บทที่ 4

ผลการทดลอง

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการเก็บรวบรวมสายพันธุ์เชื้อรา

สามารถเก็บรวบรวมตัวอย่างเพื่อนำมาคัดแยกเชื้อราได้ทั้งสิ้น 94 ตัวอย่าง โดยแบ่งเป็นการเก็บตัวอย่างจากดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ และวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำเชือก จากอำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จำนวน 41 ตัวอย่าง ดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ จากอำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี จำนวน 22 ตัวอย่าง และดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ จากอำเภอโนนสูง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 31 ตัวอย่าง (รูปที่ 3)

ผลการคัดเลือกและคัดเทียบเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้

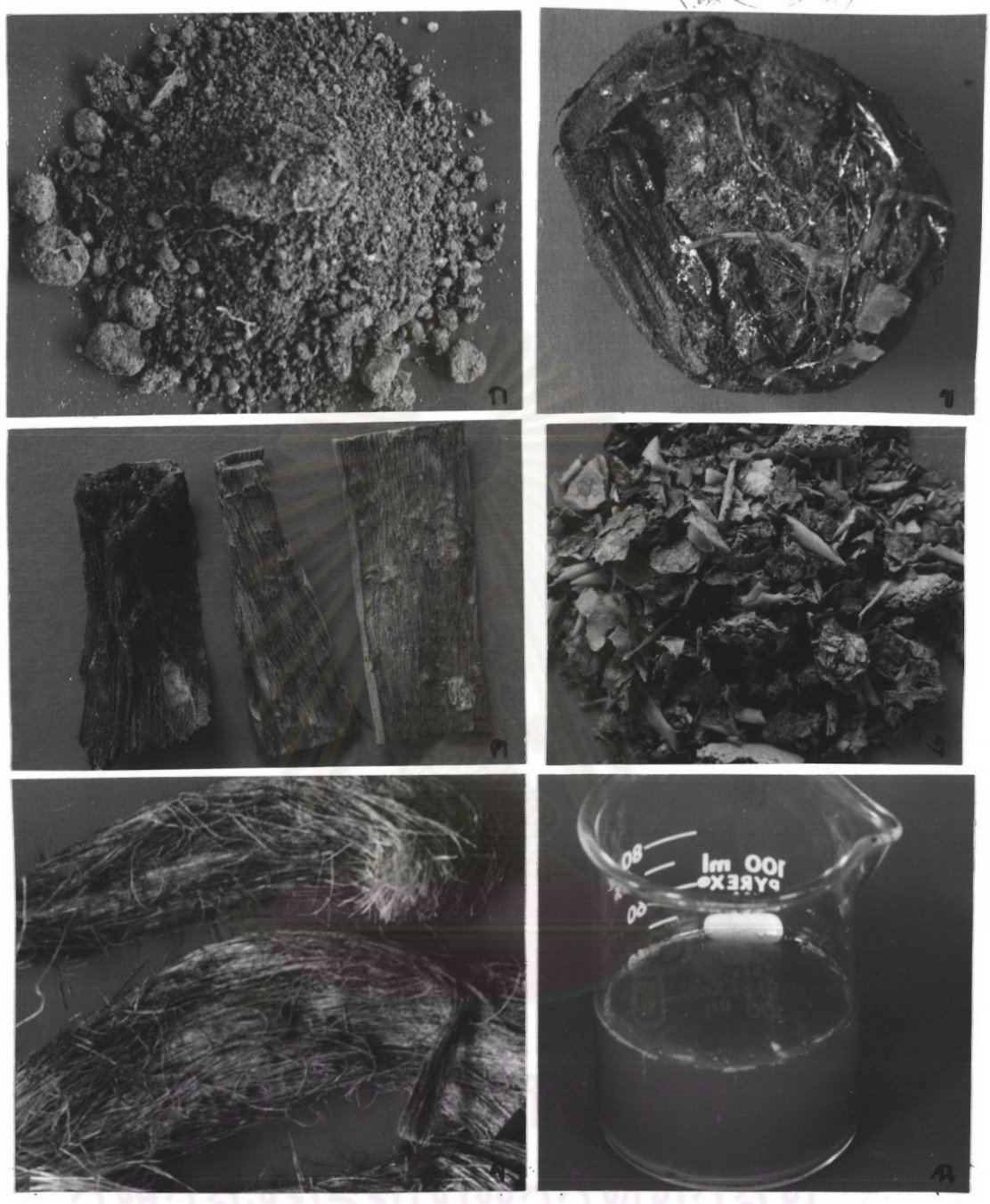
1. ผลการคัดเลือกเชื้อราขั้นที่หนึ่ง ตามวิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976)

จากการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร Czapex's dox ที่มีกระดาษกรอง Whatman No. 1 เป็นแหล่งคาร์บอน แล้วบ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จะเห็นเส้นใยของเชื้อราเจริญอยู่บนกระดาษกรอง (รูปที่ 4) ในขั้นนี้ได้เชื้อรารวมทั้งสิ้น 99 สายพันธุ์ ดังตารางที่ 3 ถึง 5

2. ผลการคัดเลือกเชื้อราขั้นที่สอง ตามวิธีการของ Hankin และ Anagnostakis (1977)

โดยการเลี้ยงเชื้อราบนอาหารแข็งสูตร CMC บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน แล้วราดทับด้วย 0.1 เปอร์เซ็นต์ congo red (รูปที่ 5) ดูการเกิดบริเวณวงใส บนอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า ได้เชื้อราที่ทำให้เกิดบริเวณวงใสบนอาหารเลี้ยงเชื้อ ทั้งสิ้น 52 สายพันธุ์

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3 ตัวอย่างวัสดุจากบริเวณปลูกป่านศรนารายณ์ ที่นำมาใช้ในการคัดแยกเชื้อรา

ก. ดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์

ข. เศษต้นป่านศรนารายณ์

ค. เศษใบป่านศรนารายณ์

ง. กากใบป่านศรนารายณ์ ที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำเชือก

จ. กากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ ที่เหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำเชือก

ฉ. น้ำที่ขังอยู่ตามพื้นดิน จากโรงงานอุตสาหกรรมทำเชือก

ตารางที่ 3 ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ และวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำเชือก อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตามวิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976)

ตัวอย่างที่	สายพันธุ์ที่	สีโคโลนีของเชื้อรา
1	1	สีน้ำตาลปนเทา
	2	สีขาว
2	3	สีดำ
	4	สีเขียว
3	5	สีดำ
4	6	สีเทา
	7	สีเขียว
5	8	สีขาว
	9	สีส้มเข้ม
6	10	สีน้ำตาล
7	11	สีเทา
8	12	สีขาว
	13	สีน้ำตาลปนเหลือง
9	14	สีขาว
	15	สีดำ
10	16	สีเขียว
11	17	สีขาว
12	18	สีเทา
	19	สีขาว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 3 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ และวัสดุเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมทำเชือก อำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ ตามวิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976)

ตัวอย่างที่	สายพันธุ์ที่	สีโคโลนีของเชื้อรา
13	20	สีขาวปนเทา
	21	สีเทา
14	22	สีน้ำตาล
15	23	สีเขียว
	24	สีขาว
16	25	สีเทา
17	26	สีขาว
18	27	สีขาวปนเทา
19	28	สีเทา
	29	สีเหลือง
20	30	สีขาว
21	31	สีขาว
22	32	สีดำ
23-41	NG	NG

หมายเหตุ NG หมายถึง เชื้อไม่มีการเจริญบนกระดาษกรอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี ตามวิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976)

ตัวอย่างที่	สายพันธุ์ที่	สีโคโลนีของเชื้อรา
1	33	สีดำ
2	34	สีเขียว
	35	สีขาว
3	36	สีส้ม
	37	สีน้ำตาลเข้ม
4	38	สีเทา
5	39	สีขาว
	40	สีน้ำตาลปนเทา
6	41	สีขาวปนเทา
	42	สีเขียว
	43	สีเทา
7	44	สีขาว
8	45	สีดำ
	46	สีส้มอ่อน
9	47	สีชมพู
	48	สีเทา
10	49	สีขาว
	50	สีเขียว
11	51	สีเหลืองปนส้ม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ อำเภอชะอำ จังหวัดเพชรบุรี ตามวิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976)

ตัวอย่างที่	สายพันธุ์ที่	สีโคโลนีของเชื้อรา
12	52	สีน้ำตาล
	53	สีขาว
13	54	สีขาว
	55	สีเทา
14	56	สีเขียว
15	57	สีขาว
	58	สีชมพูอ่อน
16	59	สีน้ำตาลเข้ม
	60	สีขาว
17-22	NG	NG

หมายเหตุ NG หมายถึง เชื้อไม่มีการเจริญบนกระดาษกรอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ อำเภอโนนสูง จังหวัดนครราชสีมา ตามวิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976)

ตัวอย่างที่	สายพันธุ์ที่	สีโคโลนีของเชื้อรา
1	61	สีม่วง
	62	สีเขียว
2	63	สีน้ำตาลปนเทา
	64	สีดำ
3	65	สีเหลือง
	66	สีเทา
4	67	สีเขียว
	68	สีน้ำตาลปนเหลือง
	69	สีม่วง
5	70	สีดำ
6	71	สีน้ำตาล
	72	สีเขียว
7	73	สีน้ำตาลปนเหลือง
	74	สีเทา
8	75	สีขาว
	76	สีชมพู
9	77	สีดำ
	78	สีน้ำตาลเข้ม
10	79	สีเหลือง
	80	สีน้ำตาลปนเทา

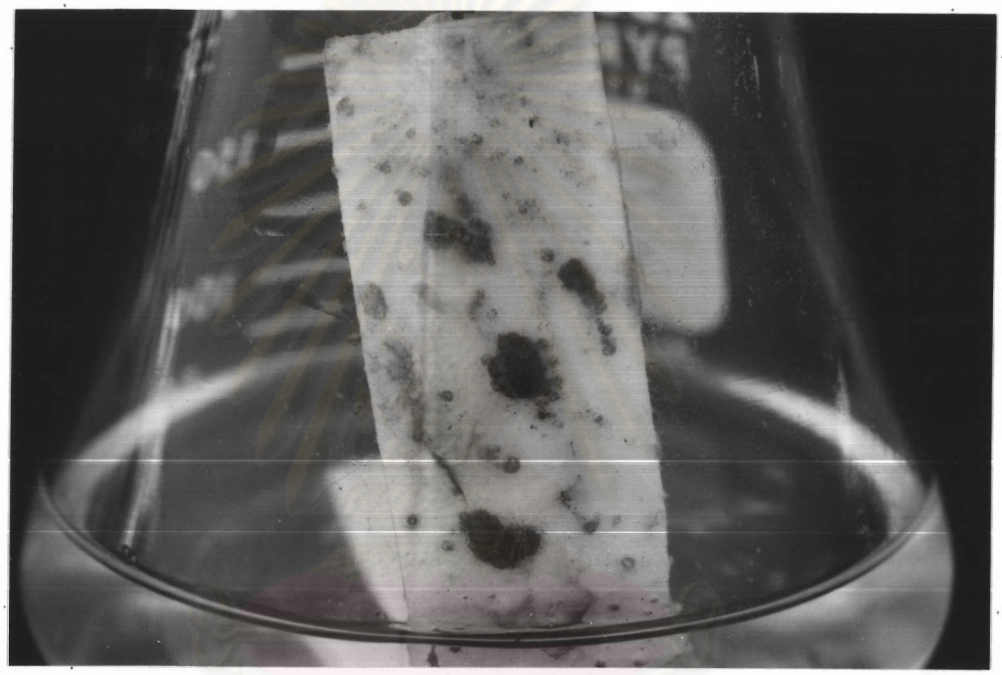
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส จากดินบริเวณใต้ต้นป่านศรนารายณ์ เศษต้นและใบป่านศรนารายณ์ อำเภอโนนสูง จังหวัดนครราชสีมา ตามวิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976)

ตัวอย่างที่	สายพันธุ์ที่	สีโคโลนีของเชื้อรา
11	81	สีดำ
12	82	สีน้ำตาล
13	83	สีขาวปนเทา
14	84	สีดำ
	85	สีเทา
	86	สีม่วง
15	87	สีขาว
	88	สีน้ำตาล
	89	สีเทา
16	90	สีชมพู
17	91	สีขาว
	92	สีเหลือง
18	93	สีเทา
	94	สีน้ำตาล
19	95	สีขาวนวล
	96	สีน้ำตาลเข้ม
20	97	สีเหลือง
21	98	สีขาวปนเทา
22	99	สีขาว
23-31	NG	NG

หมายเหตุ NG หมายถึง เชื้อไม่มีการเจริญบนกระดาษกรอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4 ลักษณะเส้นใยของเชื้อราที่เจริญบนกระดาษกรอง Whatman No.1 ในอาหารเหลวสูตร Czapex's dox

โดยสายพันธุ์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ดีที่สุด คือ สายพันธุ์ที่ 88 ดังตารางที่ 6

3. ผลการคัดเทียบเชื้อราขั้นที่สาม ตามวิธีการของ Punnapayak และ Emert (1986)

จากการเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลวสูตร production ป่มเชื้อที่อุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 37 และ 45 ^{o}C เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ได้เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด 9 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ที่ 88 59 71 37 23 86 52 80 และ 42 โดยเชื้อราสายพันธุ์ที่ 88 สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงที่สุดในกลุ่มของเชื้อราที่คัดแยกได้ (ให้ค่า FPA เท่ากับ 0.274 U/ml ที่อุณหภูมิ 37 ^{o}C) นอกนั้นสามารถสร้างเอนไซม์ได้สูงลดหลั่นลงมาตามลำดับ ดังตารางที่ 7

ผลการจำแนกสายพันธุ์ของเชื้อรา

จากการเลี้ยงเชื้อราโดยใช้วิธี slide culture technique เพื่อตรวจสอบสายพันธุ์ของเชื้อรา โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาภายใต้กล้องจุลทรรศน์ แล้วจำแนกชนิดของเชื้อราตามแนวของ Barnett และ Hunter (1972) และ Domsch และ Gams (1980) พบว่าเชื้อราสายพันธุ์ที่ 88 คือ Acrophialophora sp. (รูปที่ 6) ซึ่งการจำแนกอาศัยหลักเกณฑ์หรือลักษณะของเส้นใย สปอร์ และการสร้าง phialide เป็นหลัก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีการของ Hankin และ Anagnostakis (1977)

สายพันธุ์ที่	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (เซนติเมตร)	อัตราส่วน
1	1.80	2.25	1.25
2	6.00	0.00	0.00
3	3.30	0.00	0.00
4	1.60	2.15	1.34
5	2.25	3.00	1.33
6	1.75	2.20	1.26
7	1.90	2.35	1.24
8	3.50	0.00	0.00
9	1.70	2.35	1.38
10	3.00	3.80	1.27
11	3.10	3.85	1.24
12	3.40	0.00	0.00
13	2.60	3.35	1.29
14	7.00	0.00	0.00
15	3.35	4.05	1.21
16	3.35	4.30	1.28
17	6.20	0.00	0.00
18	3.45	0.00	0.00
19	2.65	0.00	0.00
20	3.10	3.80	1.23

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีการของ Hankin และ Anagnostakis (1977)

สายพันธุ์ที่	เส้นผ่านศูนย์กลางของโครลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (เซนติเมตร)	อัตราส่วน
21	3.30	3.75	1.14
22	2.00	2.95	1.48
23	1.35	2.50	1.85
24	2.85	0.00	0.00
25	1.80	0.00	0.00
26	7.00	0.00	0.00
27	3.35	0.00	0.00
28	2.50	0.00	0.00
29	1.75	0.00	0.00
30	3.10	0.00	0.00
31	2.90	0.00	0.00
32	2.95	3.60	1.22
33	1.90	2.70	1.42
34	2.90	3.70	1.28
35	3.10	0.00	0.00
36	2.00	0.00	0.00
37	1.35	2.80	2.07
38	3.10	0.00	0.00
39	7.20	0.00	0.00
40	1.90	2.40	1.26

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีการของ Hankin และ Anagnostakis (1977)

สายพันธุ์ที่	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (เซนติเมตร)	อัตราส่วน
41	3.25	0.00	0.00
42	1.75	2.70	1.54
43	1.00	0.00	0.00
44	2.40	0.00	0.00
45	2.95	3.55	1.20
46	1.95	2.75	1.41
47	2.70	0.00	0.00
48	3.00	0.00	0.00
49	6.20	0.00	0.00
50	3.30	4.10	1.24
51	2.70	0.00	0.00
52	1.10	1.90	1.73
53	7.00	0.00	0.00
54	5.40	0.00	0.00
55	3.10	0.00	0.00
56	3.30	4.15	1.26
57	3.00	0.00	0.00
58	2.65	3.30	1.25
59	1.00	2.15	2.15
60	3.35	0.00	0.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีการของ Hankin และ Anagnostakis (1977)

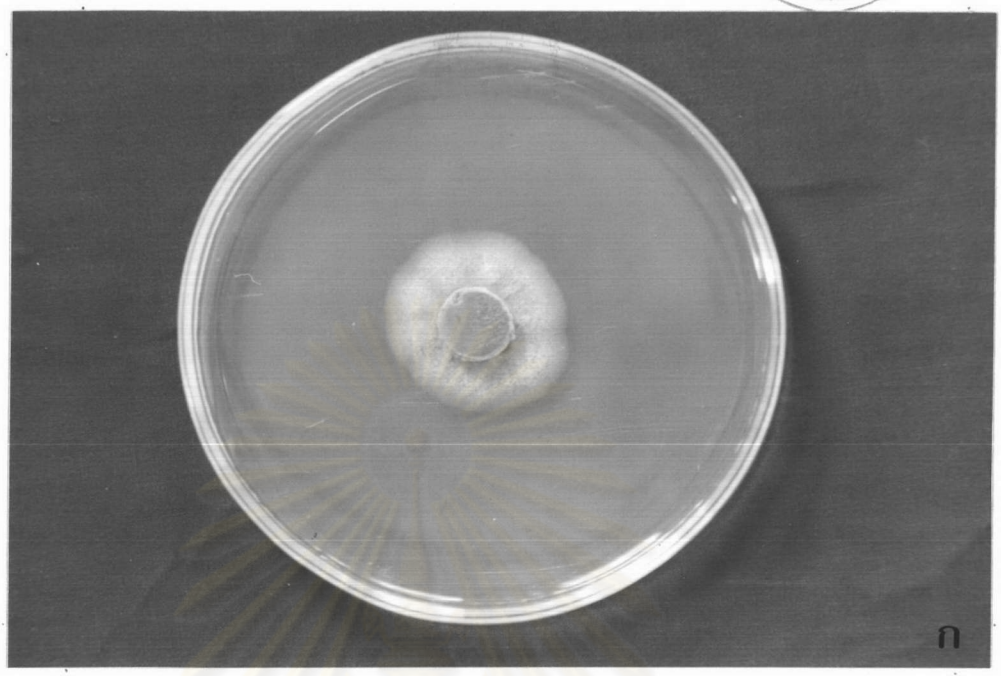
สายพันธุ์ที่	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (เซนติเมตร)	อัตราส่วน
61	1.80	2.75	1.53
62	3.05	3.90	1.28
63	3.25	4.05	1.25
64	3.30	0.00	0.00
65	1.75	0.00	0.00
66	3.15	0.00	0.00
67	3.50	4.25	1.21
68	1.65	2.10	1.27
69	3.00	3.75	1.25
70	2.10	3.10	1.48
71	1.05	2.20	2.10
72	3.05	3.75	1.23
73	1.10	1.60	1.45
74	2.95	0.00	0.00
75	5.10	0.00	0.00
76	1.85	2.85	1.54
77	3.05	3.70	1.21
78	3.35	4.20	1.25
79	2.05	0.00	0.00
80	1.15	1.90	1.65

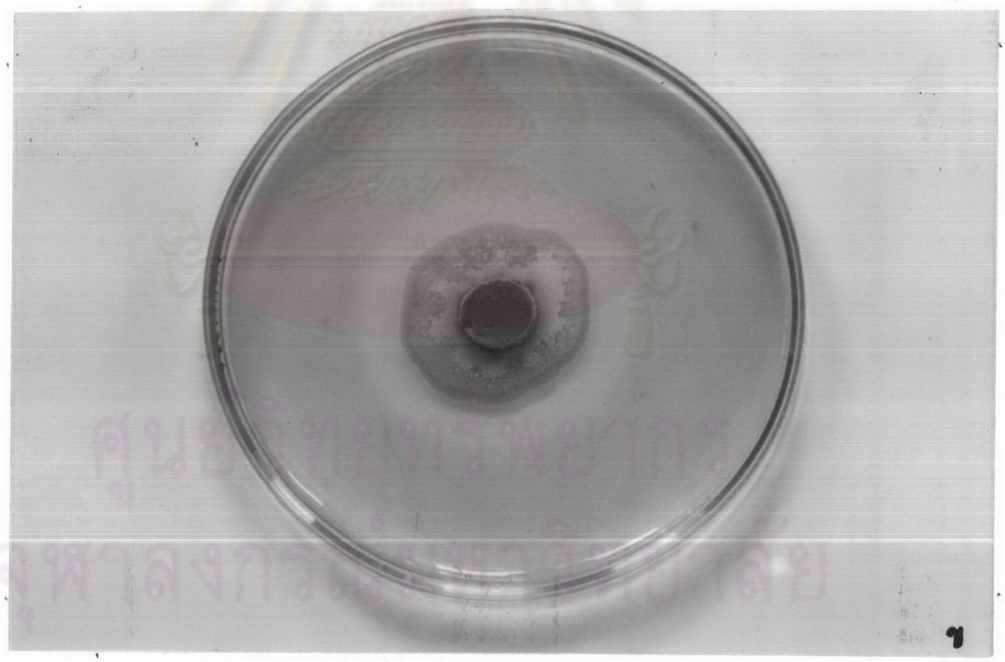
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 6 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ตามวิธีการของ Hankin และ Anagnostakis (1977)

สายพันธุ์ที่	เส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี (เซนติเมตร)	เส้นผ่านศูนย์กลางของวงใส (เซนติเมตร)	อัตราส่วน
81	2.55	3.25	1.27
82	2.35	3.05	1.30
83	2.95	3.45	1.17
84	2.80	3.45	1.23
85	3.10	3.95	1.27
86	1.65	2.85	1.73
87	3.50	0.00	0.00
88	1.05	2.55	2.43
89	3.15	3.75	1.19
90	1.90	0.00	0.00
91	2.75	0.00	0.00
92	2.00	0.00	0.00
93	3.10	0.00	0.00
94	2.35	3.05	1.30
95	2.55	0.00	0.00
96	1.95	2.65	1.36
97	1.55	0.00	0.00
98	3.20	0.00	0.00
99	5.05	0.00	0.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 5 ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบนอาหารแข็งสูตร CMC agar เป็นเวลา 3 วัน

ก. ก่อนราดทับด้วย 0.1% congo red

ข. หลังราดทับด้วย 0.1% congo red

ตารางที่ 7 ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ ตามวิธีการของ Punnapayak และ Emert (1986)

สายพันธุ์ที่	Filter Paper Activity (U/ml)		
	30°C	37°C	45°C
88	0.246	0.274	0.048
59	0.201	0.194	0.023
71	0.194	0.170	0.010
37	0.182	0.172	0.009
23	0.177	0.188	0.004
86	0.160	0.175	0.000
52	0.154	0.157	0.002
80	0.154	0.159	0.000
42	0.148	0.199	0.003
76	0.134	0.163	0.000
70	0.134	0.103	0.000
61	0.134	0.117	0.000
22	0.133	0.137	0.000
73	0.133	0.117	0.000
46	0.129	0.081	0.000
9	0.127	0.077	0.000
33	0.127	0.117	0.000
96	0.121	0.122	0.000
5	0.120	0.072	0.000

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ ตามวิธีการของ Punnapayak และ Emert (1986)

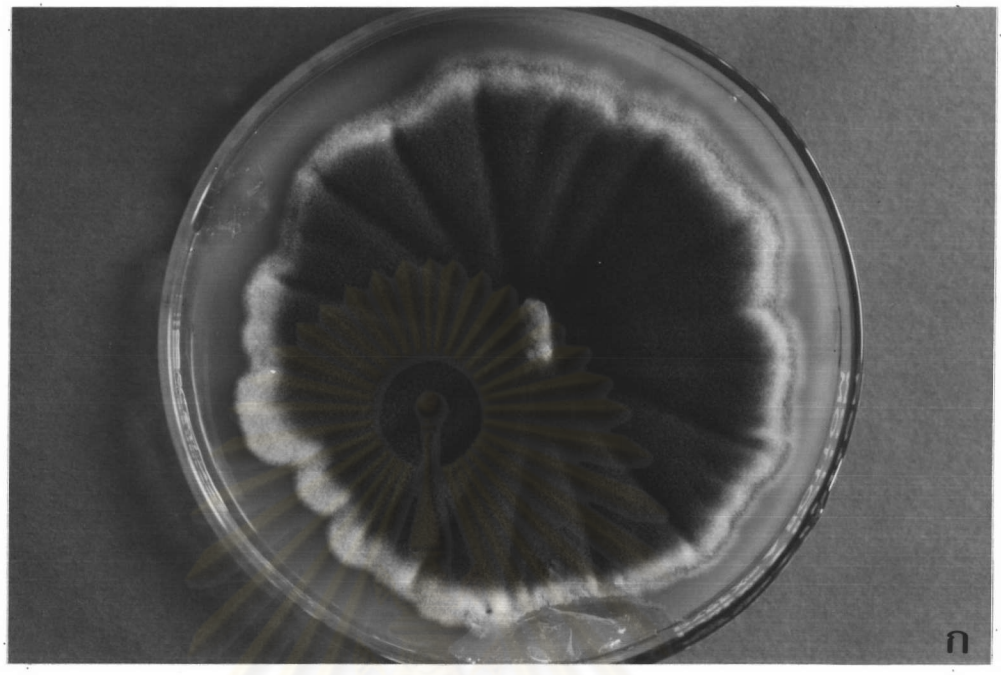
สายพันธุ์ที่	Filter Paper Activity (U/ml)		
	30°C	37°C	45°C
4	0.119	0.132	0.000
94	0.119	0.120	0.000
82	0.117	0.119	0.000
13	0.117	0.051	0.000
16	0.104	0.044	0.000
62	0.100	0.104	0.000
68	0.096	0.100	0.000
34	0.096	0.100	0.000
10	0.095	0.106	0.000
40	0.091	0.034	0.000
81	0.081	0.100	0.000
85	0.078	0.081	0.000
78	0.077	0.023	0.000
56	0.072	0.102	0.000
6	0.068	0.099	0.000
1	0.067	0.017	0.000
50	0.066	0.010	0.000
63	0.064	0.081	0.000
58	0.064	0.072	0.000

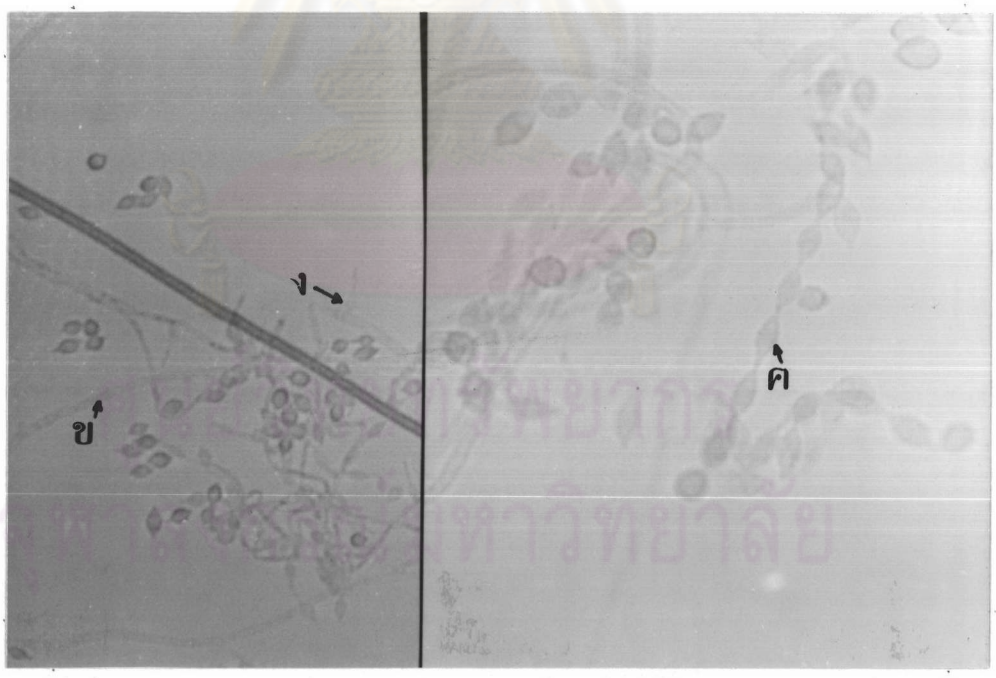
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 (ต่อ) ผลการคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ ตามวิธีการของ Punnapayak และ Emert (1986)

สายพันธุ์ที่	Filter Paper Activity (U/ml)		
	30°C	37°C	45°C
69	0.059	0.058	0.000
11	0.049	0.065	0.000
7	0.046	0.008	0.000
84	0.045	0.011	0.000
72	0.035	0.060	0.000
20	0.033	0.005	0.000
32	0.032	0.043	0.000
77	0.031	0.016	0.000
67	0.031	0.001	0.000
15	0.023	0.005	0.000
45	0.023	0.022	0.000
89	0.017	0.044	0.000
83	0.012	0.022	0.000
21	0.009	0.011	0.000
T. reesei QM 9414	0.284	0.166	0.000

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย





รูปที่ 6 ลักษณะโคโลนี เส้นใย สปอร์ และ phialide ของ Acrophialophora sp.

ก. โคโลนี

ข. เส้นใย (1400 X)

ค. สปอร์ (1400 X)

ง. phialide (1400 X)

ผลการศึกษาหาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา

1. ผลการศึกษาความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ

โดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารเหลวสูตร production ปรับ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้มีค่า pH เริ่มต้น เท่ากับ 3.0 4.0 4.5 5.0 5.5 6.0 และ 7.0 บ่มเชื้อในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ^{o}C เป็นเวลา 15 วัน พบว่า เชื้อรามีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 โดยในวันที่ 9 ของการเลี้ยงเชื้อ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เท่ากับ 0.255 U/ml ส่วนค่า CMCase เชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุด เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.5 โดยในวันที่ 15 ของการเลี้ยงเชื้อ เชื้อจะให้ค่า CMCase สูงสุดเท่ากับ 9.028 U/ml สำหรับปริมาณของโปรตีน พบว่าที่ค่าของ FPA และ CMCase สูงสุดนั้นจะให้ค่าของปริมาณโปรตีนเท่ากับ 2.208 และ 2.476 มก./มล. ตามลำดับ ค่าของ FPA CMCase และปริมาณของโปรตีนต่ำสุด เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีค่า pH เริ่มต้น เท่ากับ 3.0 ส่วนการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีค่า pH เริ่มต้นแต่ละค่า การเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ ไม่ค่อยต่างกันมากนัก ที่ค่า pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ให้ค่า FPA และ CMCase สูงสุด การเปลี่ยนแปลงของ pH จะอยู่ในช่วง 4.67 ถึง 4.87 และ 4.85 ถึง 4.98 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 8 รูปที่ 7 และ 8

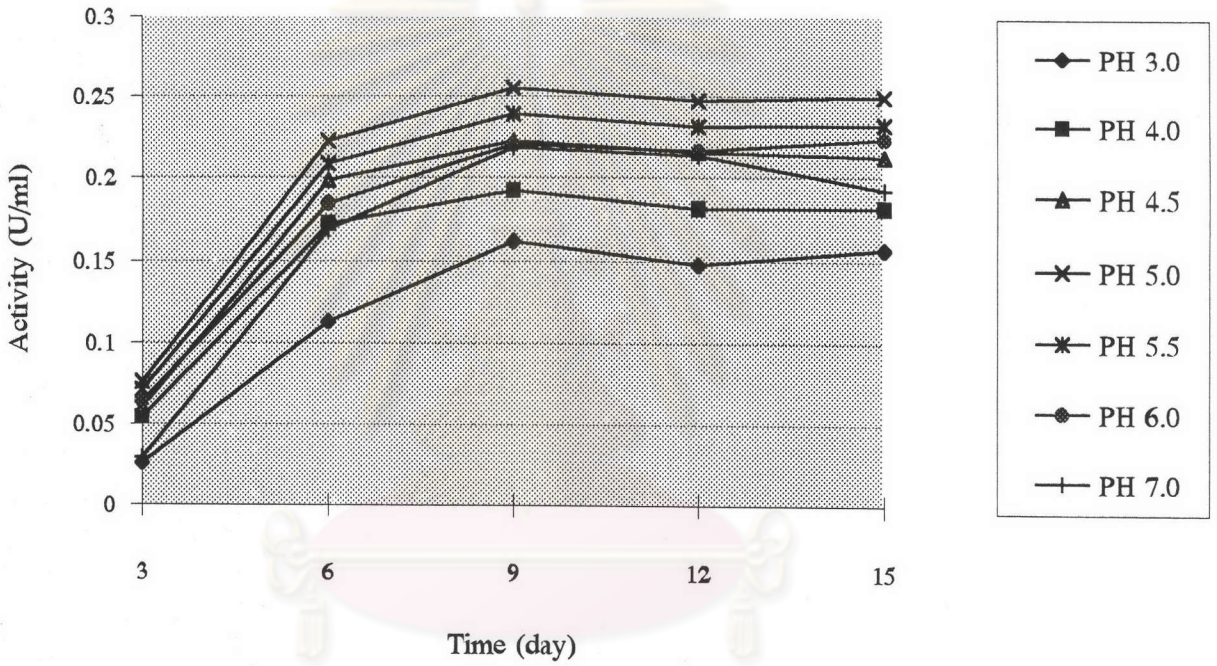
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 8 ผลของความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

pH เริ่มต้น	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
3.0	FPA (U/ml)	0.026	0.113	0.162	0.148	0.157
	CMCase (U/ml)	1.308	2.456	3.972	4.591	4.568
	Protein (mg/ml)	0.358	0.702	1.126	1.277	1.280
	pH	4.51	4.52	4.64	4.69	4.67
4.0	FPA (U/ml)	0.054	0.172	0.192	0.181	0.181
	CMCase (U/ml)	2.433	4.040	5.280	6.313	6.956
	Protein (mg/ml)	0.682	1.150	1.483	1.745	2.056
	pH	4.53	4.59	4.70	4.74	4.78
4.5	FPA (U/ml)	0.060	0.198	0.222	0.215	0.212
	CMCase (U/ml)	3.002	4.996	6.519	7.392	7.661
	Protein (mg/ml)	0.836	1.513	1.815	2.138	2.252
	pH	4.83	4.70	4.74	4.70	4.79
5.0	FPA (U/ml)	0.076	0.222	0.255	0.247	0.249
	CMCase (U/ml)	3.606	6.440	7.971	8.618	8.753
	Protein (mg/ml)	0.989	1.808	2.208	2.403	2.492
	pH	4.86	4.67	4.78	4.81	4.87

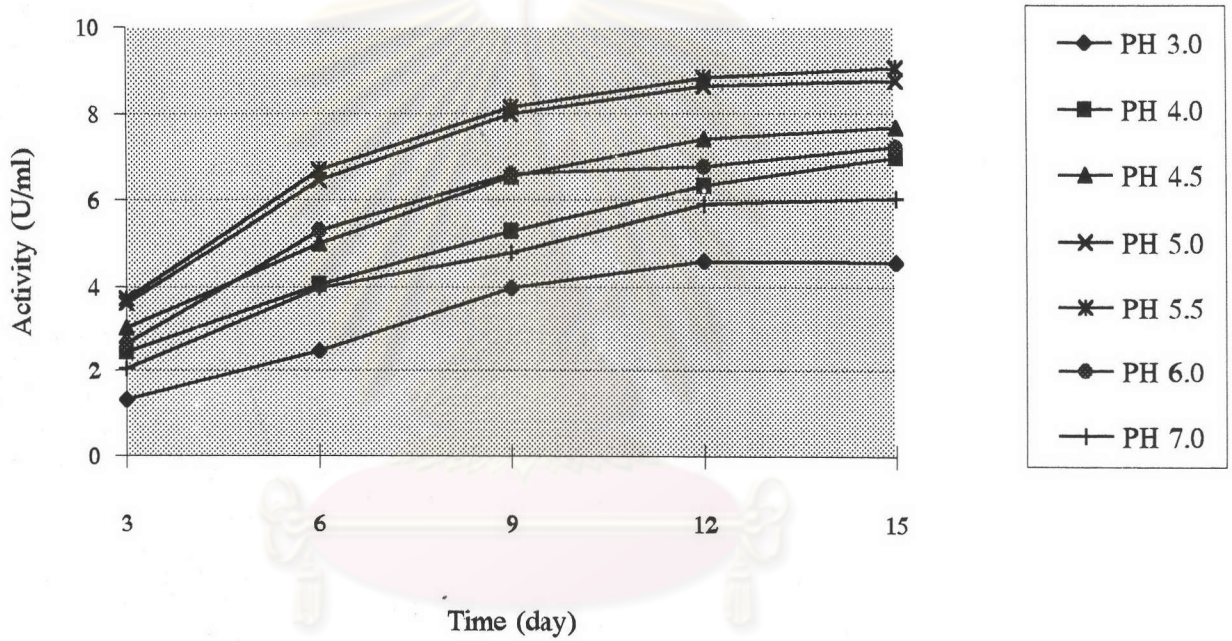
ตารางที่ 8 (ต่อ) ผลของความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

pH เริ่มต้น	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
5.5	FPA (U/ml)	0.071	0.208	0.239	0.231	0.232
	CMCase (U/ml)	3.719	6.676	8.132	8.804	9.028
	Protein (mg/ml)	0.987	1.819	2.218	2.389	2.476
	pH	4.98	4.85	4.90	4.95	4.96
6.0	FPA (U/ml)	0.064	0.184	0.220	0.216	0.223
	CMCase (U/ml)	2.640	5.303	6.589	6.749	7.208
	Protein (mg/ml)	0.758	1.490	1.853	1.889	2.211
	pH	5.23	4.99	4.70	4.74	4.87
7.0	FPA (U/ml)	0.029	0.169	0.218	0.213	0.192
	CMCase (U/ml)	2.043	3.972	4.775	5.900	6.015
	Protein (mg/ml)	0.500	1.129	1.369	1.660	1.780
	pH	6.25	5.00	4.87	4.94	5.01



รูปที่ 7 ผลของ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อค่า FPA ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 8 ผลของ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อค่า CMCase ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

2. ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสมในการบ่มเชื้อ

จากการเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 1 ปรับ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้มีค่า pH เริ่มต้นเท่ากับ 5.0 แล้วบ่มเชื้อในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที โดยศึกษาที่อุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 25 30 35 40 และ 45 ^{o}C พบว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด โดยให้ค่าใกล้เคียงกันในวันที่ 12 และ 15 ของการบ่มเชื้อ คือให้ค่า FPA เท่ากับ 0.294 และ 0.295 U/ml ตามลำดับ ส่วนค่า CMCase ก็เช่นกัน ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุดในวันที่ 15 ของการบ่มเชื้อ โดยให้ค่า CMCase สูงสุด เท่ากับ 11.947 U/ml ส่วนปริมาณของโปรตีน พบว่าที่ค่าของ FPA และ CMCase สูงสุดนั้น จะมีปริมาณโปรตีนเท่ากับ 3.203 และ 3.416 มก./มล. ในวันที่ 12 และ 15 ของการบ่มเชื้อ ตามลำดับ ค่าของ FPA CMCase และปริมาณของโปรตีนต่ำสุด เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 45 ^{o}C สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ พบว่าที่ทุกๆ อุณหภูมิ ค่าของ pH เปลี่ยนแปลงไม่ค่อยต่างกันมากนัก ที่อุณหภูมิซึ่งให้ค่า FPA CMCase และปริมาณโปรตีนสูงสุด ค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH จะอยู่ในช่วง 4.62 ถึง 4.86 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 9 รูปที่ 9 และ 10

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

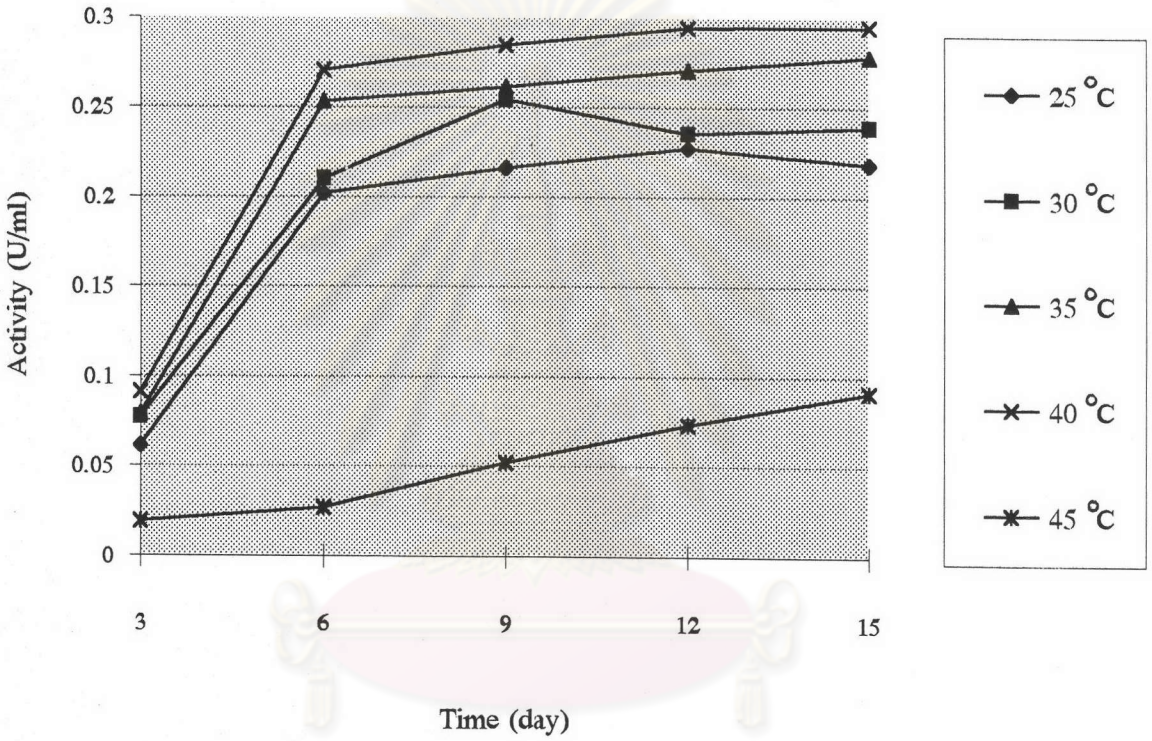
ตารางที่ 9 ผลของอุณหภูมิในการบ่มเชื้อต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

อุณหภูมิ (^{o}C)	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
25	FPA (U/ml)	0.061	0.202	0.216	0.227	0.218
	CMCase (U/ml)	3.184	4.201	4.901	5.420	5.488
	Protein (mg/ml)	0.858	1.214	1.406	1.533	1.556
	pH	4.89	4.70	4.75	4.78	4.89
30	FPA (U/ml)	0.077	0.210	0.254	0.235	0.239
	CMCase (U/ml)	3.591	6.436	7.927	8.582	8.627
	Protein (mg/ml)	0.947	1.790	2.174	2.353	2.382
	pH	4.76	4.58	4.61	4.77	4.86
35	FPA (U/ml)	0.079	0.253	0.261	0.270	0.278
	CMCase (U/ml)	4.359	7.159	8.582	9.598	9.756
	Protein (mg/ml)	1.172	1.995	2.371	2.656	2.704
	pH	4.72	4.59	4.76	4.79	4.83
40	FPA (U/ml)	0.091	0.270	0.284	0.294	0.295
	CMCase (U/ml)	5.533	8.988	10.117	11.631	11.947
	Protein (mg/ml)	1.458	2.495	2.800	3.203	3.416
	pH	4.86	4.62	4.72	4.73	4.85

ตารางที่ 9 (ต่อ) ผลของอุณหภูมิในการบ่มเชื้อต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

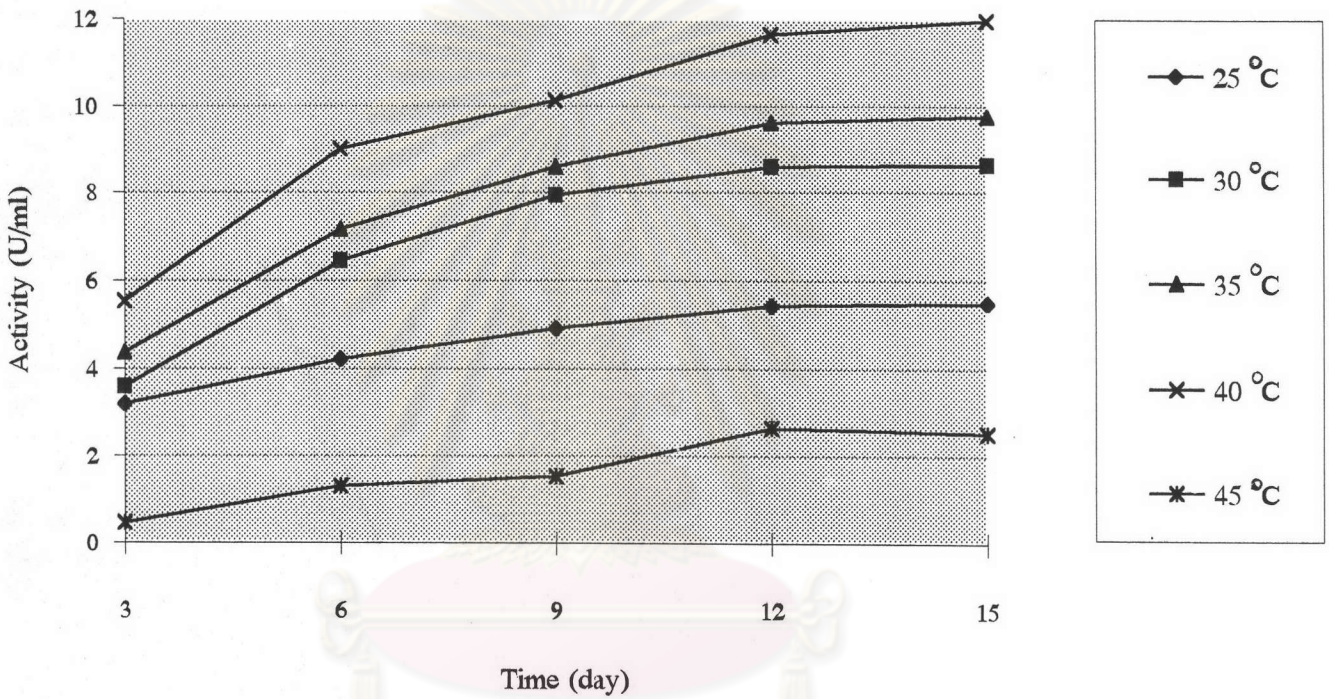
อุณหภูมิ (^{o}C)	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
45	FPA (U/ml)	0.019	0.027	0.052	0.073	0.091
	CMCase (U/ml)	0.452	1.310	1.536	2.642	2.529
	Protein (mg/ml)	0.125	0.358	0.426	0.729	0.879
	pH	4.91	4.74	4.64	4.79	4.80

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 9 ผลของอุณหภูมิ ต่อค่า FPA ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10 ผลของอุณหภูมิ ต่อค่า CMCase ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3. ผลของการศึกษาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอน

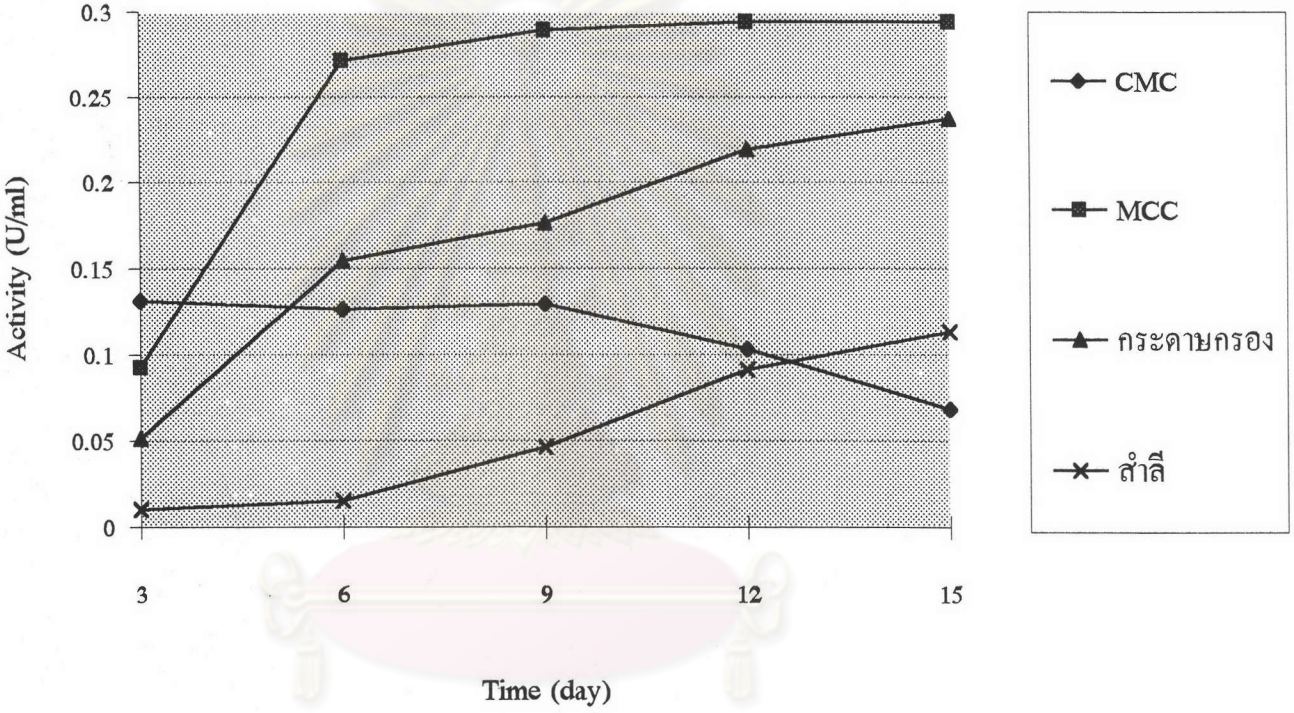
จากการเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 2 แต่เปลี่ยนแปลงชนิดของแหล่งคาร์บอน โดยศึกษาแหล่งคาร์บอน 4 ชนิด คือ CMC MCC กระดาษกรอง และสาลี ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี MCC เป็นแหล่งคาร์บอน โดยให้ค่า FPA สูงสุดเท่ากัน ในวันที่ 12 และ 15 ของการบ่มเชื้อ คือให้ค่า FPA เท่ากับ 0.294 U/ml ส่วนค่า CMCase ก็เช่นกัน เชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี MCC เป็นแหล่งคาร์บอน โดยในวันที่ 12 ของการบ่มเชื้อ เชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุด เท่ากับ 11.749 U/ml สำหรับปริมาณโปรตีน พบว่าที่ค่า FPA และ CMCase สูงสุดนั้น จะมีปริมาณโปรตีน เท่ากับ 3.201 ถึง 3.179 มก./มล. เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA และ CMCase ต่ำสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีสาลีเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ พบว่าในอาหารแต่ละชนิด pH มีการเปลี่ยนแปลงไม่ค่อยต่างกันมากนัก โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ค่า FPA CMCase และปริมาณโปรตีนสูงสุดนั้น ค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH อยู่ในช่วง 4.75 ถึง 4.92 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 10 รูปที่ 11 และ 12

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

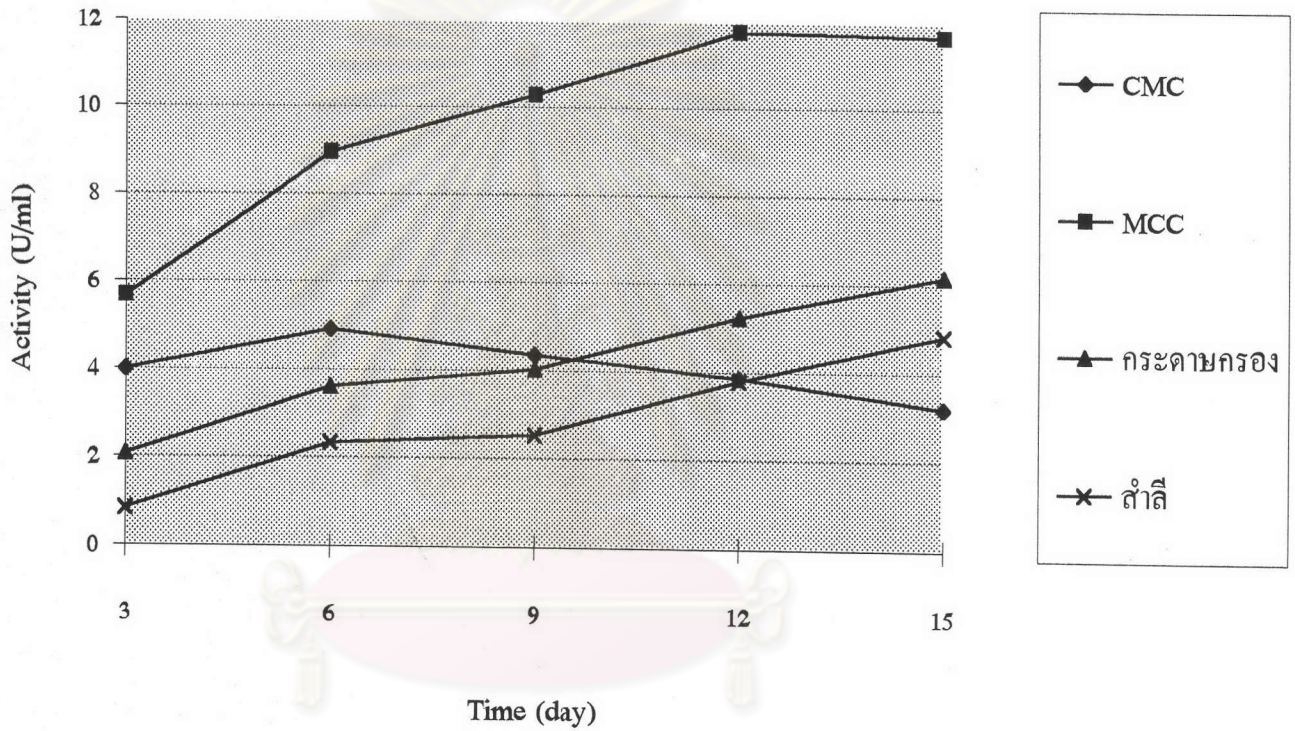
แหล่งคาร์บอน	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
CMC	FPA (U/ml)	0.131	0.126	0.129	0.103	0.068
	CMCase (U/ml)	3.985	4.895	4.326	3.848	3.188
	Protein (mg/ml)	1.109	1.343	1.324	1.168	0.960
	pH	5.39	5.16	5.02	4.97	4.87
MCC	FPA (U/ml)	0.092	0.271	0.289	0.294	0.294
	CMCase (U/ml)	5.669	8.925	10.269	11.749	11.658
	Protein (mg/ml)	1.479	2.471	2.823	3.201	3.179
	pH	4.81	4.75	4.87	4.89	4.92
กระดาษกรอง	FPA (U/ml)	0.051	0.154	0.176	0.219	0.237
	CMCase (U/ml)	2.072	3.597	4.007	5.214	6.170
	Protein (mg/ml)	0.565	1.028	1.141	1.489	1.739
	pH	4.83	4.82	4.83	4.87	4.93
สาลี	FPA (U/ml)	0.010	0.015	0.046	0.091	0.113
	CMCase (U/ml)	0.820	2.322	2.527	3.780	4.827
	Protein (mg/ml)	0.191	0.603	0.678	1.058	1.314
	pH	5.12	5.11	5.09	4.94	4.85

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 11 ผลของแหล่งคาร์บอน ต่อค่า FPA ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 12 ผลของแหล่งคาร์บอน ต่อค่า CMCase ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งคาร์บอน โดยการเลี้ยงเชื้อราในสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 2 แต่มี MCC เป็นแหล่งคาร์บอน โดยศึกษาถึงความเข้มข้น 5 ระดับคือ 1 2 3 4 และ 5 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี MCC ความเข้มข้น 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA ใกล้เคียงกันมาก โดยในวันที่ 15 ของการบ่มเชื้อ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุดเท่ากับ 0.297 U/ml ในอาหารที่มี MCC ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ และ 0.294 U/ml ในอาหารที่มี MCC ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ค่าของ CMCase ก็เช่นกัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี MCC ความเข้มข้น 3 และ 4 เปอร์เซ็นต์ เชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase ใกล้เคียงกัน โดยในวันที่ 12 ของการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มี MCC ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุดเท่ากับ 11.794 U/ml และในวันที่ 15 ของการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มี MCC ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุดเท่ากับ 11.658 U/ml จากผลการทดลองจะเห็นว่า ความเข้มข้นของ MCC 3 เปอร์เซ็นต์ ก็เพียงพอต่อการเจริญ และการสร้างเอนไซม์โดยเชื้อรา เมื่อความเข้มข้นของ MCC เพิ่มขึ้น เชื้อก็ยังคงสร้างเอนไซม์เท่าเดิม ดังนั้นจึงใช้ความเข้มข้นของ MCC 3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการศึกษาในขั้นต่อไป ส่วนปริมาณของโปรตีน พบว่าที่ค่าของ FPA และ CMCase สูงสุดนั้น (วันที่ 15 MCC ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับค่า FPA และวันที่ 12 MCC ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ สำหรับค่า CMCase) จะมีปริมาณของโปรตีนเท่ากับ 3.216 และ 3.219 มก./มล. ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ พบว่า ที่ความเข้มข้นของ MCC แต่ละระดับ การเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อไม่ค่อยต่างกันมากนัก ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ค่าของ FPA CMCase และปริมาณโปรตีนสูงสุดนั้น ค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH จะอยู่ในช่วง 4.75 ถึง 4.90 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 11 รูปที่ 13 และ 14

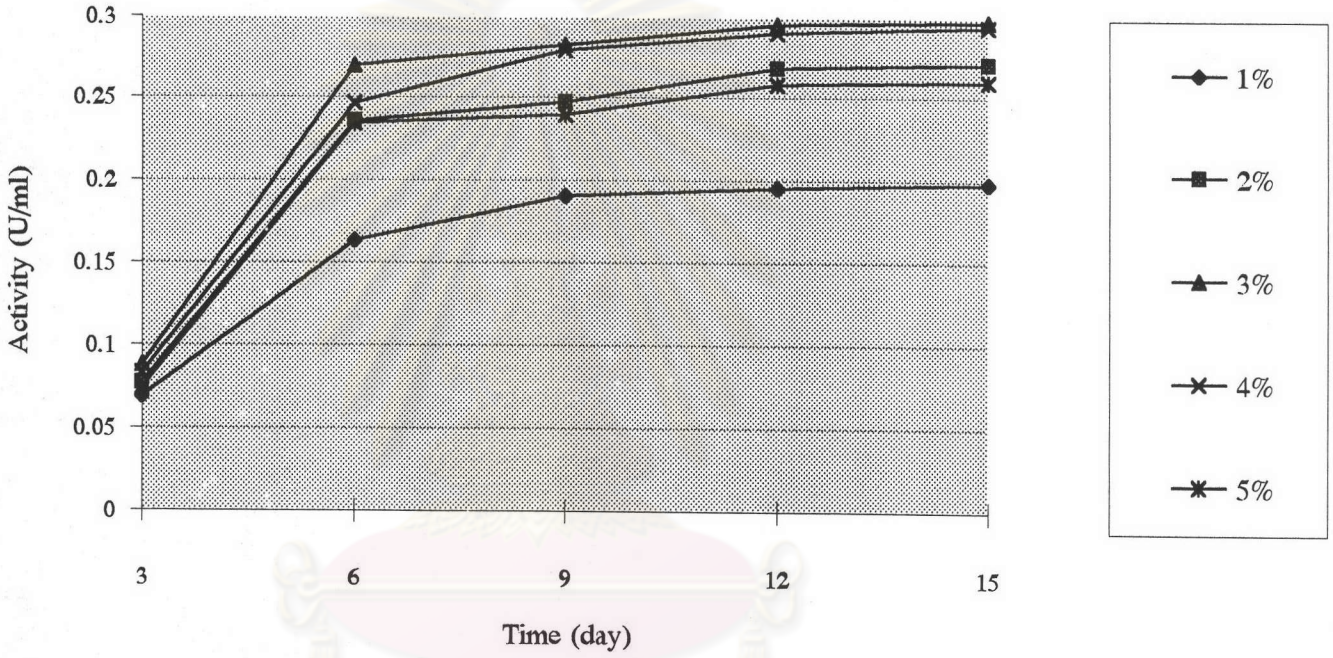
ตารางที่ 11 ผลของความเข้มข้นของ MCC ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้นของ MCC (%)	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
1	FPA (U/ml)	0.069	0.163	0.190	0.195	0.198
	CMCase (U/ml)	2.596	4.531	6.193	7.081	6.944
	Protein (mg/ml)	0.709	1.269	1.720	1.951	1.916
	pH	4.78	4.67	4.80	4.87	4.94
2	FPA (U/ml)	0.077	0.235	0.247	0.268	0.271
	CMCase (U/ml)	4.007	6.436	7.969	9.267	9.995
	Protein (mg/ml)	1.079	1.803	2.208	2.556	2.798
	pH	4.71	4.73	4.77	4.79	4.86
3	FPA (U/ml)	0.088	0.269	0.282	0.295	0.297
	CMCase (U/ml)	5.328	8.834	10.178	11.794	11.771
	Protein (mg/ml)	1.428	2.430	2.795	3.219	3.216
	pH	4.78	4.75	4.82	4.86	4.90
4	FPase (U/ml)	0.083	0.246	0.279	0.290	0.294
	CMCase (U/ml)	4.531	7.377	10.041	11.293	11.658
	Protein (mg/ml)	1.218	2.041	2.755	3.069	3.296
	pH	4.89	4.74	4.76	4.84	4.96

ตารางที่ 11 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ MCC ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

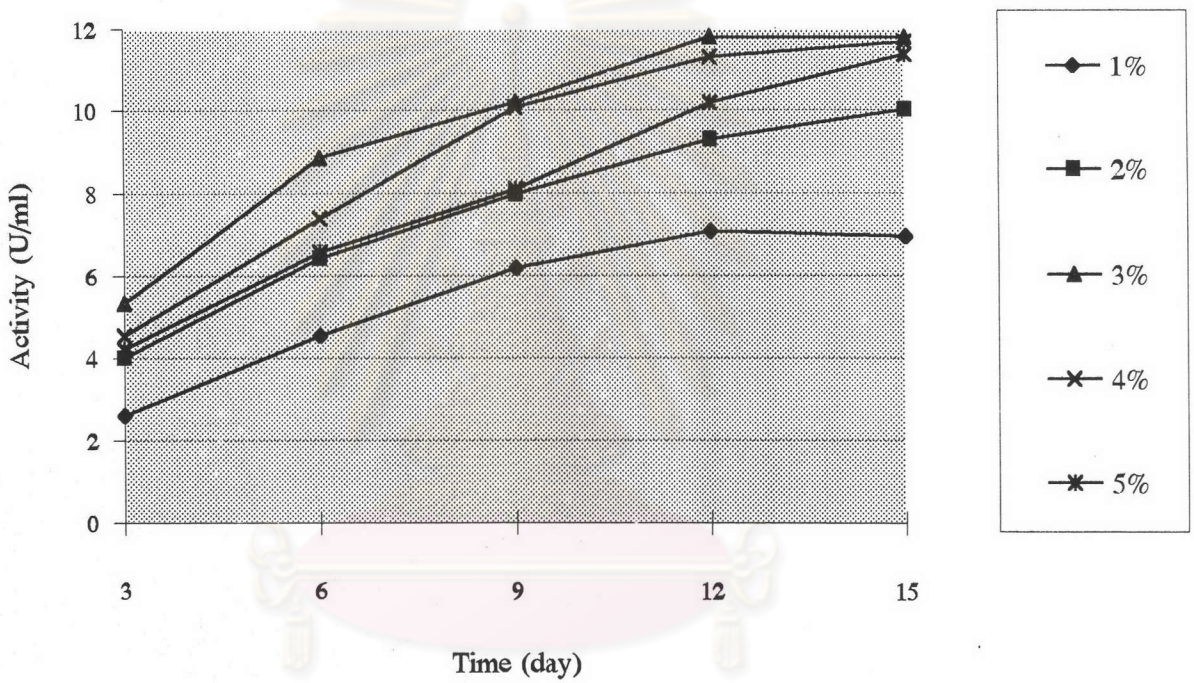
ความเข้มข้นของ MCC (%)	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
5	FPase (U/ml)	0.074	0.234	0.239	0.258	0.260
	CMCase (U/ml)	4.212	6.580	8.083	10.155	11.362
	Protein (mg/ml)	1.124	1.236	2.219	2.766	3.086
	pH	4.95	4.80	4.74	4.86	4.91

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 13 ผลของความเข้มข้นของ MCC ต่อค่า FPA ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 14 ผลของความเข้มข้นของ MCC ต่อค่า CMCase ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

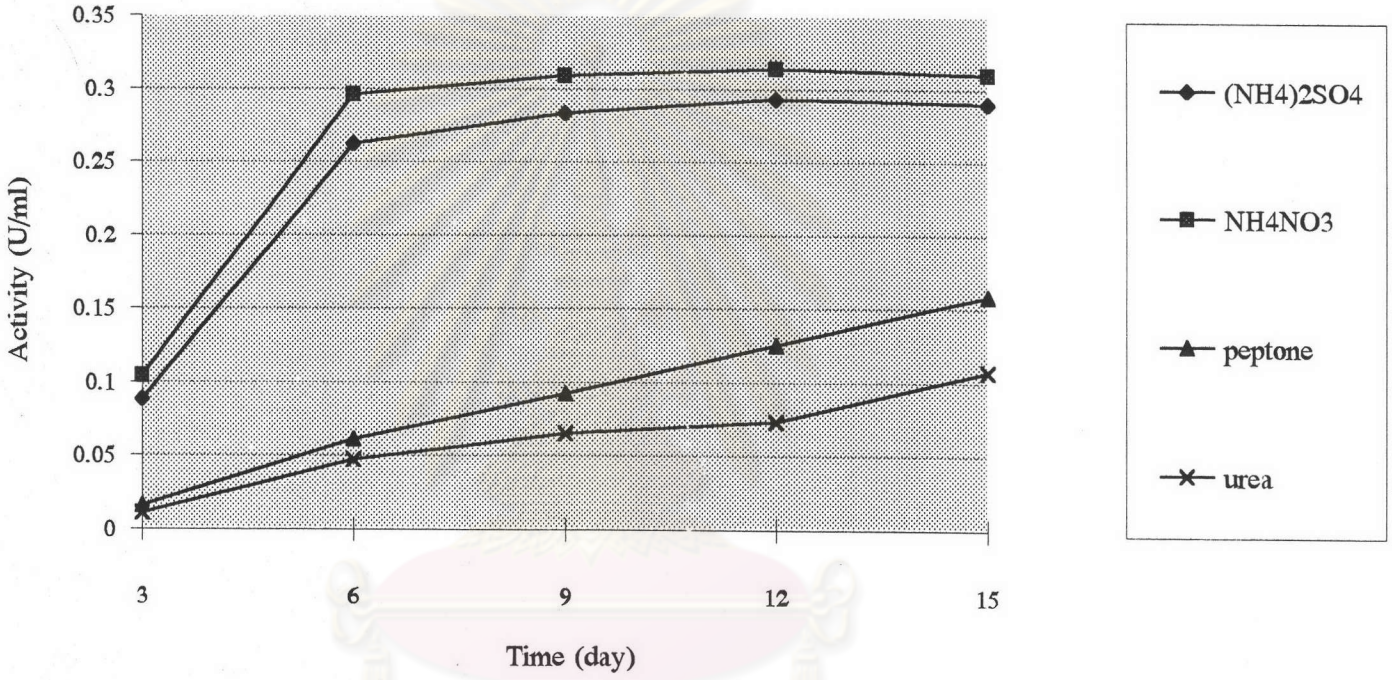
4. ผลการศึกษาชนิดและความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจน

จากการเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 3 แต่เปลี่ยนแปลงชนิดของแหล่งไนโตรเจน โดยศึกษาแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิดคือ $(NH_4)_2SO_4$ NH_4NO_3 peptone และ urea ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NH_4NO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยในวันที่ 12 ของการบ่มเชื้อ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เท่ากับ 0.314 U/ml ส่วนค่าของ CMCase เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี peptone เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยในวันที่ 12 ของการบ่มเชื้อ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุด เท่ากับ 14.267 U/ml ค่าของ FPA และ CMCase จะต่ำสุด เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มี urea เป็นแหล่งไนโตรเจน ส่วนปริมาณของโปรตีน พบว่าที่ค่าของ FPA และ CMCase สูงสุดนั้น จะมีปริมาณของโปรตีน เท่ากับ 3.542 และ 3.710 มก./มล. ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีไนโตรเจนแต่ละชนิด การเปลี่ยนแปลงของ pH ไม่ค่อยต่างกันมากนัก ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ค่า FPA และ CMCase สูงสุด การเปลี่ยนแปลงของ pH อยู่ในช่วง 4.69 ถึง 4.84 และ 4.98 ถึง 5.63 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 12 รูปที่ 15 และ 16

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

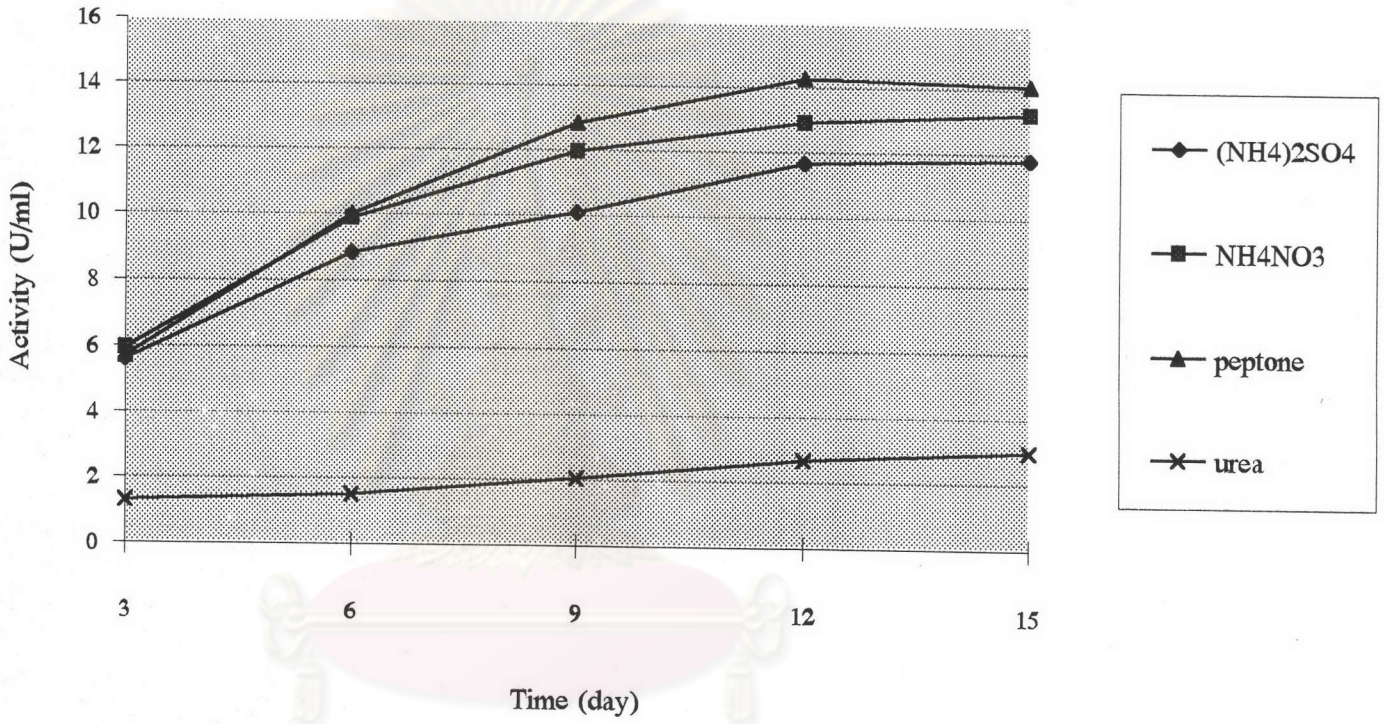
ตารางที่ 12 ผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

แหล่งไนโตรเจน (0.4%)	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
$(NH_4)_2SO_4$	FPA (U/ml)	0.088	0.262	0.283	0.293	0.290
	CMCase (U/ml)	5.600	8.822	10.089	11.644	11.778
	Protein (mg/ml)	1.490	2.414	2.774	3.188	3.219
	pH	4.75	4.67	4.78	4.78	4.80
NH_4NO_3	FPA (U/ml)	0.104	0.296	0.309	0.314	0.310
	CMCase (U/ml)	5.933	9.867	11.956	12.910	13.200
	Protein (mg/ml)	1.591	2.743	3.272	3.542	3.776
	pH	4.70	4.69	4.79	4.80	4.84
peptone	FPA (U/ml)	0.016	0.061	0.092	0.125	0.158
	CMCase (U/ml)	5.689	9.978	12.822	14.267	14.067
	Protein (mg/ml)	1.474	2.560	3.385	3.710	3.739
	pH	5.63	5.49	5.15	5.05	4.98
urea	FPA (U/ml)	0.011	0.047	0.065	0.073	0.107
	CMCase (U/ml)	1.289	1.489	2.044	2.667	2.978
	Protein (mg/ml)	0.325	0.412	0.569	0.732	0.839
	pH	5.49	5.28	5.14	5.02	4.97



รูปที่ 15 ผลของแหล่งไนโตรเจน ต่อค่า FPA ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16 ผลของแหล่งไนโตรเจน ต่อค่า CMCase ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการศึกษาถึงความเข้มข้นที่เหมาะสมของแหล่งไนโตรเจน โดยการเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 3 แต่ใช้ NH_4NO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่ความเข้มข้น 5 ระดับคือ 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ พบว่าเชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NH_4NO_3 ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยในวันที่ 12 ของการบ่มเชื้อ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เท่ากับ 0.314 U/ml ส่วนค่าของ CMCase ก็เช่นกัน เชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุด เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มี NH_4NO_3 ความเข้มข้น 0.4 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยในวันที่ 15 ของการบ่มเชื้อ เชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุดเท่ากับ 13.089 U/ml เมื่อความเข้มข้นของ NH_4NO_3 เพิ่มขึ้น ค่าของ FPA และ CMCase จะลดลง และเชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA และ CMCase ต่ำสุด เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มี NH_4NO_3 ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน ส่วนปริมาณของโปรตีน พบว่า ที่ค่า FPA และ CMCase สูงสุดนั้น จะมีปริมาณของโปรตีน เท่ากับ 3.494 และ 3.559 มก./มล. ตามลำดับ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ พบว่า ที่ความเข้มข้นของ NH_4NO_3 แต่ละระดับ ค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH ไม่ค่อยต่างกันมากนัก โดยในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ค่า FPA และ CMCase สูงสุด ค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH จะอยู่ในช่วง 4.80 ถึง 4.89 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 13 รูปที่ 17 และ 18

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

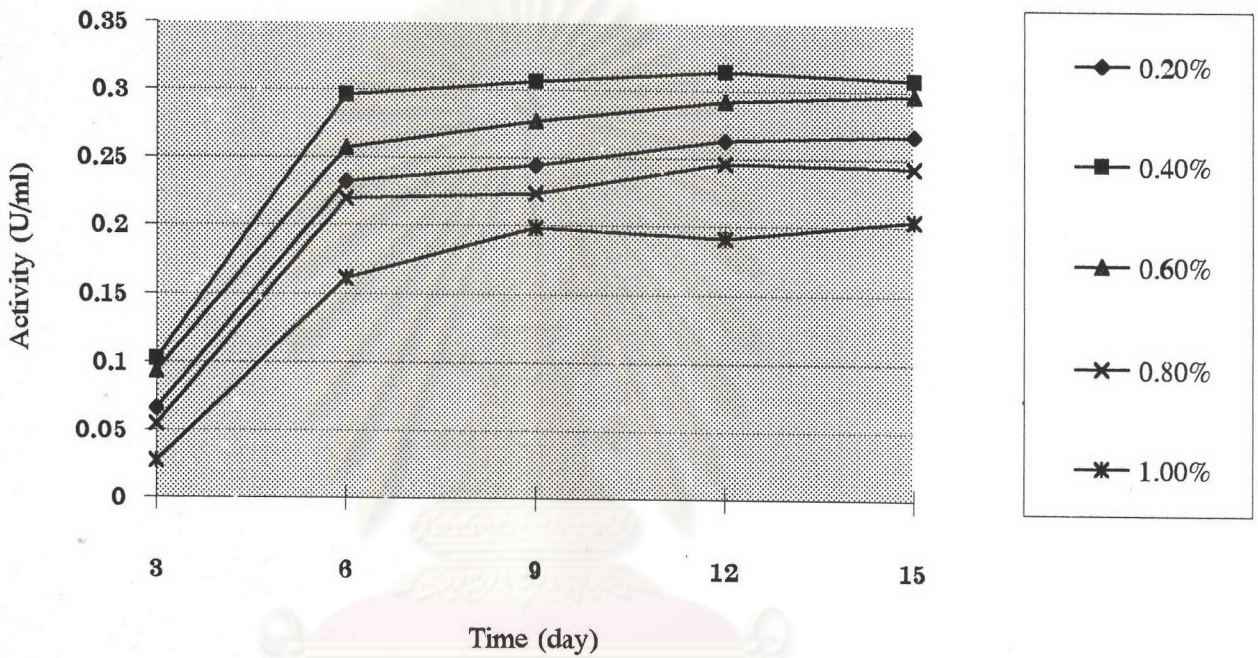
ตารางที่ 13 ผลของความเข้มข้นของ NH_4NO_3 ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้นของ NH_4NO_3(%)	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
0.2	FPA (U/ml)	0.066	0.232	0.244	0.263	0.267
	CMCase (U/ml)	5.244	7.356	9.911	11.022	11.556
	Protein (mg/ml)	1.400	2.038	2.722	3.007	3.006
	pH	4.78	4.64	4.71	4.77	4.77
0.4	FPA (U/ml)	0.102	0.296	0.306	0.314	0.308
	CMCase (U/ml)	6.022	9.844	11.911	12.844	13.089
	Protein (mg/ml)	1.589	2.706	3.240	3.494	3.559
	pH	4.80	4.82	4.86	4.89	4.87
0.6	FPA (U/ml)	0.093	0.257	0.277	0.292	0.297
	CMCase (U/ml)	4.511	5.844	6.933	9.111	9.933
	Protein (mg/ml)	1.226	1.671	1.860	2.345	2.746
	pH	4.80	4.79	4.83	4.96	4.92
0.8	FPA (U/ml)	0.054	0.219	0.223	0.246	0.243
	CMCase (U/ml)	3.578	5.178	6.222	7.978	8.089
	Protein (mg/ml)	0.954	1.478	1.741	2.211	2.239
	pH	4.94	4.86	4.87	4.89	5.03

ตารางที่ 13 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ NH_4NO_3 ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

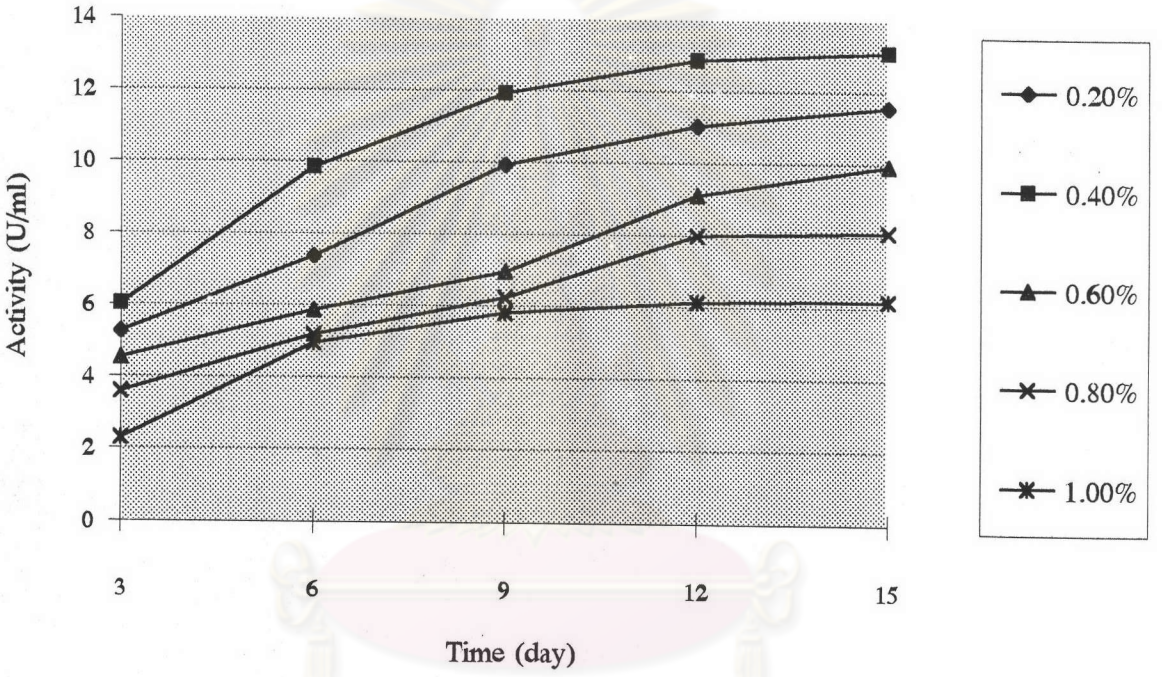
ความเข้มข้นของ NH_4NO_3(%)	activity	เวลา (วัน)				
		3	6	9	12	15
1.0	FPA (U/ml)	0.027	0.161	0.198	0.191	0.204
	CMCase (U/ml)	2.289	4.933	5.800	6.133	6.178
	Protein (mg/ml)	0.605	1.373	1.627	1.694	1.722
	pH	5.11	4.95	4.83	4.94	5.03

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 17 ผลของความเข้มข้นของ NH_4NO_3 ต่อค่า FPA ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 18 ผลของความเข้มข้นของ NH_4NO_3 ต่อค่า CMCase ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. ผลการศึกษาการใช้อาหารเสริม (supplementation)

จากการเลี้ยงเชื้อในสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 4 แล้วเติมด้วยอาหารเสริม 2 ชนิดคือ casein (CE 90 M) และ soybean meal (SE 50 M) ที่ความเข้มข้น 4 ระดับคือ 0.05 0.075 0.10 และ 0.125 เปอร์เซ็นต์ พบว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เสริมด้วย casein และ soybean meal เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA และ CMCase สูงกว่า เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่ไม่ได้เสริมด้วย casein และ soybean meal โดยค่า FPA จะสูงสุด เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เสริมด้วย casein ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ โดยในวันที่ 12 ของการบ่มเชื้อ เชื้อจะสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เท่ากับ 0.394 U/ml ซึ่งสูงกว่าค่า FPA ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่ได้เสริมด้วย casein และ soybean meal ประมาณ 1.26 เท่า และเชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุด เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่เสริมด้วย casein ความเข้มข้น 0.075 เปอร์เซ็นต์ ร่วมกับ soybean meal ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ โดยในวันที่ 15 ของการบ่มเชื้อ เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase สูงสุดเท่ากับ 23.186 หน่วยต่อมิลลิลิตร ซึ่งสูงกว่าค่า CMCase ของเชื้อที่เลี้ยงในอาหารที่ไม่ได้เสริมด้วย casein และ soybean meal ประมาณ 1.76 เท่า ส่วนปริมาณของโปรตีน พบว่าที่ค่า FPA และ CMCase สูงสุด จะมีปริมาณของโปรตีนเท่ากับ 5.742 และ 5.674 มก./มล. ตามลำดับ สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการบ่มเชื้อ พบว่าในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ให้ค่า FPA และ CMCase สูงสุด ค่าการเปลี่ยนแปลงของ pH จะอยู่ในช่วง 4.70 ถึง 4.82 และ 4.72 ถึง 4.81 ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 14 รูปที่ 19 และ 20

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้น (%)		activity	เวลา (วัน)				
CE	SE		3	6	9	12	15
0.000	0.000	FPA (U/ml)	0.101	0.298	0.310	0.313	0.307
		CMCase (U/ml)	5.923	9.596	11.823	12.902	13.177
		Protein(mg/ml)	1.586	2.642	3.225	3.545	3.574
		pH	4.85	4.78	4.73	4.82	4.88
0.000	0.050	FPA (U/ml)	0.109	0.295	0.318	0.326	0.323
		CMCase (U/ml)	7.254	12.075	15.197	16.667	17.241
		Protein(mg/ml)	1.933	3.293	4.113	4.498	4.638
		pH	4.96	4.75	4.74	4.81	4.84
0.000	0.075	FPA (U/ml)	0.122	0.315	0.335	0.337	0.336
		CMCase (U/ml)	9.366	13.843	16.253	19.261	20.156
		Protein(mg/ml)	2.486	3.760	4.394	5.168	5.395
		pH	4.96	4.86	4.77	4.75	4.82
0.000	0.100	FPA (U/ml)	0.158	0.341	0.354	0.365	0.369
		CMCase (U/ml)	10.468	14.646	18.434	21.143	21.051
		Protein(mg/ml)	2.794	3.986	4.552	5.476	5.646
		pH	4.93	4.84	4.74	4.77	4.78

ตารางที่ 14 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้น (%)		activity	เวลา (วัน)				
CE	SE		3	6	9	12	15
0.000	0.125	FPA (U/ml)	0.145	0.328	0.348	0.357	0.355
		CMCase (U/ml)	10.376	14.417	17.103	19.307	19.812
		Protein(mg/ml)	2.762	3.918	4.500	5.193	5.319
		pH	4.98	4.95	4.65	4.69	4.78
0.050	0.000	FPA (U/ml)	0.116	0.306	0.314	0.318	0.325
		CMCase (U/ml)	7.507	12.098	14.715	16.713	17.057
		Protein(mg/ml)	2.005	3.300	3.984	4.500	4.592
		pH	4.89	4.81	4.76	4.89	4.92
0.050	0.050	FPA (U/ml)	0.140	0.315	0.331	0.333	0.327
		CMCase (U/ml)	8.724	13.705	17.401	18.182	19.490
		Protein(mg/ml)	2.335	3.521	4.290	4.636	5.032
		pH	4.97	4.77	4.69	4.75	4.85
0.050	0.075	FPA (U/ml)	0.161	0.339	0.351	0.364	0.364
		CMCase (U/ml)	11.249	14.669	18.342	21.809	21.878
		Protein(mg/ml)	2.996	3.992	4.644	5.840	5.856
		pH	4.93	4.86	4.81	4.83	4.97

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้น (%)		activity	เวลา (วัน)				
CE	SE		3	6	9	12	15
0.050	0.100	FPA (U/ml)	0.165	0.341	0.363	0.364	0.352
		CMCase (U/ml)	11.134	14.279	17.195	20.661	20.890
		Protein(mg/ml)	2.969	3.890	4.548	5.545	5.594
		pH	4.88	4.77	4.75	4.85	4.89
0.050	0.125	FPA (U/ml)	0.142	0.324	0.345	0.353	0.344
		CMCase (U/ml)	10.032	14.141	16.575	19.284	19.628
		Protein(mg/ml)	2.670	3.845	4.481	5.186	5.264
		pH	5.08	4.98	4.73	4.73	4.87
0.075	0.000	FPA (U/ml)	0.145	0.312	0.322	0.330	0.335
		CMCase (U/ml)	8.815	12.649	16.276	17.378	18.962
		Protein(mg/ml)	2.355	3.451	4.390	4.680	5.089
		pH	4.90	4.74	4.71	4.77	4.86
0.075	0.050	FPA (U/ml)	0.164	0.334	0.358	0.373	0.373
		CMCase (U/ml)	11.478	14.095	18.663	22.429	23.186
		Protein(mg/ml)	3.058	3.840	4.911	5.712	5.674
		pH	4.81	4.75	4.72	4.75	4.81

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้น (%)		activity	เวลา (วัน)				
CE	SE		3	6	9	12	15
0.075	0.075	FPA (U/ml)	0.147	0.330	0.341	0.354	0.349
		CMCase (U/ml)	11.157	14.141	18.044	21.166	21.074
		Protein(mg/ml)	2.964	3.850	4.610	5.670	5.639
		pH	4.92	4.71	4.68	4.64	4.70
0.075	0.100	FPA (U/ml)	0.145	0.327	0.336	0.355	0.343
		CMCase (U/ml)	10.721	13.981	16.414	20.454	20.569
		Protein(mg/ml)	2.850	3.806	4.435	5.487	5.506
		pH	4.99	4.84	4.68	4.70	4.92
0.075	0.125	FPA (U/ml)	0.124	0.312	0.331	0.337	0.331
		CMCase (U/ml)	9.504	13.407	14.968	18.962	19.100
		Protein(mg/ml)	2.523	3.649	4.061	5.090	5.124
		pH	5.09	4.98	4.89	4.92	4.97
0.100	0.000	FPA (U/ml)	0.172	0.340	0.374	0.394	0.390
		CMCase (U/ml)	12.052	14.968	18.228	21.350	21.832
		Protein(mg/ml)	3.187	4.068	4.952	5.742	6.248
		pH	4.82	4.70	4.71	4.72	4.80

ตารางที่ 14 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้น (%)		activity	เวลา (วัน)				
CE	SE		3	6	9	12	15
0.100	0.050	FPA (U/ml)	0.153	0.328	0.344	0.352	0.354
		CMCase (U/ml)	11.134	14.027	18.089	21.051	20.845
		Protein(mg/ml)	2.962	3.817	4.873	5.638	5.585
		pH	4.98	4.78	4.65	4.69	4.77
0.100	0.075	FPA (U/ml)	0.140	0.315	0.333	0.341	0.334
		CMCase (U/ml)	10.950	14.141	17.034	20.592	20.271
		Protein(mg/ml)	2.906	3.838	4.593	5.513	5.424
		pH	5.06	4.76	4.74	4.62	4.68
0.100	0.100	FPA (U/ml)	0.134	0.313	0.327	0.338	0.330
		CMCase (U/ml)	9.619	13.269	16.116	19.628	19.559
		Protein(mg/ml)	2.560	3.612	4.351	5.280	5.239
		pH	4.93	4.84	4.77	4.83	4.84
0.100	0.125	FPA (U/ml)	0.120	0.301	0.315	0.324	0.330
		CMCase (U/ml)	9.022	12.603	14.440	18.595	18.572
		Protein(mg/ml)	2.398	3.435	3.914	4.988	4.986
		pH	5.13	5.01	4.94	4.84	4.95

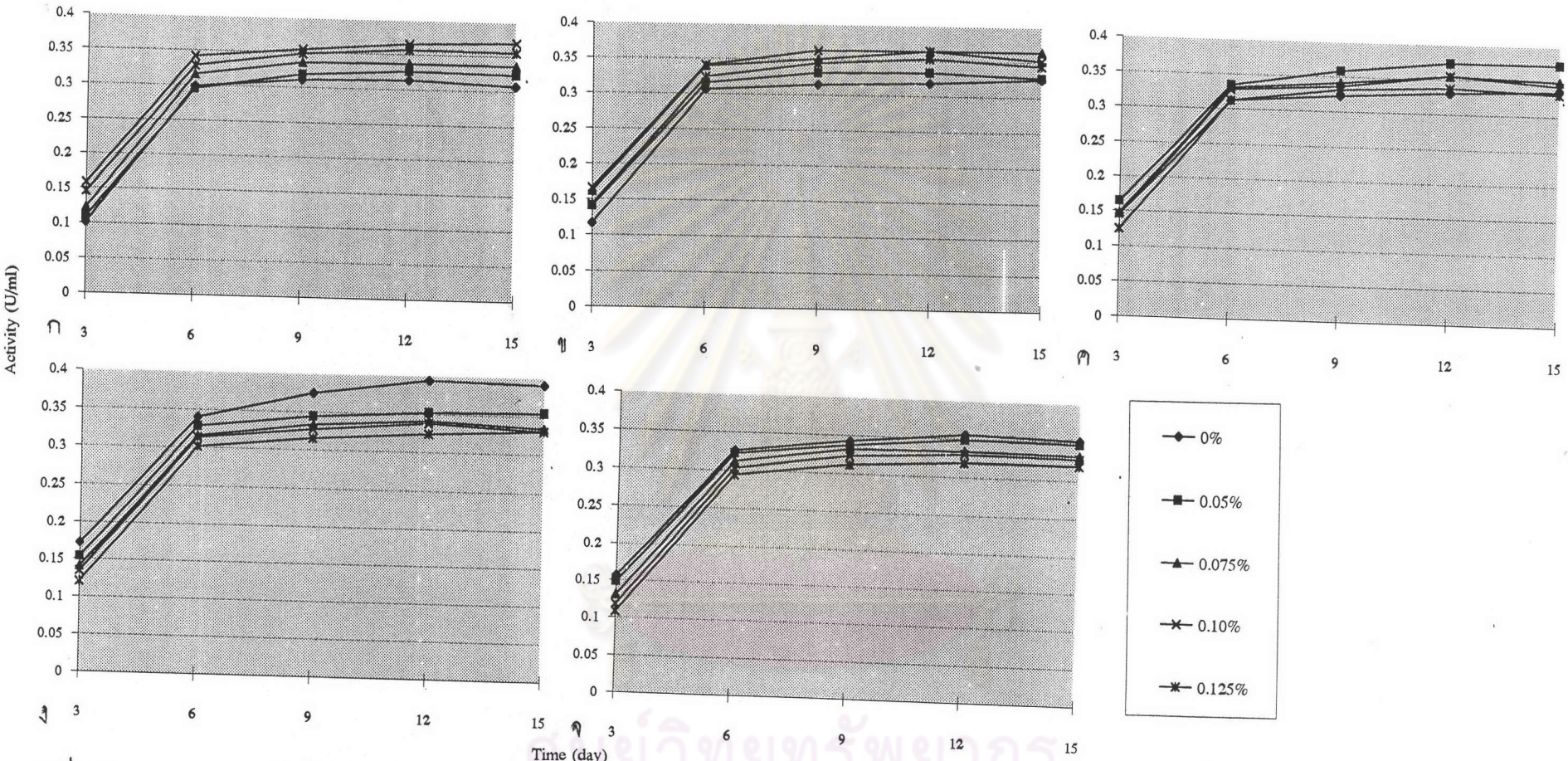
ตารางที่ 14 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้น (%)		activity	เวลา (วัน)				
CE	SE		3	6	9	12	15
0.125	0.000	FPA (U/ml)	0.156	0.326	0.343	0.356	0.352
		CMCase (U/ml)	11.823	14.348	18.251	21.212	21.166
		Protein(mg/ml)	3.094	3.919	4.914	5.683	5.676
		pH	4.73	4.71	4.69	4.76	4.82
0.125	0.050	FPA (U/ml)	0.148	0.322	0.337	0.349	0.347
		CMCase (U/ml)	10.813	13.981	16.965	20.317	20.569
		Protein(mg/ml)	2.876	3.802	4.576	5.449	5.508
		pH	4.85	4.76	4.69	4.76	4.86
0.125	0.075	FPA (U/ml)	0.130	0.312	0.332	0.334	0.332
		CMCase (U/ml)	10.445	13.820	16.873	19.812	19.559
		Protein(mg/ml)	2.771	3.755	4.552	5.307	5.239
		pH	4.98	4.79	4.75	4.84	4.80
0.125	0.100	FPA (U/ml)	0.118	0.303	0.323	0.330	0.328
		CMCase (U/ml)	9.114	12.603	15.335	18.342	18.480
		Protein(mg/ml)	2.420	3.436	4.148	4.927	4.960
		pH	5.01	4.92	4.82	4.71	4.80

ตารางที่ 14 (ต่อ) ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย Acrophialophora sp.

ความเข้มข้น (%)		activity	เวลา (วัน)				
CE	SE		3	6	9	12	15
0.125	0.125	FPA (U/ml)	0.108	0.294	0.312	0.319	0.317
		CMCase (U/ml)	8.058	11.800	13.590	16.804	17.080
		Protein(mg/ml)	2.140	3.223	3.693	4.525	4.594
		pH	5.15	4.90	4.79	4.89	4.94

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 19 ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อค่า FPA ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ก. casein 0%, soybean meal 0-0.125%

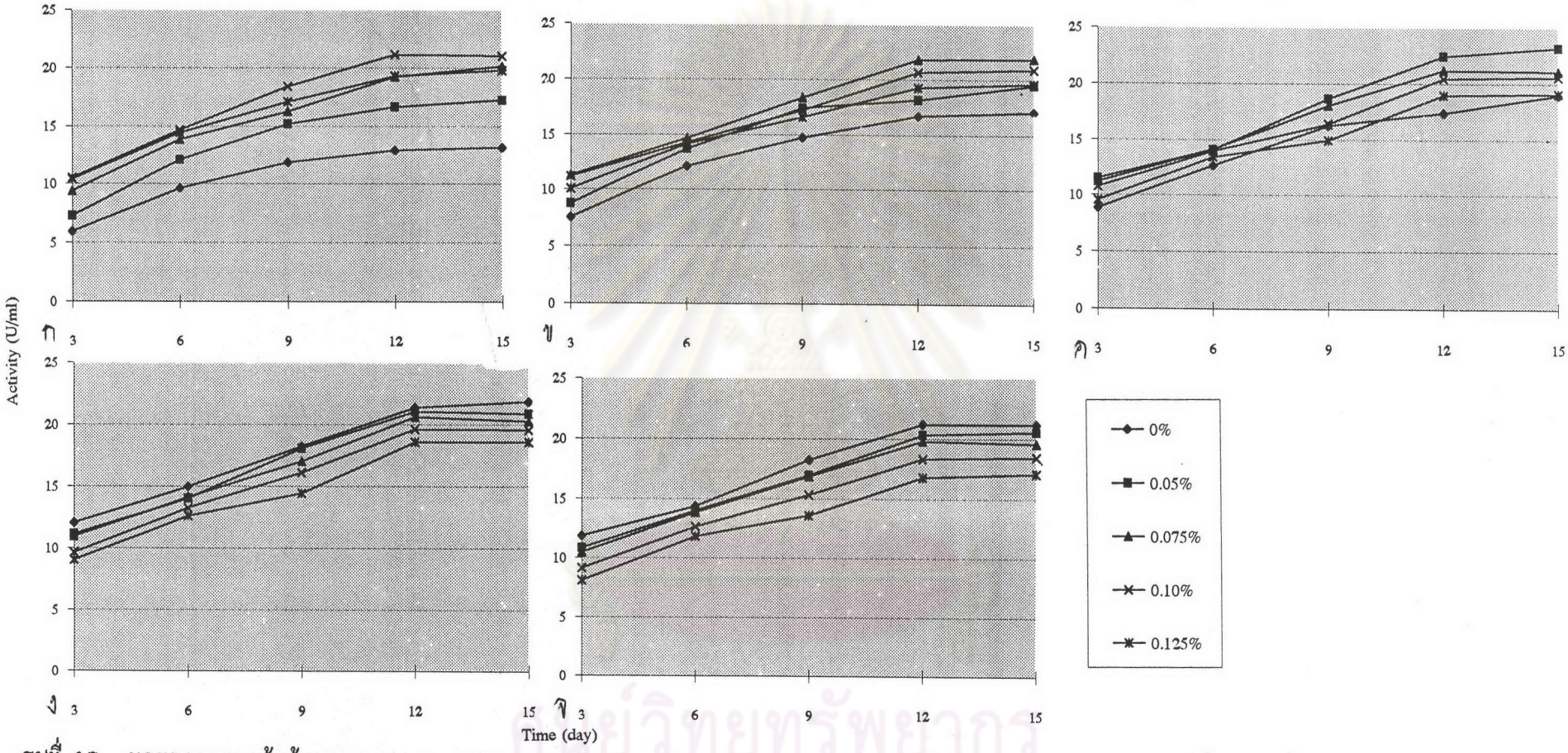
ข. casein 0.050%, soybean meal 0-0.125%

ค. casein 0.075%, soybean meal 0-0.125%

ง. casein 0.100%, soybean meal 0-0.125%

จ. casein 0.125%, soybean meal 0-0.125%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 20 ผลของความเข้มข้นของ casein (CE 90M) และ soybean meal (SE 90M) ต่อค่า CMCase ของเอนไซม์ที่ผลิตจาก Acrophialophora sp.

ก. casein 0%, soybean meal 0-0.125%

ข. casein 0.050%, soybean meal 0-0.125%

ค. casein 0.075%, soybean meal 0-0.125%

ง. casein 0.100%, soybean meal 0-0.125%

จ. casein 0.125%, soybean meal 0-0.125%

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อราในถังหมักขนาด 5 ลิตร

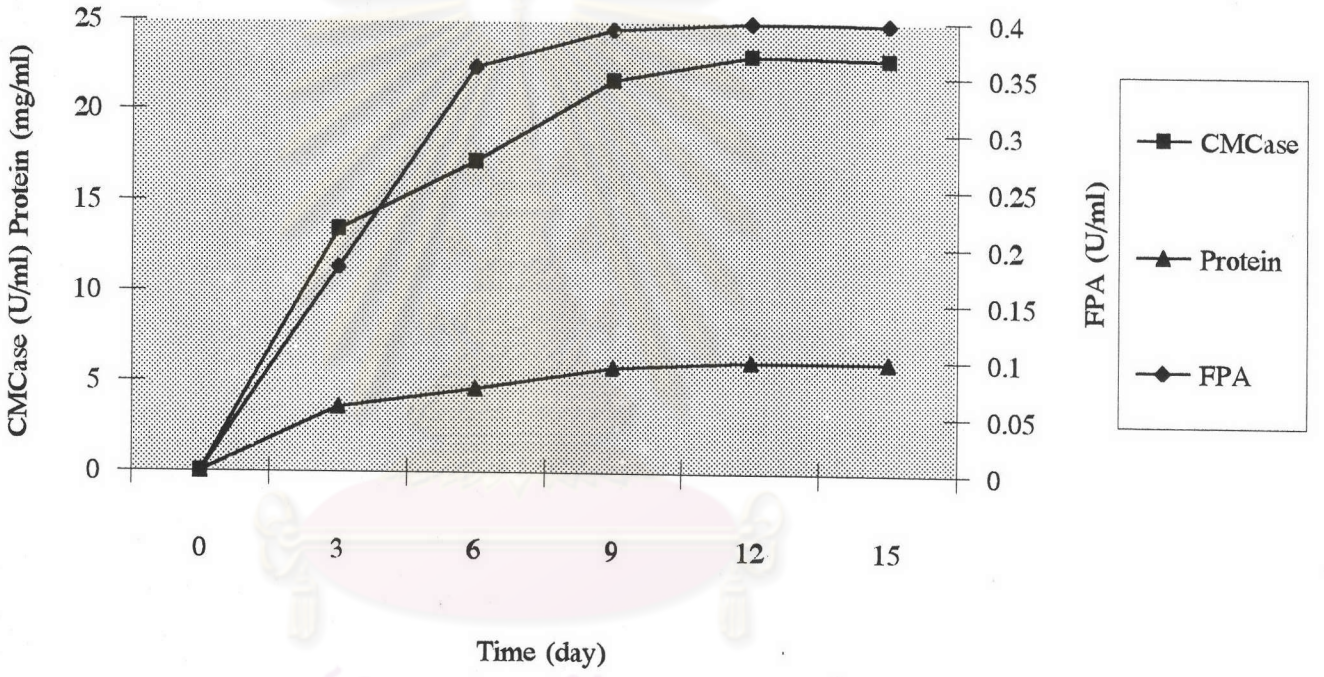
จากการเลี้ยงเชื้อราในสูตรอาหาร และภาวะที่เหมาะสมตามข้อ 4 ในถังหมักขนาด 5 ลิตร โดยมีการควบคุม pH ให้เป็น 5.0 ตลอดการทดลอง และไม่มีการควบคุม pH พบว่าการเลี้ยงเชื้อในภาวะที่ไม่มีการควบคุม pH เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA และ CMCase สูงกว่าการเลี้ยงเชื้อในภาวะที่มีการควบคุม pH ในภาวะที่ไม่มีการควบคุม pH เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เท่ากับ 0.398 U/ml ในวันที่ 12 ของการหมัก และให้ค่า CMCase สูงสุด เท่ากับ 23.038 U/ml ในวันที่ 12 ของการหมักเช่นกัน โดยมีปริมาณโปรตีนสูงสุดเท่ากับ 6.135 มก./มล. สำหรับการเปลี่ยนแปลงของ pH ในระหว่างการหมัก พบว่า pH มีการเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 4.75 ถึง 5.00 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 15 รูปที่ 21 ส่วนในภาวะที่มีการควบคุม pH ให้เป็น 5.0 ตลอดการทดลอง พบว่า เชื้อมีการสร้างเอนไซม์ที่ให้ค่า FPA สูงสุด เท่ากับ 0.386 U/ml ในวันที่ 15 ของการหมัก และให้ค่า CMCase สูงสุด เท่ากับ 20.916 U/ml ในวันที่ 15 ของการหมัก โดยมีปริมาณโปรตีนสูงสุด เท่ากับ 5.586 มก./มล. ในภาวะการหมักนี้ pH ในระหว่างการหมักจะคงที่ คือ 5.0 ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 16 รูปที่ 22

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 15 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจาก Acrophialophora sp. ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C โดยไม่มีการควบคุม pH

เวลา (วัน)	Activity		Protein (mg/ml)	pH
	FPA (U/ml)	CMCase (U/ml)		
0	0	0	0	5.00
3	0.181	13.423	3.542	4.84
6	0.358	17.102	4.595	4.75
9	0.392	21.610	5.767	4.76
12	0.398	23.038	6.135	4.82
15	0.397	22.846	6.086	4.90

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 21 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจาก Acrophialophora sp. ในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 °C โดยไม่มีการควบคุม pH

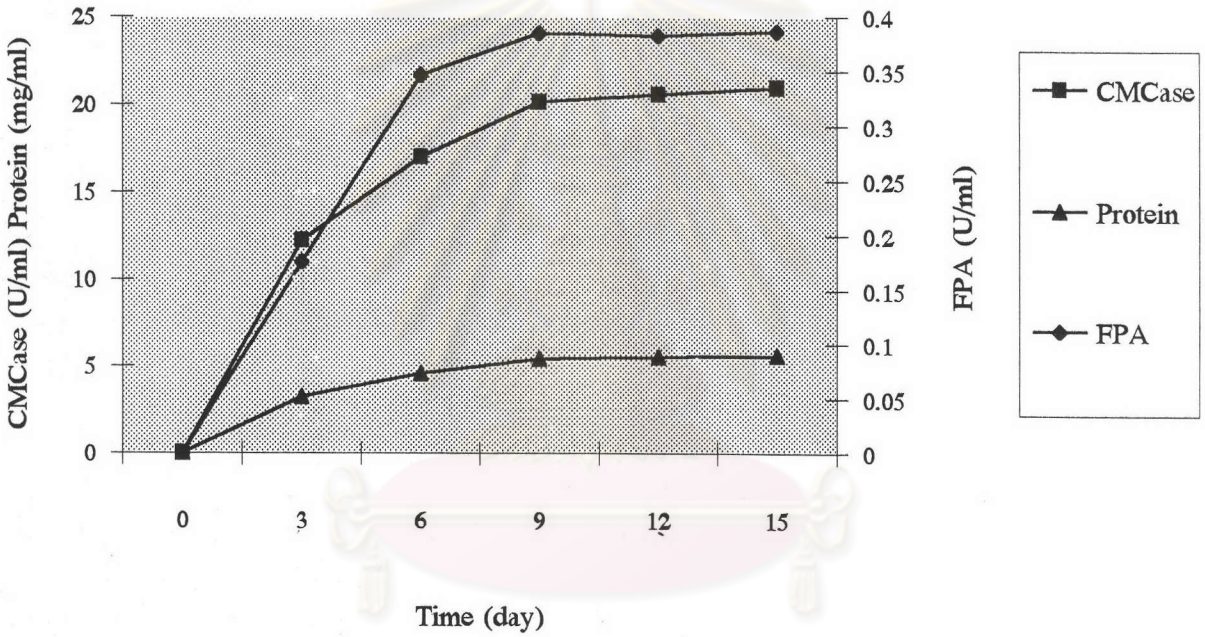
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 16 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจาก Acrophialophora sp. ในถังหมัก ขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C โดยมีการควบคุม pH ให้เป็น 5.0

เวลา (วัน)	Activity		Protein (mg/ml)	pH
	FPA (U/ml)	CMCase (U/ml)		
0	0	0	0	5.00
3	0.176	12.216	3.231	5.00
6	0.346	16.976	4.555	5.00
9	0.384	20.118	5.388	5.00
12	0.382	20.545	5.489	5.00
15	0.386	20.916	5.586	5.00

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 22 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจาก Acrophialophora sp. ในถังหมักขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 40 ℃ โดยมีการควบคุม pH ให้เป็น 5.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการหมักแอลกอฮอล์ (เอทธานอล) แบบเชื้อผสม (mixed cultures fermentation)

1. ผลการหมักแอลกอฮอล์แบบเชื้อผสม โดยเลี้ยง Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มี MCC ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์เป็นวัสดุหมัก บ่มเชื้อในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 2 ระดับคือ 30 และ 40 ^{o}C พบว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C การผลิตเอทธานอลดีกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.576 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.192 กรัมเอทธานอลต่อกรัมสับสเตรท (ก./ก.) โดยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 17 รูปที่ 23 และ 24 และเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.238 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.079 ก./ก. โดยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 18 รูปที่ 25 และ 26

2. ผลการหมักเอทธานอลแบบเชื้อผสม โดยเลี้ยง T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มี MCC ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นวัสดุหมัก บ่มเชื้อในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 30 และ 40 ^{o}C พบว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C การผลิตเอทธานอลดีกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.959 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.320 ก./ก. โดยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 19 รูปที่ 27 และ 28 และที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.347 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.116 ก./ก. โดยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 20 รูปที่ 29 และ 30

3. ผลการหมักแอลกอฮอล์แบบเชื้อผสม โดยเลี้ยง Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีเส้นใยของป่านศรนารายณ์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นวัสดุหมัก บ่มเชื้อในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ ที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 2 ระดับคือ 30 และ 40 ^{o}C พบว่า เมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

40 ^{o}C การผลิตเอทธานอลดีกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.733 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.244 ก./ก. โดยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 21 รูปที่ 31 และ 32 และเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.400 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.133 ก./ก. โดยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 22 รูปที่ 33 และ 34

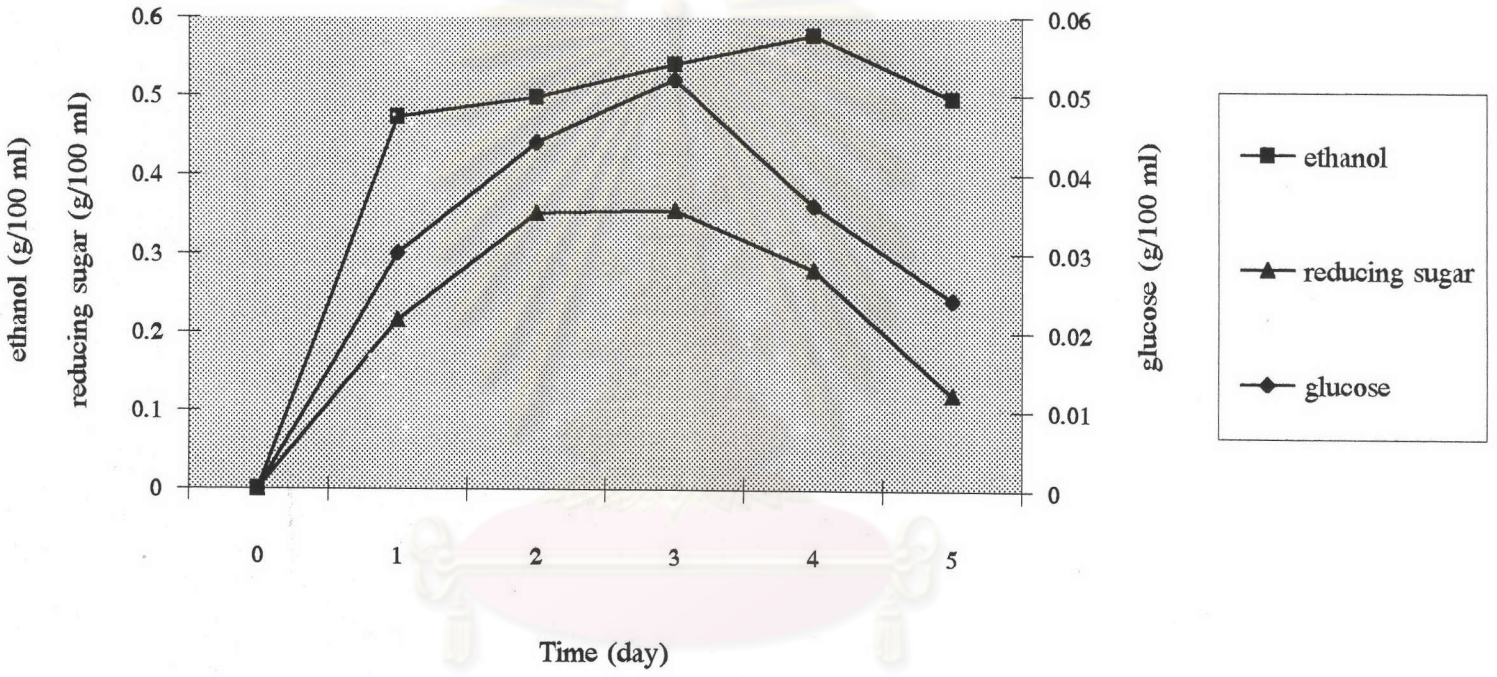
4. ผลการหมักเอทธานอลแบบเชื้อผสม โดยเลี้ยง T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีเส้นใยของป่านศรนารายณ์ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ความเข้มข้น 3 เปอร์เซ็นต์ เป็นวัสดุหมัก บ่มเชื้อในเครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 2 ระดับ คือ 30 และ 40 ^{o}C พบว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C การผลิตเอทธานอลดีกว่าเมื่อบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 1.530 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.510 ก./ก. โดยมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 23 รูปที่ 35 และ 36 และที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C ผลิตเอทธานอลได้สูงสุด 0.571 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 0.190 ก./ก. โดยมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ จำนวนเซลล์ยีสต์ และ pH ในระหว่างการหมัก ดังตารางที่ 24 รูปที่ 37 และ 38

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 17 การหมักเอทธานอลจาก microcrystalline cellulose โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

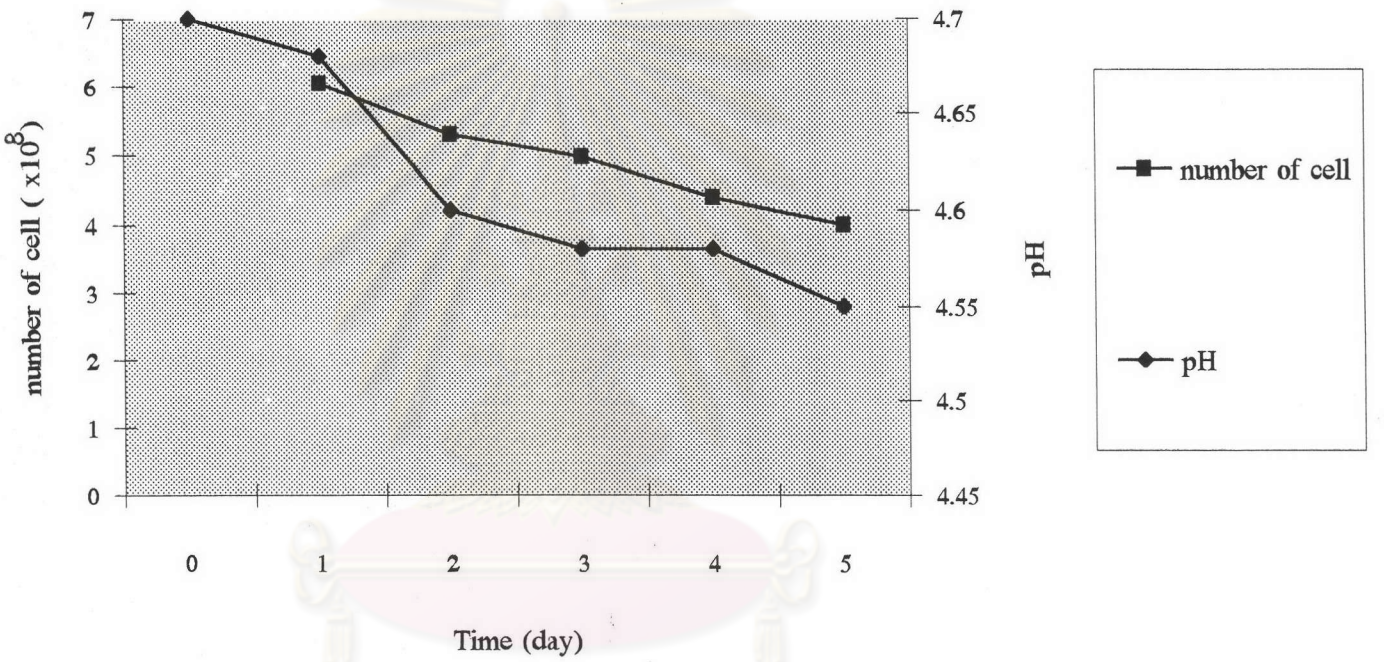
การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	0.472	0.497	0.539	0.576	0.495
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.157	0.166	0.180	0.192	0.165
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.030	0.044	0.052	0.036	0.024
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.215	0.350	0.354	0.278	0.120
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.04	5.28	4.96	4.38	3.99
pH	4.70	4.68	4.60	4.58	4.58	4.55

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 23 แสดงปริมาณเอทธานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



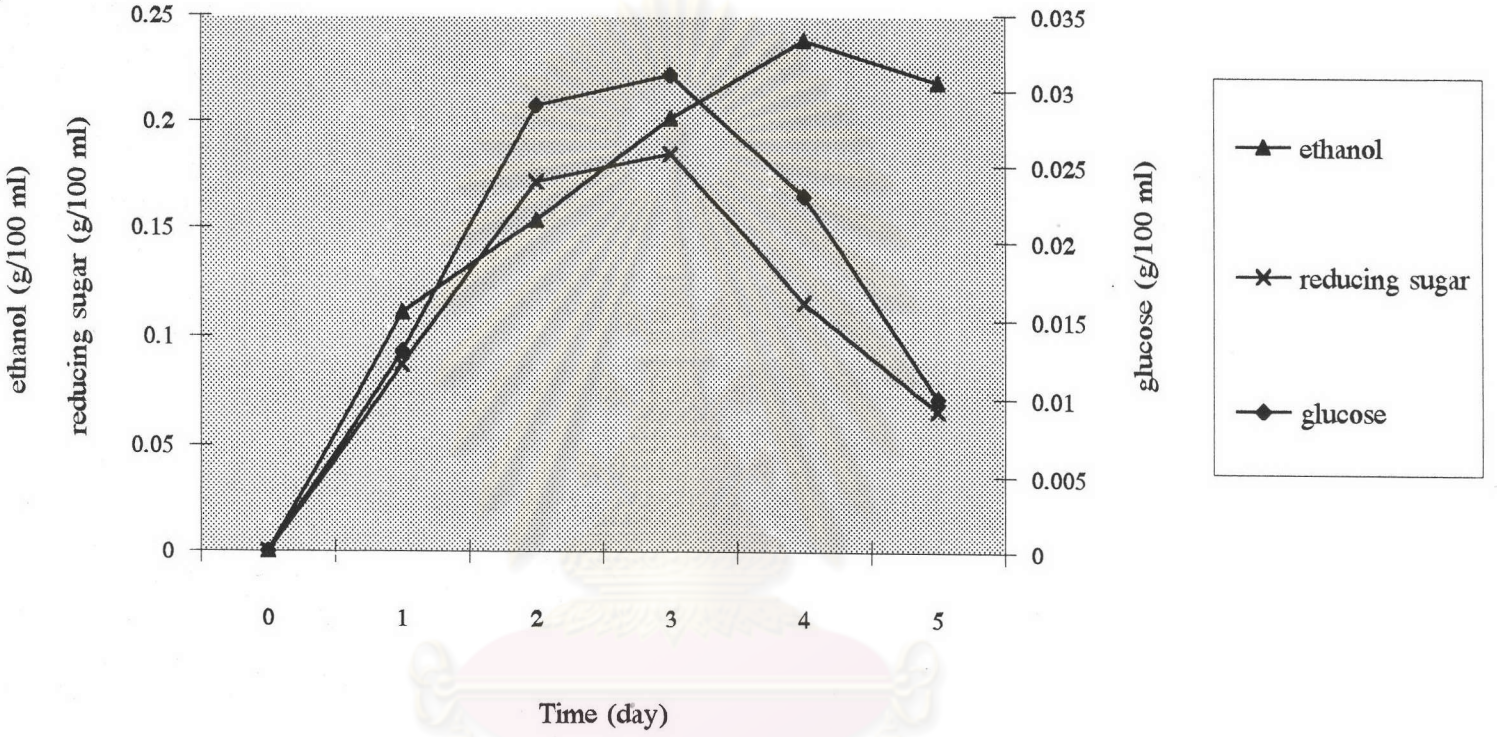
รูปที่ 24 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 18 การหมักเอทธานอลจาก microcrystalline cellulose โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C

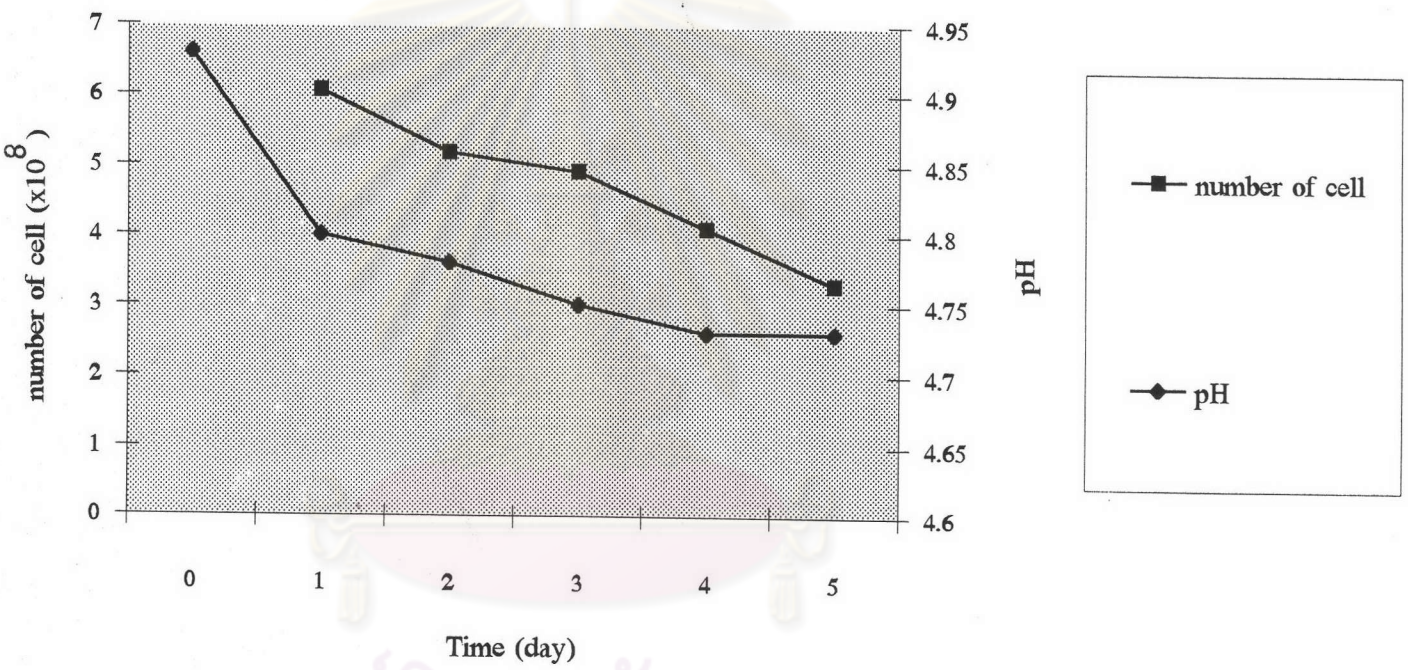
การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	0.111	0.153	0.201	0.238	0.218
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.037	0.051	0.067	0.079	0.073
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.013	0.029	0.031	0.023	0.010
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.087	0.171	0.184	0.115	0.066
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.06	5.18	4.90	4.08	3.29
pH	4.93	4.80	4.78	4.75	4.73	4.73

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 25 แสดงปริมาณเอทธานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



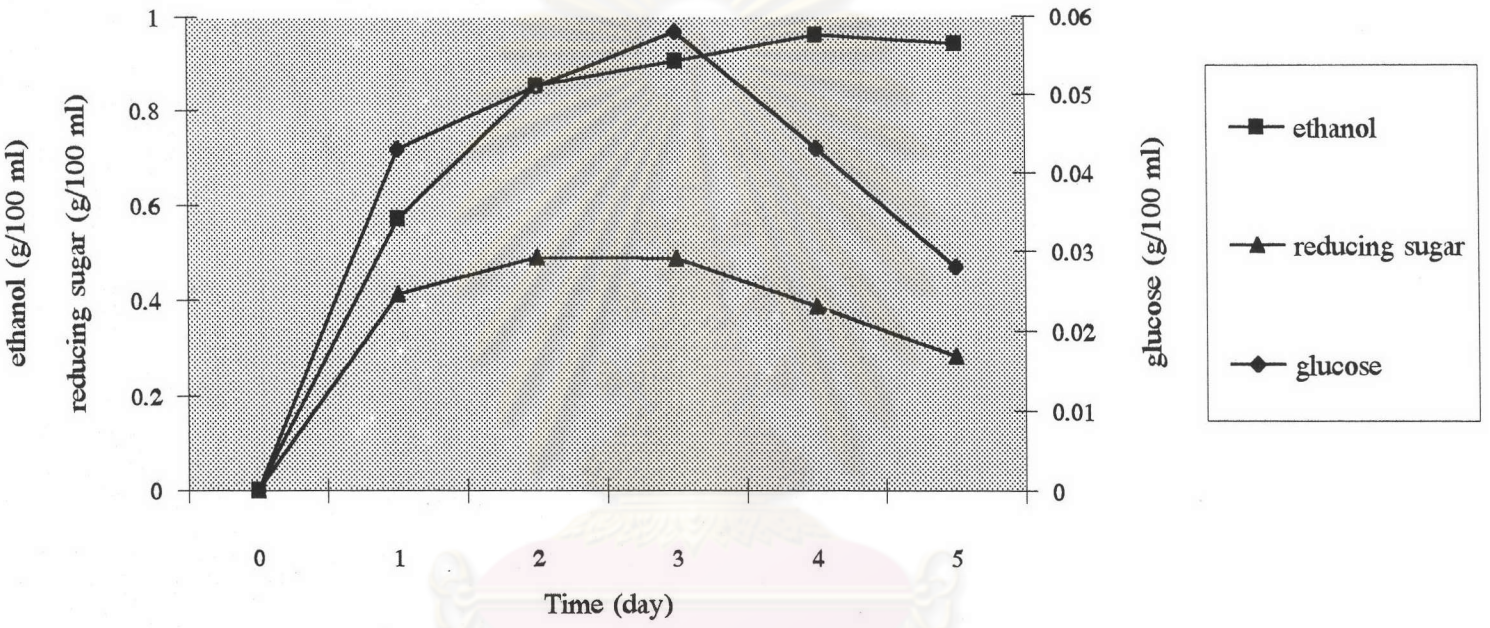
รูปที่ 26 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 19 การหมักเอทธานอลจาก microcrystalline cellulose โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

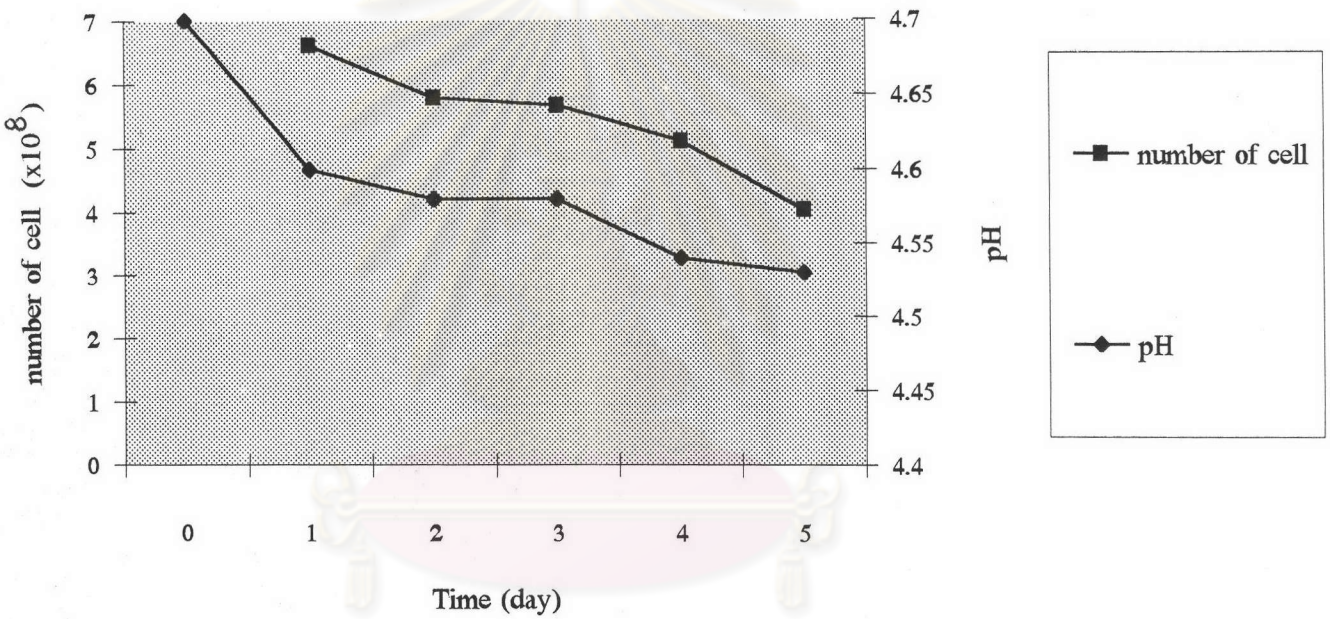
การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	0.570	0.851	0.904	0.959	0.941
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.190	0.284	0.301	0.320	0.314
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.043	0.051	0.058	0.043	0.028
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.411	0.488	0.485	0.358	0.282
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.60	5.78	5.65	5.10	4.03
pH	4.70	4.60	4.58	4.58	4.54	4.53

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 27 แสดงปริมาณเอทธานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 28 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

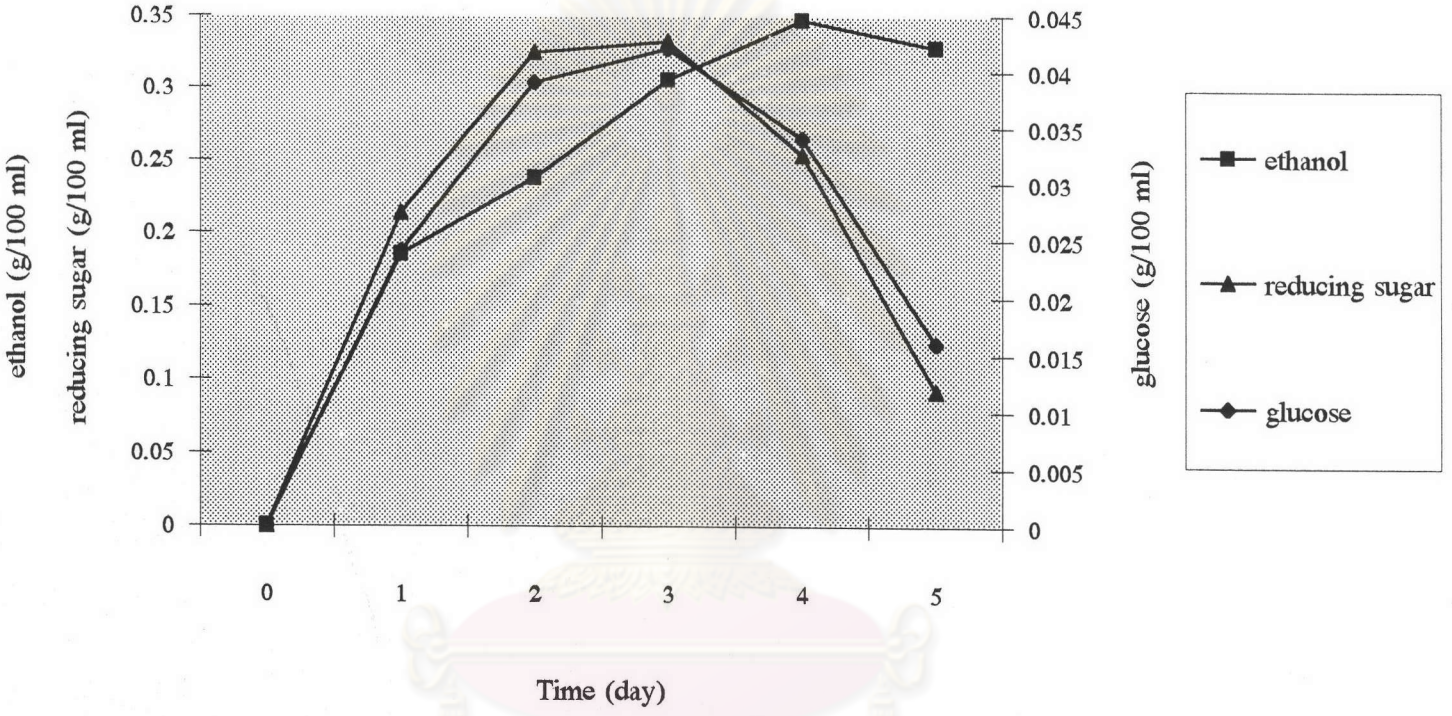
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

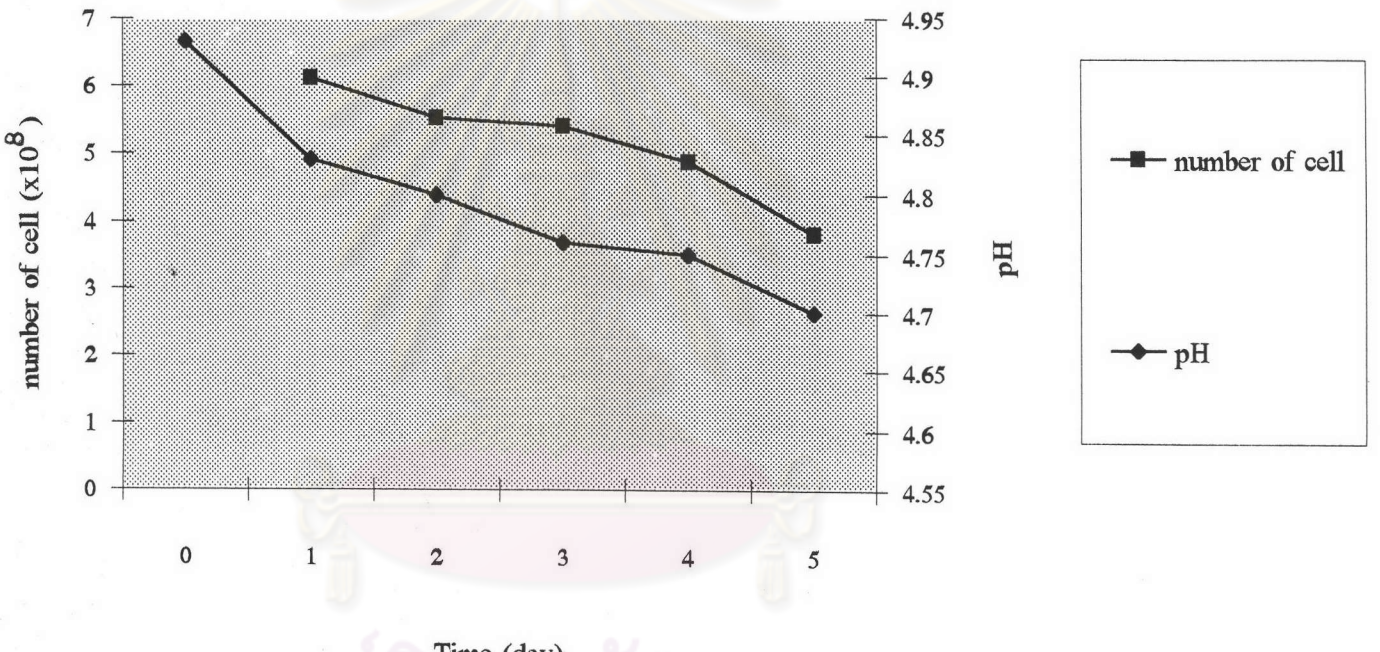
ตารางที่ 20 การหมักเอทธานอลจาก microcrystalline cellulose โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	0.185	0.237	0.305	0.347	0.328
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.062	0.079	0.102	0.116	0.109
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.024	0.039	0.042	0.034	0.016
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.213	0.324	0.332	0.253	0.092
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.11	5.51	5.38	4.86	3.81
pH	4.93	4.83	4.80	4.76	4.75	4.70

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 29 แสดงปริมาณเอทธานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C



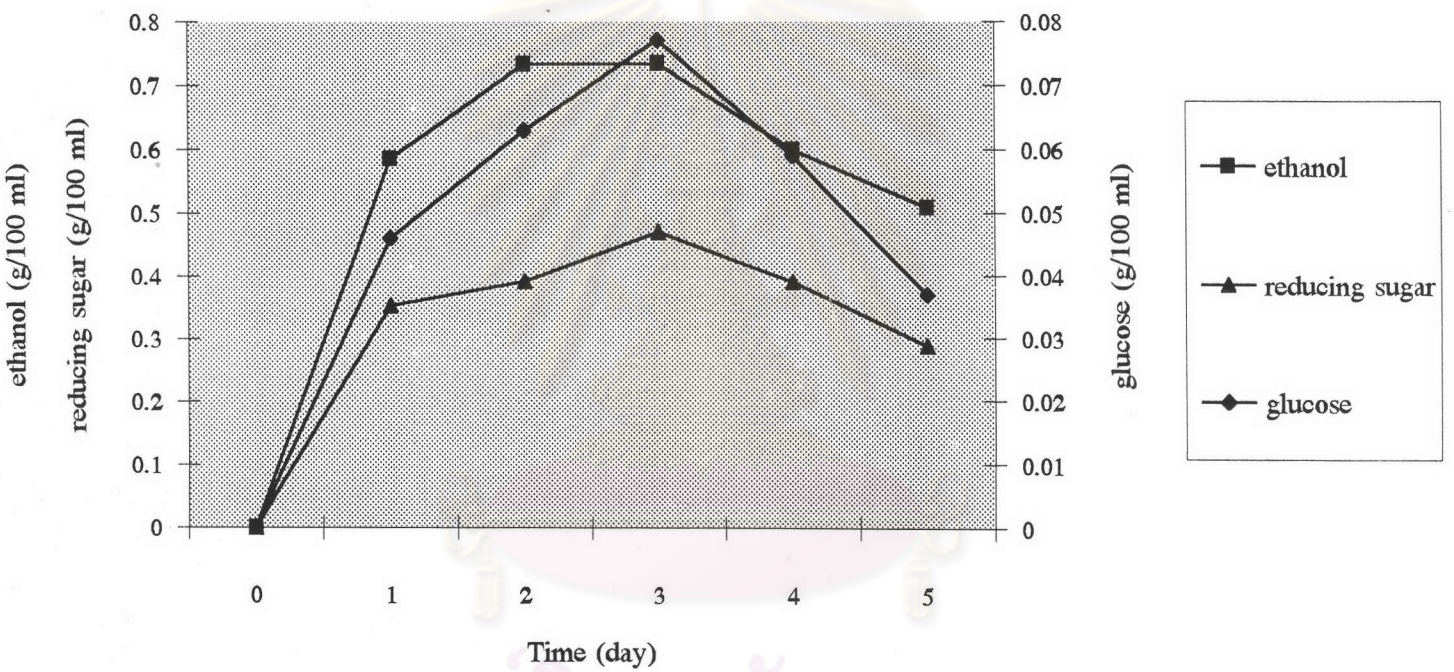
รูปที่ 30 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจาก MCC โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 21 การหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

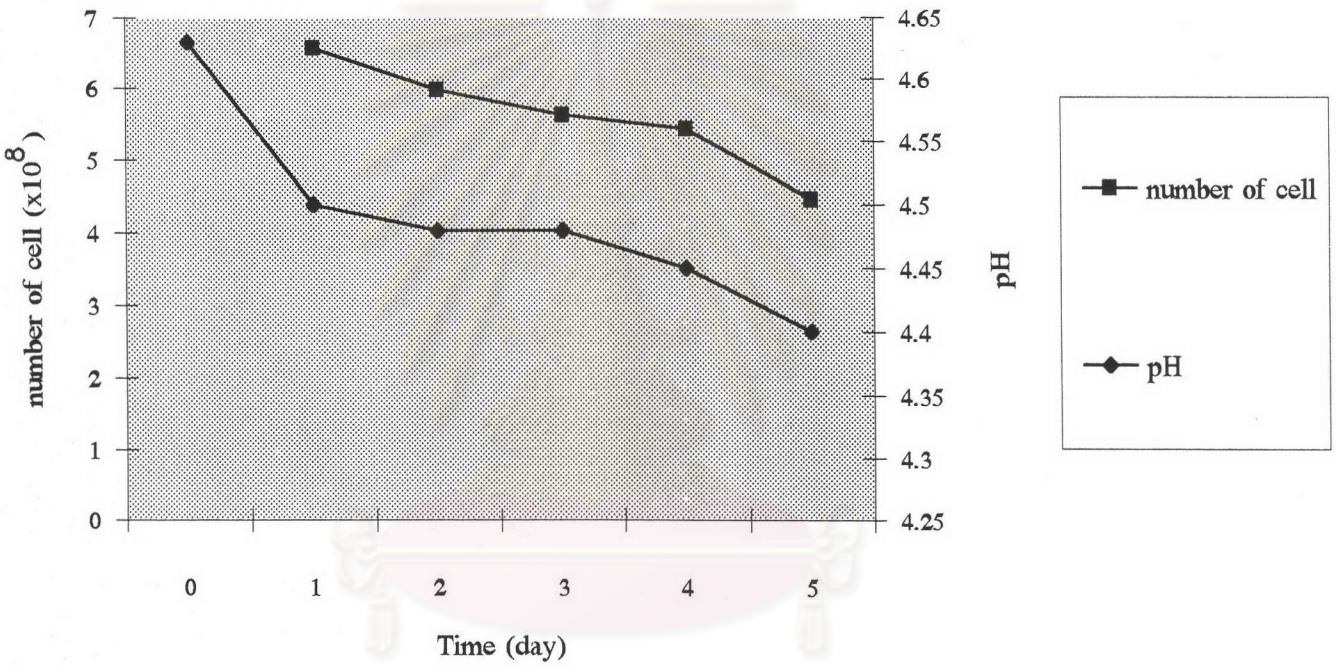
การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	0.585	0.732	0.733	0.599	0.508
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.195	0.244	0.244	0.200	0.169
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.046	0.063	0.077	0.059	0.037
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.352	0.391	0.470	0.389	0.287
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.56	5.97	5.61	5.42	4.44
pH	4.63	4.50	4.48	4.48	4.45	4.40

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 31 แสดงปริมาณเอทธานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ในการหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



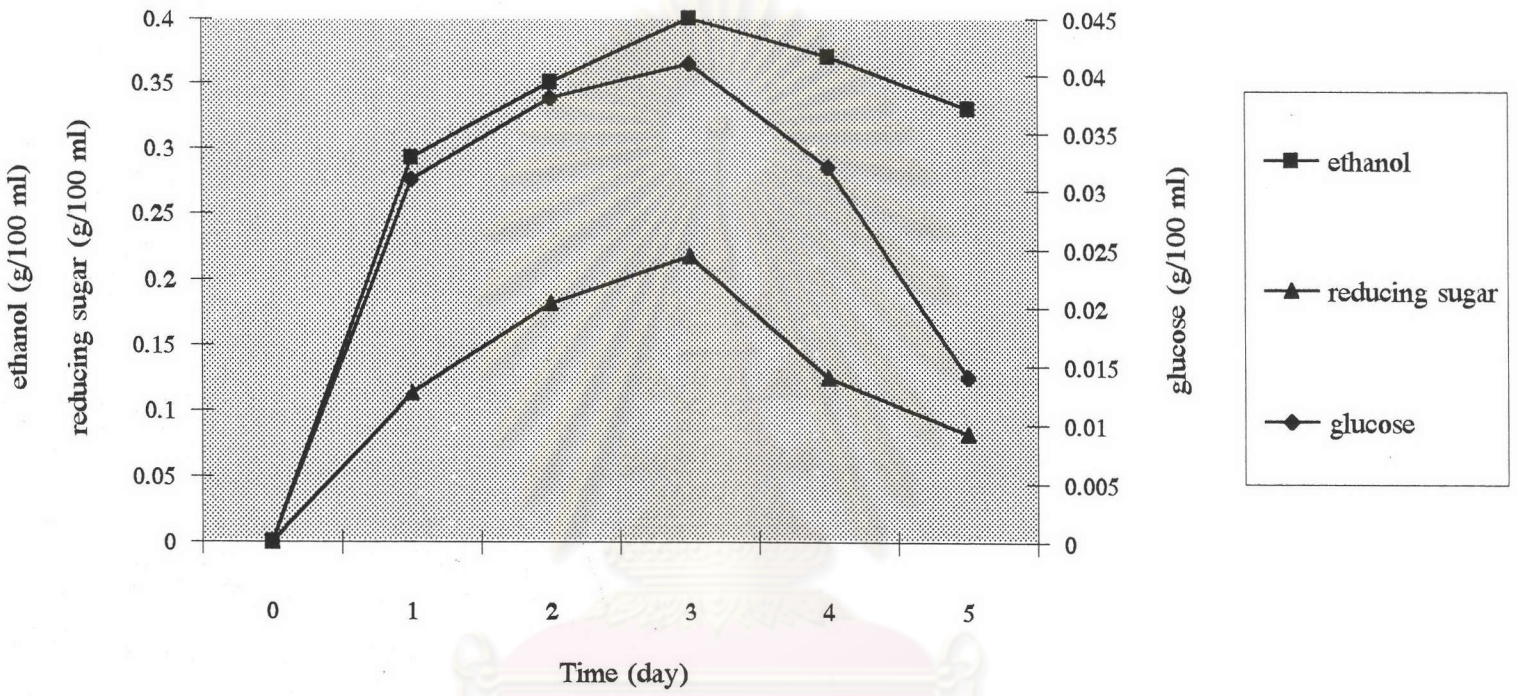
รูปที่ 32 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 22 การหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 ^{o}C

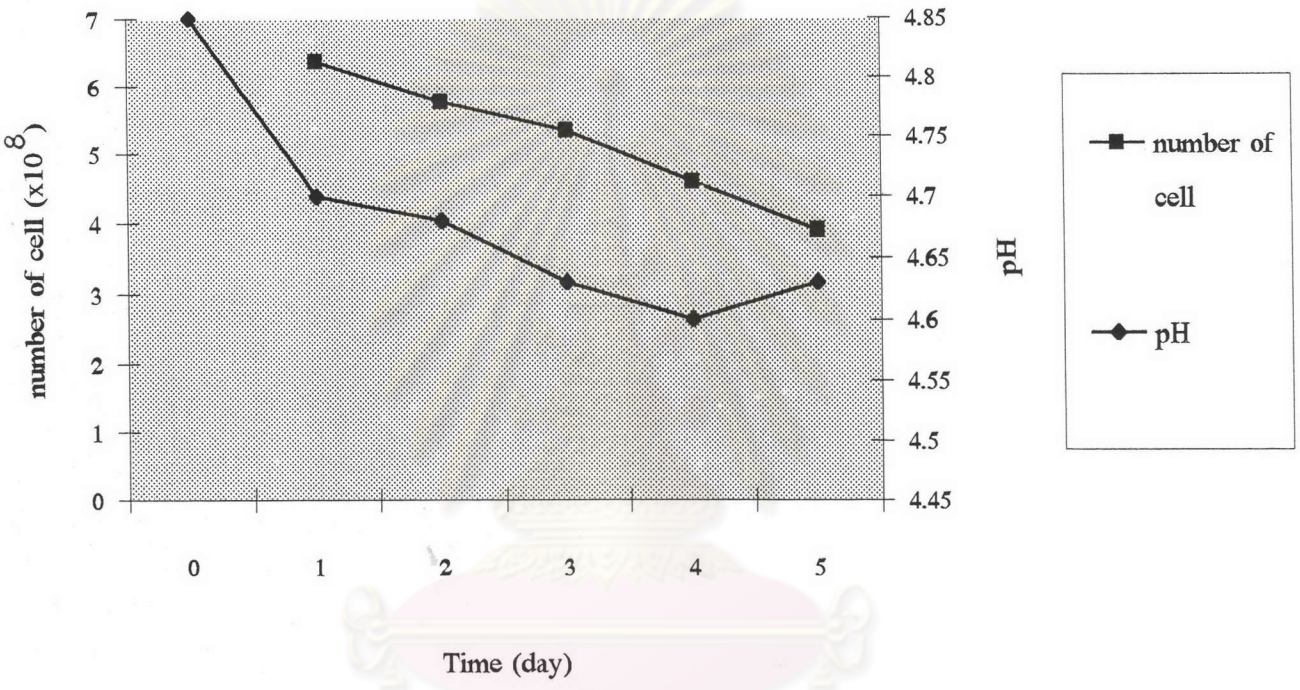
การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	0.292	0.350	0.400	0.370	0.330
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.097	0.117	0.133	0.123	0.110
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.031	0.038	0.041	0.032	0.014
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.113	0.181	0.217	0.124	0.082
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.36	5.76	5.33	4.58	3.89
pH	4.85	4.70	4.68	4.63	4.60	4.63

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 33 แสดงปริมาณเอทธานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ในการหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



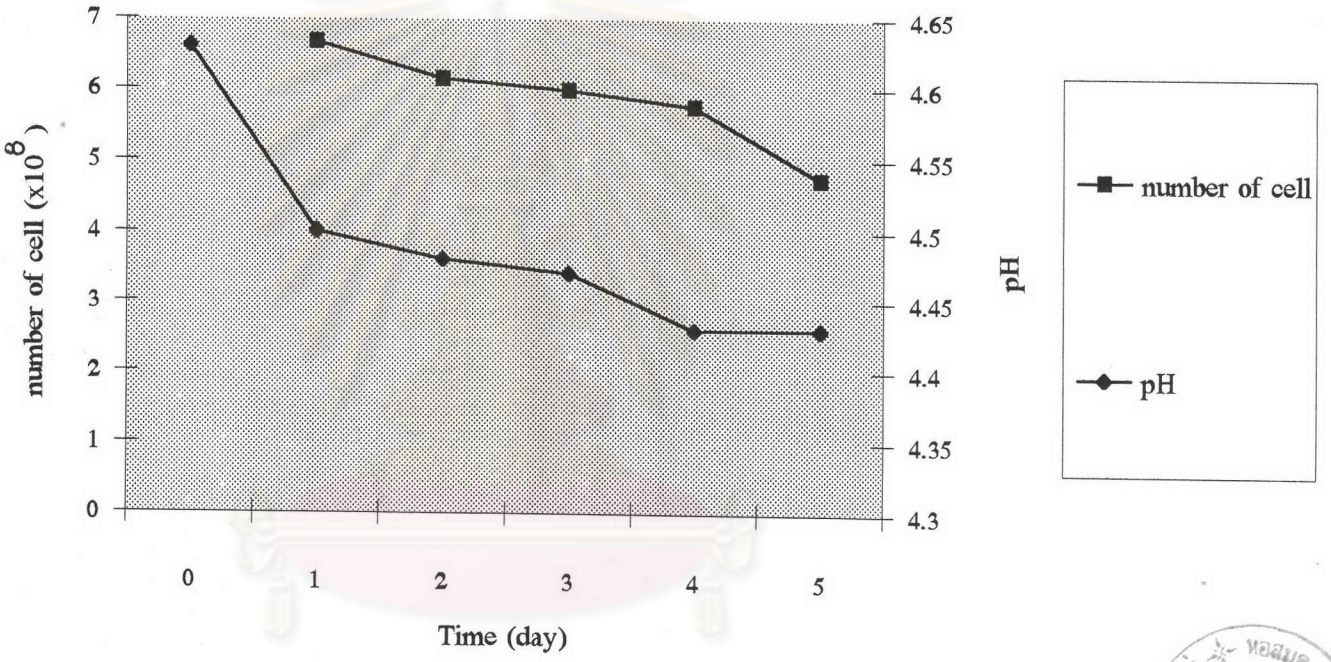
รูปที่ 34 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ Acrophialophora sp. ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30°C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 23 การหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 ^{o}C

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	1.312	1.411	1.520	1.448	1.530
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.437	0.470	0.507	0.483	0.510
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.053	0.081	0.098	0.082	0.050
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.440	0.564	0.618	0.477	0.359
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.66	6.13	5.97	5.74	4.72
pH	4.63	4.50	4.48	4.47	4.43	4.43

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 36 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 40 °C

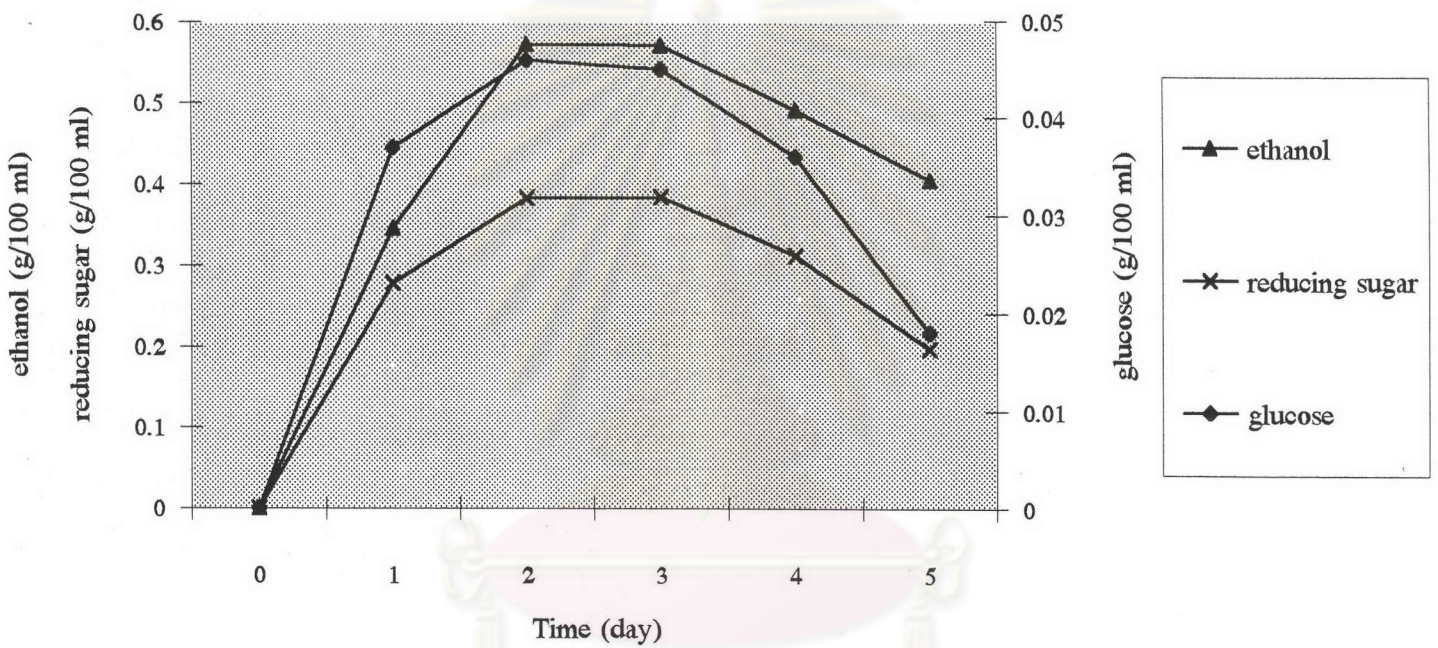
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

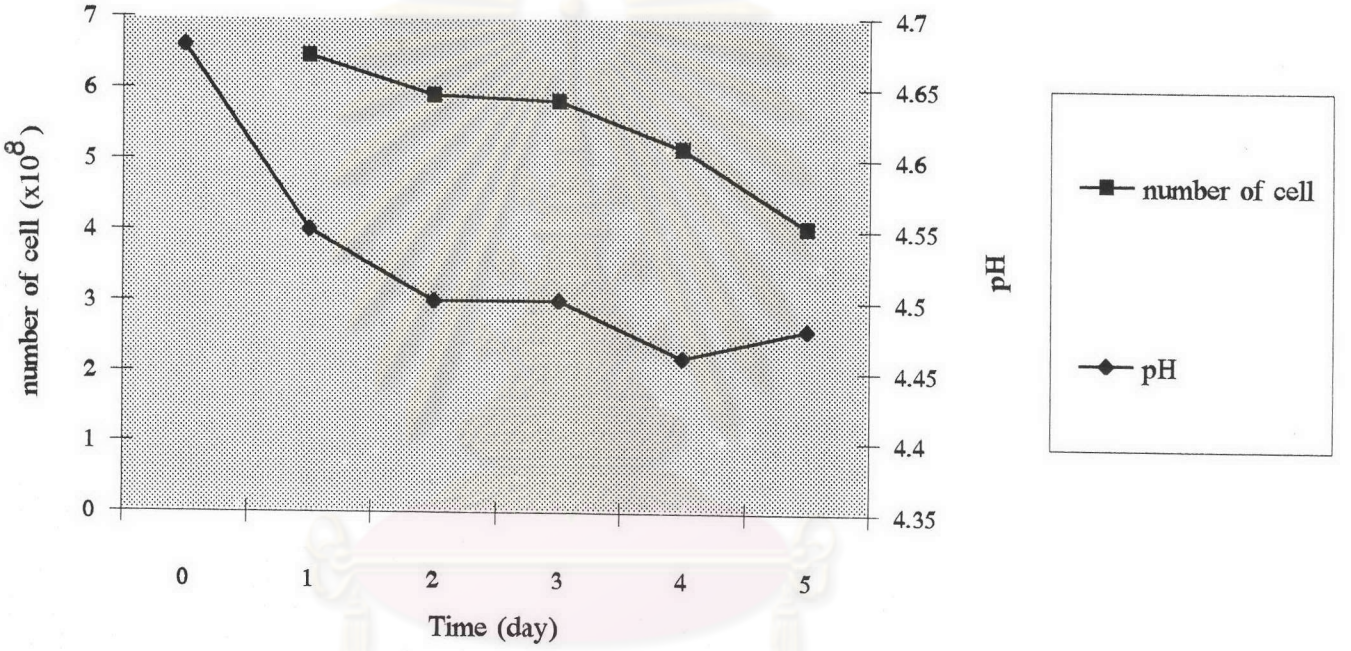
ตารางที่ 24 การหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C

การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก	เวลา (วัน)					
	0	1	2	3	4	5
ปริมาณเอทธานอล (ก./100 มล.)	0	0.345	0.571	0.570	0.489	0.403
ปริมาณเอทธานอล (ก./ก.)	0	0.115	0.190	0.190	0.163	0.134
ปริมาณน้ำตาลกลูโคส (ก./100 มล.)	0	0.037	0.046	0.045	0.036	0.018
ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ (ก./100 มล.)	0	0.278	0.382	0.383	0.311	0.197
จำนวนเซลล์ยีสต์ ($x10^8$)		6.45	5.89	5.81	5.14	4.03
pH	4.68	4.55	4.50	4.50	4.46	4.48

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 37 แสดงปริมาณเอทธานอล ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ในการหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C



รูปที่ 38 แสดงจำนวนเซลล์ และ pH ในการหมักเอทธานอลจากเส้นใยของป่านศรนารายณ์ โดยใช้ T. reesei QM 9414 ร่วมกับ S. cerevisiae ที่อุณหภูมิ 30 °C

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย