมื่อพิจารณาค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสจากเชื้อราทั้ง 5 สายพันธุ์ พบว่ามีแนวโน้มที่จะนำไปขยายส่วนการผลิตเอนไซม์ เพื่อนำไปประยุกต์ใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรมได้ แสดงดังตารางที่ 4.11 และ รูปที่ 4.31 ถึง 4.34

ตารางที่ 4.11 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการที่มีการแปรผันขนาดส่วนของการผลิตเป็นระยะเวลา 7 วัน

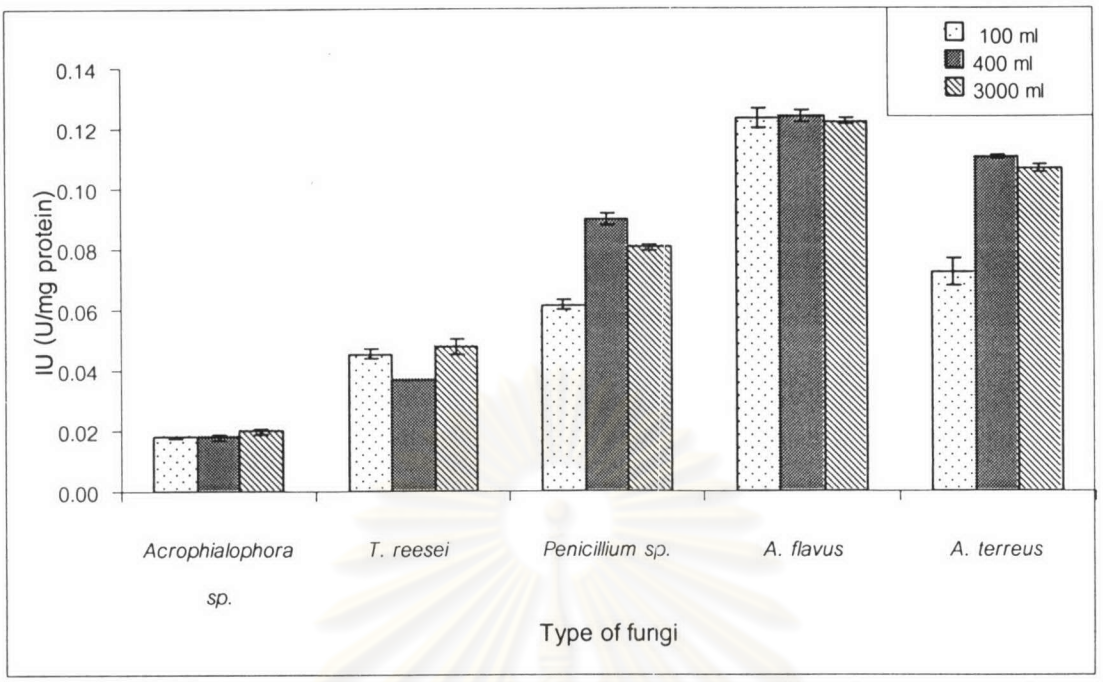
เชื้อรา	ขนาดการผลิต	เซลลูเลส			ไซแลนเนส
		เอกโซกลูคาเนส	เอนโดกลูคาเนส	เบตา-กลูโคซิเดส	
	(มิลลิลิตร)	ยูนิต/มก.	ยูนิต/มก.	ยูนิต/มก.	ยูนิต/มก.
Acrophialophora sp.	250	0.059^{e}	1.357^{e}	0.018^{j}	2.269^{f}
	1000	0.053^{ef}	1.358^{e}	0.018^{j}	1.947^{f}
	5000	0.065^{e}	1.282^{ef}	0.020^{j}	2.240^{f}
T. reesei	250	0.342^{b}	3.482^{b}	0.045^{h}	11.029^{b}
	1000	0.433^{a}	3.765^{a}	0.037^{i}	11.137^{b}
	5000	0.446^{a}	3.842^{a}	0.048^{h}	12.132^{a}
Penicillium sp.	250	0.025^{g}	0.615^{h}	0.062^{g}	0.000^{g}
	1000	0.033^{g}	0.592^{h}	0.090^{d}	0.000^{g}
	5000	0.035^{fg}	0.675^{h}	0.080^{e}	0.000^{g}
A. flavus	250	0.067^{e}	1.252^{f}	0.123^{a}	2.780^{e}
	1000	0.054^{ef}	1.072^{g}	0.124^{a}	3.558^{d}
	5000	0.058^{e}	1.315^{ef}	0.122^{a}	3.523^{d}
A. terreus	250	0.108^{d}	1.674^{d}	0.072^{f}	4.308^{c}
	1000	0.132^{c}	2.507^{c}	0.111^{b}	4.620^{c}
	5000	0.125^{cd}	2.488^{c}	0.106^{c}	4.808^{c}



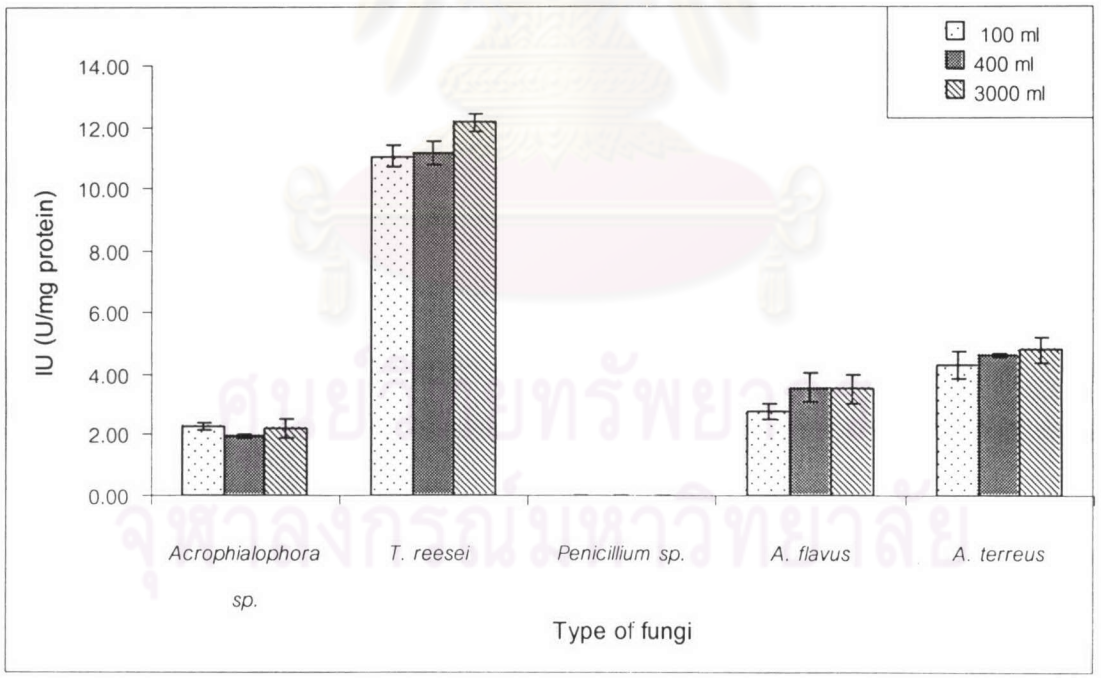
รูปที่ 4.31 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต



รูปที่ 4.32 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต



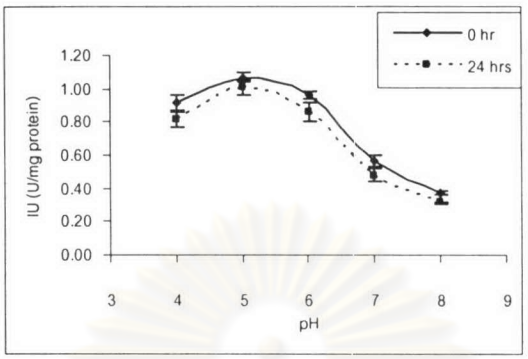
รูปที่ 4.33 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต



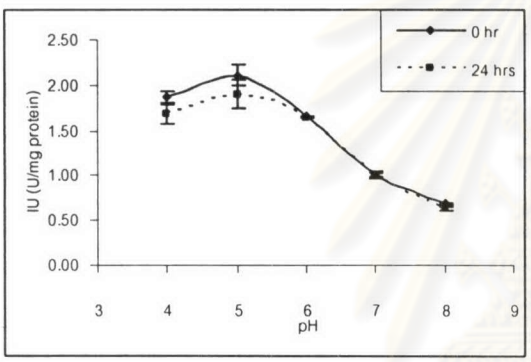
รูปที่ 4.34 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต

4.5 การศึกษาสมบัติบางประการของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส

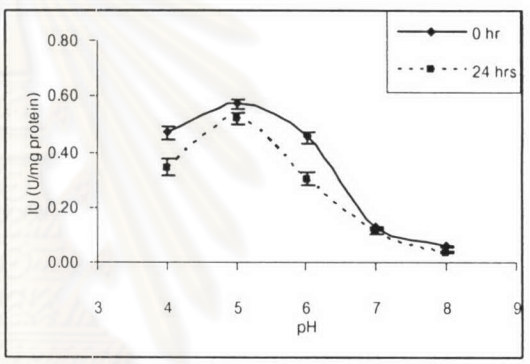
4.5.1 การศึกษาผลของค่าความเป็นกรดและด่างที่มีต่อการทำงานและค่าความเสถียรของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส



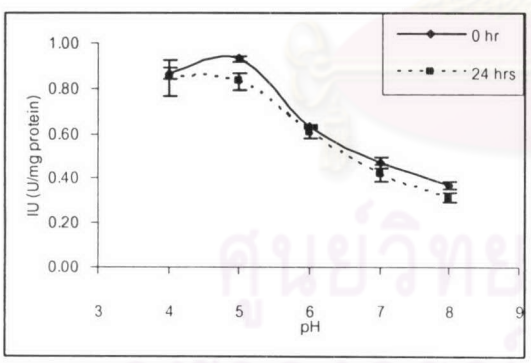
Acrophialophora sp.



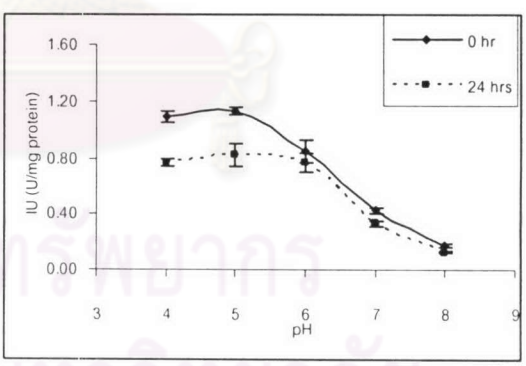
T. reesei



Penicillium sp.



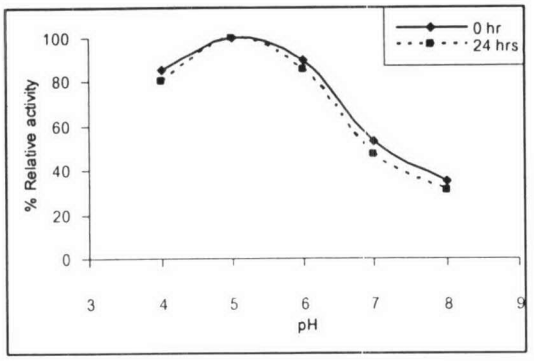
A. flavus



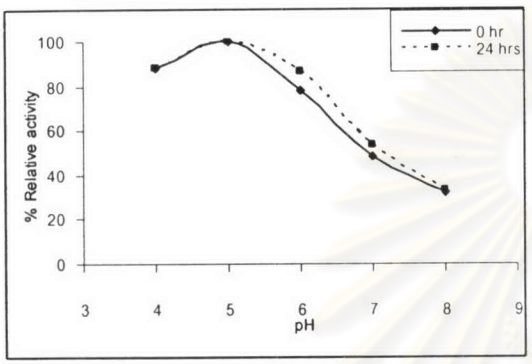
A. terreus

รูปที่ 4.35 ค่าแอคติวิตีจำเพาะ (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) และความเสถียรของเอนโดกลูคาเนจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ในช่วงค่าความเป็นกรดและด่าง 4 ถึง 8 เมื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง

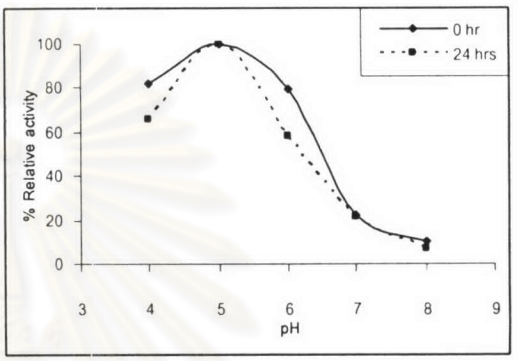
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



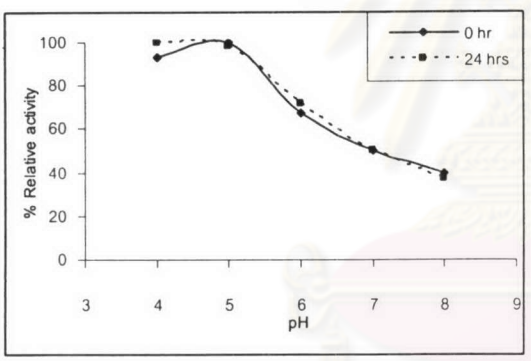
Acrophialophora sp.



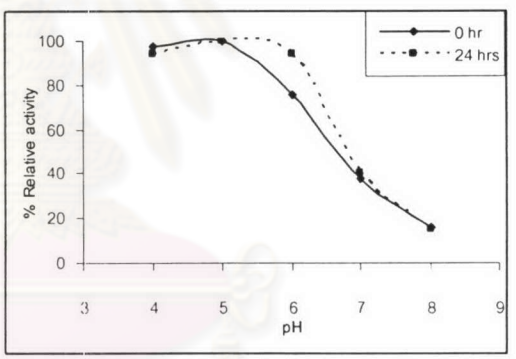
T. reesei



Penicillium sp.



A. flavus



A. terreus

รูปที่ 4.36 ค่าแอคติวิตีสัมพัทธ์(เปอร์เซ็นต์) ของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ในช่วงค่าความเป็นกรดและด่าง 4 ถึง 8 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง

จากรูปที่ 4.35 และ 4.36 ที่ความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสสูงสุดเท่ากับ 1.068 2.111 0.574 0.930 และ 1.128 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ และเมื่อนำไปตั้งบ่มที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า สามารถคงความเสถียรไว้ได้เท่ากับ 94.569 89.957 90.941 89.319 และ 72.252เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

4.5.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อการทำงานของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส

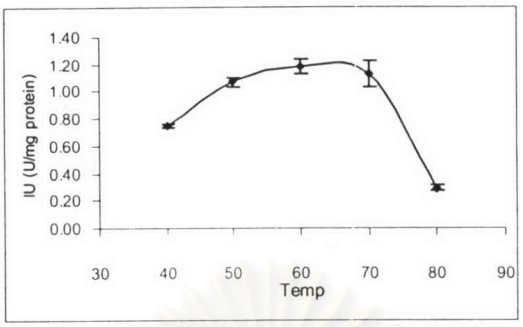
เมื่อนำเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ไปบ่มวัดแอคติวิตีเป็นเวลา 30 นาที ตามวิธีของ Ghose (1978) โดยใช้ที่ภาวะความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 แต่มีการแปรผันอุณหภูมิต่างๆ คือ 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส ได้ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ 4.12 และ รูปที่ 4.37 และ 4.38

พบว่าที่ภาวะความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 และ อุณหภูมิที่ทำปฏิกิริยาเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส เชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ *Acrophialophora*sp. *T. reesei Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสสูงสุด คือ 1.185 2.251 0.590 1.023 และ 1.139 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีนตามลำดับ

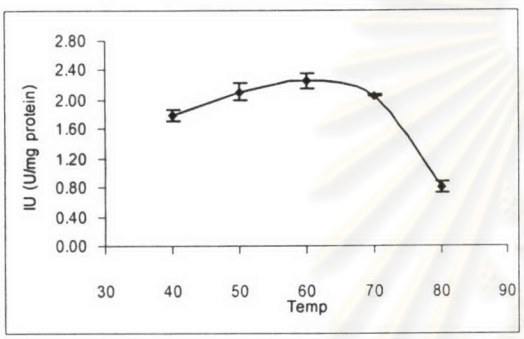
ตารางที่ 4.12 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) จากเชื้อรา ทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	*Acrophialophora* spp. (ยูนิต/มก.)	*T. reesei* Rut C30 (ยูนิต/มก.)	*Penicillium* spp. (ยูนิต/มก.)	*A. flavus* (ยูนิต/มก.)	*A. terreus* (ยูนิต/มก.)
40	0.748^{c}	1.795^{c}	0.413^{b}	0.649^{c}	0.910^{b}
50	1.068^{b}	2.111^{ab}	0.574^{a}	0.930^{b}	1.128^{a}
60	1.185^{a}	2.251^{a}	0.590^{a}	1.023^{a}	1.139^{a}
70	1.126^{ab}	2.057^{b}	0.390^{b}	0.635^{c}	0.618^{c}
80	0.292^{d}	0.799^{d}	0.029^{c}	0.092^{d}	0.201^{d}

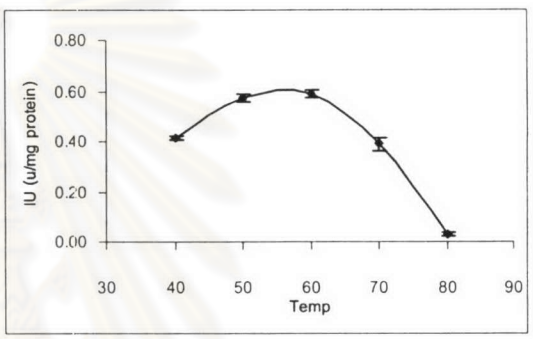
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



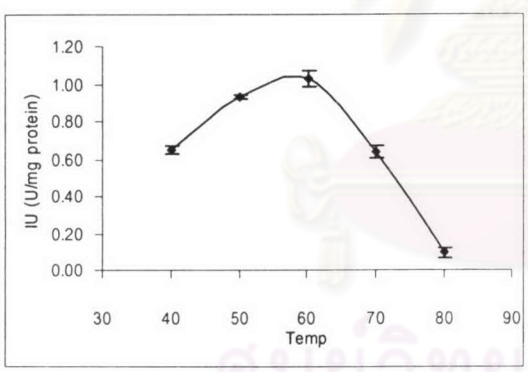
Acrophialophora sp.



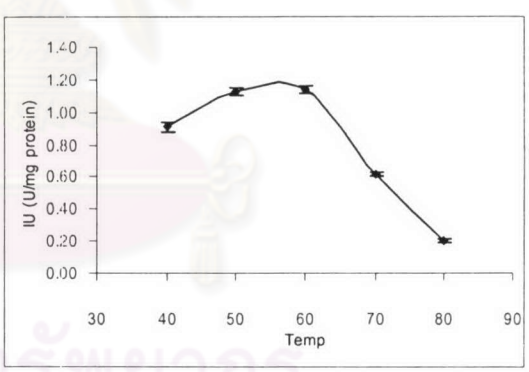
T. reesei



Penicillium sp.

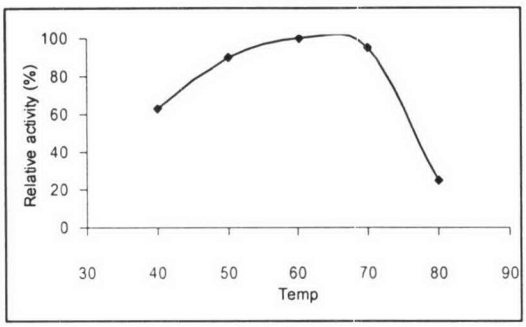


A. flavus

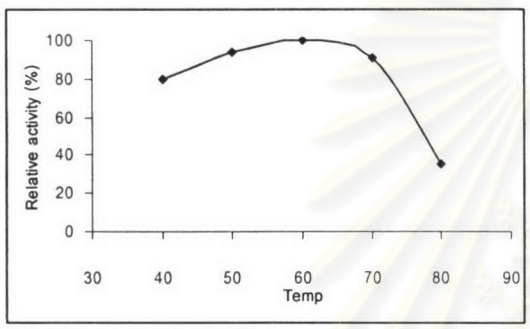


A. terreus

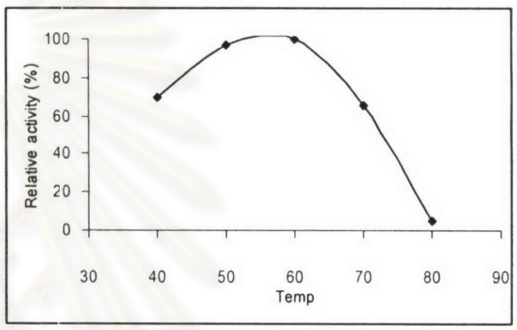
รูปที่ 4.37 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาที่ค่าความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 และมีการแปรผันอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส



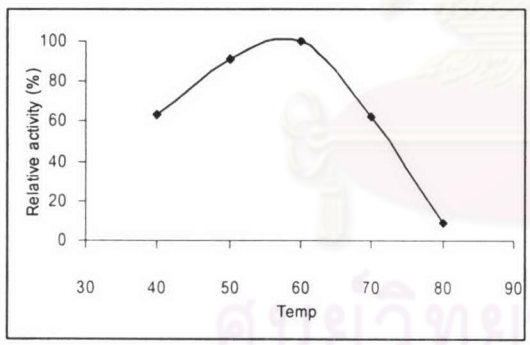
Acrophialophora sp.



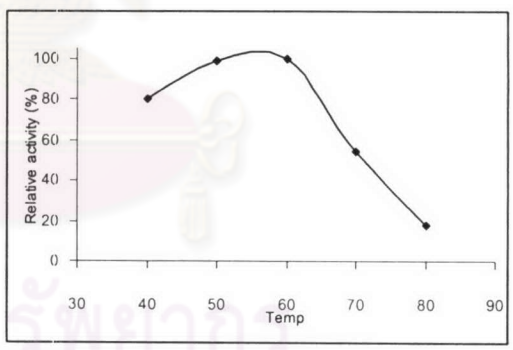
T. reesei



Penicillium sp.



A. flavus



A. terreus

รูปที่ 4.38 ค่าแอคติวิตีสัมพัทธ์ของเอนโดกลูคาเนส (เปอร์เซ็นต์) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาที่ค่าความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 และมีการแปรผันอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส

4.5.3 การศึกษาความเสถียรของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส

ผลการศึกษาความเสถียรของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส เมื่อนำเอนไซม์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 15 30 45 60 75 90 105 และ 120 นาที ก่อนนำไปวัดค่าแอคติวิตี แสดงดังตารางที่ 4.13 และรูปที่ 4.39 และ 4.40

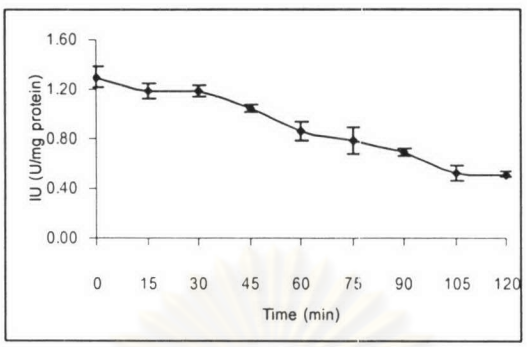
พบว่าเอนไซม์จากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด คือ *Acrophialophora* sp. *T. reesei Penicillium* sp. *A. flavus* และ *A. terreus* มีค่าความเสถียรของเอนโดกลูคาเนสแตกต่างกัน คือ *T. reesei* และ *A. terreus* สามารถคงความเสถียรของเอนไซม์ได้นานที่สุด คือ เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที มีค่าแอคติวิตีจำเพาะคงเหลือเท่ากับ 1.820 และ 0.902 ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน คิดเป็น 79.55 และ 74.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

Acrophialophora sp. *Penicillium* sp. และ *A. flavus* คงความเสถียรของเอนไซม์ได้สั้นกว่า โดยจะสูญเสียแอคติวิตีไปมากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ในเวลา 90 นาที

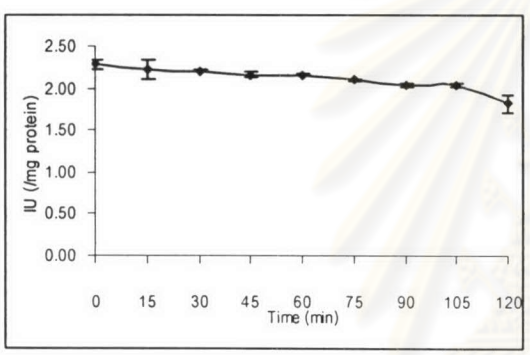
ตารางที่ 4.13 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) จากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ช่วงเวลาต่างๆ กัน ก่อนนำไปวัดค่าแอคติวิตี

เวลา (นาที)	*Acrophialophora* spp. (ยูนิต/มก.)	*T. reesei* Rut C30 (ยูนิต/มก.)	*Penicillium* spp. (ยูนิต/มก.)	*A. flavus* (ยูนิต/มก.)	*A. terreus* (ยูนิต/มก.)
0	1.299^{a}	2.288^{a}	0.590^{a}	1.022^{a}	1.207^{a}
15	1.185^{b}	2.225^{ab}	0.434^{b}	0.948^{a}	1.139^{ab}
30	1.185^{b}	2.203^{abc}	0.433^{b}	0.943^{a}	1.128^{ab}
45	1.042^{c}	2.164^{bc}	0.380^{bc}	0.857^{b}	1.095^{b}
60	0.860^{d}	2.156^{bc}	0.348^{c}	0.749^{c}	1.088^{b}
75	0.783^{de}	2.102^{cd}	0.342^{c}	0.706^{c}	1.087^{b}
90	0.695^{e}	2.035^{d}	0.329^{cd}	0.578^{d}	1.070^{b}
105	0.522^{f}	2.035^{d}	0.278^{de}	0.337^{e}	0.979^{c}
120	0.515^{f}	1.820^{e}	0.226^{e}	0.256^{f}	0.902^{d}

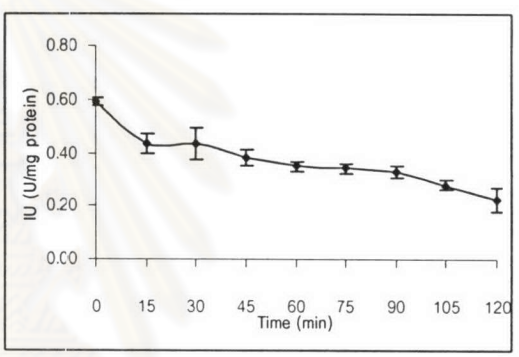
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



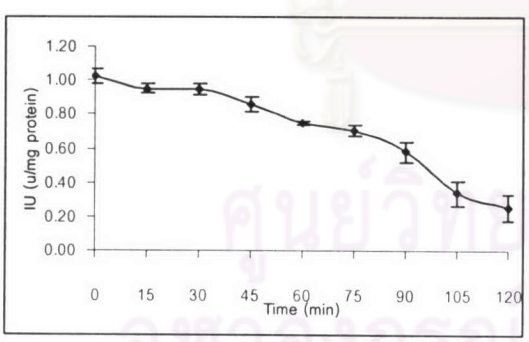
Acrophialophora sp.



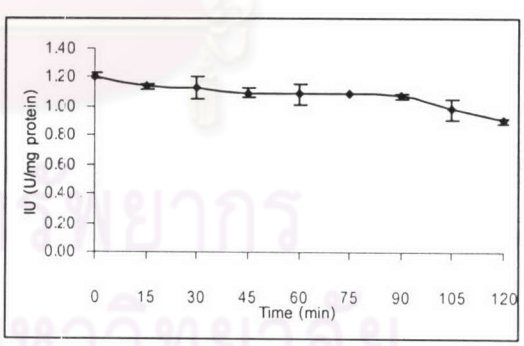
T. reesei



Penicillium sp.

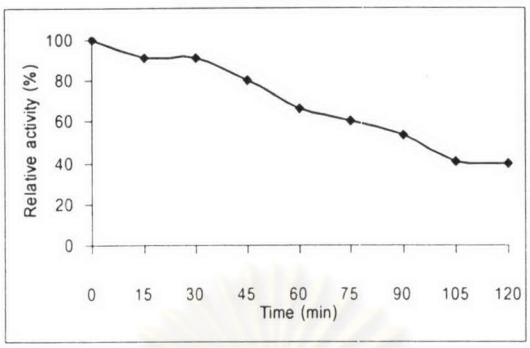


A. flavus

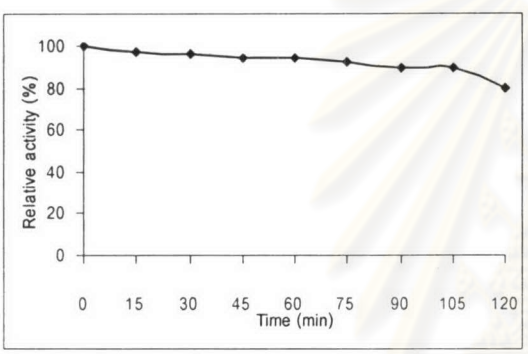


A. terreus

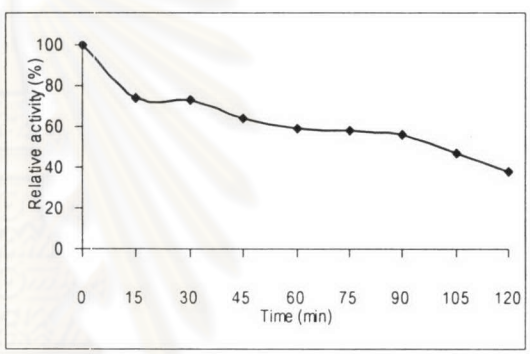
รูปที่ 4.39 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) จากเชื้อราทั้ง 5ชนิด เมื่อนำเอนไซม์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 15 30 45 60 75 90 105 และ 120 นาที ก่อนนำไปวัดค่าแอคติวิตี



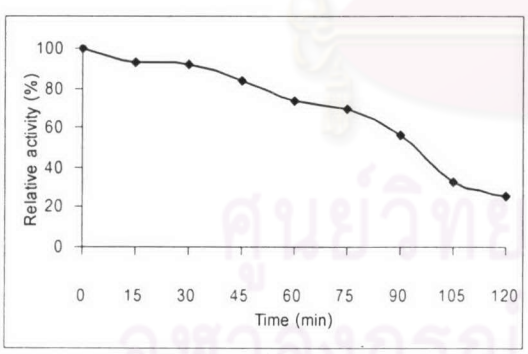
Acrophialophora sp.



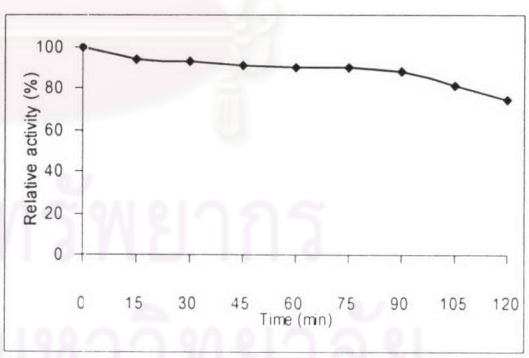
T. reesei



Penicillium sp.



A. flavus



A. terreus

รูปที่ 4.40 ค่าแอคติวิตีสัมพัทธ์ของเอนโดกลูคาเนส (เปอร์เซ็นต์) จากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำเอนไซม์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 15 30 45 60 75 90 105 และ 120 นาที ก่อนนำไปวัดค่าแอคติวิตี

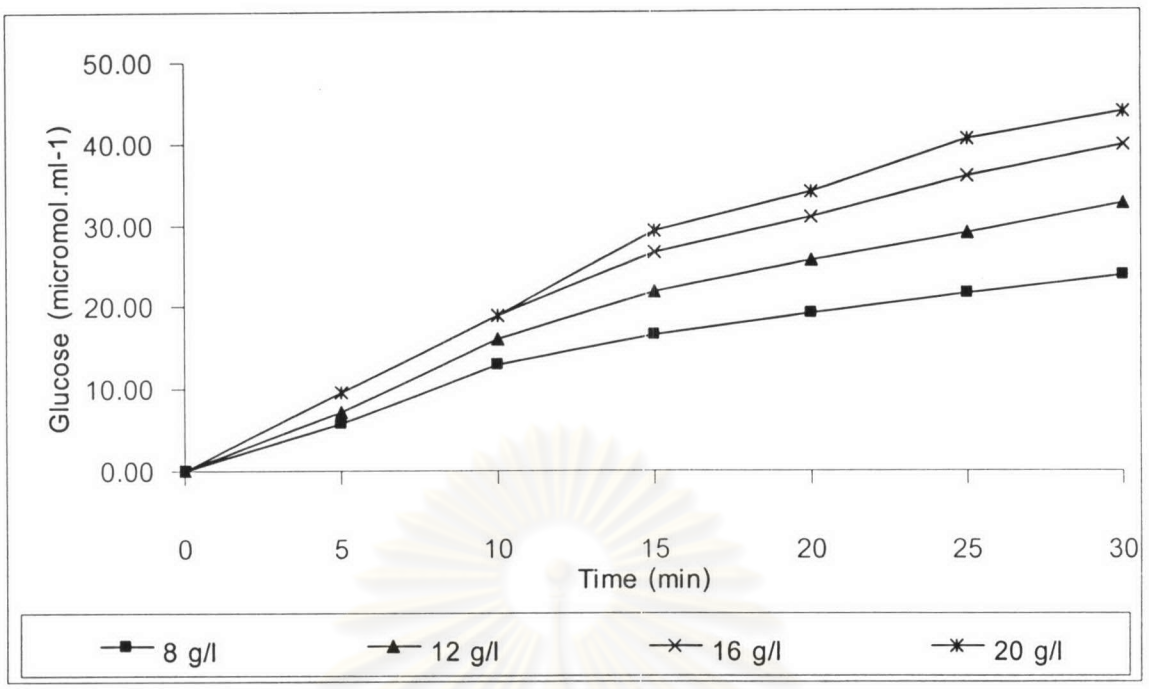
4.5.4 การศึกษาจลนศาสตร์ของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส

การศึกษาจลนศาสตร์ของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด โดยการวัดแอคติวิตีของเซลลูเลสในกลุ่มเอนโดกลูคาเนส ปรับภาวะค่าความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 และอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส และทำการแปรผันความเข้มข้นของสารตั้งต้นที่ใช้ (carboxymethylcellulose, CMC) ที่ความเข้มข้นต่างๆ กัน คือ 0.00 0.80 1.20 1.60 และ 2.00 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร และที่เวลาต่างๆ กัน คือ 0 5 10 15 20 25 และ 30 นาที จากนั้นนำข้อมูลที่ได้มาสร้างกราฟมาตรฐาน Lineweaver – Burk โดยใช้ค่า $1/V_0$ และ 1/S เพื่อคำนวณหาค่า K_m และ V_{max} ได้ผลแสดงดังตารางที่ 4.14 และรูปที่ 4.41 ถึง 4.50

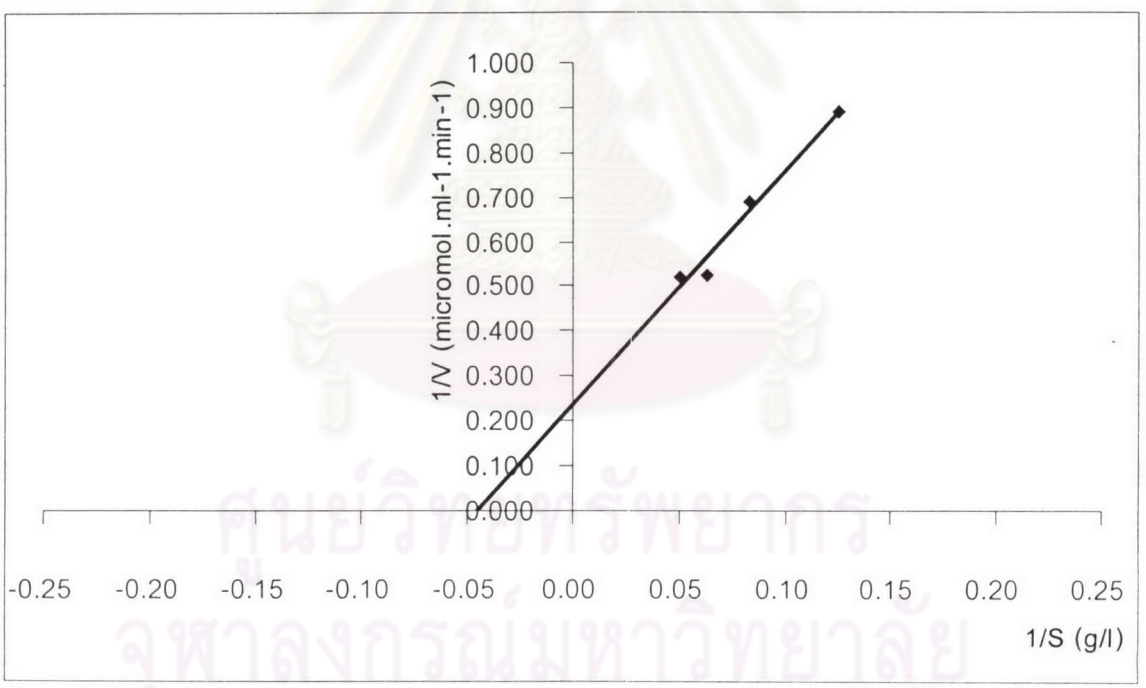
ตารางที่ 4.14 ค่าจลนศาสตร์ของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด

เชื้อรา	ค่าแอคติวิตีที่ใช้ (ยูนิต/มก.)	K_m (g/l)	V_{max} (micromol.min^{-1}.ml^{-1})
Acrophialophora sp.	2.919	21.785	4.167
T. reesei	8.084	30.390	34.483
Penicillium sp.	5.085	85.960	33.333
A. flavus	1.860	24.070	2.326
A. terreus	5.242	42.422	22.222

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.41 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

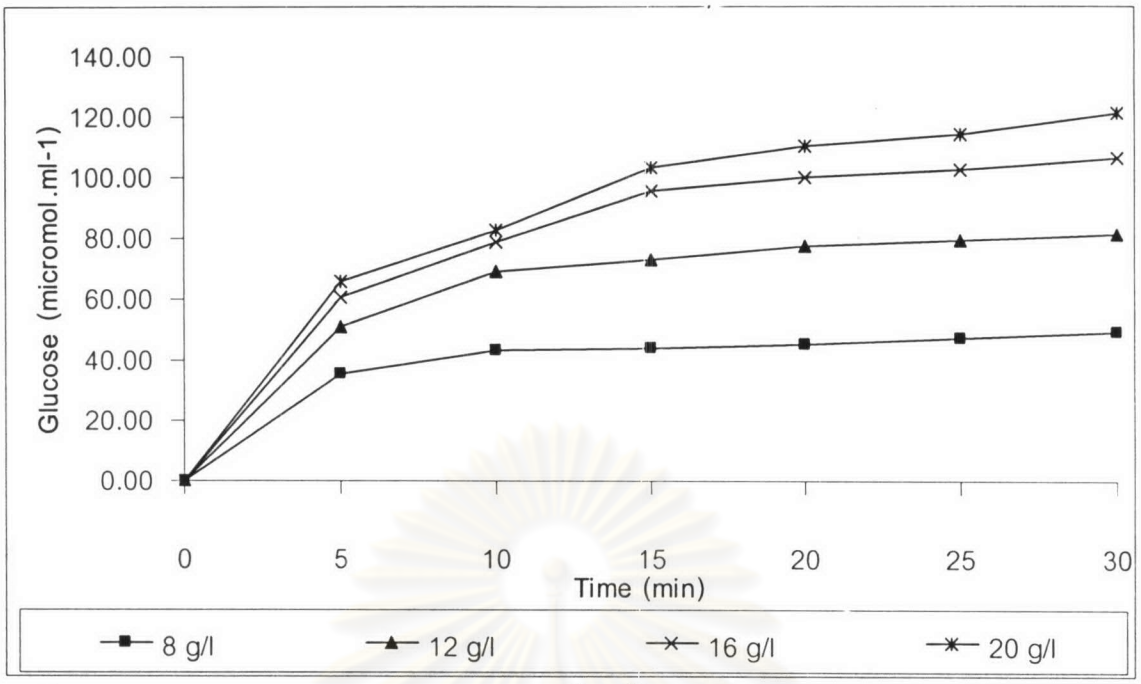


รูปที่ 4.42 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

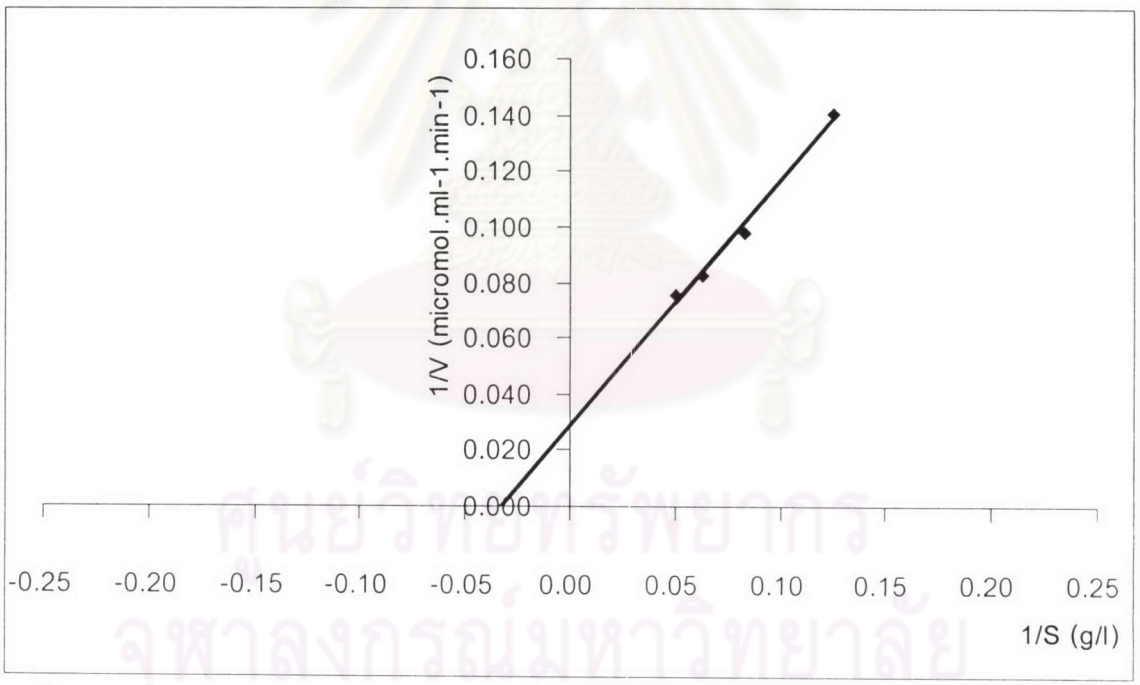
K_m = 21.785 g/l

V_{max} = 4.167 micromol.min^{-1}.ml^{-1}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.43 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *T. reesei* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

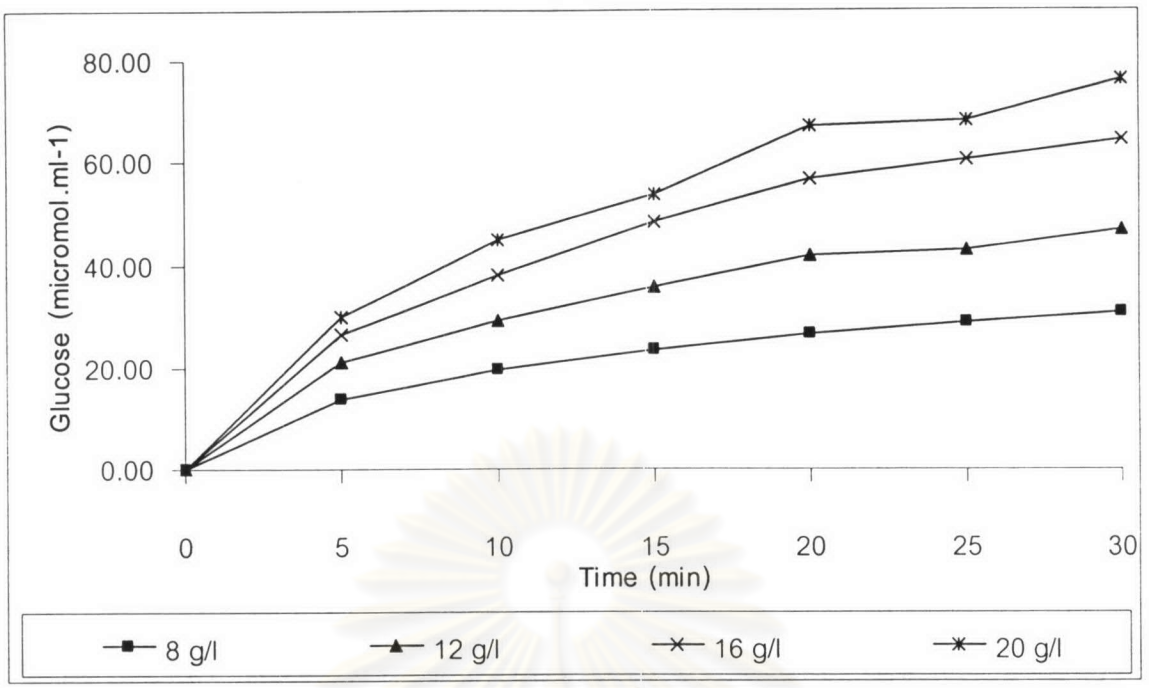


รูปที่ 4.44 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *T. reesei* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

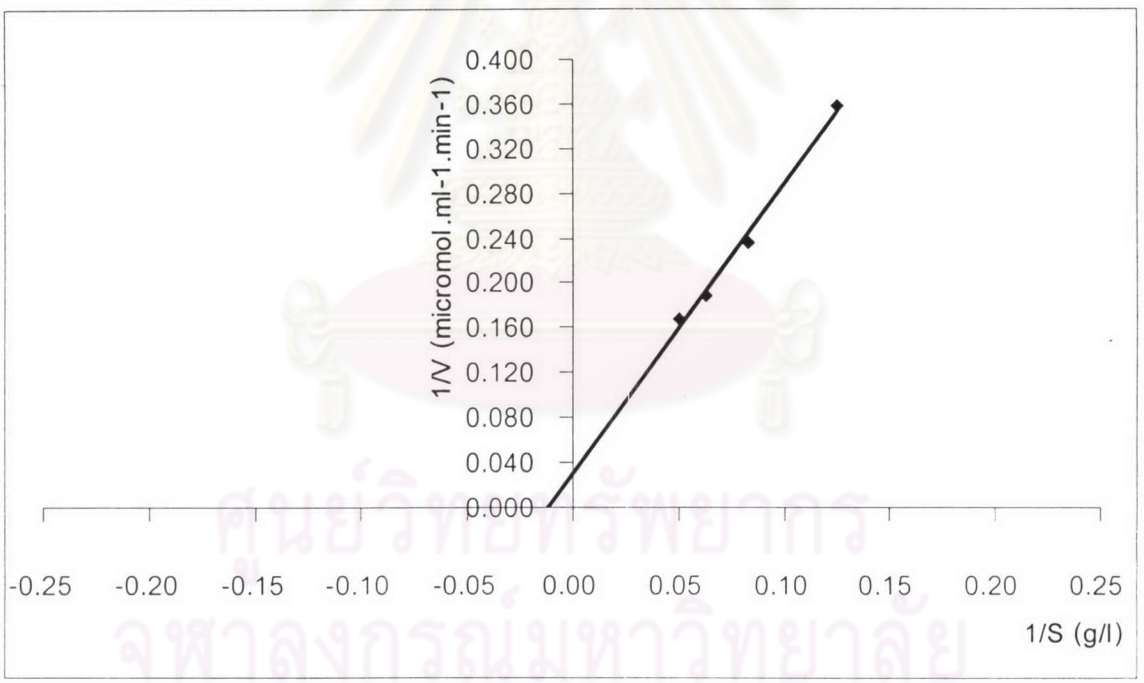
K_m = 30.390 g/l

V_{max} = 34.483 micromol.min^{-1}.ml^{-1}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.45 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

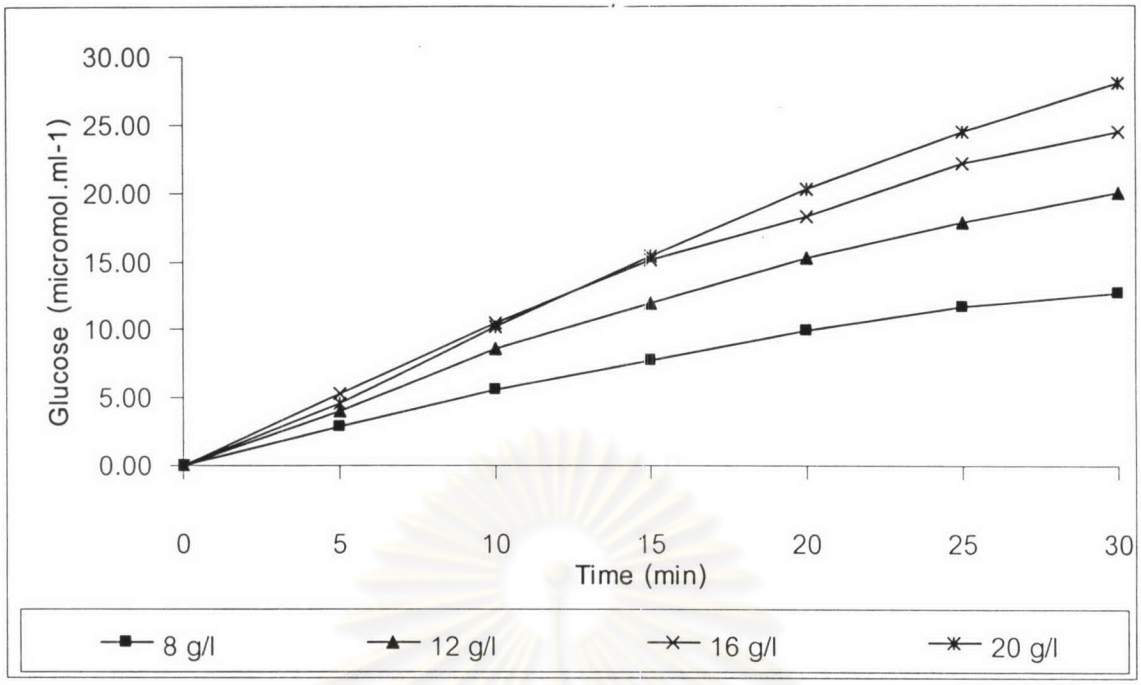


รูปที่ 4.46 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

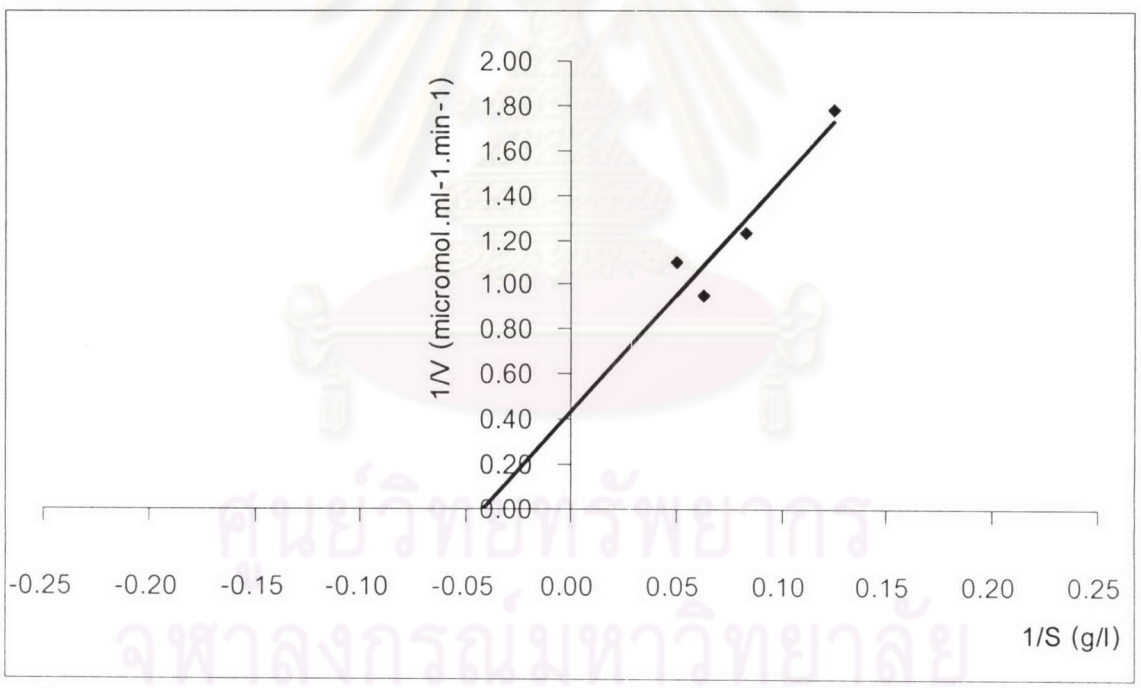
K_m = 85.960 g/l

V_{max} = 33.333 micromol.min^{-1}.ml^{-1}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.47 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. flavus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

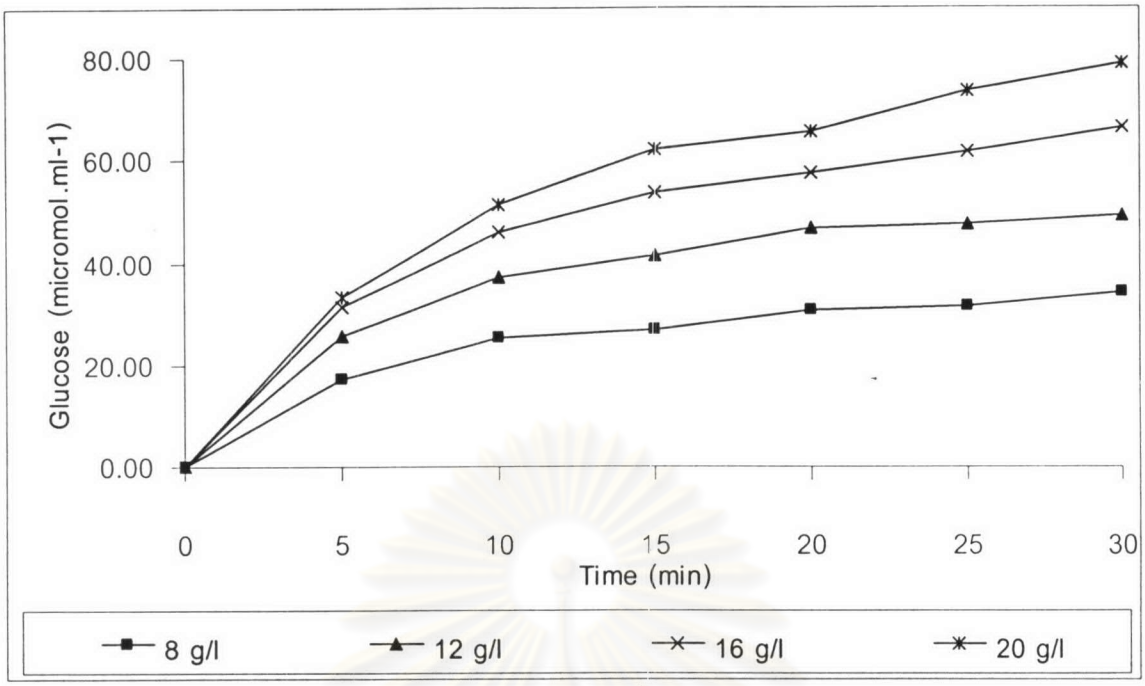


รูปที่ 4.48 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. flavus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

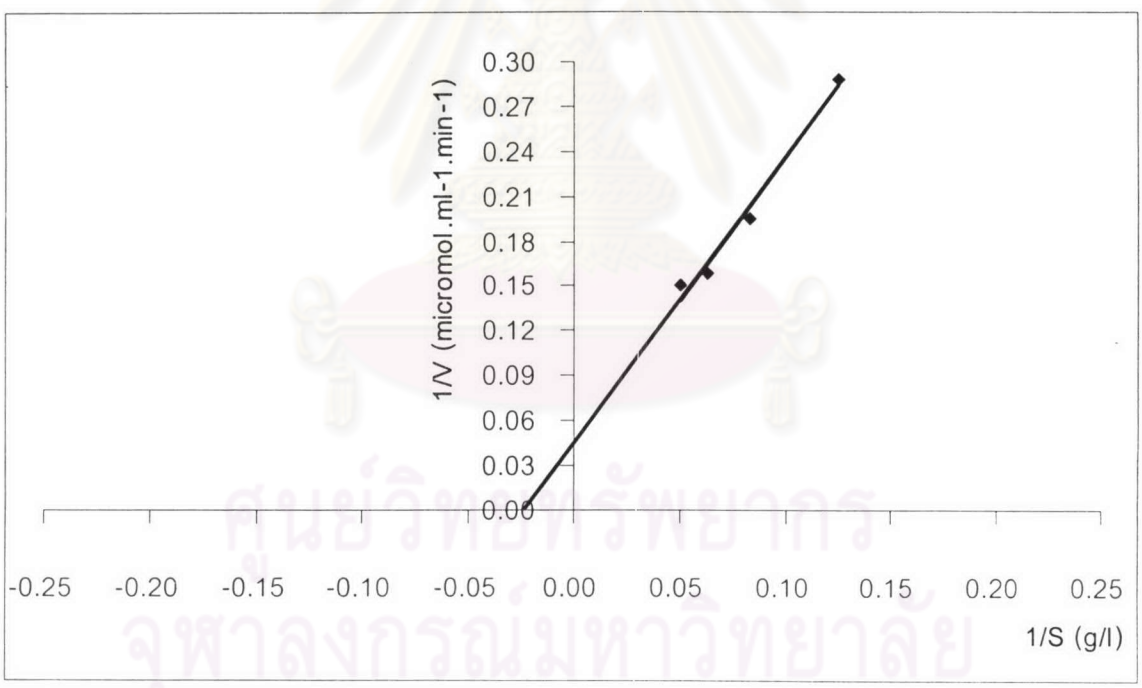
K_m = 24.070 g/l

V_{max} = 2.326 micromol.min^{-1}.ml^{-1}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4.49 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. terreus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ



รูปที่ 4.50 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. terreus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ

K_m = 42.422 g/l

V_{max} = 22.222 micromol.min^{-1}.ml^{-1}

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.6 การทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์บางส่วน

เมื่อนำเอนไซม์จากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด มาทำให้บริสุทธิ์บางส่วนโดยการตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 20 30 40 50 และ 60 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตรจากนั้นนำตะกอนเอนไซม์ที่ได้มาละลายด้วย สารละลายซิเตรตบัฟเฟอร์ 0.05 โมลาร์ ค่าความเป็นกรดและด่าง 5.0 และนำไปไดอะไลซีส ค่าแอคติวิตีของเซลลูเลสโดยเฉพาะในกลุ่มเอนโดกลูคาเนสแสดงดังตารางที่ 4.15 และรูปที่ 4.51

จากผลการทดลองเมื่อตกตะกอนเอนไซม์ด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่าเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด จะมีค่าแอคติวิตีจำเพาะเพิ่มมากขึ้น โดยช่วงความเข้มข้นที่เหมาะสม คือ การใช้แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้น 40 ถึง 60 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร

Acrophialophora sp. และ *A. terreus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสมากที่สุดเมื่อตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 50 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร

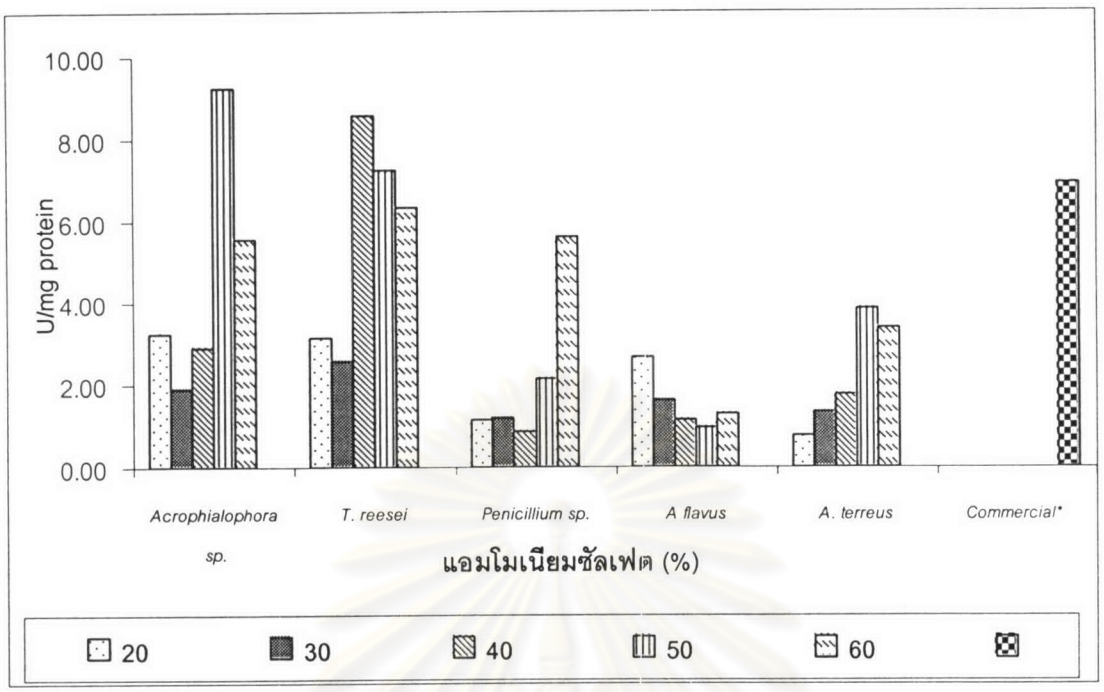
T. reesei และ *A. flavus* มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสมากที่สุดเมื่อตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 40 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร

Penicillium sp. มีค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสมากที่สุดเมื่อตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตอิ่มตัวที่ความเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์กรัมต่อปริมาตร

ตารางที่ 4.15 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด หลังจากตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นต่างๆ

$(NH_4)_2SO_4$ (%)	*Acrophialophora* sp. (ยูนิต/มก.)	*T. reesei* (ยูนิต/มก.)	*Penicillium* sp. (ยูนิต/มก.)	*A flavus* (ยูนิต/มก.)	*A. terreus* (ยูนิต/มก.)	Commercial* (ยูนิต/มก.)
20	3.253	3.125	1.125	2.648	0.754	6.921
30	1.900	2.586	1.205	1.635	1.339	
40	2.924	8.564	0.872	1.138	1.747	
50	9.242	7.258	2.143	0.933	3.872	
60	5.549	6.319	5.620	1.288	3.397	

*เอนไซม์ทางการค้าจาก *A. niger* บริษัท Tokyo chemical Industrial, Japan



*เอนไซม์ทางการค้าจาก *A. niger* บริษัท Tokyo chemical Industrial, Japan

รูปที่ 4.51 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด หลังจากตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นต่างๆ

4.7 การศึกษาน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบในก้านใบกล้วย

จากตารางที่4.16 และรูปที่ 4.52 แสดงให้เห็นว่าเมื่อทำการย่อยก้านใบกล้วยด้วยกรดและเซลลูเลสได้ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นเป็นน้ำตาลเนื่องจากปรากฏแถบสีบนแผ่นซิลิกาเจล แต่การย่อยสลายด้วยกรดนั้นไม่สามารถระบุได้ว่าได้น้ำตาลชนิดใดเนื่องจากแถบสีที่ปรากฏไม่แยกจากกัน แต่อาจจะคาดคะเนได้ว่าเป็นอะราบิโนส เซลโลไบโอสหรือไซโลส เนื่องจากมีแถบสีน้ำตาลปรากฏใกล้เคียงกับน้ำตาลมาตรฐาน ในขณะที่การย่อยสลายด้วยเซลลูเลสได้น้ำตาลกลูโคสและอาจมีเซลโลไบโอส เนื่องจากเกิดแถบสีที่มีลักษณะตรงกับน้ำตาลมาตรฐานกลูโคสและเซลโลไบโอส จึงชี้ให้เห็นว่าในก้านใบกล้วยมีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบหลัก และมีไซโลส เซลโลไบโอสและอะราบิโนสปนอยู่ในองค์ประกอบ

1 2 3 4 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14

รูปที่ 4.52 สีและระยะทางการเคลื่อนที่ของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยก้านใบกล้วยเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน 12 ชนิดบน TLC plate

1 = Acid hydrolysate
2 = Arabinose
3 = Xylose
4 = Glucose
5 = Sorbose
6 = Fructose
7 = Mannose
8 = Galactose
9 = Treharose
10 = Sucrose
11 = Lactose
12 = Cellobiose
13 = Maltotriose
14 = Enzyme hydrolysate

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.16 สีและค่า R_f ของน้ำตาลชนิดต่างๆ

ชนิดของน้ำตาล	สี	ค่า R_f
น้ำตาลที่เกิดจากการย่อยด้วยกรด	น้ำเงินปนกับสีน้ำตาล	-
อะราบิโนส	น้ำตาล	0.28
ไซโลส	น้ำตาล	0.33
กลูโคส	น้ำเงิน	0.22
ซอร์โบส	เขียว	0.28
ฟรุกโทส	เขียวปนเทา	0.25
แมนโนส	น้ำเงิน	0.23
กาแลคโตส	เขียวปนน้ำตาล	0.17
เทฮาโลส	-	0.00
ซูโครส	น้ำตาล	0.12
แลคโตส	น้ำเงินดำ	0.08
เซลโลไบโอส	น้ำเงินดำ	0.10
มอลโตไตรโอส	น้ำเงินดำ	0.07
น้ำตาลที่เกิดจากการย่อยด้วยเซลลูเลส	น้ำเงินดำ	0.23

4.8 การนำเซลลูเลสไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย

จากตารางที่ 4.17 ถึง 4.26 ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าเซลลูเลสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปประยุกต์ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย พบว่าเมื่อใช้เฉพาะเซลลูเลสเพียงอย่างเดียวมีเพียงเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* spp. และ *A. terreus* เท่านั้นที่ทำให้ผ้าดูดซึมน้ำทันที แต่เมื่อใช้เซลลูเลสที่ได้จากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ร่วมกับการใช้ไลเปสหรือโปรตีเอส จะทำให้ผ้าฝ้ายดูดซึมน้ำได้ทันทีเปรียบเทียบได้กับการใช้เซลลูเลสทางการค้าหรือโซเดียมไฮดรอกไซด์ และเมื่อนำผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกไปตรวจวัดค่าความเหลือง ค่าความขาวและค่าความสว่างพบว่าการใช้เซลลูเลสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ช่วยให้ผ้าฝ้ายมีค่าความขาวและค่าความสว่างเพิ่มขึ้น และมีค่าความเหลืองลดลง ซึ่งภาวะที่เหมาะสมที่สุด คือการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปสแล้วตามด้วยด้วยเซลลูเลส

ตารางที่ 4.17 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp.

ชนิด	ภาวะทดสอบ	การดูดซึมน้ำ
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	D
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	A
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	B
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	D
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	A
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	D
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	A
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	D
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	A
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	A
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	A

A = ดูดซึมน้ำทันที B = ดูดซึมน้ำภายใน 3 วินาที C = ดูดซึมน้ำภายใน 5 ถึง 10 วินาที
D = ไม่ดูดซึมน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.18 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *T. reesei*

ชนิด	ภาวะทดสอบ	การดูดซึมน้ำ
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	D
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	B
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	D
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	D
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	B
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	D
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	A
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	D
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	A
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	D
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	A
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	A

A = ดูดซึมน้ำทันที B = ดูดซึมน้ำภายใน 3 วินาที C = ดูดซึมน้ำภายใน 5 ถึง 10 วินาที
D = ไม่ดูดซึมน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.19 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp.

ชนิด	ภาวะทดสอบ	การดูดซึมน้ำ
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	D
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	B
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	D
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	D
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	A
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	D
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	A
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	D
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	A
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	A
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	A

A = ดูดซึมน้ำทันที B = ดูดซึมน้ำภายใน 3 วินาที C = ดูดซึมน้ำภายใน 5 ถึง 10 วินาที
D = ไม่ดูดซึมน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.20 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. flavus*

ชนิด	ภาวะทดสอบ	การดูดซึมน้ำ
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	D
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	C
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	D
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	D
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	B
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	D
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	A
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	D
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	B
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	A
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	A

A = ดูดซึมน้ำทันที B = ดูดซึมน้ำภายใน 3 วินาที C = ดูดซึมน้ำภายใน 5 ถึง 10 วินาที
D = ไม่ดูดซึมน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.21 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. terreus*

ชนิด	ภาวะทดสอบ	การดูดซึมน้ำ
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	D
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	A
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	D
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	A
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	C
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	A
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	D
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	A
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	C
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	A
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	A

A = ดูดซึมน้ำทันที B = ดูดซึมน้ำภายใน 3 วินาที C = ดูดซึมน้ำภายใน 5 ถึง 10 วินาที
D = ไม่ดูดซึมน้ำ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.22 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *Acrohialophora* sp.

ชนิด	ภาวะทดสอบ	ค่าความเหลือง	ค่าความขาว	ค่าความสว่าง
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	28.898	-5.978	50.783
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	21.997	16.165	57.680
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	22.183	14.512	56.777
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	21.019	19.005	58.401
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	22.553	13.495	56.163
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	20.656	19.196	58.197
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	20.901	19.578	58.803
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	20.810	18.860	57.765
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	20.975	19.453	59.022
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	22.952	12.740	56.051
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	21.505	16.857	57.275
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	20.001	20.132	58.411
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	18.189	25.289	63.025

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.23 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *T. reesei*

ชนิด	ภาวะทดสอบ	ค่าความเหลือง	ค่าความขาว	ค่าความสว่าง
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	31.215	-10.522	50.686
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	22.302	16.041	57.929
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	22.966	14.941	57.983
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	22.561	16.387	58.180
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	22.306	16.684	58.139
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	22.792	15.114	57.518
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	21.467	19.061	58.964
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	22.130	16.772	57.947
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	22.532	16.240	57.834
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	21.881	17.684	58.393
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	22.309	16.159	57.713
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	20.256	18.120	59.487
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	18.001	23.337	62.567

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.24 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp.

ชนิด	ภาวะทดสอบ	ค่าความเหลือง	ค่าความขาว	ค่าความสว่าง
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	31.023	-9.043	51.595
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	22.580	13.778	56.008
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	23.327	11.817	55.323
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	22.677	15.133	57.549
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	21.998	14.965	56.015
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	22.320	16.244	57.821
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	21.296	17.704	57.167
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	21.869	16.489	56.873
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	22.454	16.014	57.896
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	21.930	15.581	56.425
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	22.284	17.640	59.076
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	21.555	18.448	58.840
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	19.998	23.064	63.636

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.25 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. flavus*

ชนิด	ภาวะทดสอบ	ค่าความเหลือง	ค่าความขาว	ค่าความสว่าง
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	30.463	-8.539	50.942
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	22.597	16.169	58.474
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	22.755	15.331	57.838
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	22.195	15.290	56.311
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	22.644	16.046	57.963
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	22.530	15.686	57.702
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	23.384	14.851	57.587
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	22.506	15.922	57.791
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	22.812	15.434	57.813
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	25.121	9.732	56.058
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	21.923	17.593	58.304
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	22.222	16.896	61.052
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	20.881	20.258	64.487

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.26 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. terreus*

ชนิด	ภาวะทดสอบ	ค่าความเหลือง	ค่าความขาว	ค่าความสว่าง
1	ผ้าดิบที่ไม่ได้ผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก	29.682	-7.508	50.839
2	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลส	24.398	10.091	55.776
3	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	23.691	12.150	56.663
4	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยสารละลายบัฟเฟอร์	21.139	18.514	58.259
5	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยบัฟเฟอร์ร่วมกับเซลลูเลส	23.716	11.840	55.309
6	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปส	21.028	18.646	59.036
7	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลส	23.289	13.954	56.348
8	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	23.535	12.586	56.470
9	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอส	21.679	16.891	57.864
10	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลส	24.048	11.961	56.050
11	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโปรตีเอสร่วมกับเซลลูเลสที่ถูกทำให้เสียสภาพ	24.139	10.165	55.319
12	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยไลเปสร่วมกับเซลลูเลสทางการค้า	22.209	15.146	60.655
13	ผ้าดิบที่ผ่านการบ่มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	19.252	21.415	61.698

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย