บทที่ 3

ผลการทดลอง

3.1 ผลการแยกและคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการย่อยแป้ง

จากตัวอย่างที่เก็บจากโรงงานสุราทั้งหมด 7 ตัวอย่าง สามารถแยกเชื้อราได้ 12 ชนิด นำมาคัดเลือกเชื้อที่มีความสามารถในการย่อยแป้งสูงสุดเปรียบเทียบกับ Aspergillus oryzae AHO-1 (72) พบว่ามีเชื้อรา 2 ชนิดที่น่าสนใจคือ Aspergillus oryzae จากโรงงานสุรา จังหวัดชลบุรี และ Rhizopus sp. จากโรงงานสุรา จังหวัดนครปฐม

3.2 ผลการหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อราที่ถูกตรึงเพื่อให้มีความสามารถในการย่อยแป้งสูงสุด

เม็ดเจลของแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งมีสปอร์ยังอยู่ภายใน มีลักษณะกลม เส้นผ่านศูนย์กลาง 1.5-2 มม. และใส ขณะเริ่มแรกจะเปลี่ยนเป็นสีขาวทึบ ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4 มม. ภายหลังการเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 2 วัน ดังรูปที่ 3.3, 3.4, 3.5, 3.6 โดยน้ำหนักเปียกของ Aspergillus oryzae จะเพิ่มขึ้นหลัง 24 ชั่วโมง และสูงขึ้นเรื่อย ๆ จนคงที่ที่ชั่วโมงที่ 66 ส่วน Rhizopus sp. น้ำหนักจะเพิ่มขึ้นภายหลังชั่วโมงที่ 20 และค่อนข้างคงที่ภายหลังชั่วโมงที่ 56 สำหรับความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงนั้นเริ่มพบที่ 36 ชั่วโมงใน Aspergillus oryzae ดังรูปที่ 3.1 และ 28 ชั่วโมงใน Rhizopus sp. ดังรูปที่ 3.2 และจะมีความสามารถในการย่อยแป้งสูงสุดที่ 52 ชั่วโมงทั้ง 2 เชื้อ โดยที่ Rhizopus sp. จะมีความสามารถในการย่อยแป้งสูงกว่า Aspergillus oryzae ประมาณ 3 เท่า สำหรับการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อของทั้ง 2 เชื้อ พบว่าแตกต่างกันมาก โดยความเป็นกรดด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อของ Aspergillus sp. จะเพิ่มขึ้นจาก 5 หลังชั่วโมงที่ 28 จนความเป็นกรดด่างมีค่าเท่ากับ 7 ที่เวลา 40 ชั่วโมง แล้วลดลงเรื่อย ๆ จนถึง 4.8 ที่ 72 ชั่วโมง ส่วน Rhizopus sp. ความเป็นกรดด่างจะลดลงอย่างรวดเร็วหลัง 28 ชั่วโมง จนความเป็นกรดด่างมีค่า 3.5 ที่ชั่วโมงที่ 40 หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้า ๆ จนถึง 2.9 ที่ชั่วโมงที่ 72 สำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ใน Aspergillus oryzae จะสูงสุดที่ 48 ชั่วโมง

และลดลงตามลำดับ ส่วนใน Rhizopus sp. ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะสูงสุดที่ 44 ชั่วโมง หลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเป็น 0 ที่ชั่วโมงที่ 56 และเมื่อหาค่าความสามารถในการย่อยแป้งของเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นในช่วงเวลาต่าง ๆ พบว่า ความสามารถในการย่อยแป้งของเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae จะเริ่มพบที่ชั่วโมงที่ 36 และสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 52 ส่วน Rhizopus sp. จะเริ่มพบในชั่วโมงที่ 32 และสูงสุดในชั่วโมงที่ 60 และความสามารถในการย่อยแป้งของ Rhizopus sp. จะสูงกว่าใน Aspergillus oryzae ประมาณ 3 เท่า

3.3 ผลการทดลองใช้เชื้อราที่ถูกตรึง 2 ชนิดร่วมกันในการย่อยแป้ง

เซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. อัตราส่วน 1:1 สามารถย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบได้น้ำตาลรีดิวส์ 1.88 และ 1.03 มก.ต่อ มล. และน้ำตาลกลูโคส 1.52 และ 0.84 มก.ต่อ มล. ตามลำดับ ในเวลา 7 ชั่วโมง ส่วน Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงจะย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบได้น้ำตาลรีดิวส์ 1.60 และ 0.93 มก.ต่อ มล. และน้ำตาลกลูโคส 1.48 และ 0.73 มก.ต่อ มล. ตามลำดับ ในเวลา 7 ชั่วโมง และ Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงจะย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบ ได้น้ำตาลรีดิวส์ 0.78 และ 0.35 มก.ต่อ มล. และน้ำตาลกลูโคส 0.50 และ 0.20 มก.ต่อ มล. ตามลำดับ ที่ระยะเวลาเท่ากัน แสดงว่าการใช้เซลที่ถูกตรึง 2 ชนิดร่วมกันจะมีความสามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบได้น้ำตาลรีดิวส์และกลูโคสสูงกว่าการใช้เชื้อเดียว และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงก็จะมีความสามารถในการย่อยแป้งสูงกว่า Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึง โดยที่ความสามารถในการย่อยแป้งสุกจะสูงกว่าการย่อยแป้งดิบประมาณ 50 เปอร์เซนต์ ดังแสดงในรูปที่ 3.7 และ 3.8

3.4 ผลการทดลองใช้เอนไซม์จากเชื้อรา 2 ชนิดร่วมกันในการย่อยแป้ง

เอนไซม์ที่สกัดจาก Aspergillus oryzae ปริมาณ 1.1 หน่วยต่อ มล. ผสมกับเอนไซม์ที่สกัดจาก Rhizopus sp. ปริมาณ 1.16 หน่วยต่อ มล. อัตราส่วน 1:1 จะมีความสามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบได้น้ำตาลรีดิวส์ 9.25 และ 1.03 มก.ต่อ มล. และน้ำตาลกลูโคส 8.5 และ 0.98 มก.ต่อ มล. ตามลำดับ ในเวลา 7 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 5.0 ส่วนเอนไซม์ที่สกัดจาก Rhizopus sp. จะย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบได้น้ำตาลรีดิวส์ 0.77 และ 0.11 มก.ต่อ มล. และน้ำตาลกลูโคส

0.67 และ 0.096 มก.ต่อ มล. ตามลำดับ ที่ส่ภาวะเดียวกัน และเอนไซม์ที่ส่กัดจาก Aspergillus sp. จะย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกและดิบ ได้น้ำตาลรีดิวส์ 7.4 และ 0.66 มก.ต่อ มล. และน้ำตาลกลูโคส่ 4.8 และ 0.62 มก.ต่อ มล. ตามลำดับ ที่ส่ภาวะเดียวกันกับที่กล่าวข้างต้น

แส่ดงว่าการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกโดยเอนไซม์ที่ส่กัดจาก Rhizopus sp. ผส่มกับเอนไซม์ที่ส่กัดจาก Aspergillus oryzae และเอนไซม์จาก Rhizopus sp. จะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส่ใกล้เคียงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ส่วนเอนไซม์ที่ส่กัดจาก Aspergillus oryzae จะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคส่ประมาณครึ่งหนึ่งของน้ำตาลรีดิวส์ และพบว่าการใช้เอนไซม์ผส่มจะส่ามารถย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกได้สูงกว่าเอนไซม์เดี่ยว เช่นเดียวกันกับที่พบในการย่อยแป้งโดยเซลที่ถูกตรึง ดังแส่ดงในรูปที่ 3.9

ส่วนการย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบ พบว่าเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae จะย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบได้น้ำตาลกลูโคส่ใกล้เคียงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ซึ่งต่างกับที่พบในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุก ส่วนคุณส่มบัติของเอนไซม์จาก Rhizopus sp. และเอนไซม์ผส่มที่ส่กัดจากจุลินทรีย์ทั้ง 2 ชนิด อัตราส่วน 1:1 จะให้ผลเช่นเดียวกับการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุก แต่อัตราการย่อยต่ำกว่าการย่อยแป้งสุก ดังแส่ดงในรูปที่ 3.10

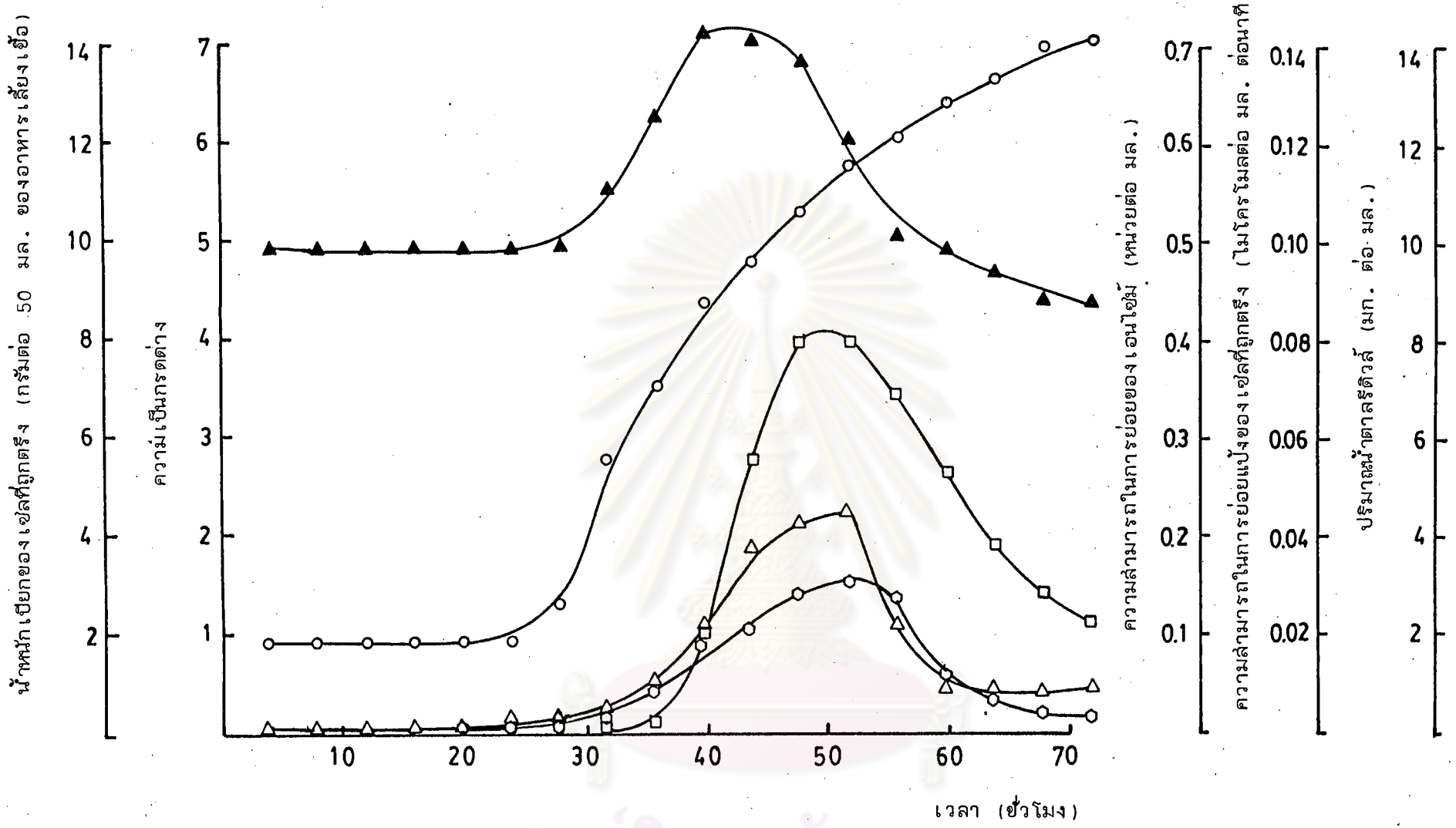
3.5 ผลการหาชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดจากการย่อยแป้งของเอนไซม์

เอนไซม์จาก Aspergillus oryzae จะย่อยแป้งสุกได้ผลลัพธ์เป็น น้ำตาลกลูโคส่ มอลโตส่ และมอลโตไตรโอส่ ส่วนผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งดิบจะได้น้ำตาลกลูโคส่เพียงอย่างเดียว สำหรับเอนไซม์จาก Rhizopus sp. และย่อยแป้งสุกและแป้งดิบได้น้ำตาลกลูโคส่เพียงอย่างเดียว เช่นเดียวกับการย่อยที่เกิดจากการใช้เอนไซม์ที่ส่กัดจาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. อัตราส่วน 1:1 ดังแส่ดงในรูปที่ 3.11 และ 3.12

3.6 ผลการหาส่ภาวะที่เหมาะส่มในการตรึงส่ปอร์

3.6.1 ผลการหาชนิดของโซเดียมอัลจิเนตที่เหมาะส่มในการตรึงส่ปอร์

จากการหาความส่ามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลังของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้น 1 เปอร์เซนต์



รูปที่ 3.1 แสดงการเปลี่ยนแปลงของคุณสมบัติต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ กัน ที่ตรวจพบในอาหารเลี้ยงเชื้อและเซลของ Aspergillus oryzae ที่ตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 250 รอบต่อนาที

▲ ความเป็นกรดด่าง

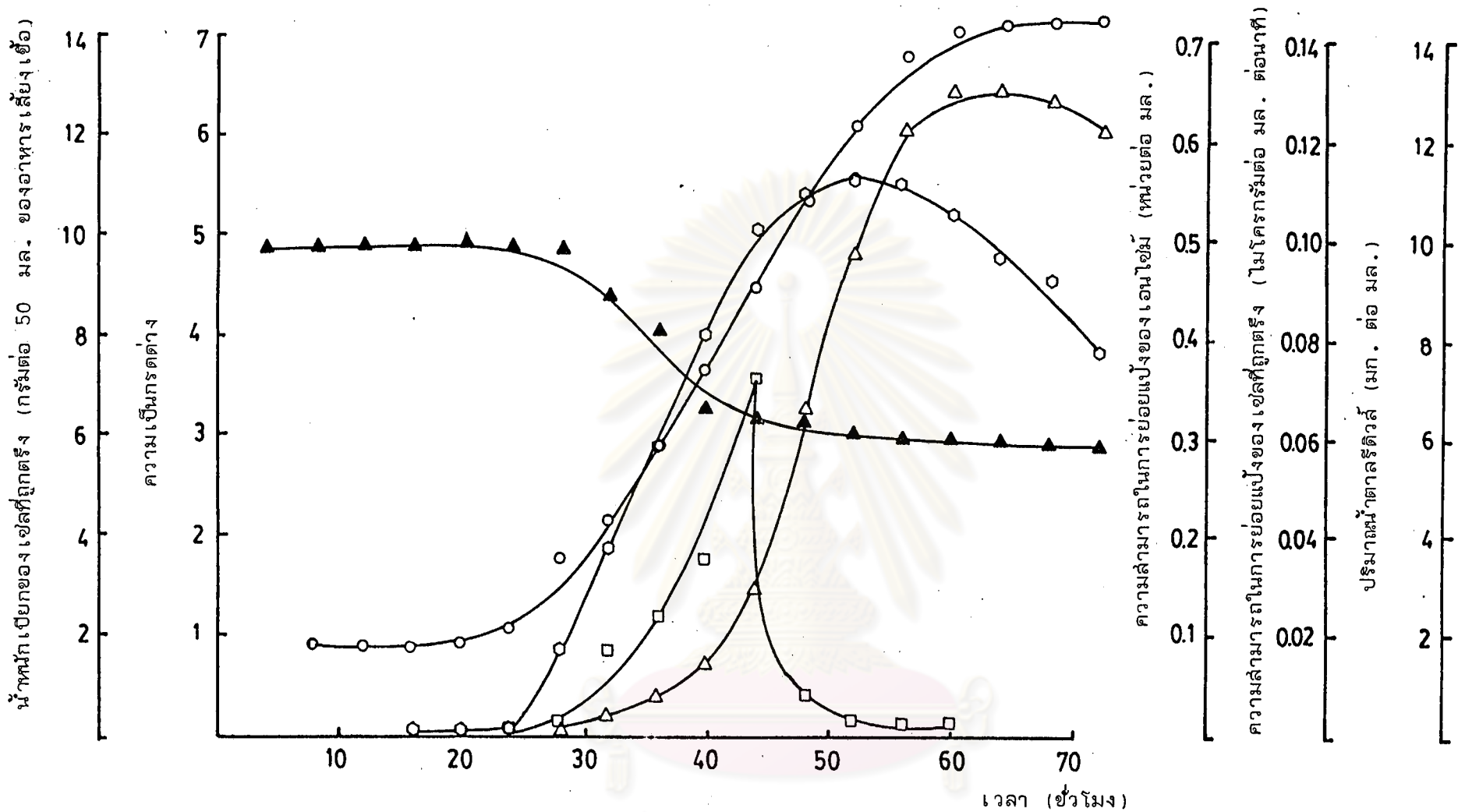
○ น้ำหนักเปียกของเซลที่ถูกตรึง

□ ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

△ ความสามารถในการย่อยแป้งของเอนไซม์

○ ความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.2 แสดงการเปลี่ยนแปลงคุณสมบัติต่าง ๆ ที่เวลาต่าง ๆ กัน ที่ตรวจพบในอาหารเลี้ยงเชื้อและเซลของ Rhizopus sp. ที่ตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต เมื่อเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เขย่า 250 รอบต่อนาที

▲ ความเป็นกรดด่าง

○ น้ำหนักของเซลที่ถูกตรึง

□ ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

△ ความสามารถในการย่อยแป้งของเอนไซม์

○ ความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

รูปที่ 3.3 แสดงลักษณะของเซล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต เมื่ออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก. อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสปอร์ที่ถูกตรึงก่อนนำไปเพาะเลี้ยง (cultivation)

ข. อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเซลที่ถูกตรึงภายหลังที่นำสปอร์ที่ถูกตรึงไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 52 ชั่วโมง 30 องศาเซลเซียส และเขย่า 250 รอบต่อนาที

รูปที่ 3.4 แสดงลักษณะของเม็ดเจลของ Aspergillus oryzae

ก. ลักษณะเม็ดเจลของแคลเซียมอัลจิเนตที่ตรึงสปอร์ก่อนนำไปเพาะเลี้ยง

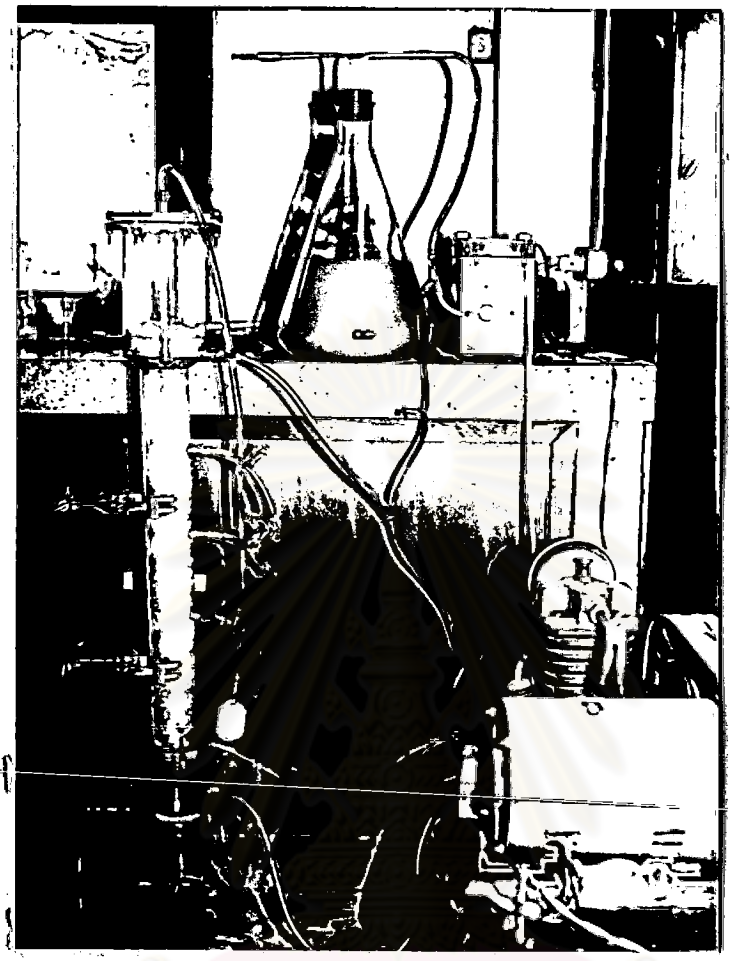
ข. ลักษณะของเซลที่ถูกตรึงในแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงสปอร์ที่ถูกตรึง (ก) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 52 ชั่วโมง 30 องศาเซลเซียส เขย่า 250 รอบต่อนาที

รูปที่ 3.5 แสดงลักษณะของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในแคลเซียมอัลจิเนต เมื่ออยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ก. อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสปอร์ที่ถูกตรึงก่อนนำไปเพาะเลี้ยง

ข. อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเซลที่ถูกตรึงภายหลังที่นำสปอร์ที่ถูกตรึงไปเพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 52 ชั่วโมง 30 องศาเซลเซียส และเขย่า 250 รอบต่อนาที

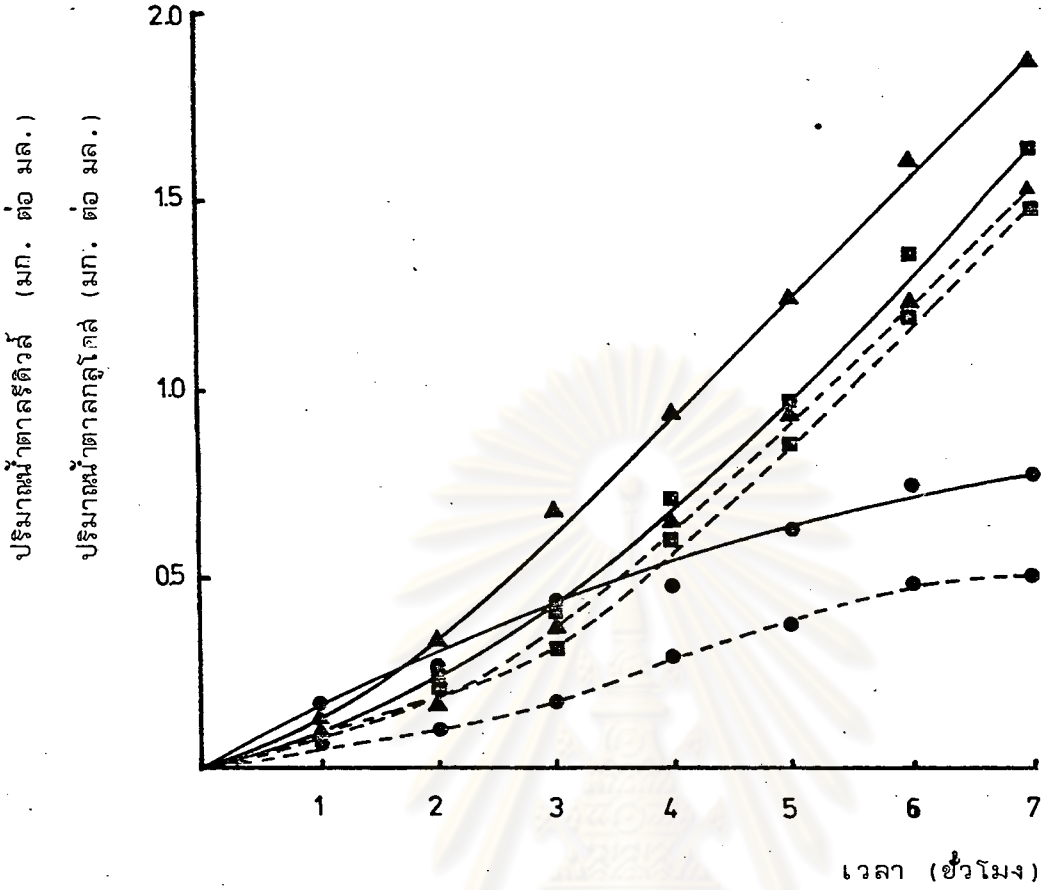
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.6 แสดงลักษณะเม็ดเจลของ Rhizopus sp.

ก. ลักษณะเม็ดเจลของแคลเซียมอัลจิเนตที่ตรึงสปอร์ ก่อนนำไปเพาะเลี้ยง

ข. ลักษณะของเซลที่ถูกตรึงในแคลเซียมอัลจิเนตซึ่งได้จากการเพาะเลี้ยงสปอร์ที่ถูกตรึง (ก) ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 52 ชั่วโมง 30 องศาเซลเซียส เขย่า 250 รอบต่อนาที

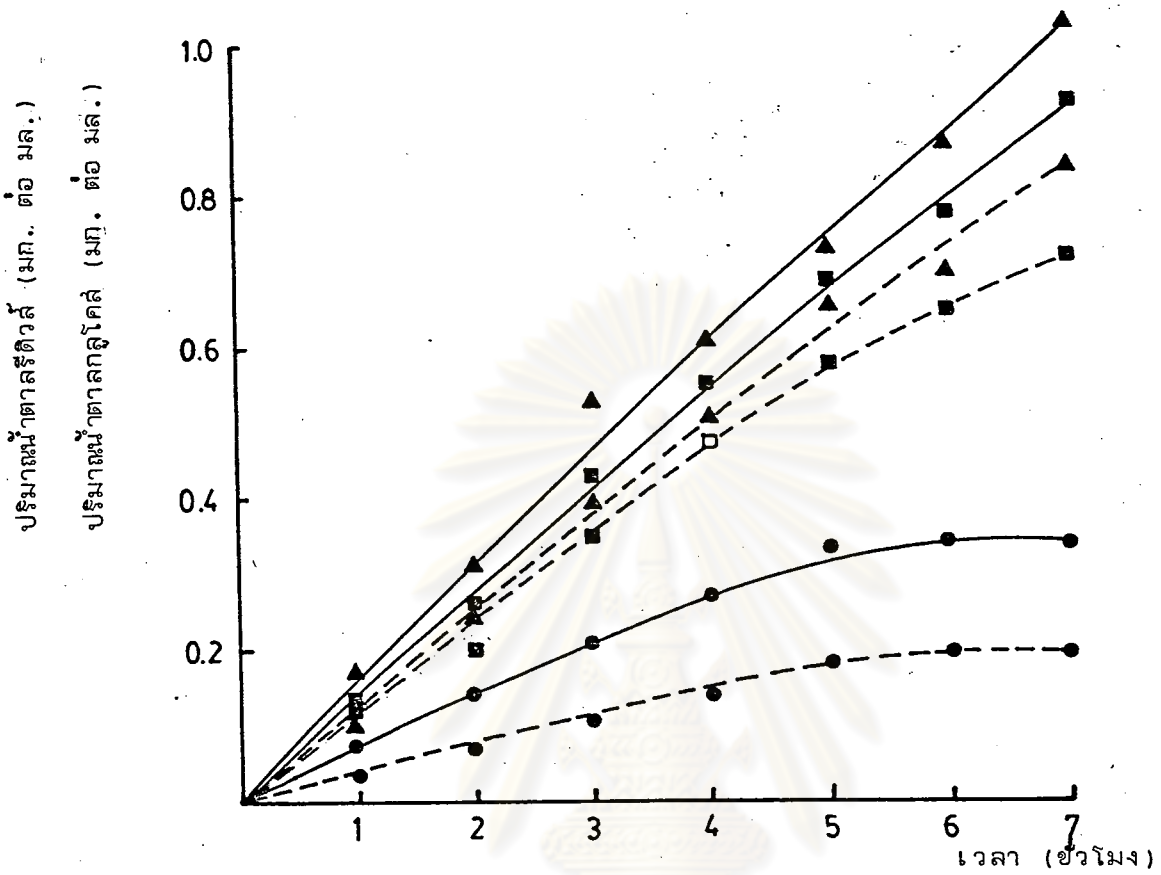


รูปที่ 3.7 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และกลูโคส์ที่ได้จากการย่อยแป้งสุก ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ ด้วยเซลที่ถูกตรึงในระยะเวลาต่าง ๆ กัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 5.0

- ● Aspergillus oryzae.
- ■ Rhizopus sp.
- ▲ เซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae. และ Rhizopus sp. ผสมกัน อัตราส่วน 1:1

——— เส้นทึบ ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

- - - - เส้นประ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส์

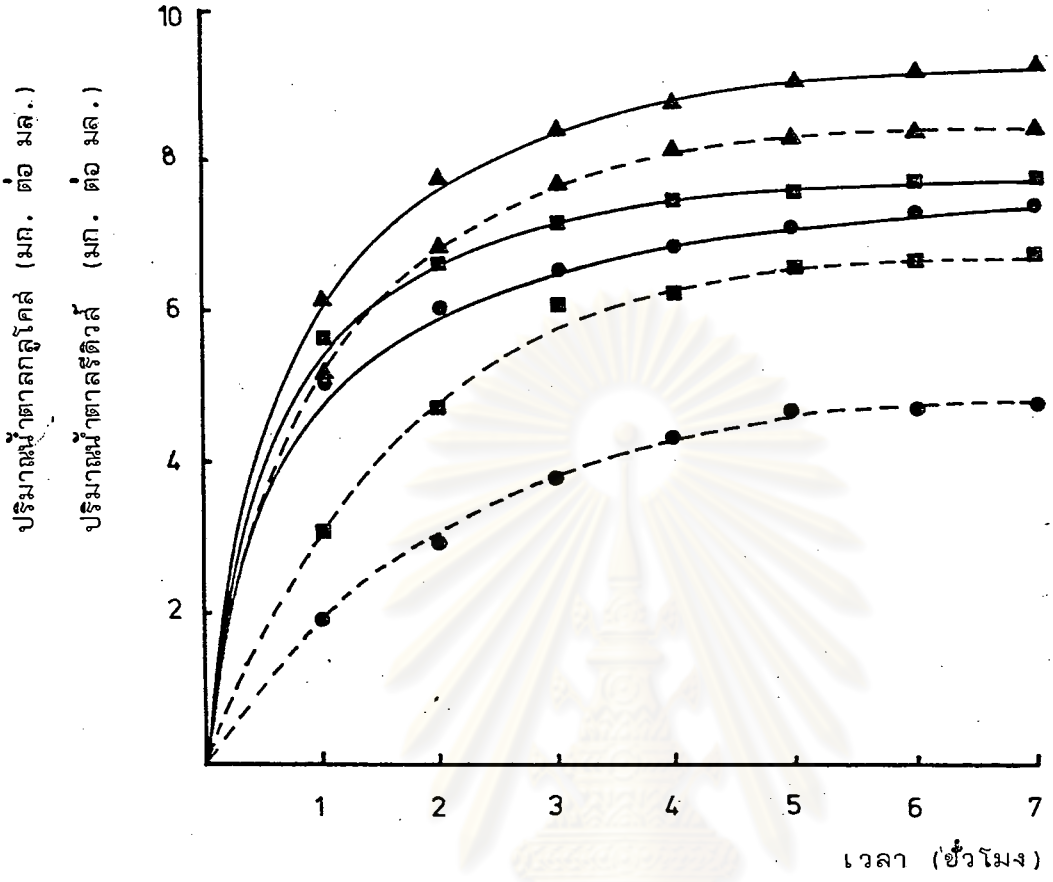


รูปที่ 3.8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และกลูโคส ที่ได้จากการย่อยแป้งดิบ ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ ด้วยเซลที่ถูกตรึงในระยะเวลาต่าง ๆ กัน ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 5.0

- ● Aspergillus oryzae
- ■ Rhizopus sp.
- ▲ เซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ผสมกัน อัตราส่วน 1:1
- ——— เส้นทึบ ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์
- ---- เส้นประ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

117306240

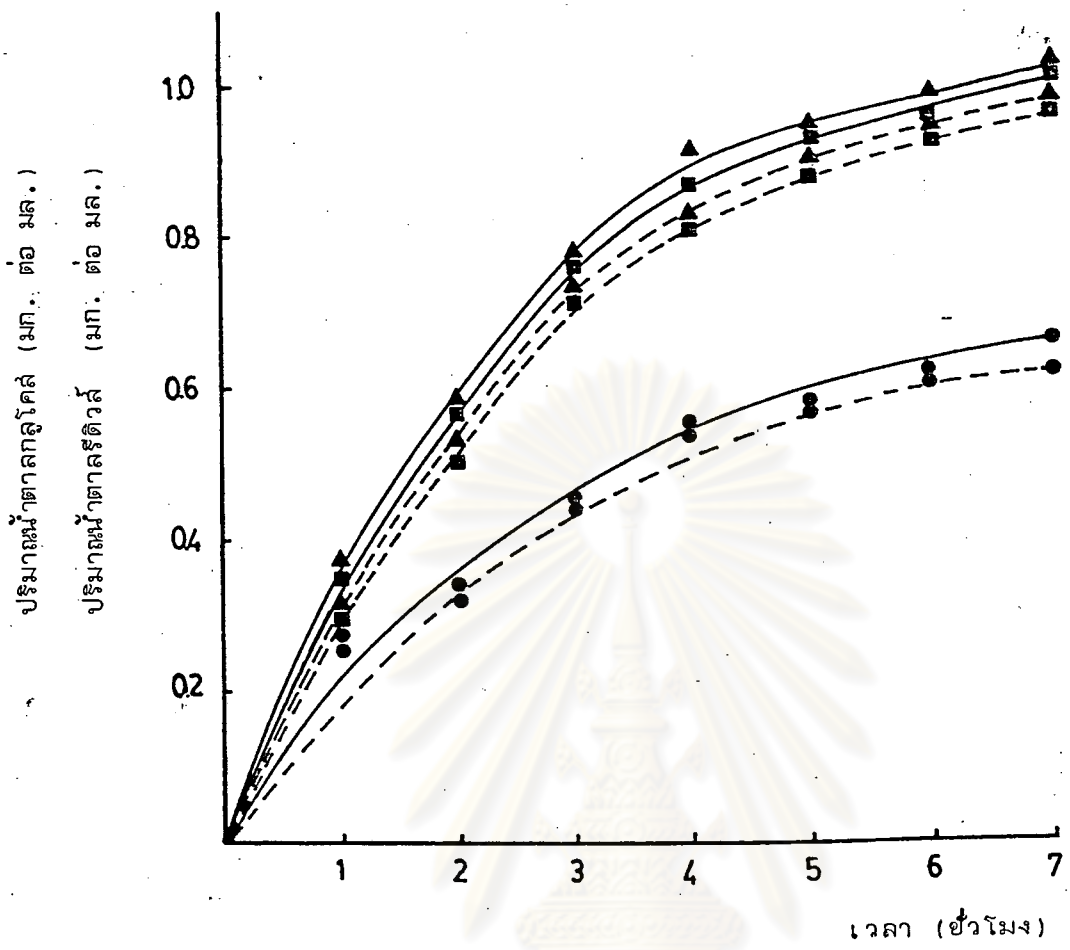


รูปที่ 3.9 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และกลูโคส์ที่เกิดจากการย่อยแป้งลุก ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ ด้วยเอนไซม์ ปฏิกิริยาการย่อยเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส์ ความเป็นกรดด่าง 5.0

- ● เอนไซม์จาก Aspergillus oryzae 1.1 หน่วยต่อ มล.
- ■ เอนไซม์จาก Rhizopus sp. 1.16 หน่วยต่อ มล.
- ▲ เอนไซม์จาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. อัตราส่วน 1:1

—— เส้นทึบ ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

---- เส้นประ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส์

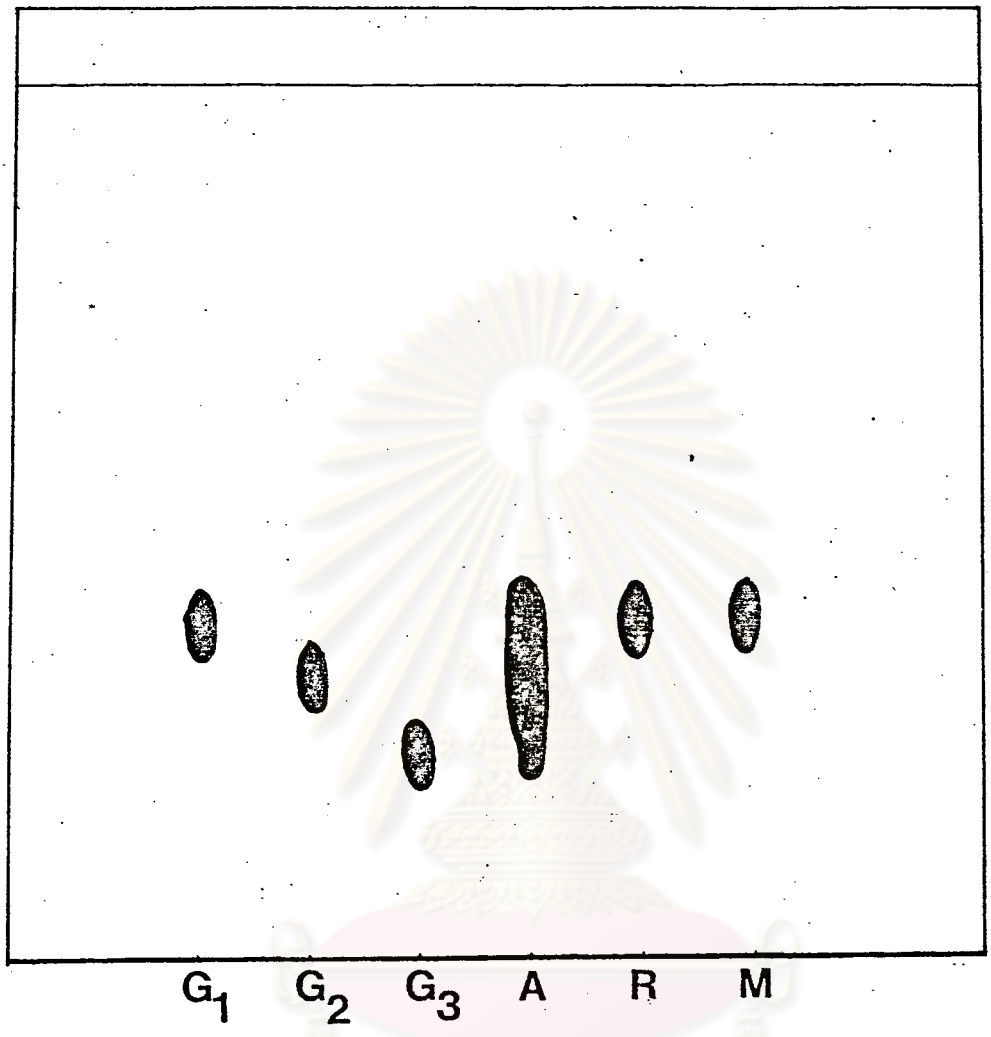


รูปที่ 3.10 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และกลูโคส์ที่เกิดจากการย่อยแป้งดิบ ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ด้วยเอนไซม์ ปฏิกิริยาการย่อยเกิดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ความเป็นกรดด่าง 5.0

- ● เอนไซม์จาก Aspergillus oryzae. 1.1 หน่วยต่อ มล.
- ▲ เอนไซม์จาก Rhizopus sp. 1.16 หน่วยต่อ มล.
- ■ เอนไซม์จาก Aspergillus oryzae. และ Rhizopus sp. อัตราส่วน 1:1

—— เส้นทึบ ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์

---- เส้นประ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส์

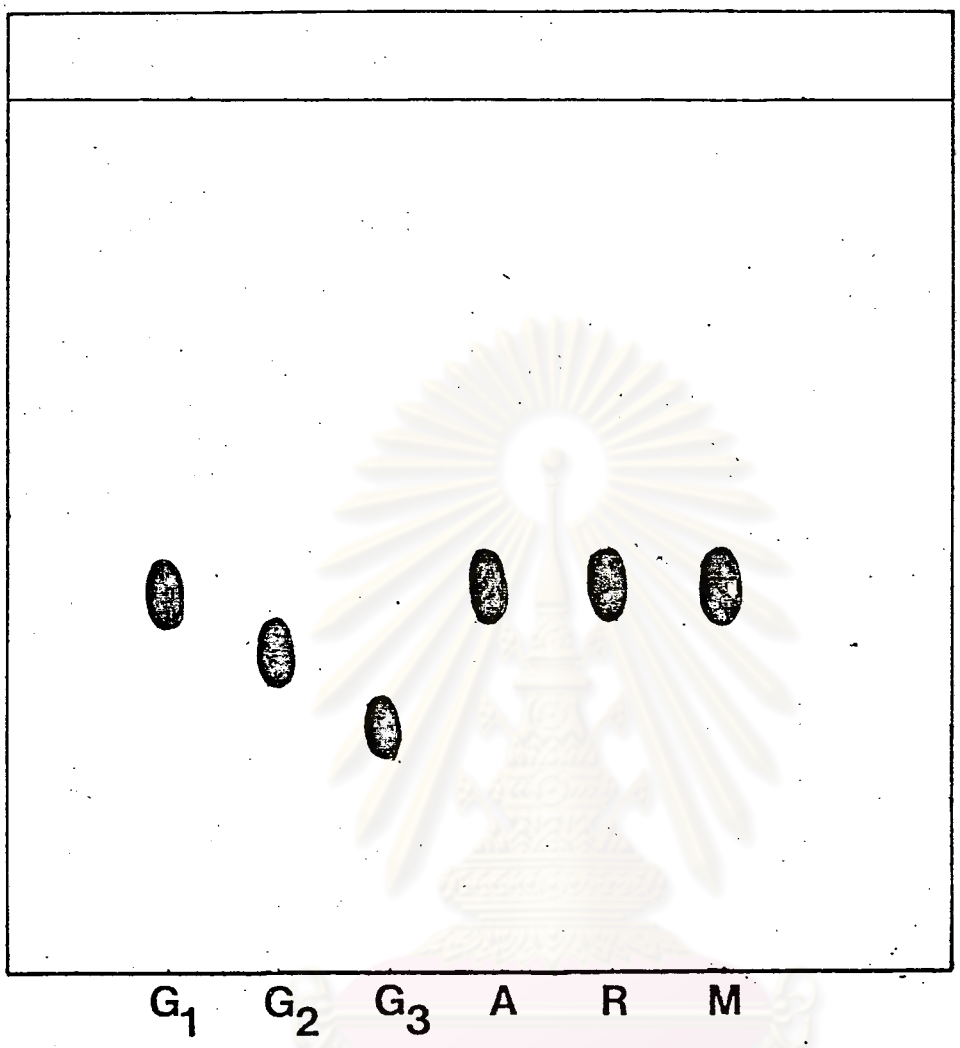


รูปที่ 3.11 แสดงผลของการหาชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุก

G_1 = กลูโคส A = ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae.

G_2 = มอลโตส R = ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์จาก Rhizopus sp.

G_3 = มอลโตไตรโอส M = ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae. และ Rhizopus sp.



รูปที่ 3.12 แสดงผลของการหาชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบ

G_1 = กลูโคส A = ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae.

G_2 = มอลโตส R = ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์จาก Rhizopus sp.

G_3 = มอลโตไตรโอส M = ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์จาก Aspergillus oryzae. และ Rhizopus sp.

ชนิด 300 cps. และ 500 cps. เปรียบเทียบกัน โดยศึกษาทั้งการย่อยแป้งดิบและแป้งสุก พบว่า การตรึงสปอร์ในโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps. จะให้เซลที่มีความสามารถในการย่อยทั้งแป้งดิบและแป้งสุก สูงกว่าการตรึงสปอร์ในโซเดียมอัลจิเนตชนิด 500 cps. เล็กน้อย ดังแสดงในรูปที่ 3.13, 3.14, 3.15 และ 3.16

3.6.2 ผลการหาความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่ใช้ในการตรึงสปอร์

จากการหาความสามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลังของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps. โดยแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่ใช้เป็น 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ พบว่า เซลของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในโซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้นต่าง ๆ กันดังกล่าวข้างต้น จะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกไม่แตกต่างกัน ดังรูป 3.17, 3.18, 3.19, 3.20 ดังนั้นในการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้โซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ ซึ่งเป็นความเข้มข้นต่ำสุด

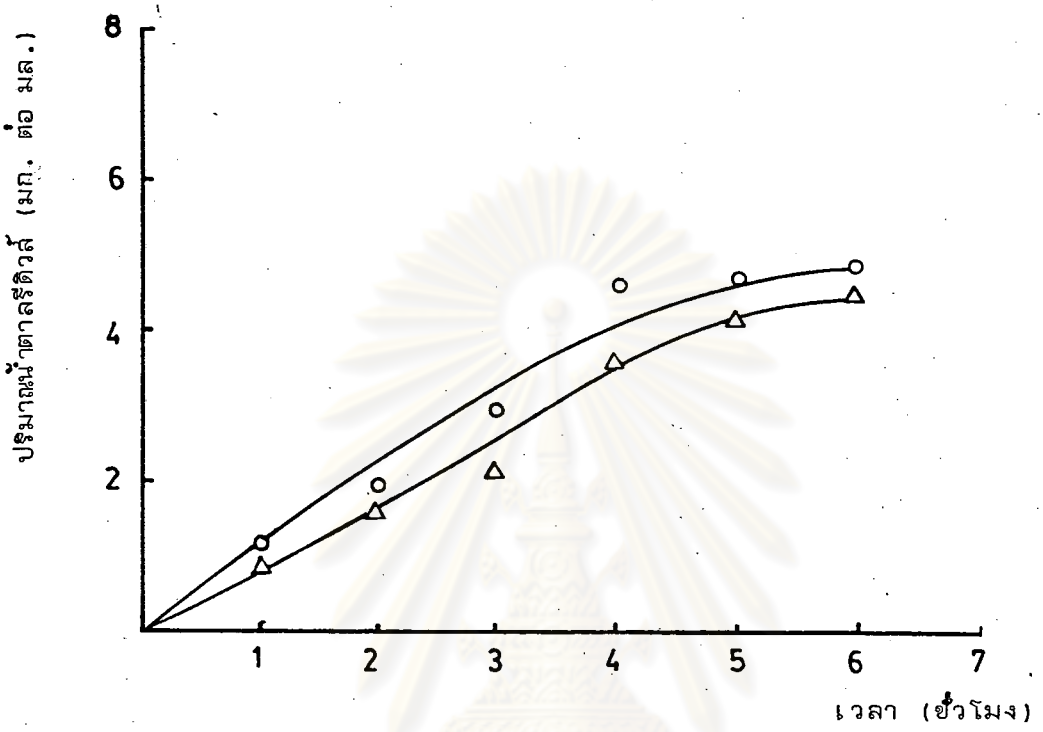
3.6.3 ผลการหาจำนวนสปอร์ที่เหมาะสมในการตรึงสปอร์

จากการหาความสามารถในการย่อยแป้งมันสำปะหลังของ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps. ความเข้มข้น 1.0 % โดยแปรผันปริมาณสปอร์ 10^6, 10^7, 10^8, 10^8, 10^{10} สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต พบว่า เมื่อใช้ปริมาณสปอร์ 10^6, 10^7 สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต การงอกของเชื้อราจะเกิดขึ้นไม่สม่ำเสมอทุก ๆ เม็ดเจล เนื่องจากปริมาณสปอร์ต่ำเกินไปทำให้ในบางเม็ดเจลไม่มีสปอร์อยู่เลย ส่วนเม็ดเจลที่ใช้ปริมาณสปอร์ 10^8 สปอร์ขึ้นไป สามารถงอกในทุก ๆ เม็ดเจล และเมื่อเปรียบเทียบความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุก พบว่าการใช้ปริมาณสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต จะได้เซลที่ถูกตรึงที่มีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูงกว่าการใช้ปริมาณสปอร์ 10^9 และ 10^{10} สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต ดังรูป 3.21, 3.22

3.7 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลที่ถูกตรึงให้มีคุณภาพสูง

3.7.1 ผลการหาชนิดของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เหมาะสม

จากการเลี้ยงสปอร์ของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูก-

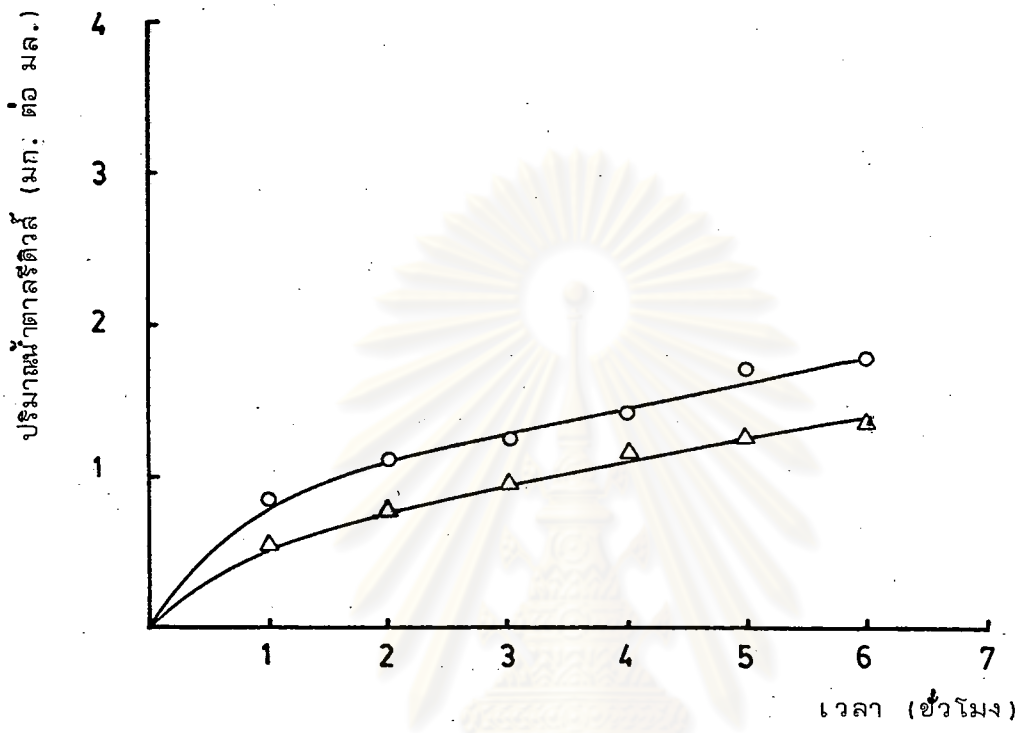


รูปที่ 3.13 แสดงประสิทธิภาพการย่อยแป้งสุกของเชล Aspergillus oryzae. ที่ตรึงด้วยโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps. และ 500 cps.

o โซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps

Δ โซเดียมอัลจิเนตชนิด 500 cps.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

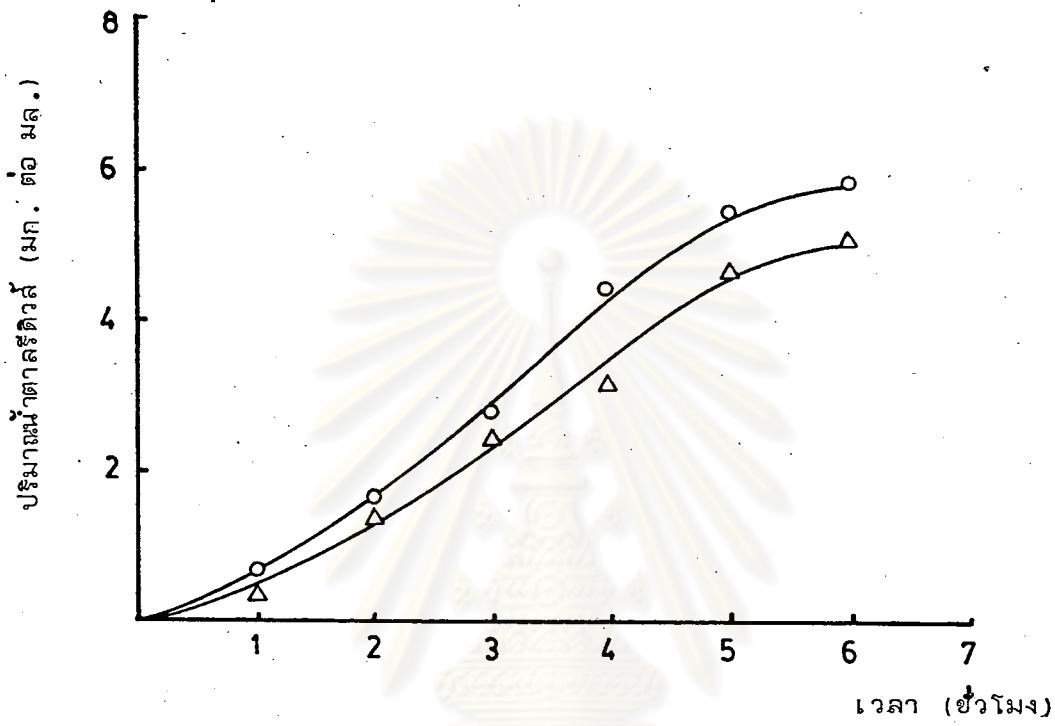


รูปที่ 3.14 แสดงประสิทธิภาพการย่อยแป้งดิบของเชื้อ Aspergillus oryzae. ที่ตรึงด้วยโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps และ 500 cps

o โซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps.

Δ โซเดียมอัลจิเนตชนิด 500 cps.

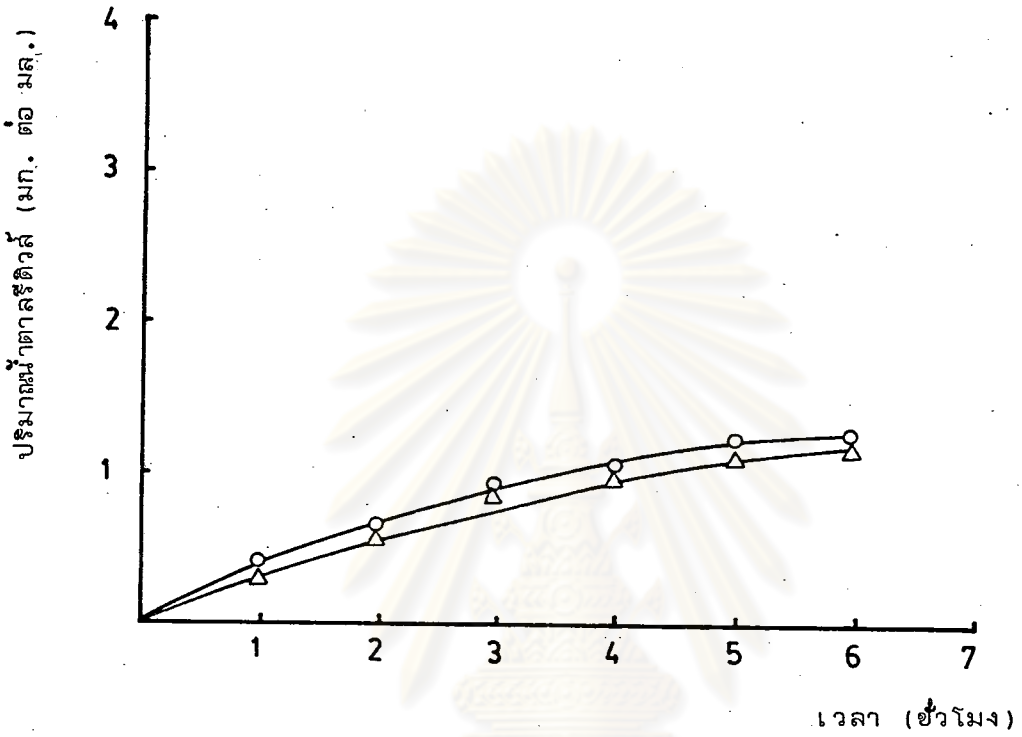
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.15 แสดงประสิทธิภาพการย่อยแป้งสุกของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงใน โซเดียมอัลจิเนตเจนิด 300 cps. และ 500 cps.

o โซเดียมอัลจิเนตเจนิด 300 cps.

Δ โซเดียมอัลจิเนตเจนิด 500 cps.

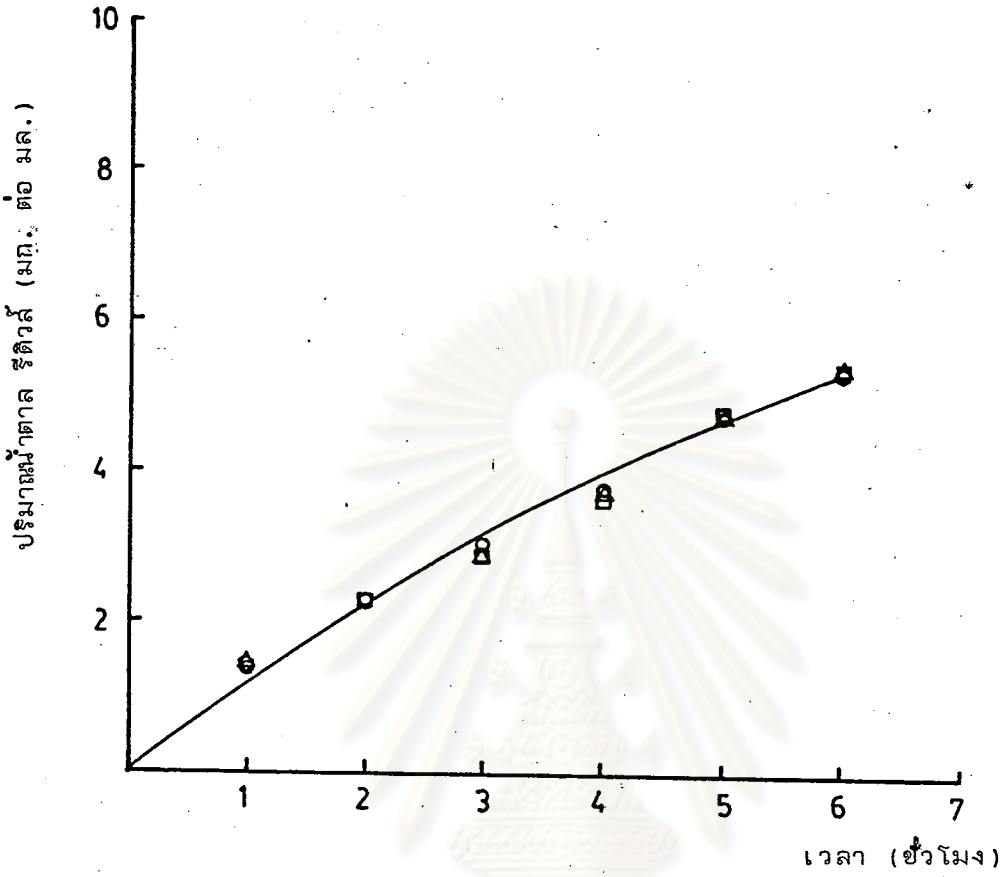


รูปที่ 3.16 แสดงประสิทธิภาพการย่อยแป้งดิบของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงด้วยโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps. และ 500 cps.

o โซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps.

Δ โซเดียมอัลจิเนตชนิด 500 cps.

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



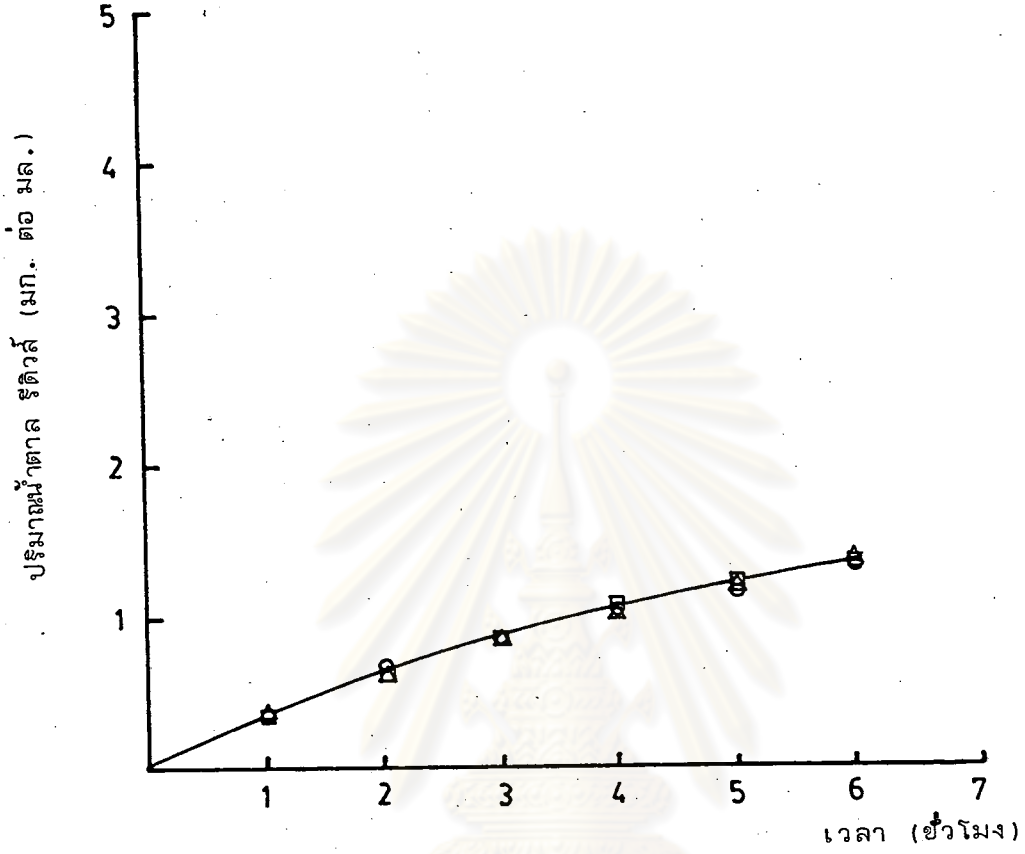
รูปที่ 3.17 แสดงประสิทธิภาพในการย่อยแป้งสุกของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึง เมื่อผันแปรความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 เปอร์เซนต์

□ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.0 เปอร์เซนต์

△ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.5 เปอร์เซนต์

○ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 2.0 เปอร์เซนต์

○ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 2.5 เปอร์เซนต์



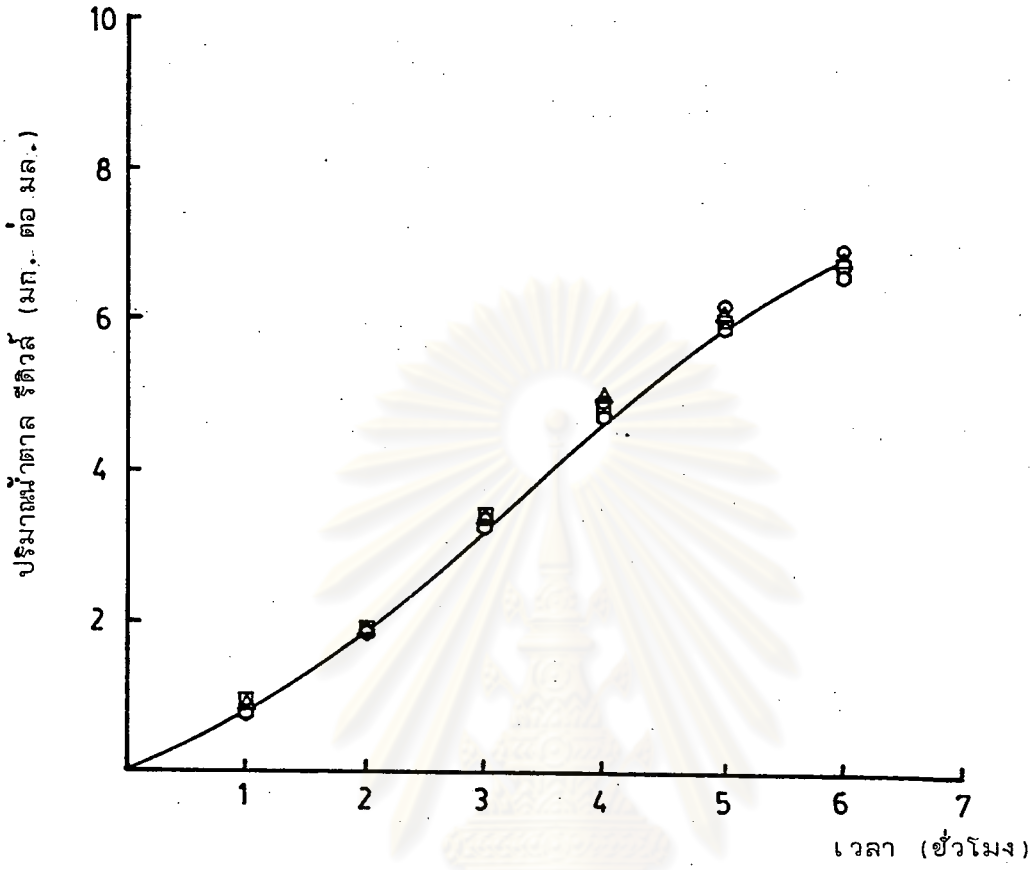
รูปที่ 3.18 แสดงประสิทธิภาพในการย่อยแป้งดิบของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึง เมื่อผันแปรความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 เปอร์เซ็นต์

□ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.0 เปอร์เซ็นต์

△ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.5 เปอร์เซ็นต์

○ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 2.0 เปอร์เซ็นต์

○ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 2.5 เปอร์เซ็นต์



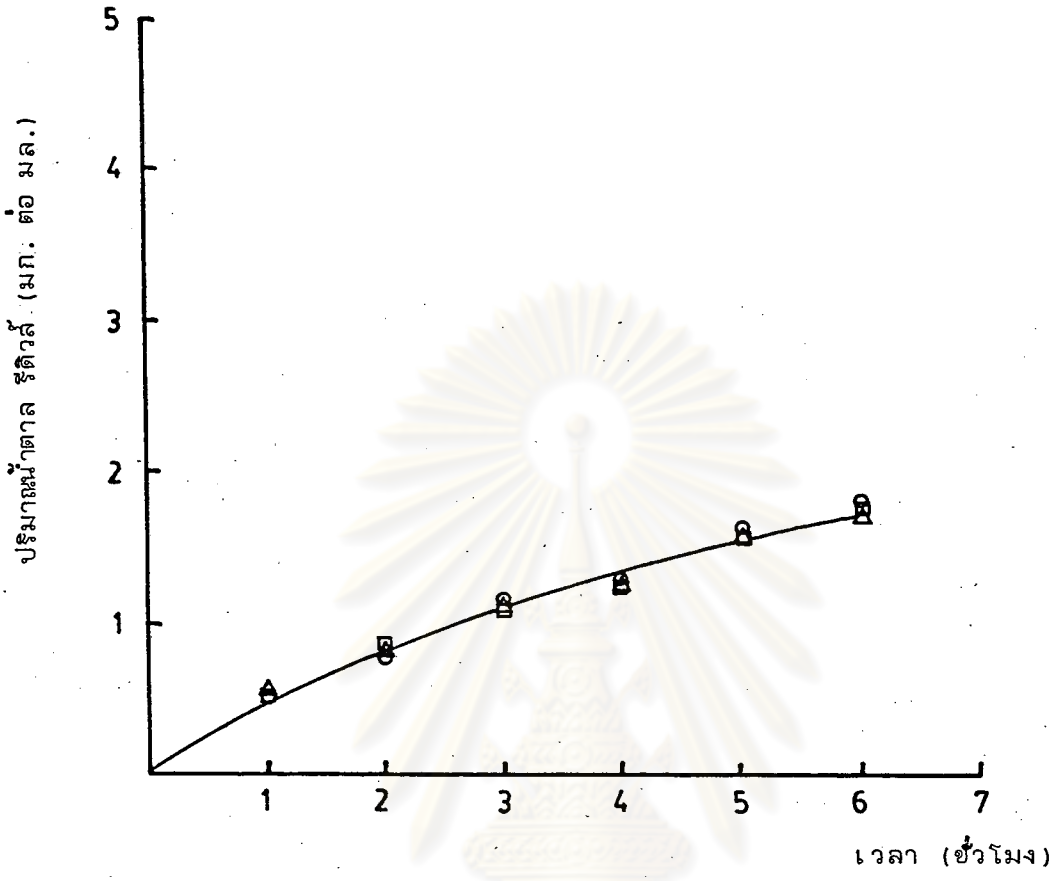
รูปที่ 3.19 แสดงประสิทธิภาพในการย่อยแป้งสุกของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงเมื่อผันแปร ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 เปอร์เซนต์

□ ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนต 1.0 เปอร์เซนต์

△ ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนต 1.5 เปอร์เซนต์

○ ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนต 2.0 เปอร์เซนต์

○ ความเข้มข้นโซเดียมอัลจิเนต 2.5 เปอร์เซนต์



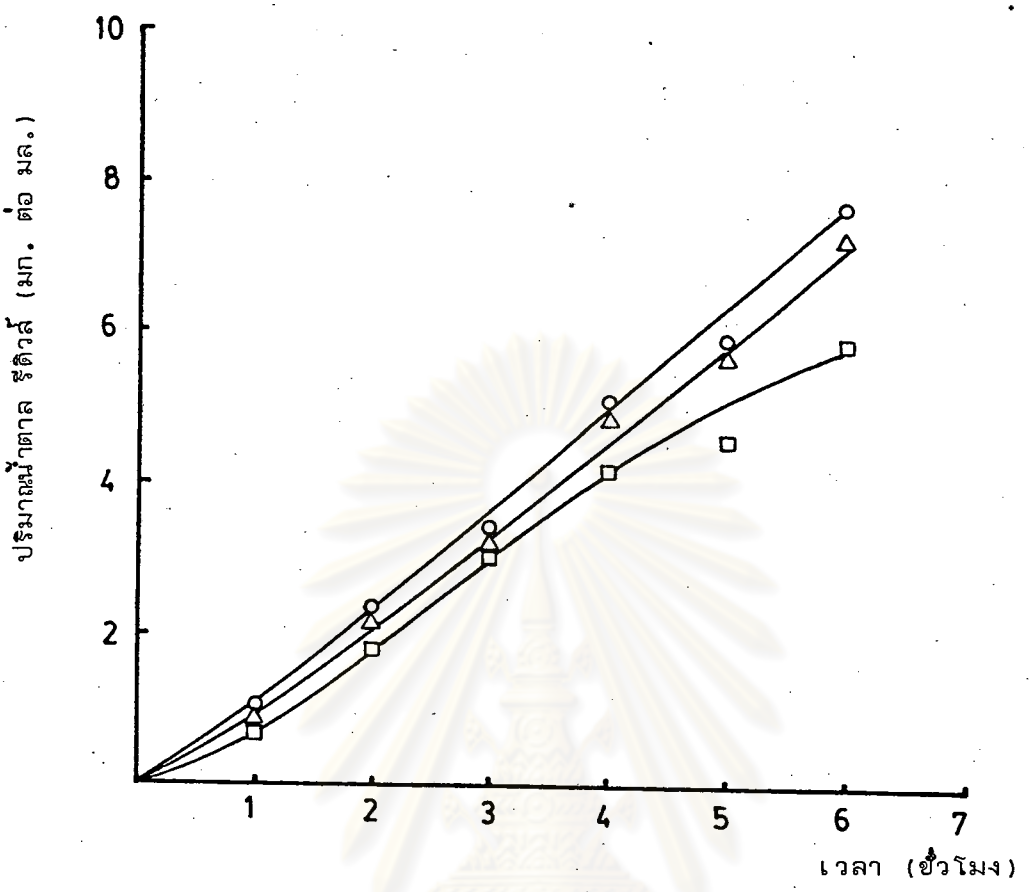
รูปที่ 3.20 แสดงประสิทธิภาพในการย่อยแป้งดิบของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงเมื่อผันแปรความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.0, 1.5, 2.0, 2.5 เปอร์เซ็นต์

□ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.0 เปอร์เซ็นต์

△ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 1.5 เปอร์เซ็นต์

○ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 2.0 เปอร์เซ็นต์

○ ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 2.5 เปอร์เซ็นต์



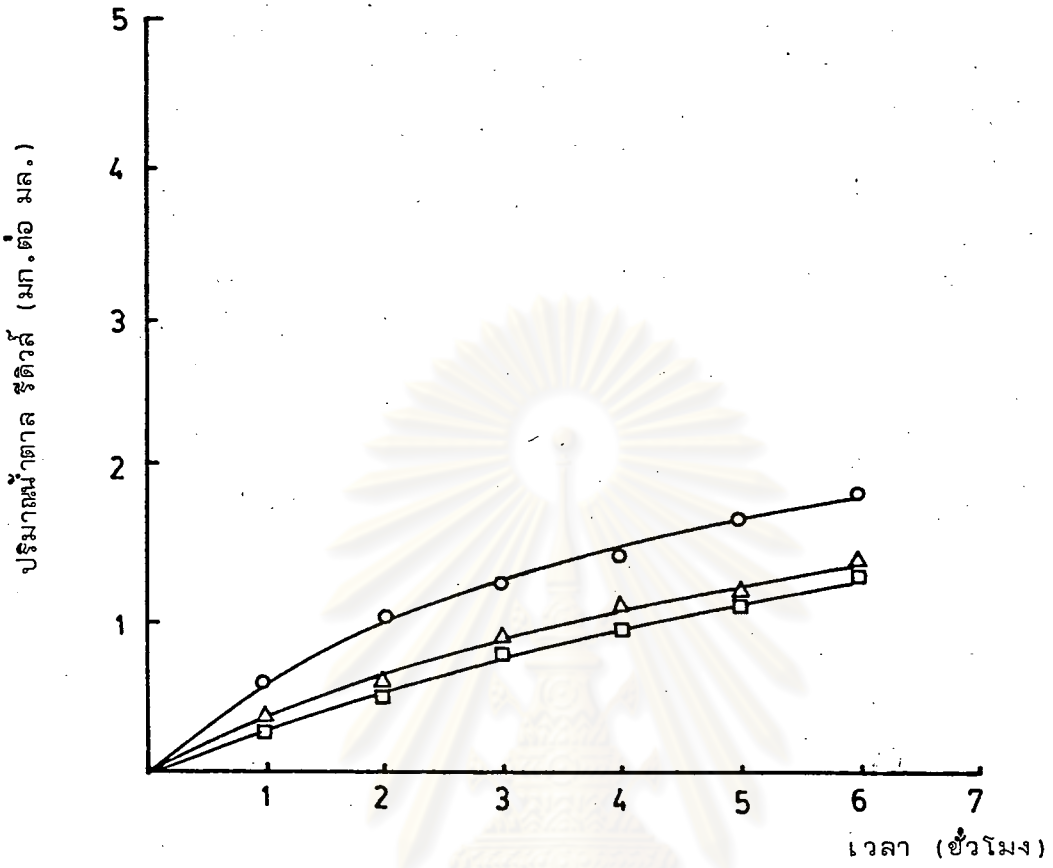
รูปที่ 3.21 แสดงประสิทธิภาพในการย่อยแป้งสุกของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง เมื่อผันแปรจำนวนของสปอร์ที่ถูกตรึงคือ 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10} สปอร์ต่อ 100 มล. ของโซเดียมอัลจิเนต

○ จำนวนสปอร์ 10^8 สปอร์ ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต

△ จำนวนสปอร์ 10^9 สปอร์ ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต

□ จำนวนสปอร์ 10^{10} สปอร์ ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.22 แสดงประสิทธิภาพในการย่อยแป้งดิบของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง เมื่อผันแปรจำนวนของสปอร์ที่ถูกตรึงคือ 10^6, 10^7, 10^8, 10^9, 10^{10} สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต

○ จำนวนสปอร์ 10^8 สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต

△ จำนวนสปอร์ 10^9 สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต

□ จำนวนสปอร์ 10^{10} สปอร์ต่อ 100 มล.ของโซเดียมอัลจิเนต

ตรึงใน 1.0 เปอร์เซ็นต์ของโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps. ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 ที่แปรผันชนิดของไนโตรเจนอนินทรีย์ต่อไปนี้คือ แอมโมเนียมไนเตรต, แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมซีเตรต, แอมโมเนียมอซีเตต ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ แทนเปปโตน โดยเติมและไม่เติมสารสกัดจากยีสต์ พบว่าในสูตรอาหารที่มีแต่ไนโตรเจนอนินทรีย์ดังกล่าวข้างต้นเป็นแหล่งไนโตรเจนอย่างเดียว จะไม่มีการงอกของสปอร์ของ Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงเป็นสายใย ส่วนสปอร์ของ Rhizopus sp. จะไม่งอกในสูตรอาหารที่เติมแอมโมเนียมอซีเตตเป็นแหล่งไนโตรเจนเพียงอย่างเดียว แต่สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่เติมแอมโมเนียม-ซัลเฟต, แอมโมเนียมไนเตรต และแอมโมเนียมซีเตรตได้ แต่จะให้เซลที่ถูกตรึงที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งต่ำ ส่วนในสูตรอาหารที่มีแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์และสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน พบว่าสปอร์ของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. จะไม่งอกในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแอมโมเนียมอซีเตตและสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน ดังตารางที่ 3.1 และสูตรอาหารที่เติมแอมโมเนียมซีเตรตและสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน จะให้เซลที่ถูกตรึงที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูงใกล้เคียงกับที่ใช้เปปโตนในสูตรอาหารเติม ดังรูปที่ 3.23, 3.24, 3.25, 3.26 แต่พบว่าเมื่อเติมแอมโมเนียมซีเตรต ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป จะทำให้ลักษณะของเซลที่ถูกตรึงผิดไปจากเดิม กล่าวคือ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงจะไม่มีลักษณะเป็นเม็ดกลม แต่จะให้เซลที่มีลักษณะเป็นสายใยสั้น ๆ เป็นฝุย ส่วน Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงจะมีลักษณะเป็นเม็ดกลมดังเดิม ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงพยายามหาแหล่งไนโตรเจนอื่น ๆ มาใช้แทนการใช้แอมโมเนียมซีเตรตและสารสกัดจากยีสต์ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาแพง และมีผลต่อคุณภาพของเซลที่ถูกตรึง

3.7.2 ผลการหาชนิดของแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เหมาะสม

ผลการเลี้ยงเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในโซเดียมอัลจิเนตชนิด 300 cps. ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 1 ที่แปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนต่อไปนี้คือ รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้า, ทริปโตน, โปรตีโอสเปปโตน, เปปโตน, กากถั่วเหลือง ผงสกัดจากยีสต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แทนเปปโตนและสารสกัดจากยีสต์ในสูตรอาหาร พบว่าเซล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึง ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งไนโตรเจน จะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูงสุด รองลงมาคือ โปรตีโอสเปปโตน, เปปโตน, ทริปโตน, กากถั่วเหลือง, รำข้าวสาลี และรำข้าวเจ้า

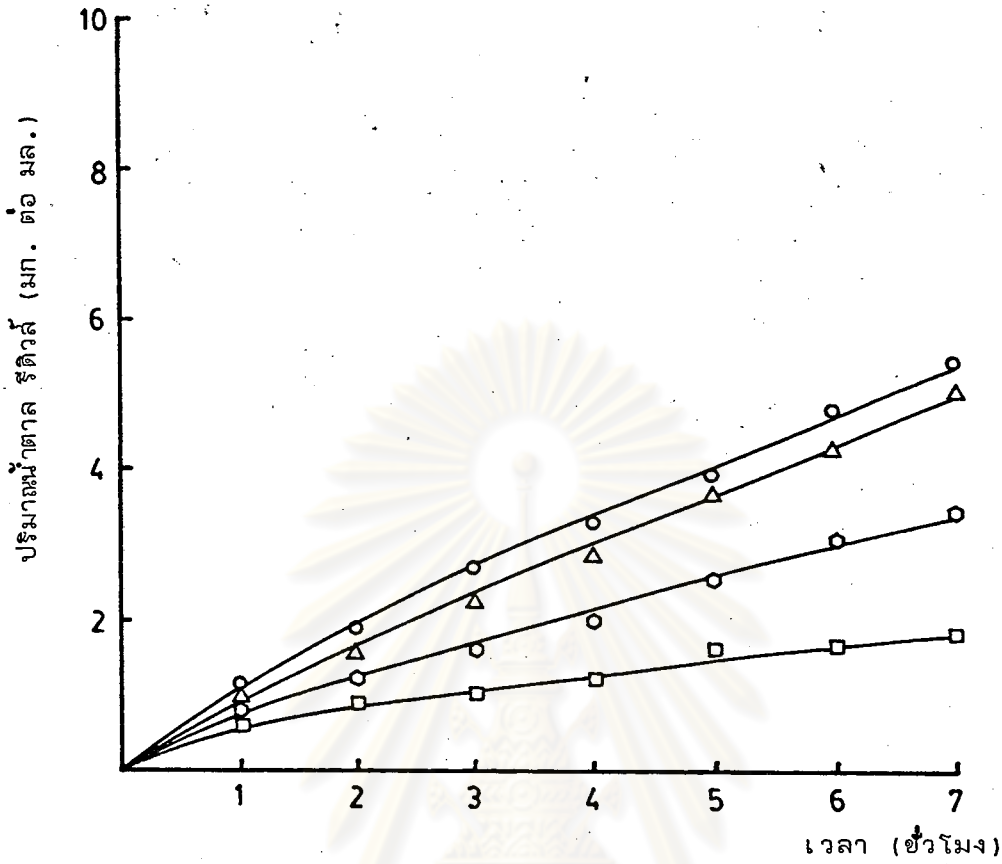
ตารางที่ 3.1 แสดงการงอกของสปอร์ Aspergillus oryzae. และ Rhizopus sp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อแปรผันชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจน

แหล่งอาหารไนโตรเจน	Aspergillus oryzae	Rhizopus sp.
แอมโมเนียมอะซีเตต	-	+
แอมโมเนียมไนเตรต	-	+
แอมโมเนียมซัลเฟต	-	+
แอมโมเนียมซีเตรต	-	+
แอมโมเนียมอะซีเตต + สารสกัดจากยีสต์	-	-
แอมโมเนียมไนเตรต + สารสกัดจากยีสต์	+	+
แอมโมเนียมซัลเฟต + สารสกัดจากยีสต์	+	+
แอมโมเนียมซีเตรต + สารสกัดจากยีสต์	+	+

+ เกิดการงอกของสปอร์

- ไม่เกิดการงอกของสปอร์

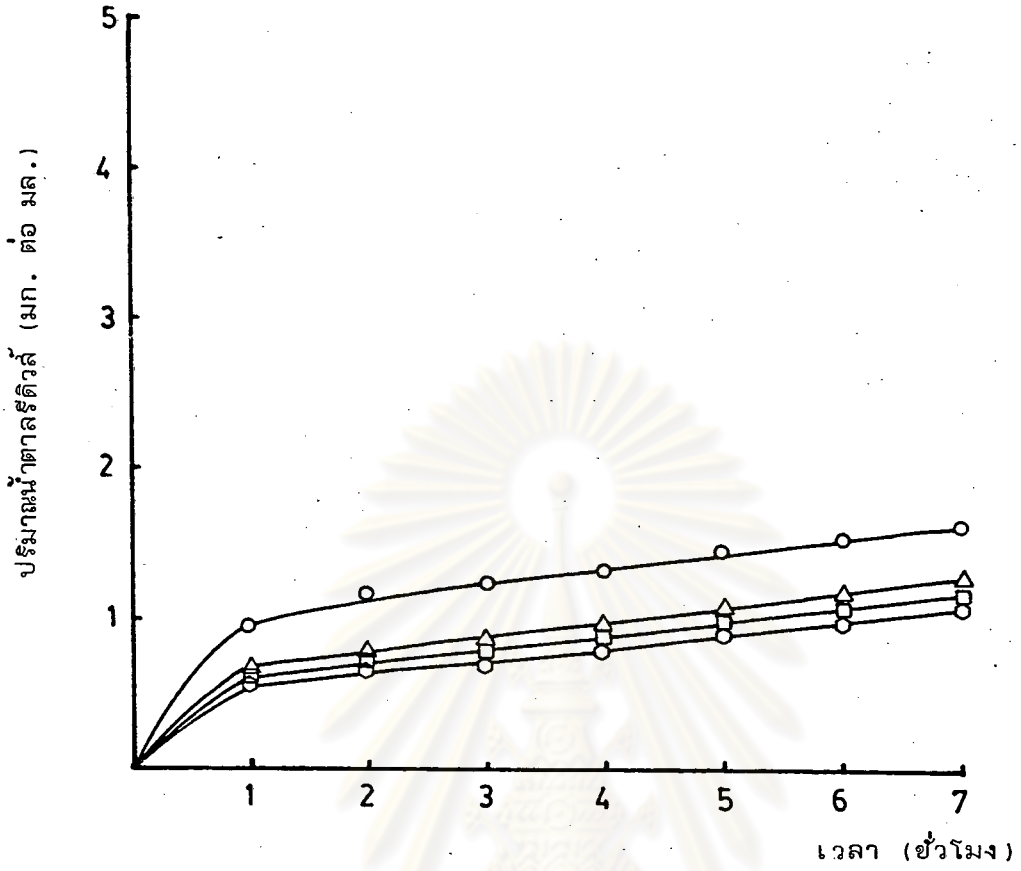
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.23 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เติมลงไปในสูตรอาหาร ดังนี้คือ แอมโมเนียมไนเตรต, แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมซิเตรต และแอมโมเนียมอซิเตต 0.5 เปอร์เซ็นต์แทนเปปโตน โดยเติมและไม่เติมสารสกัดจากยีสต์

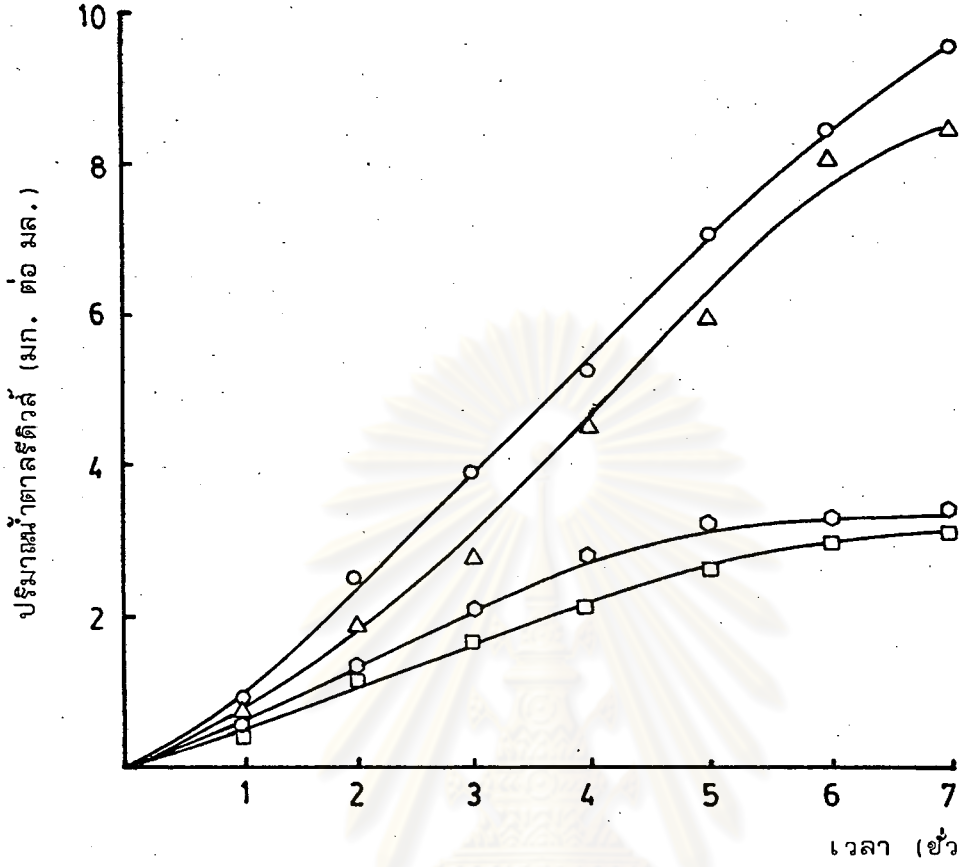
- o เปปโตน + สารสกัดจากยีสต์
- o แอมโมเนียมไนเตรต + สารสกัดจากยีสต์
- □ แอมโมเนียมซัลเฟต + สารสกัดจากยีสต์
- △ แอมโมเนียมซิเตรต + สารสกัดจากยีสต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



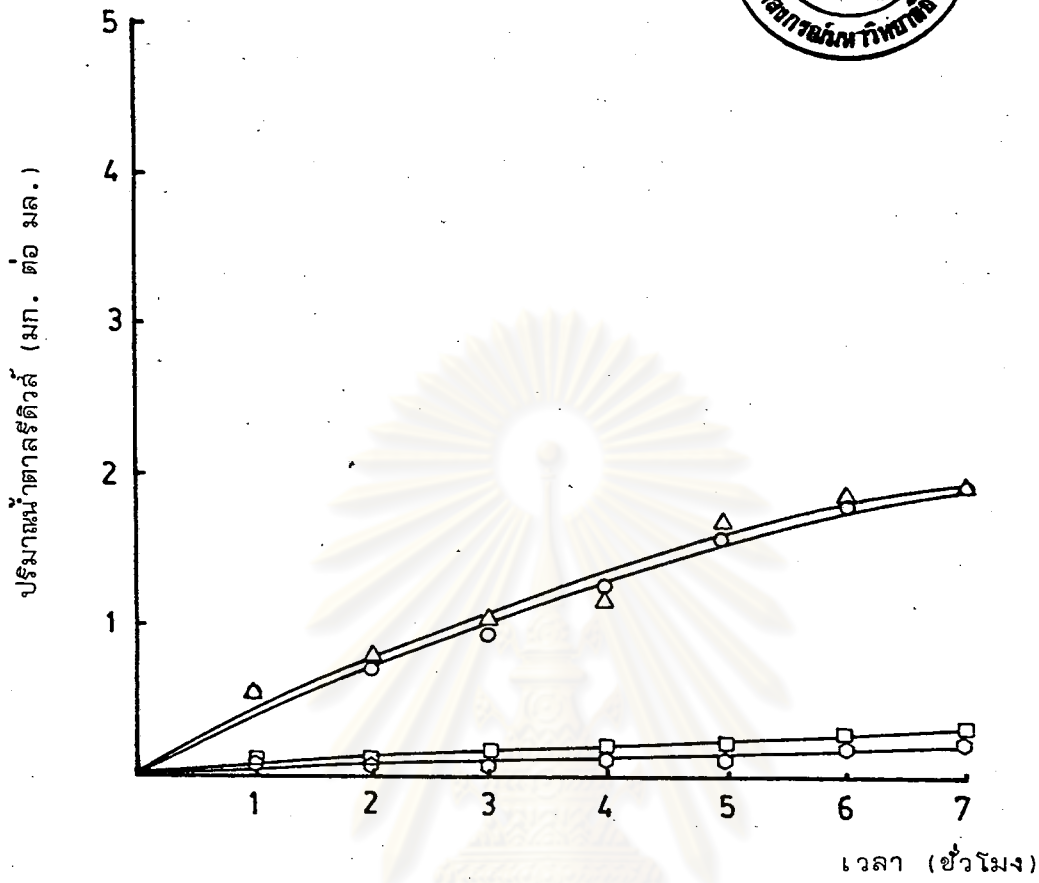
รูปที่ 3.24 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เติมลงไปในสูตรอาหาร ดังนี้คือ แอมโมเนียมไนเตรต, แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมซิเตรต, แอมโมเนียมอซิเตต 0.5 เปอร์เซ็นต์แทนเปปโตน โดยเติมและไม่เติมสารสกัดจากยีสต์

- o เปปโตน + สารสกัดจากยีสต์
- o แอมโมเนียมไนเตรต + สารสกัดจากยีสต์
- □ แอมโมเนียมซัลเฟต + สารสกัดจากยีสต์
- △ แอมโมเนียมซิเตรต + สารสกัดจากยีสต์



รูปที่ 3.25 แสดงประสิทธิภาพของเชล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรฝันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เติมลงไปในสูตรอาหาร ดังนี้คือ แอมโมเนียมไนเตรต, แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมซีเตรต, แอมโมเนียมอซิเตต 0.5 เปอร์เซนต์ แทนเปปโตน โดยเติมและไม่เติมสารสกัดจากยีสต์

- o เปปโตน + สารสกัดจากยีสต์
- o แอมโมเนียมไนเตรต + สารสกัดจากยีสต์
- □ แอมโมเนียมซัลเฟต + สารสกัดจากยีสต์
- △ แอมโมเนียมซีเตรต + สารสกัดจากยีสต์



รูปที่ 3.26 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เติมลงในสูตรอาหาร ดังนี้คือ แอมโมเนียมไนเตรต, แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมซิเตรต, แอมโมเนียมอซิเตต 0.5 เปอร์เซ็นต์ แทนเปปโตน โดยเติมและไม่เติมสารสกัดจากยีสต์

- o เปปโตน + สารสกัดจากยีสต์
- o แอมโมเนียมไนเตรต + สารสกัดจากยีสต์
- □ แอมโมเนียมซัลเฟต + สารสกัดจากยีสต์
- △ แอมโมเนียมซิเตรต + สารสกัดจากยีสต์

ตามลำดับ ดังรูป 3.27, 3.28 สำหรับ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมโปรตีโอส์เปปโตนจะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูงสุด รองลงมาคือ ทริปโตน, กากถั่วเหลือง, เปปโตน, สารสกัดจากยีสต์, รำข้าวสาลี และรำข้าวเจ้า ตามลำดับ ดังรูป 3.29, 3.30 แต่เนื่องจากสารสกัดจากยีสต์, โปรตีโอส์เปปโตน, ทริปโตน เป็นแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่มีราคาแพงมากเมื่อเทียบกับกากถั่วเหลืองซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้ แม้จะให้เซลที่ถูกตรึงที่มีประสิทธิภาพรองลงมา แต่มีราคาถูกกว่ามาก

3.7.3 ผลการหาปริมาณแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เหมาะสม

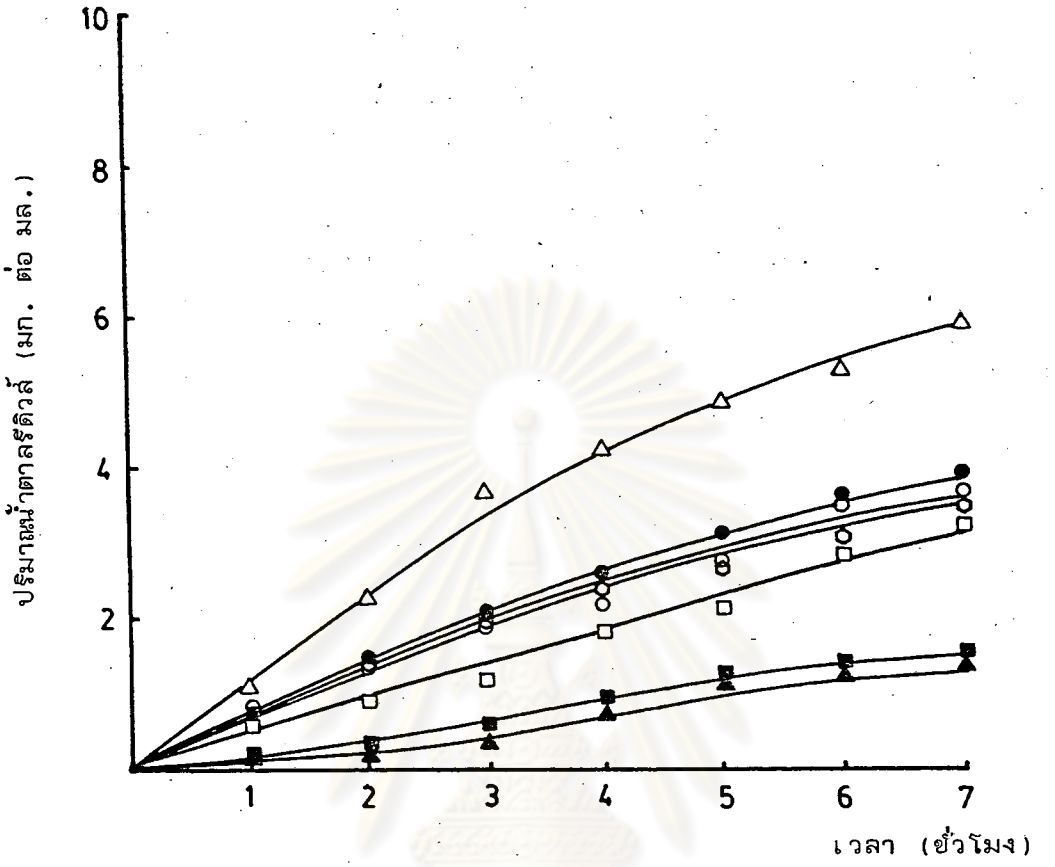
ผลการหาประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในโซเดียมอัลจิเนต และเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน ดังนี้คือ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0 และ 5.0 เปอร์เซนต์ พบว่าเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม 1.0 เปอร์เซนต์กากถั่วเหลือง จะมีความสามารถในการย่อยแป้งสุกสูงสุด และจะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบสูงสุดในอาหารที่เติม 4.0 เปอร์เซนต์ของกากถั่วเหลือง ดังรูป 3.31, 3.32, 3.33, 3.34

3.7.4 ผลการหาปริมาณคาร์บอนที่เหมาะสม

การหาประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน และแปรผันปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนี้คือ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ พบว่าเซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม 4.0 เปอร์เซนต์ แป้งมันสำปะหลังจะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกดีที่สุด ดังรูป 3.35, 3.36, 3.37, 3.38

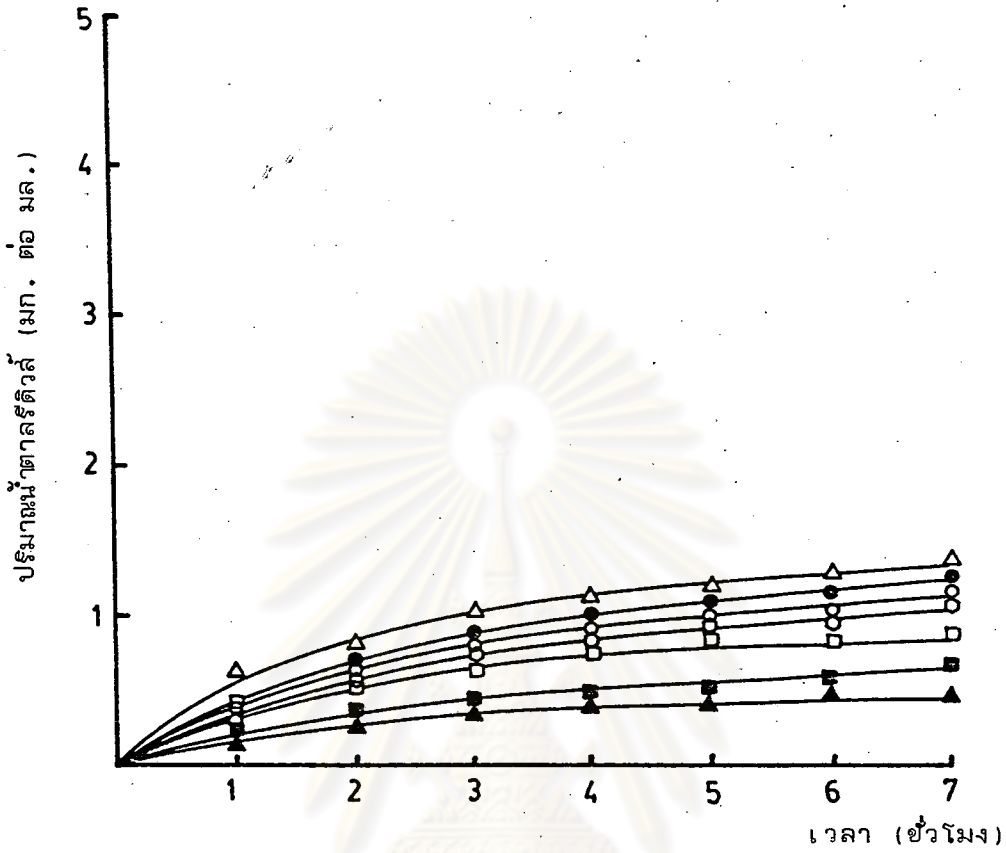
3.7.5 ผลการหาปริมาณไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เหมาะสม

ประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กากถั่วเหลืองเป็นแหล่งไนโตรเจน และเติมแอมโมเนียมซีเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจนร่วมโดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซีเตรตดังนี้ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ พบว่าเซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp.



รูปที่ 3.27 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เติมลงในสูตรอาหาร ดังนี้คือ รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้า, ทริปโตน, โปรตีโอสเปปโตน, เปปโตน, กากถั่วเหลือง, สารสกัดจากยีสต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แทนเปปโตนและสารสกัดจากยีสต์

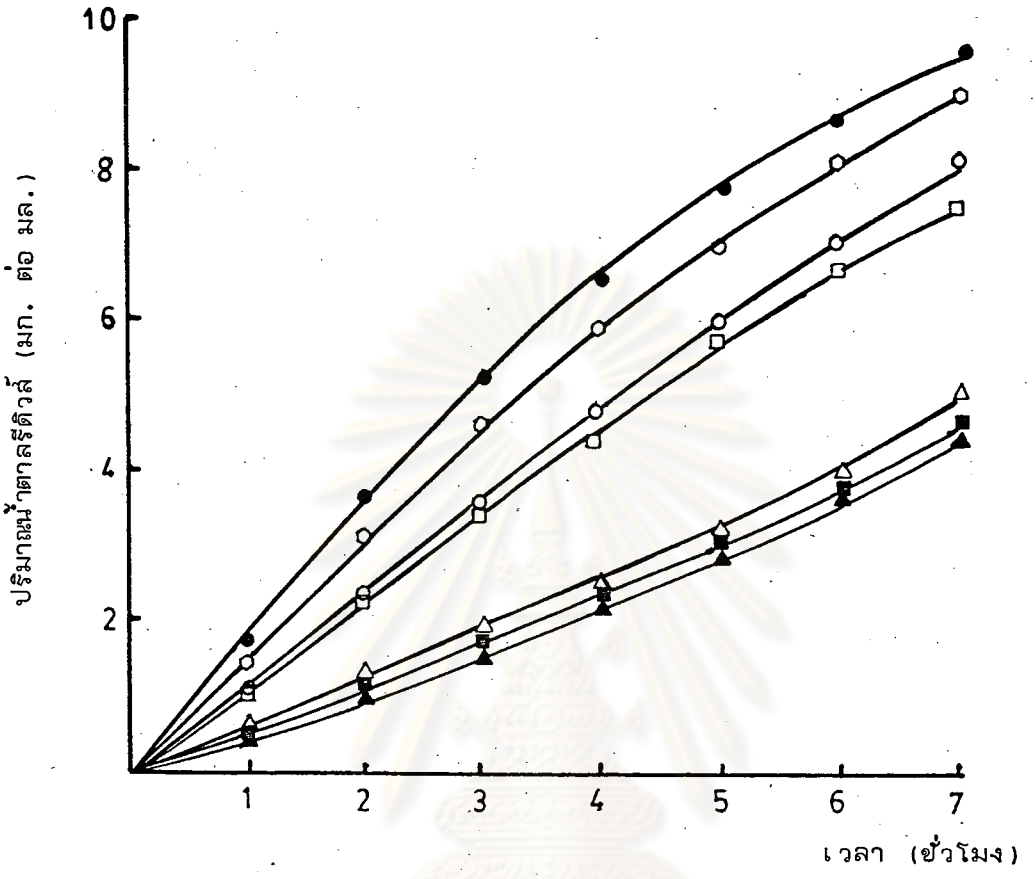
- ● โปรตีโอสเปปโตน
- ○ เปปโตน
- ■ รำข้าวสาลี
- □ กากถั่วเหลือง
- ▲ รำข้าวเจ้า
- △ สารสกัดจากยีสต์
- ○ ทริปโตน



รูปที่ 3.28 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เติมลงในสูตรอาหาร ดังนี้คือ รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้า, ทริปโตน, โปรตีโอสเปปโตน, เปปโตน, กากถั่วเหลือง, สารสกัดจากยีสต์ 0.5 เปอร์เซนต์ แทนเปปโตนและสารสกัดจากยีสต์

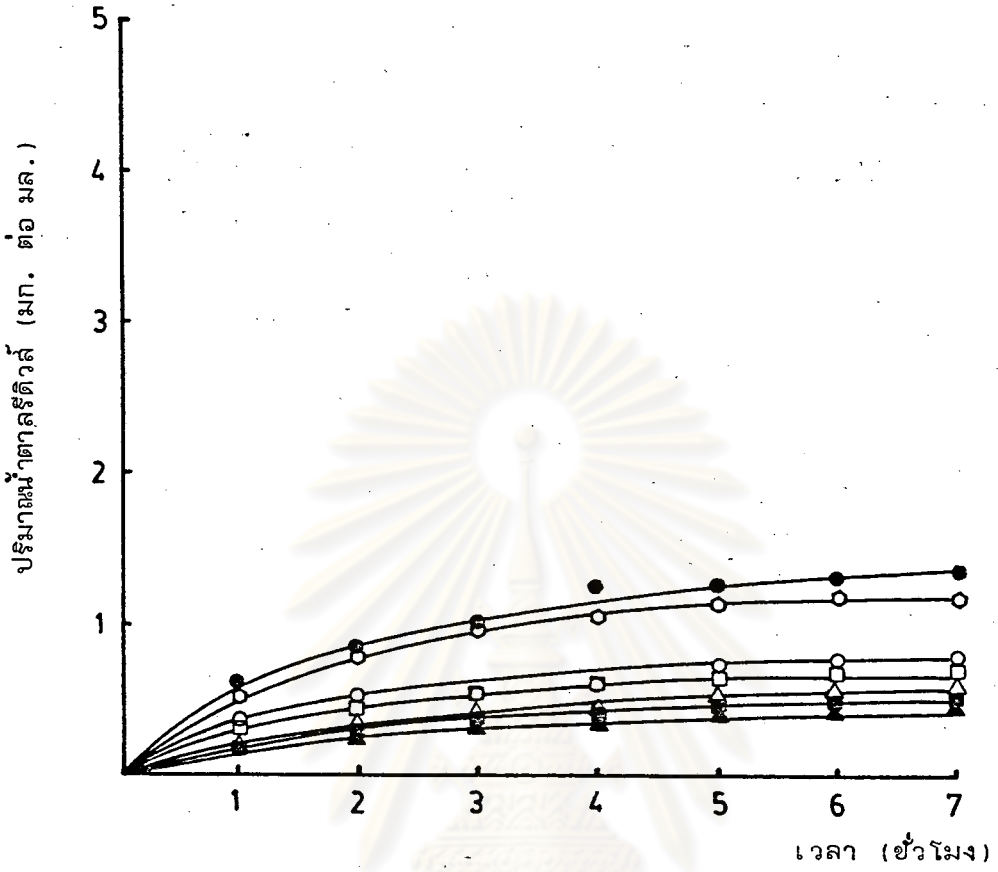
- ● โปรตีโอสเปปโตน
- ■ รำข้าวสาลี
- ▲ รำข้าวเจ้า
- o ทริปโตน
- o เปปโตน
- □ กากถั่วเหลือง
- △ สารสกัดจากยีสต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



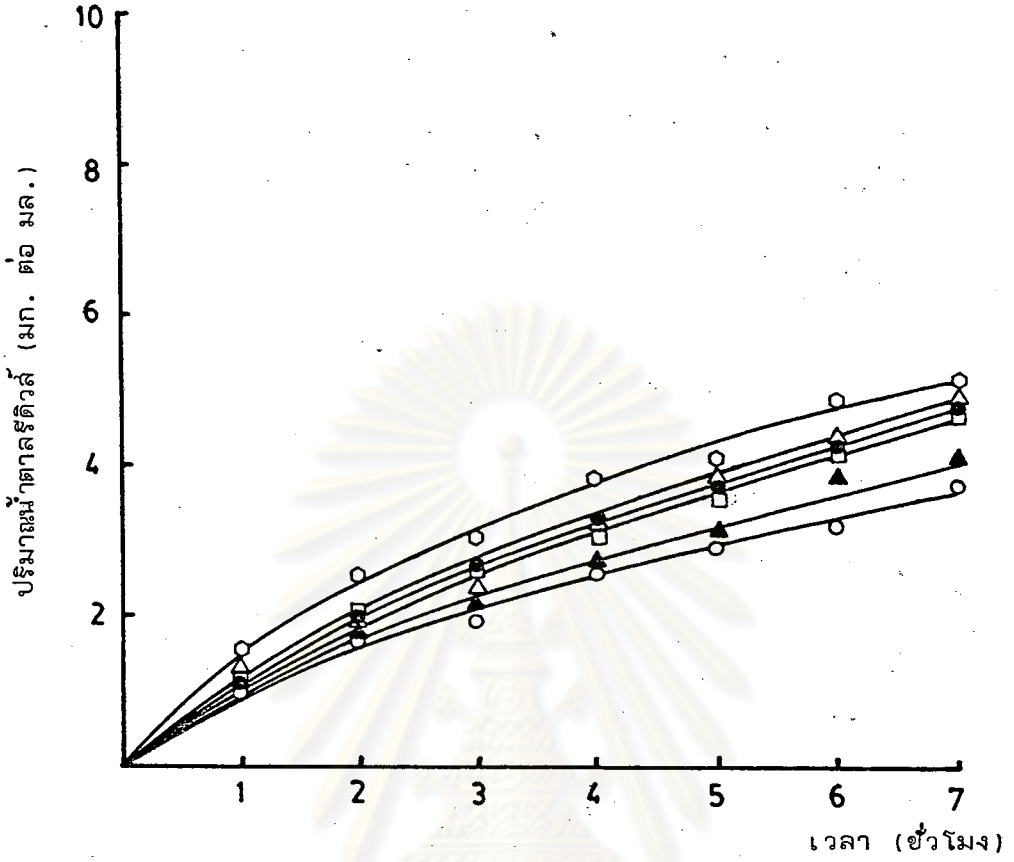
รูปที่ 3.29 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เติมลงในสูตรอาหาร ดังนี้คือ รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้า, ทริปโตน, โปรตีโอสเปปโตน, เปปโตน, กากถั่วเหลือง, สารสกัดจากยีสต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แทนเปปโตนและสารสกัดจากยีสต์

- ● โปรตีโอสเปปโตน
- ■ รำข้าวสาลี
- ▲ รำข้าวเจ้า
- o ทริปโตน
- o เปปโตน
- □ กากถั่วเหลือง
- △ สารสกัดจากยีสต์



รูปที่ 3.30 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันชนิดของแหล่งไนโตรเจนอินทรีย์ที่เติมลงในสูตรอาหาร ดังนี้คือ รำข้าวสาลี, รำข้าวเจ้า, ทริปโตน, โปรตีโอสเปปโตน, เปปโตน, กากถั่วเหลือง, สารสกัดจากยีสต์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แทนเปปโตนและสารสกัดจากยีสต์

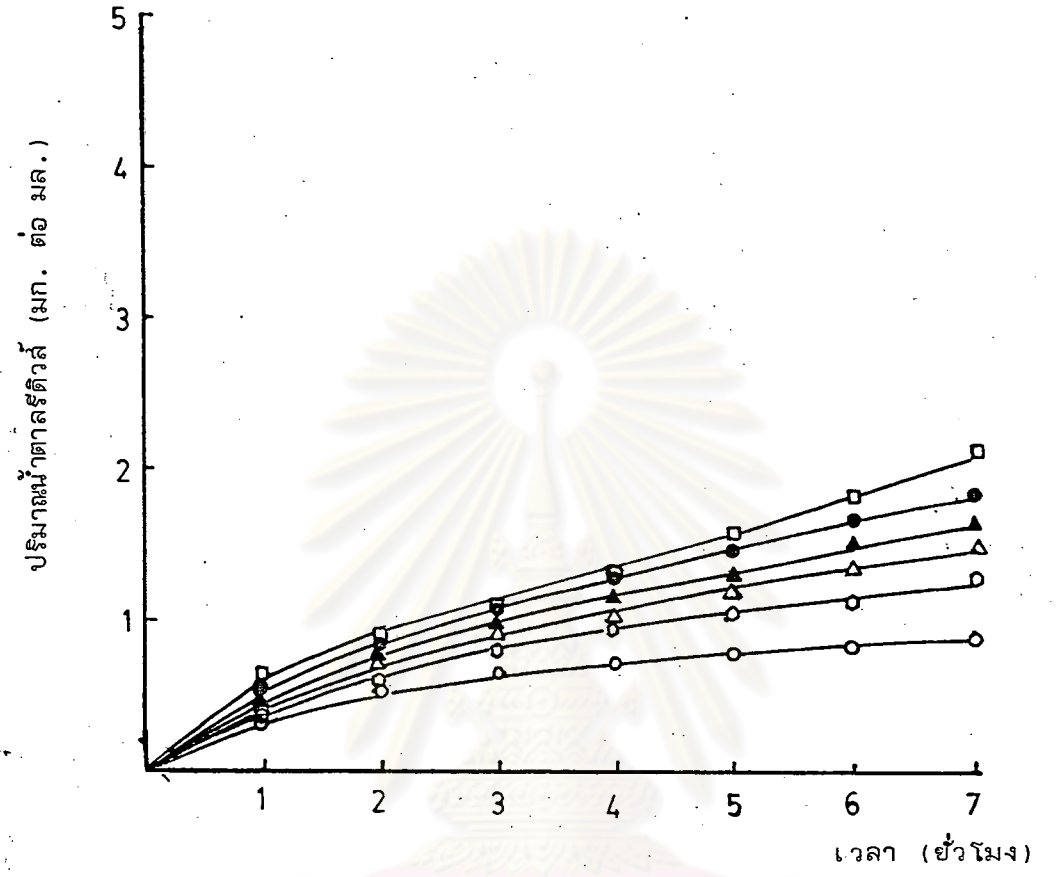
- ● โปรตีโอสเปปโตน
- ○ เปปโตน
- ■ รำข้าวสาลี
- □ กากถั่วเหลือง
- ▲ รำข้าวเจ้า
- △ สารสกัดจากยีสต์
- ○ ทริปโตน



รูปที่ 3.31 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- ○ กากถั่วเหลือง 0.5 เปอร์เซ็นต์
- ○ กากถั่วเหลือง 1.0 เปอร์เซ็นต์
- △ กากถั่วเหลือง 2.0 เปอร์เซ็นต์
- ● กากถั่วเหลือง 3.0 เปอร์เซ็นต์
- □ กากถั่วเหลือง 4.0 เปอร์เซ็นต์
- ▲ กากถั่วเหลือง 5.0 เปอร์เซ็นต์

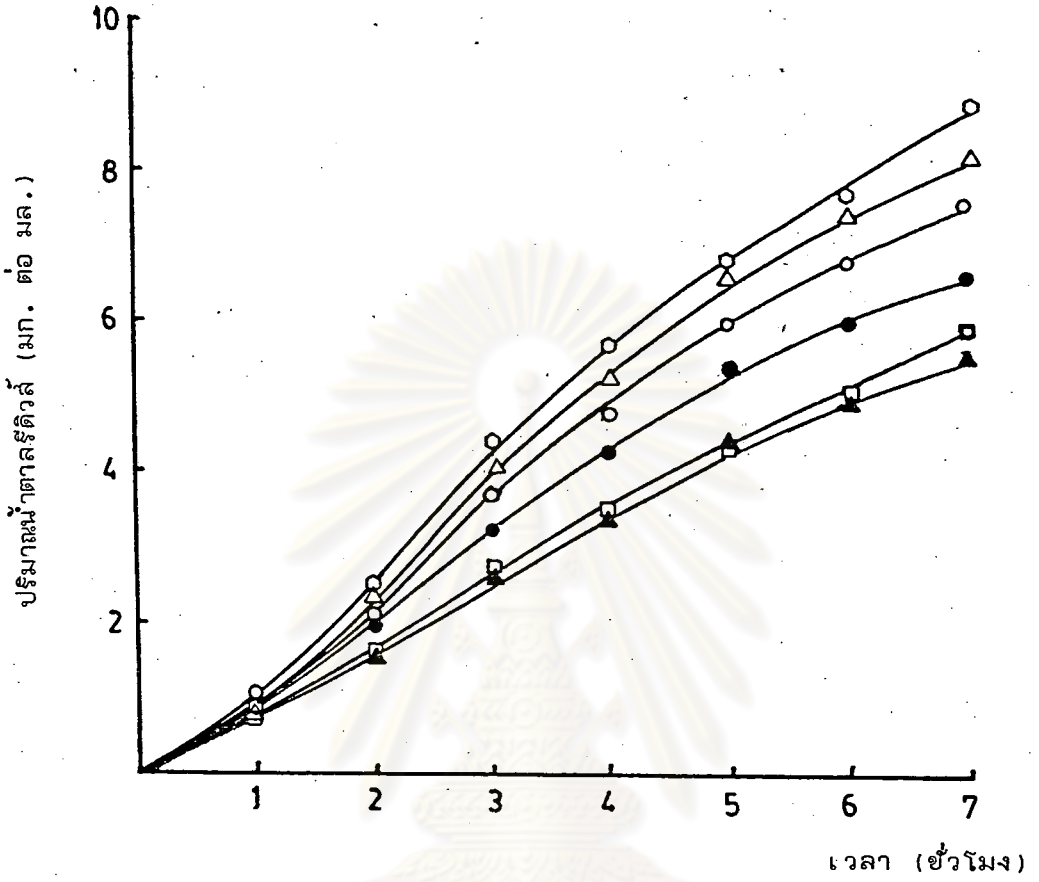
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.32 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

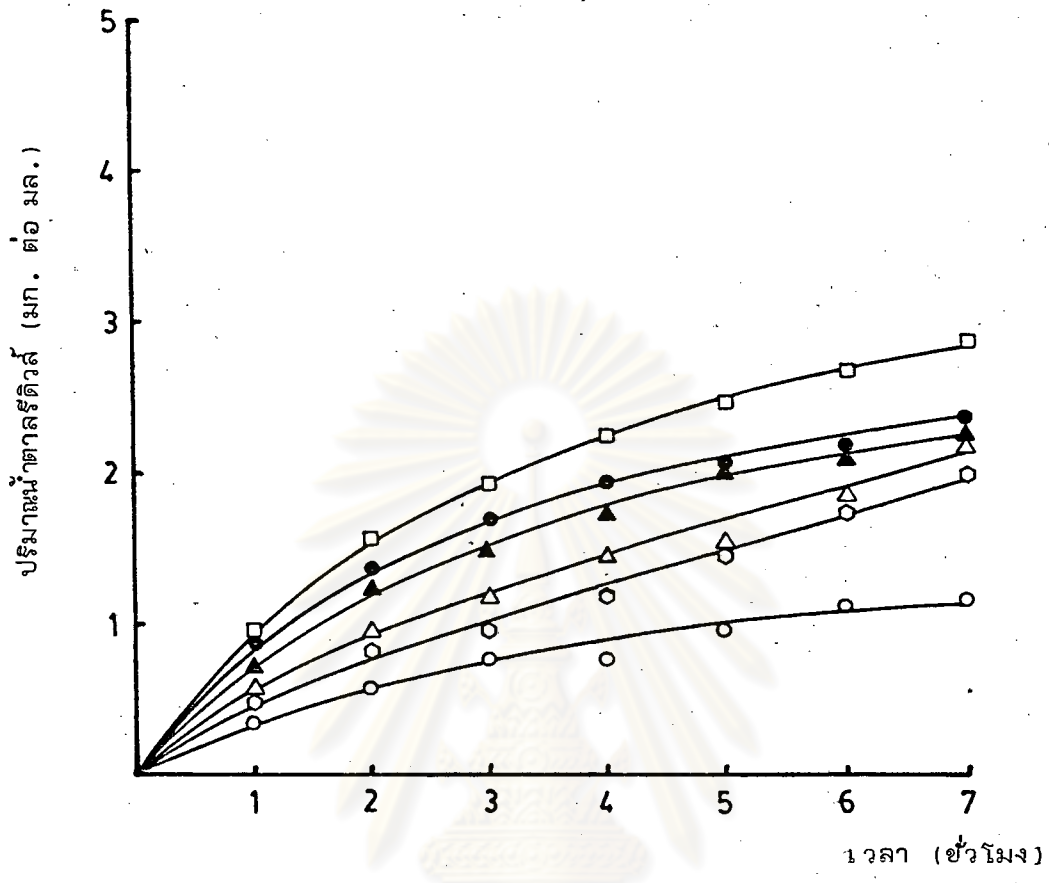
- ○ กากถั่วเหลือง 0.5 เปอร์เซ็นต์
- ○ กากถั่วเหลือง 1.0 เปอร์เซ็นต์
- △ กากถั่วเหลือง 2.0 เปอร์เซ็นต์
- ● กากถั่วเหลือง 3.0 เปอร์เซ็นต์
- □ กากถั่วเหลือง 4.0 เปอร์เซ็นต์
- ▲ กากถั่วเหลือง 5.0 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.33 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

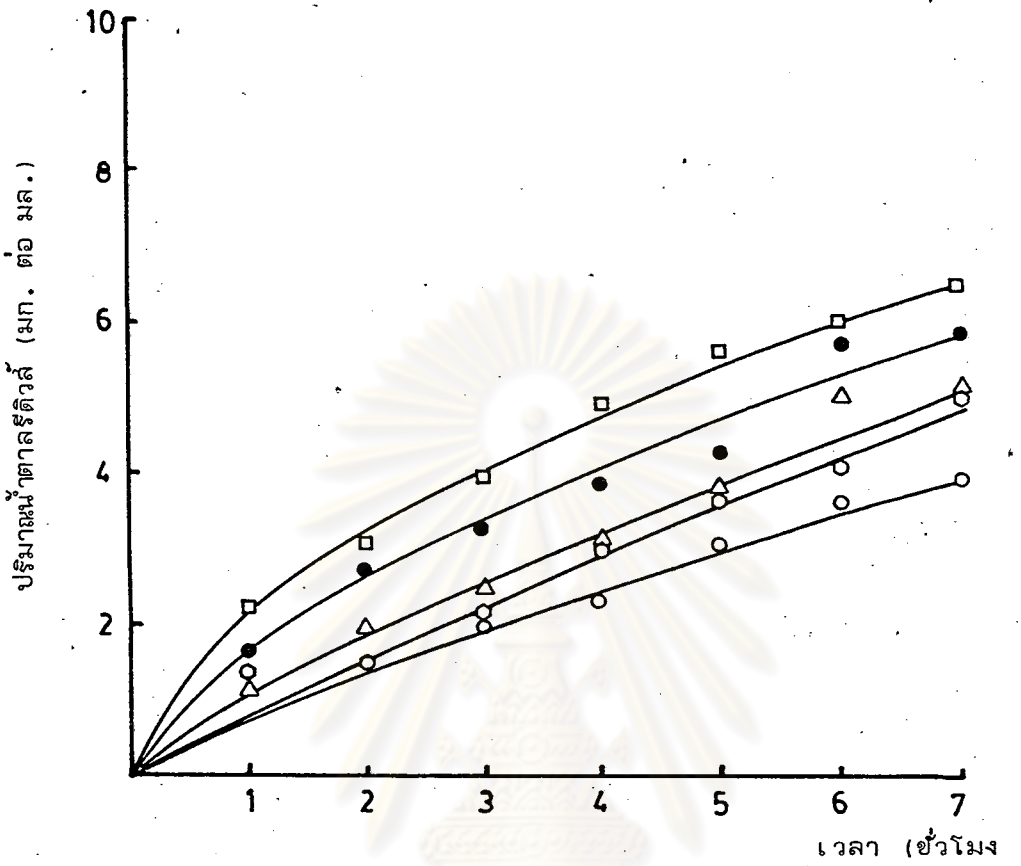
- ○ กากถั่วเหลือง 0.5 เปอร์เซ็นต์
- ○ กากถั่วเหลือง 1.0 เปอร์เซ็นต์
- △ กากถั่วเหลือง 2.0 เปอร์เซ็นต์
- ● กากถั่วเหลือง 3.0 เปอร์เซ็นต์
- □ กากถั่วเหลือง 4.0 เปอร์เซ็นต์
- ▲ กากถั่วเหลือง 5.0 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 3.34 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณกากถั่วเหลืองที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนดังนี้ 0.5, 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- ○ กากถั่วเหลือง 0.5 เปอร์เซ็นต์
- ○ กากถั่วเหลือง 1.0 เปอร์เซ็นต์
- △ กากถั่วเหลือง 2.0 เปอร์เซ็นต์
- ● กากถั่วเหลือง 3.0 เปอร์เซ็นต์
- □ กากถั่วเหลือง 4.0 เปอร์เซ็นต์
- ▲ กากถั่วเหลือง 5.0 เปอร์เซ็นต์

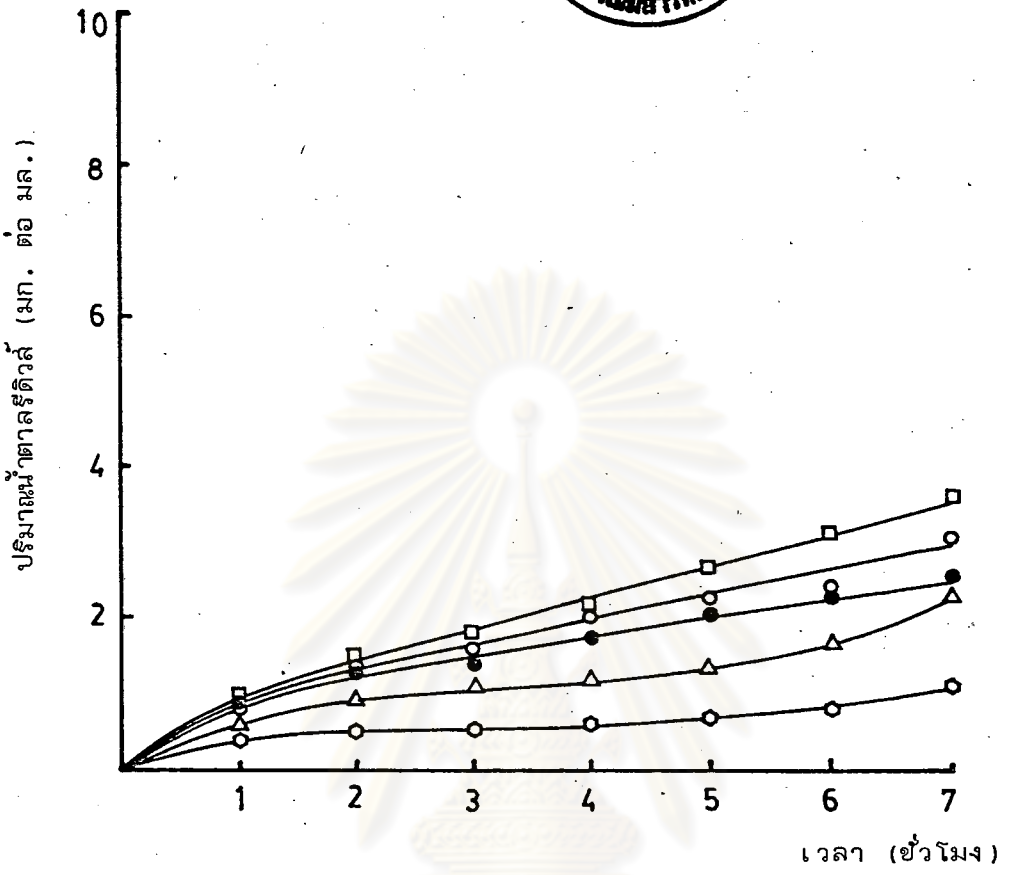
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.35 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนดังนี้ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

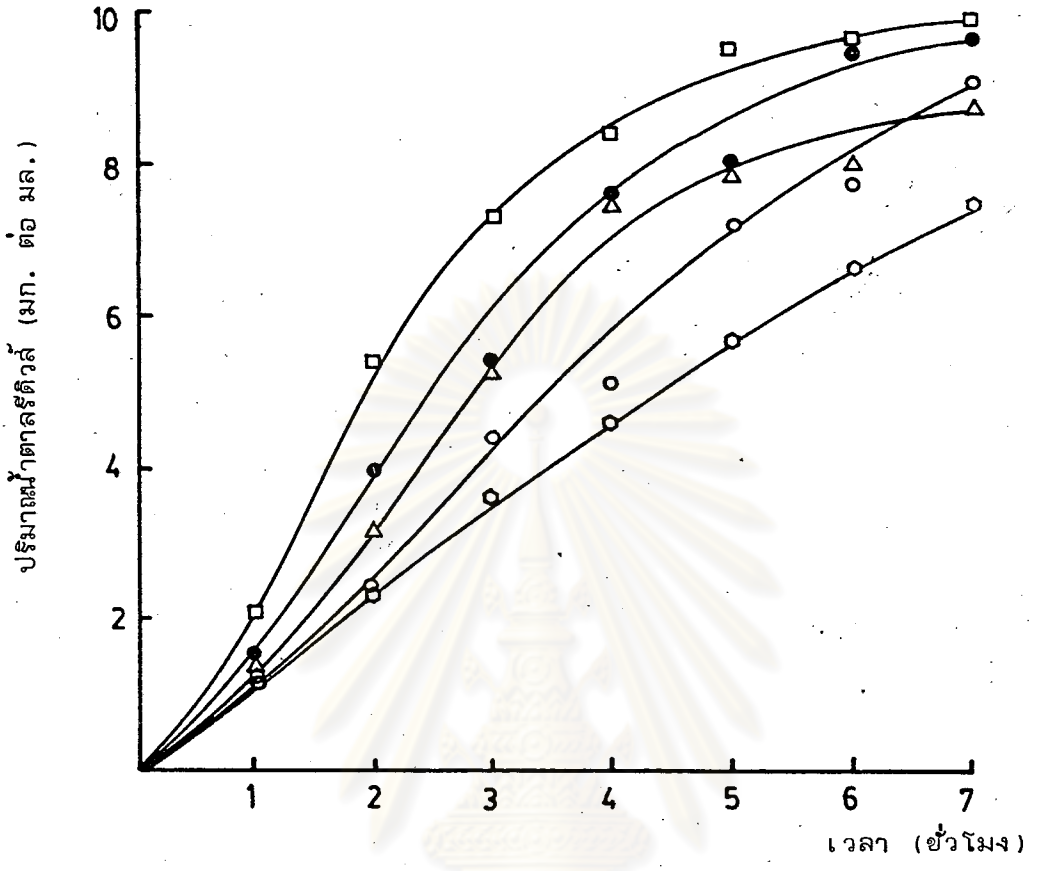
- o แป้งมันสำปะหลัง 1.0 เปอร์เซ็นต์
- △ แป้งมันสำปะหลัง 2.0 เปอร์เซ็นต์
- ● แป้งมันสำปะหลัง 3.0 เปอร์เซ็นต์
- □ แป้งมันสำปะหลัง 4.0 เปอร์เซ็นต์
- o แป้งมันสำปะหลัง 5.0 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.36 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนดังนี้ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

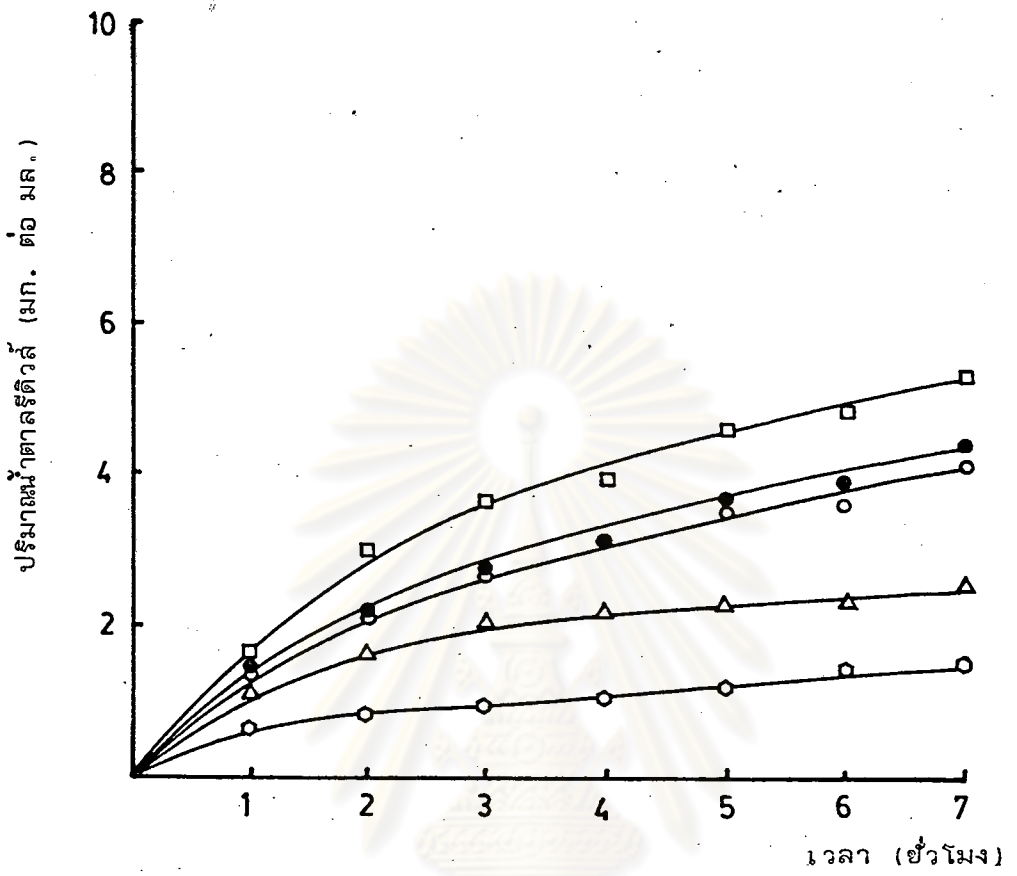
- o แป้งมันสำปะหลัง 1.0 เปอร์เซ็นต์
- △ แป้งมันสำปะหลัง 2.0 เปอร์เซ็นต์
- ● แป้งมันสำปะหลัง 3.0 เปอร์เซ็นต์
- □ แป้งมันสำปะหลัง 4.0 เปอร์เซ็นต์
- o แป้งมันสำปะหลัง 5.0 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 3.37 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนดังนี้ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- o แป้งมันสำปะหลัง 1.0 เปอร์เซนต์
- △ แป้งมันสำปะหลัง 2.0 เปอร์เซนต์
- ● แป้งมันสำปะหลัง 3.0 เปอร์เซนต์
- □ แป้งมันสำปะหลัง 4.0 เปอร์เซนต์
- o แป้งมันสำปะหลัง 5.0 เปอร์เซนต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.38 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณแป้งมันสำปะหลังที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ดังนี้ 1.0, 2.0, 3.0, 4.0, 5.0 เปอร์เซนต์ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- ○ แป้งมันสำปะหลัง 1.0 เปอร์เซนต์
- △ แป้งมันสำปะหลัง 2.0 เปอร์เซนต์
- ● แป้งมันสำปะหลัง 3.0 เปอร์เซนต์
- □ แป้งมันสำปะหลัง 4.0 เปอร์เซนต์
- ○ แป้งมันสำปะหลัง 5.0 เปอร์เซนต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม 0.3 เปอร์เซนต์แอมโมเนียมซิเตรต จะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูงสุด ดังรูป 3.39, 3.40, 3.41, 3.42

3.7.6 ผลการหาปริมาณโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่เหมาะสม

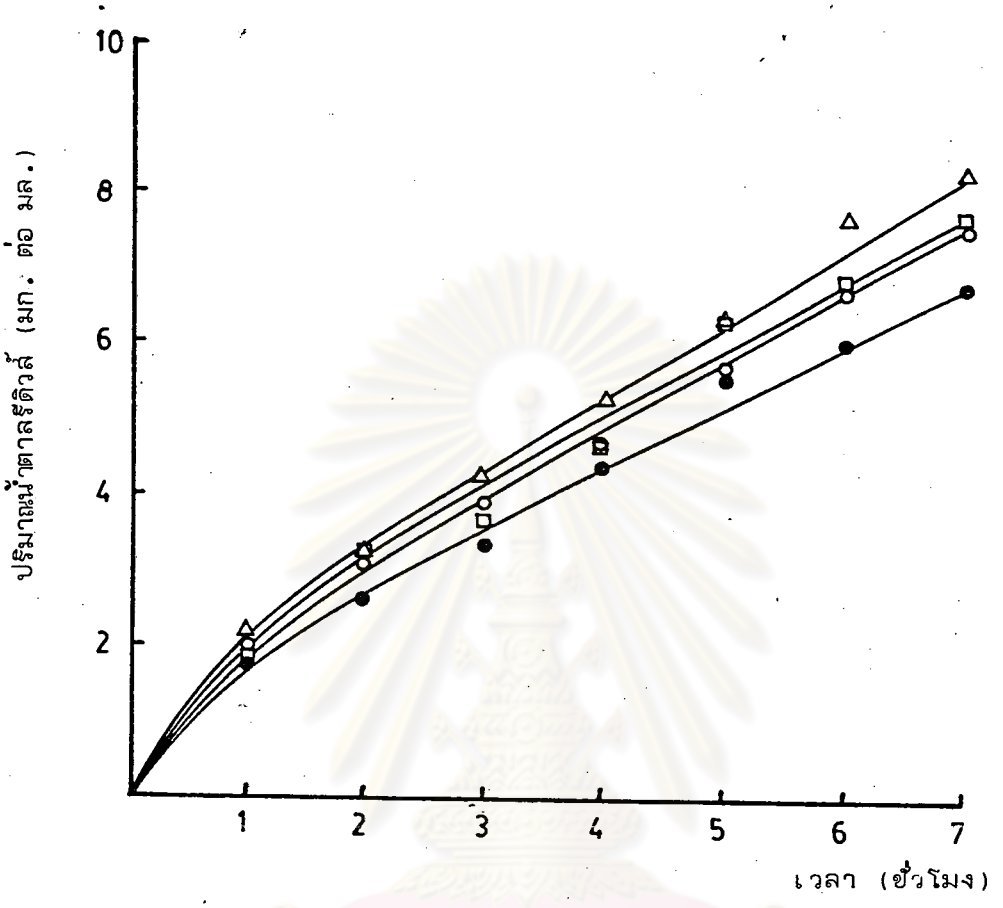
ผลการหาประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกากถั่วเหลืองและแอมโมเนียมซิเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยแปรผันปริมาณโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ พบว่าเซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติม 0.3 เปอร์เซนต์ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตจะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูงสุด ดังรูป 3.43, 3.44, 3.45, 3.46

3.7.7 ผลการหาปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟตที่เหมาะสม

ผลการหาประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกากถั่วเหลืองและแอมโมเนียมซิเตรตเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ดังนี้คือ 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ พบว่าเซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 เปอร์เซนต์ จะมีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกสูงสุด ดังรูป 3.47, 3.48, 3.49, 3.50

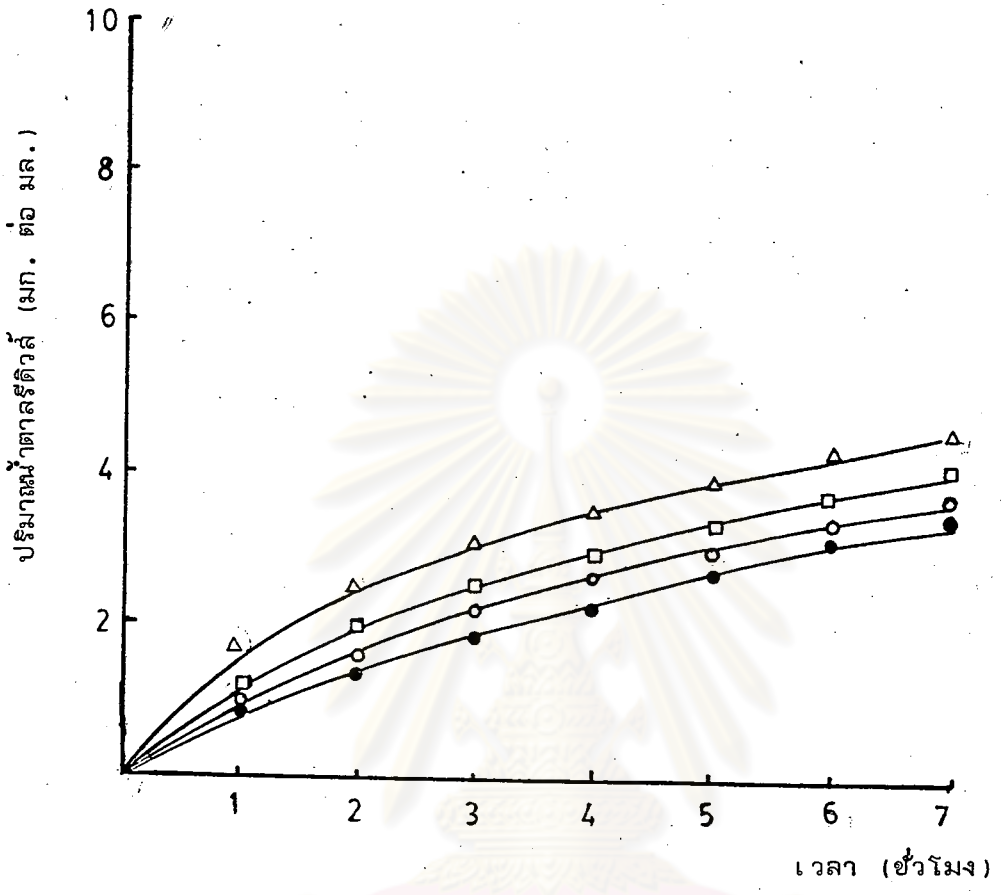
3.7.8 ผลการหาความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

ผลการหาประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง โดยแปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้คือ 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ตามลำดับ พบว่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้น (initial pH) ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมสำหรับ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. เพื่อให้ได้เซลที่ถูกตรึงที่มีความสามารถในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกคือ 5.5 และ 4.0 ตามลำดับ ดังรูป 3.51, 3.52, 3.53, 3.54



รูปที่ 3.39 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซิเตรตดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

● แอมโมเนียมซิเตรต 0 เปอร์เซ็นต์
○ แอมโมเนียมซิเตรต 0.1 เปอร์เซ็นต์
△ แอมโมเนียมซิเตรต 0.3 เปอร์เซ็นต์
□ แอมโมเนียมซิเตรต 0.5 เปอร์เซ็นต์



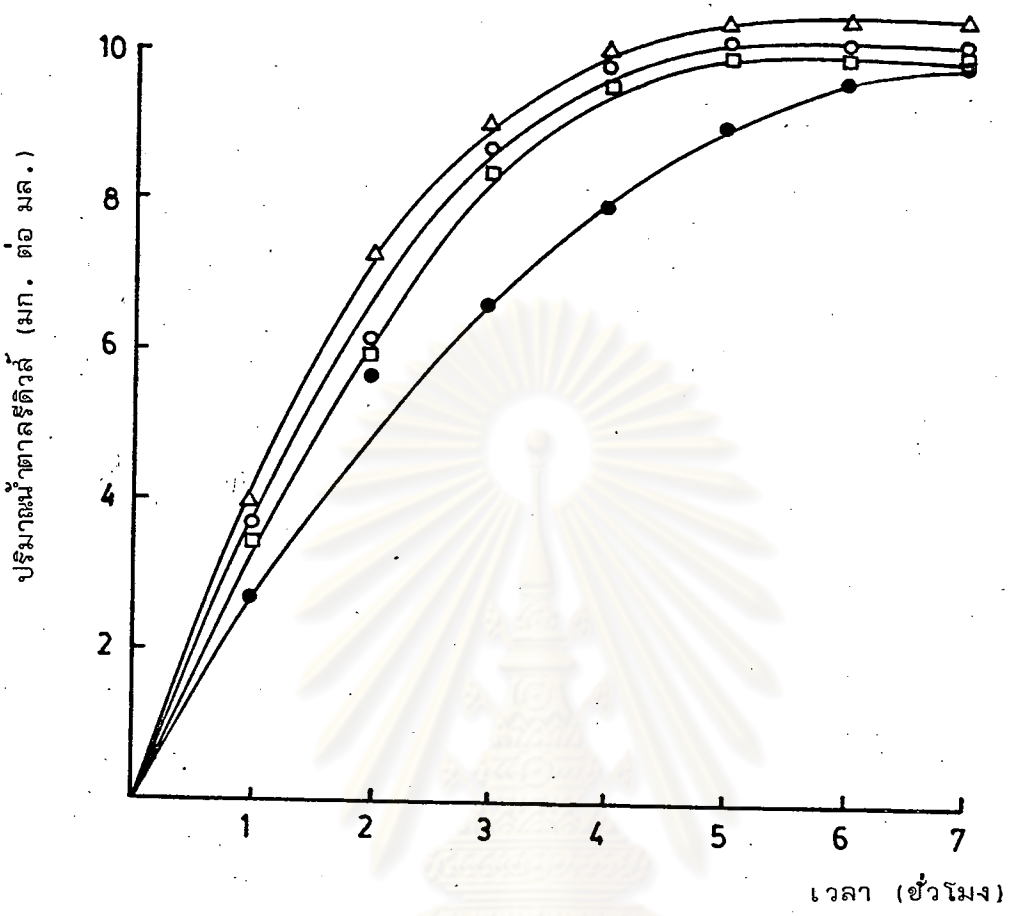
รูปที่ 3.40 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซิเตรต ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

● แอมโมเนียมซิเตรต 0 เปอร์เซ็นต์

○ แอมโมเนียมซิเตรต 0.1 เปอร์เซ็นต์

△ แอมโมเนียมซิเตรต 0.3 เปอร์เซ็นต์

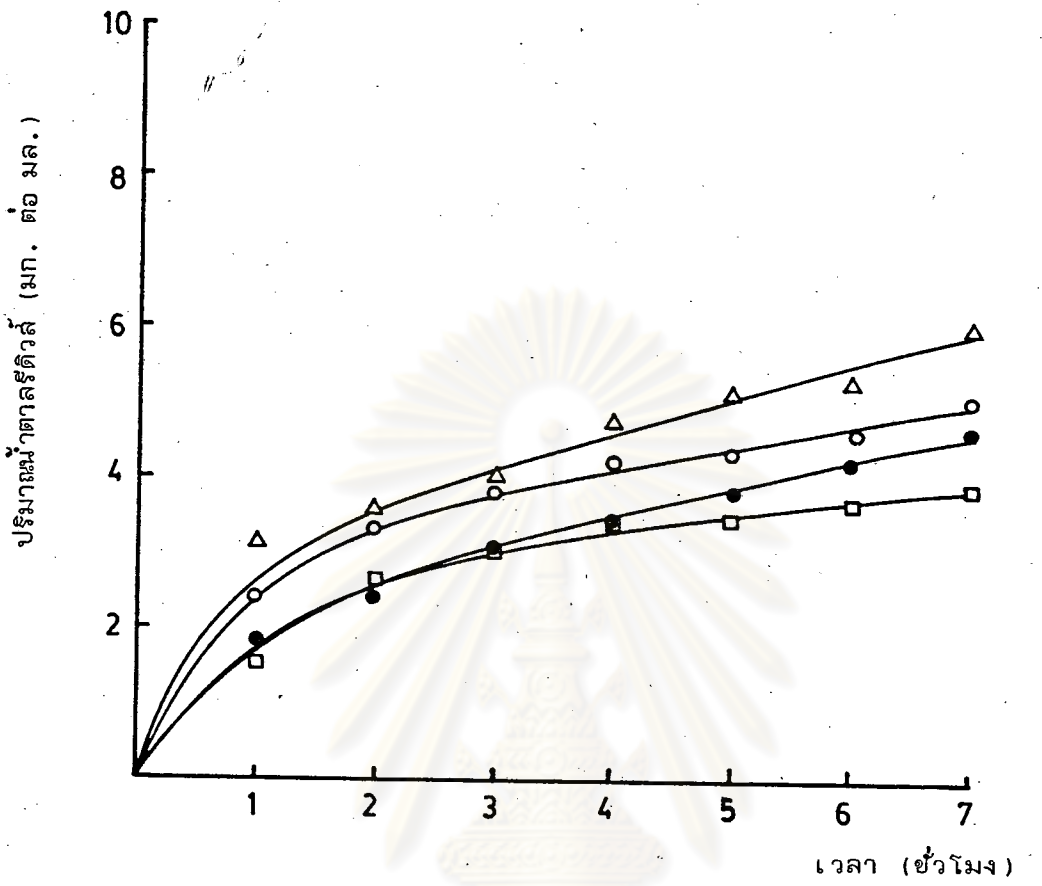
□ แอมโมเนียมซิเตรต 0.5 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 3.41 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซิเตรตดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

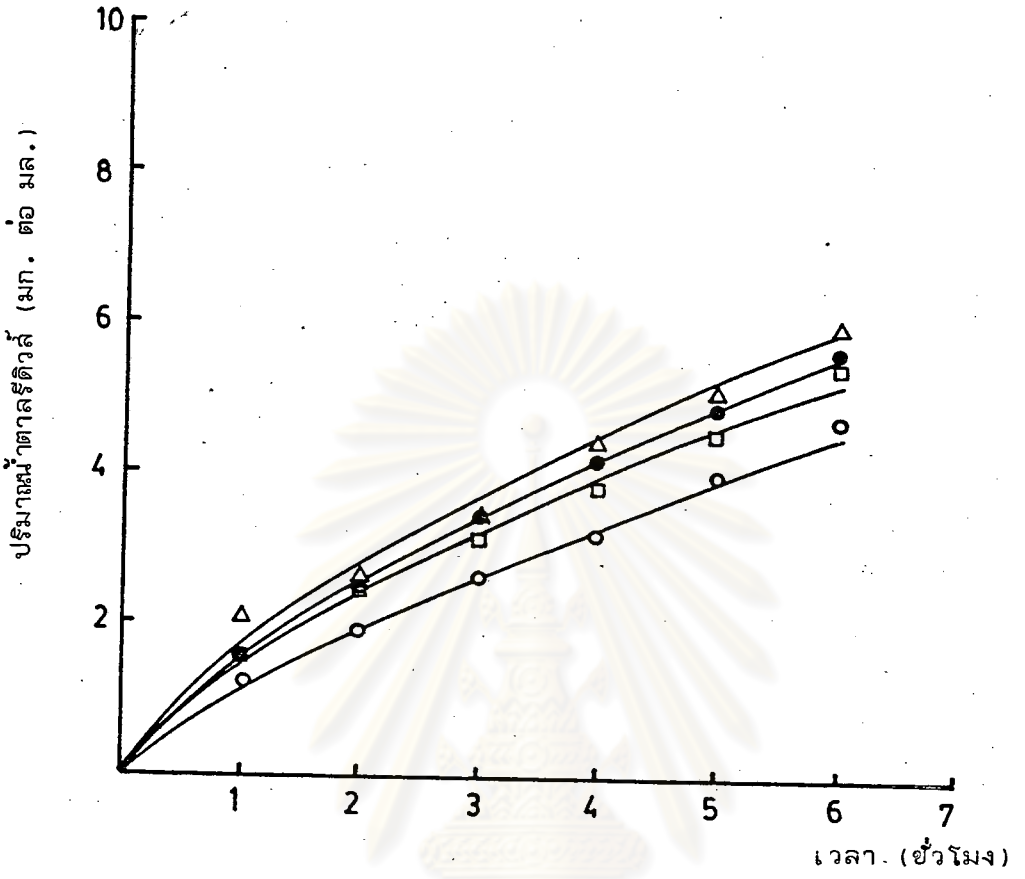
- ● แอมโมเนียมซิเตรต 0 เปอร์เซ็นต์
- ○ แอมโมเนียมซิเตรต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- △ แอมโมเนียมซิเตรต 0.3 เปอร์เซ็นต์
- □ แอมโมเนียมซิเตรต 0.5 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



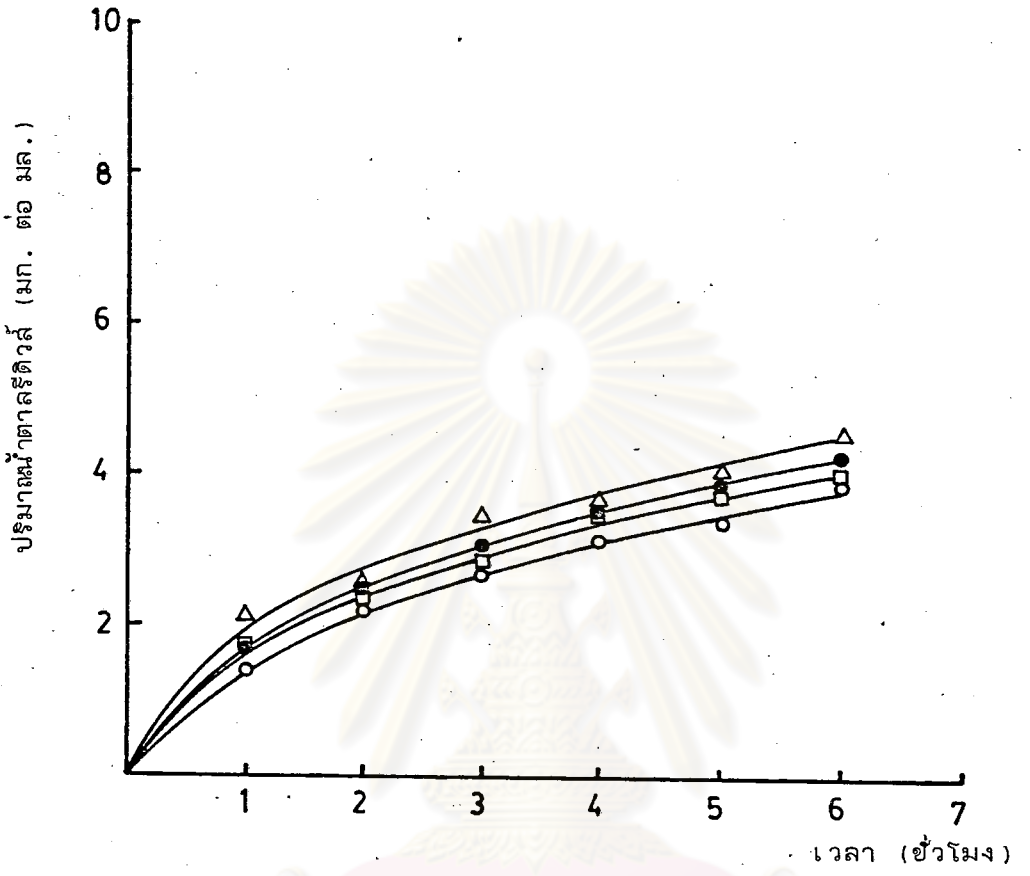
รูปที่ 3.42 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณแอมโมเนียมซิเตรต ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

● แอมโมเนียมซิเตรต 0 เปอร์เซ็นต์
○ แอมโมเนียมซิเตรต 0.1 เปอร์เซ็นต์
△ แอมโมเนียมซิเตรต 0.3 เปอร์เซ็นต์
□ แอมโมเนียมซิเตรต 0.5 เปอร์เซ็นต์



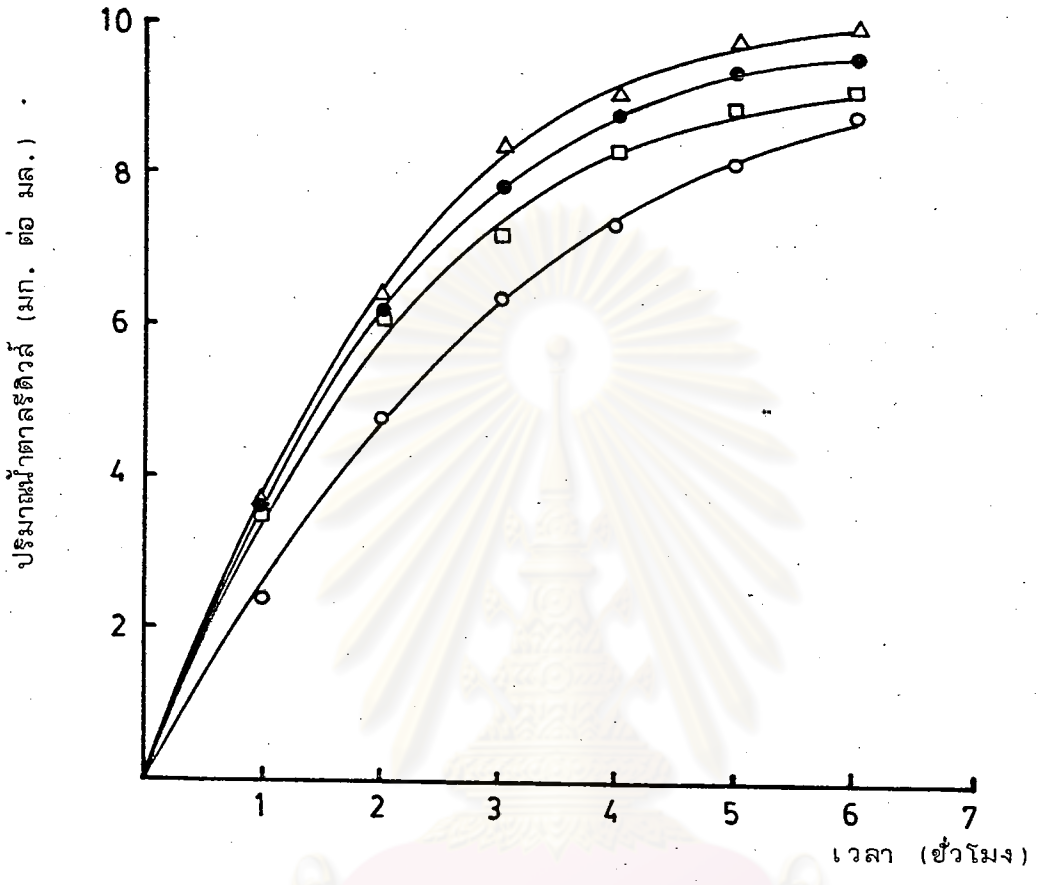
รูปที่ 3.43 แสดงประสิทธิภาพของเชล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเชลที่ถูกตรึง

- ○ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0 เปอร์เซนต์
- ● โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซนต์
- △ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซนต์
- □ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 เปอร์เซนต์



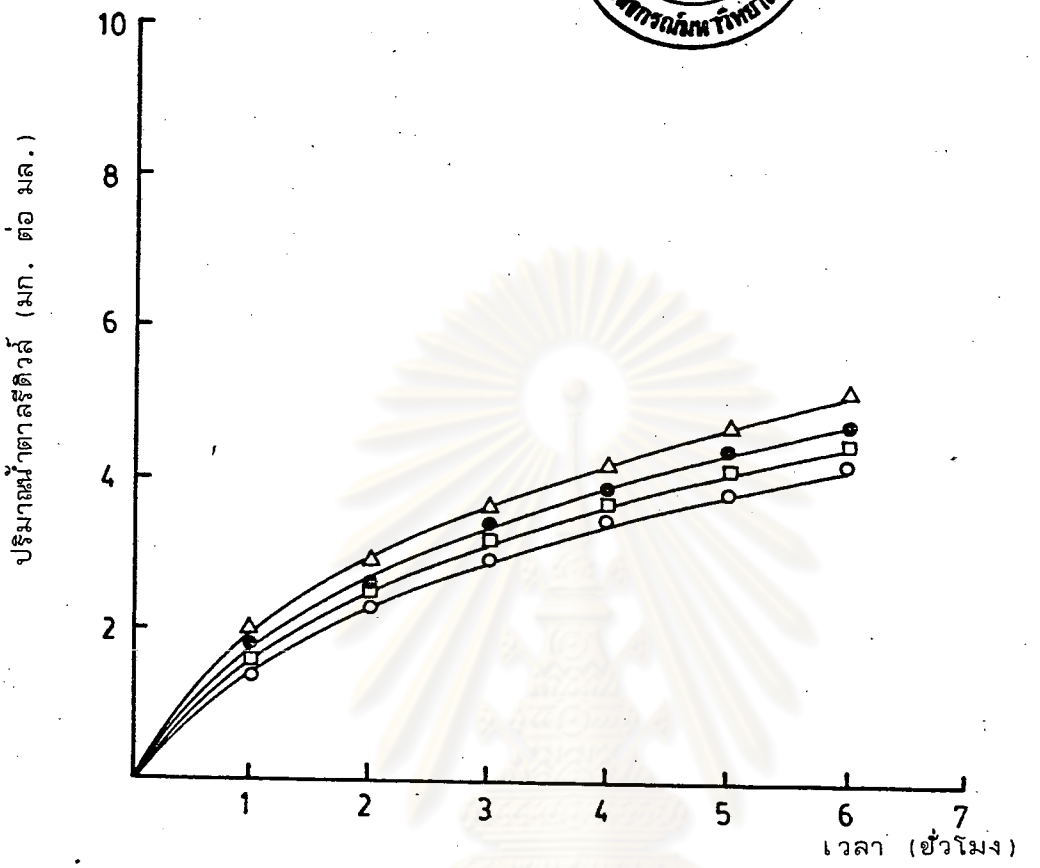
รูปที่ 3.44 แสดงประสิทธิภาพของเชล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 2.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเชลที่ถูกตรึง

- ○ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0 เปอร์เซ็นต์
- ● โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- △ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์
- □ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 เปอร์เซ็นต์



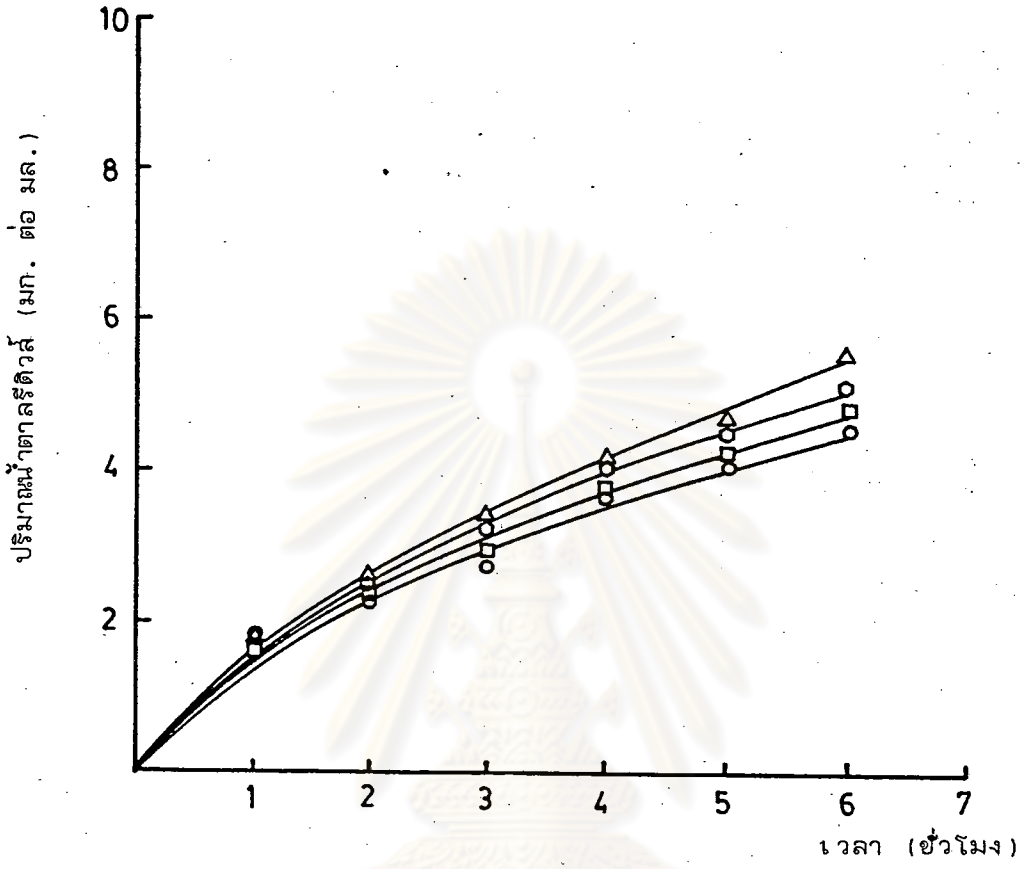
รูปที่ 3.45 แสดงประสิทธิภาพของเชื้อ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อที่ถูกตรึง

- ○ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0 เปอร์เซ็นต์
- ● โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- △ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์
- □ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 เปอร์เซ็นต์



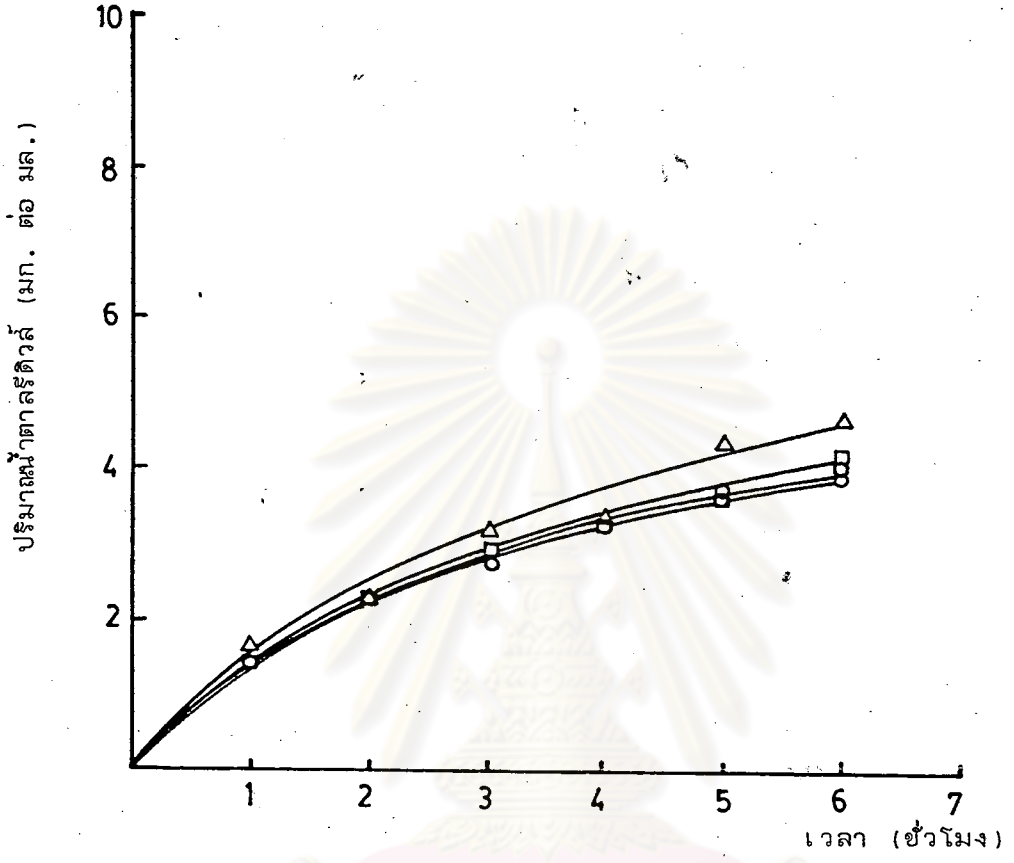
รูปที่ 3.46 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณโปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ดังนี้คือ 0, 0.1, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8, 1.0, 1.5, 2.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- ○ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0 เปอร์เซ็นต์
- ● โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- △ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์
- □ โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 เปอร์เซ็นต์



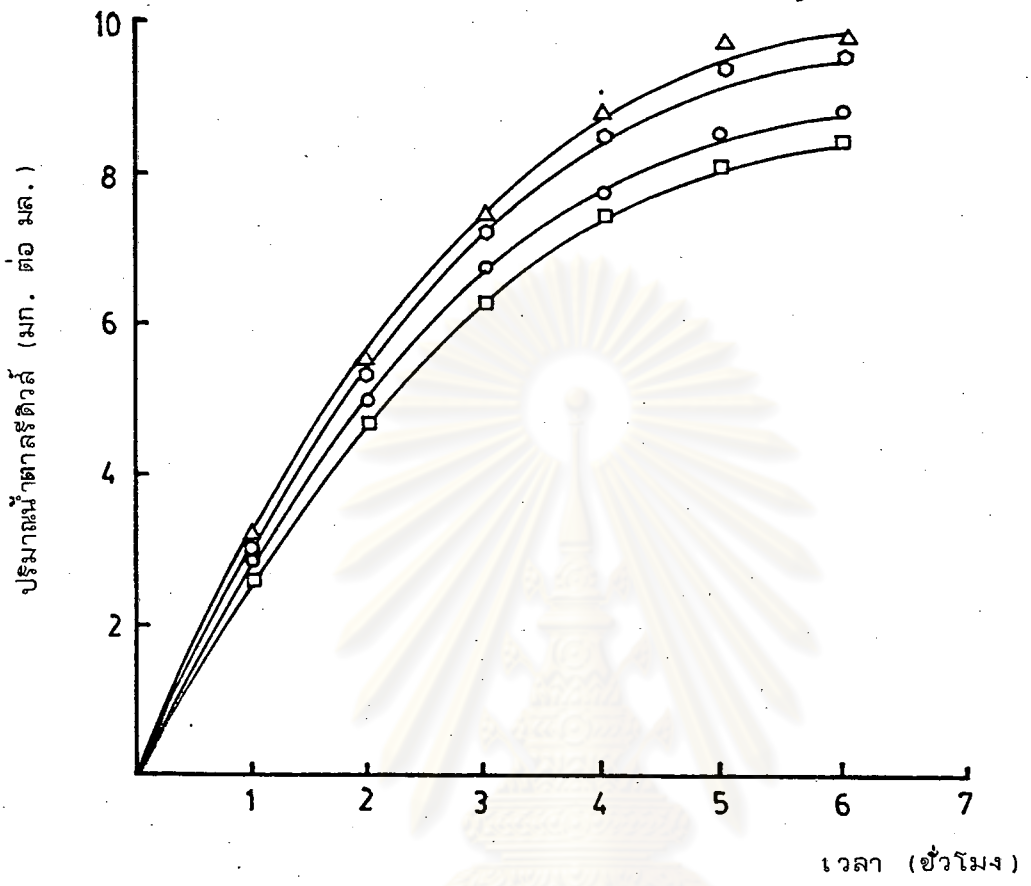
รูปที่ 3.47 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ดังนี้คือ 0, 0.025, 0.5, 0.1, 0.2, 0.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- o แมกนีเซียมซัลเฟต 0 เปอร์เซ็นต์
- o แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์
- △ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- □ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์



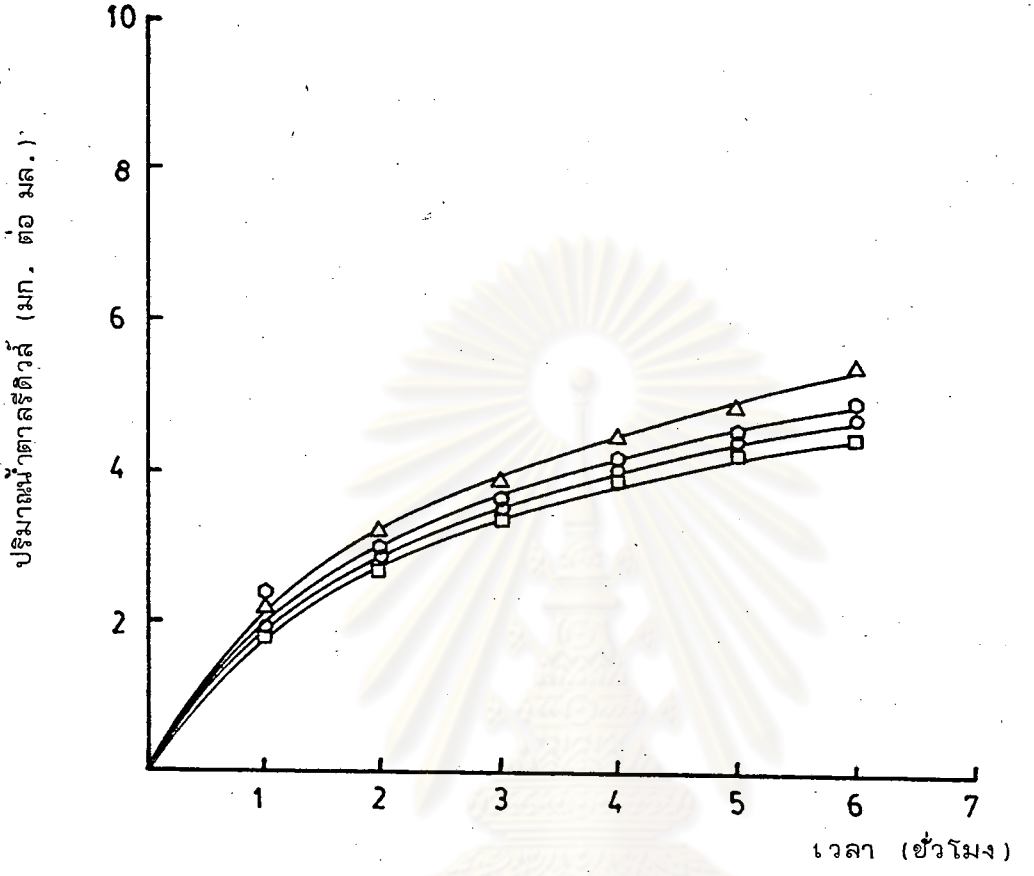
รูปที่ 3.48 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ดังนี้คือ 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- o แมกนีเซียมซัลเฟต 0 เปอร์เซ็นต์
- o แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์
- △ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- □ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์



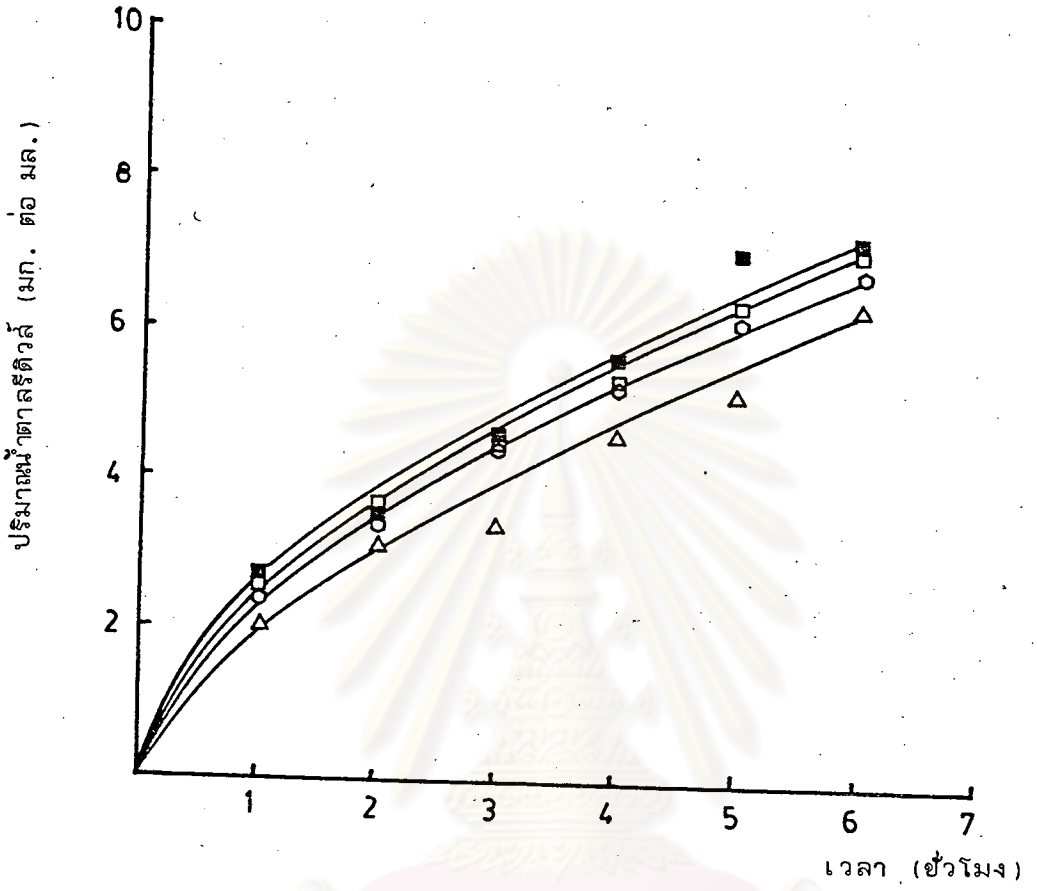
รูปที่ 3.49 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ดังนี้คือ 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- o แมกนีเซียมซัลเฟต 0 เปอร์เซ็นต์
- o แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์
- △ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- □ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 3.50 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต ดังนี้คือ 0, 0.025, 0.05, 0.1, 0.2, 0.4 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในสูตรอาหารเลี้ยงเซลที่ถูกตรึง

- o แมกนีเซียมซัลเฟต 0 เปอร์เซ็นต์
- ◇ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์
- △ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 เปอร์เซ็นต์
- □ แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 เปอร์เซ็นต์



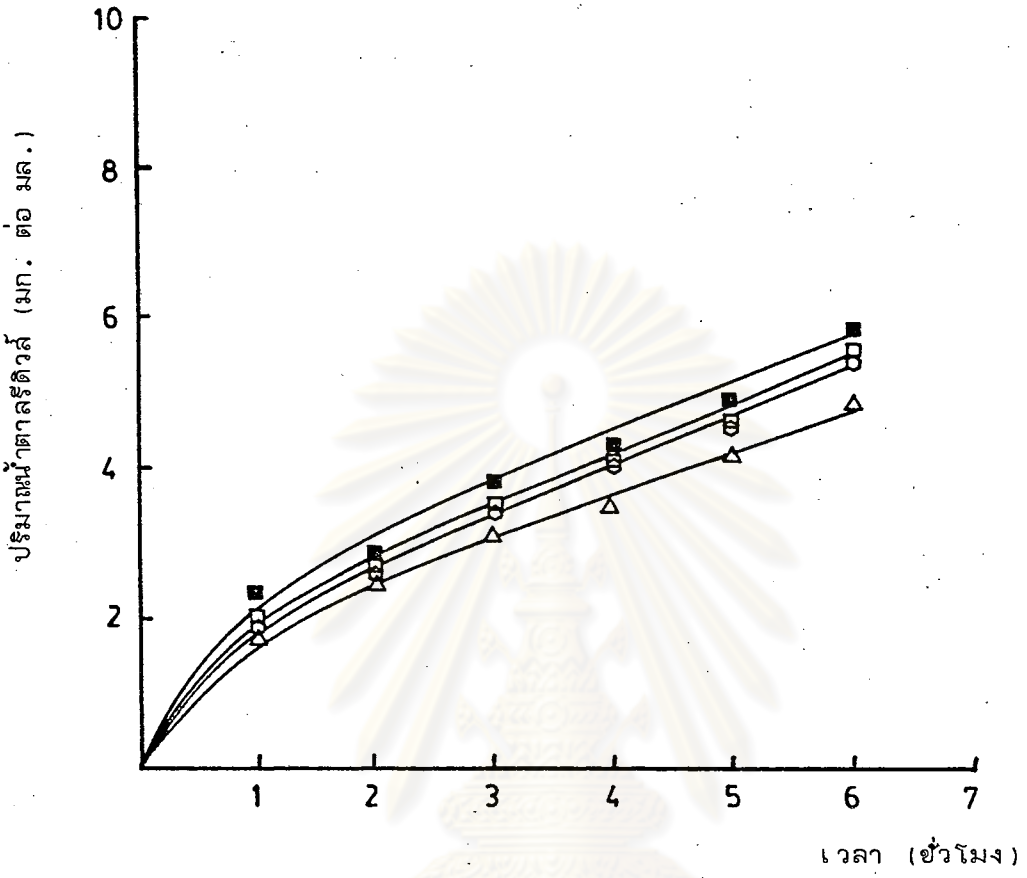
รูปที่ 3.51 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง ดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 ตามลำดับ

△ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 4.0

□ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 5.0

■ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 5.5

○ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 6.0



รูปที่ 3.52 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ตามลำดับ

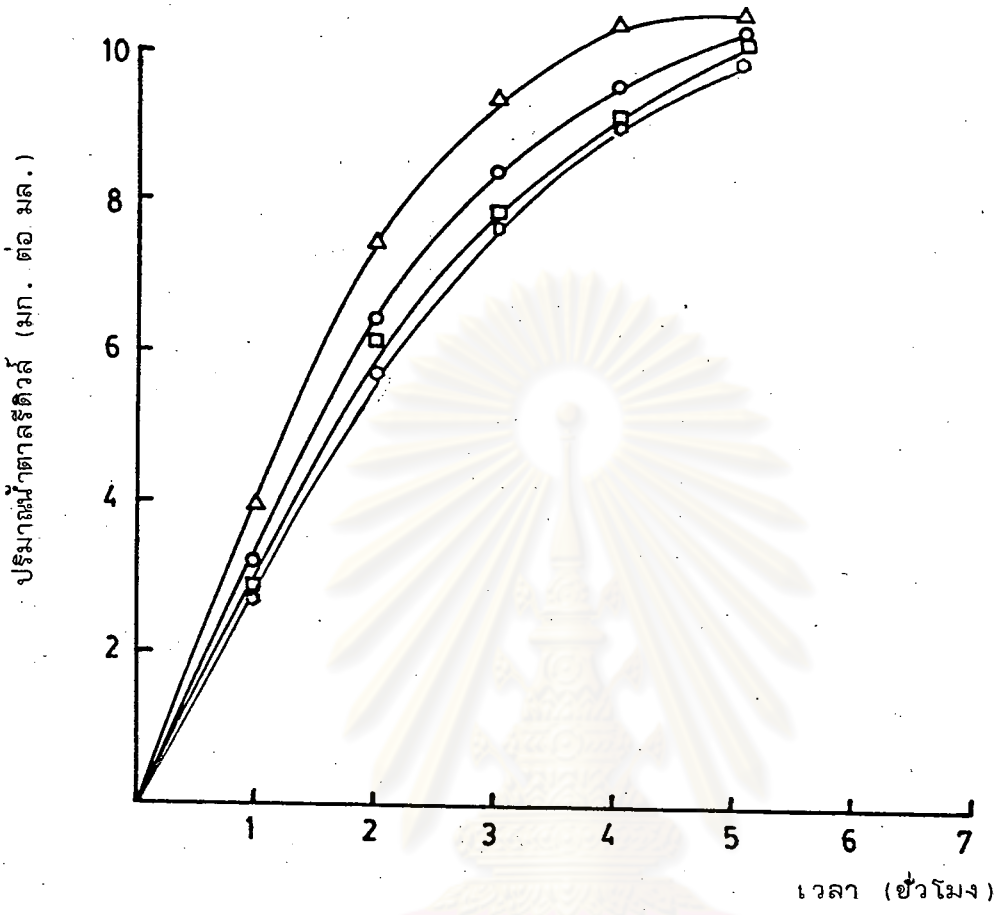
△ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 4.0

□ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 5.0

■ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 5.5

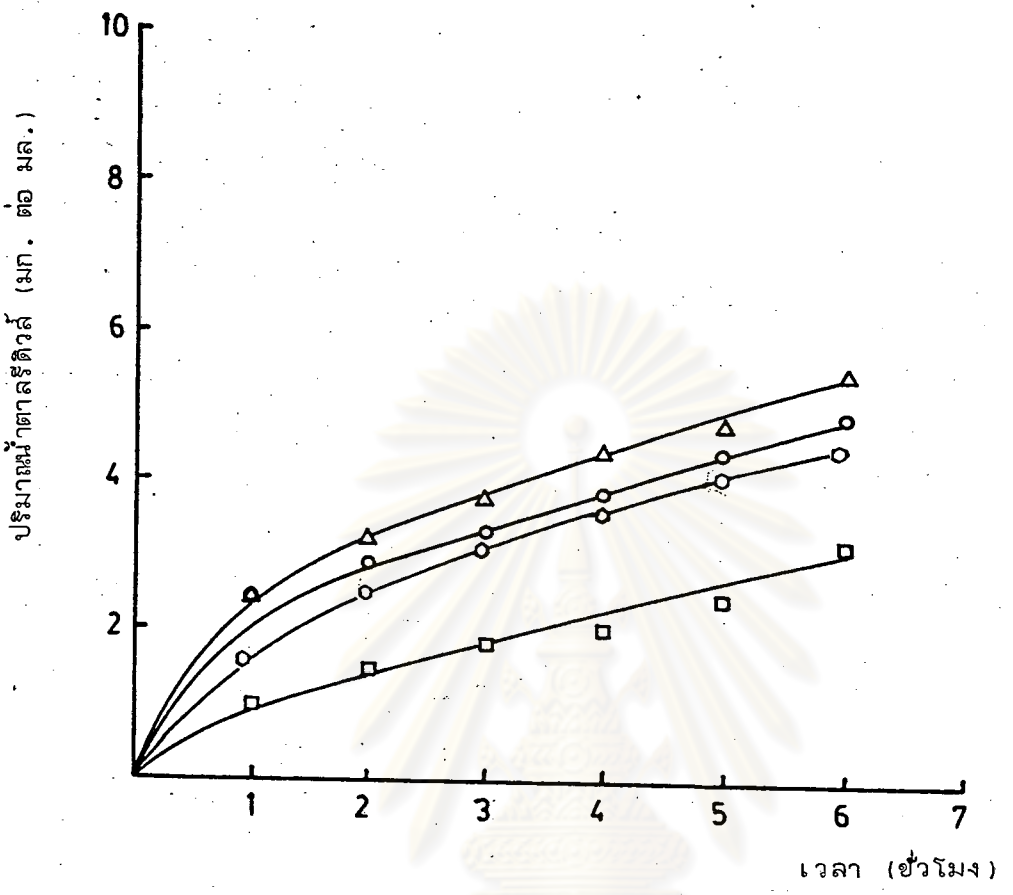
○ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 6.0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.53 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก โดยแปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารที่ใช้เลี้ยงเซลที่ถูกตรึง ดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.0, 6.0 ตามลำดับ

- o ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 3.5
- △ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 4.0
- □ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 5.0
- o ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 6.0



รูปที่ 3.54 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ โดยแปรผันความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ตามลำดับ

- ○ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 3.5
- △ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 4.0
- □ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 5.0
- ○ ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อเริ่มต้น 6.0

3.8 ผลการหาสภาวะที่เหมาะสมในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึง

3.8.1 ผลการหาความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึง

ผลการหาประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง ในสารละลายน้ำแป้งที่แปรผันความเป็นกรดด่างดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5 และ 6.0 ตามลำดับ พบว่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมสำหรับการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. คือ 3.5 และ 4.5 ตามลำดับ ดังรูป 3.55, 3.56, 3.57, 3.58

3.8.2 การศึกษาผลของอุณหภูมิที่มีต่อความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึง

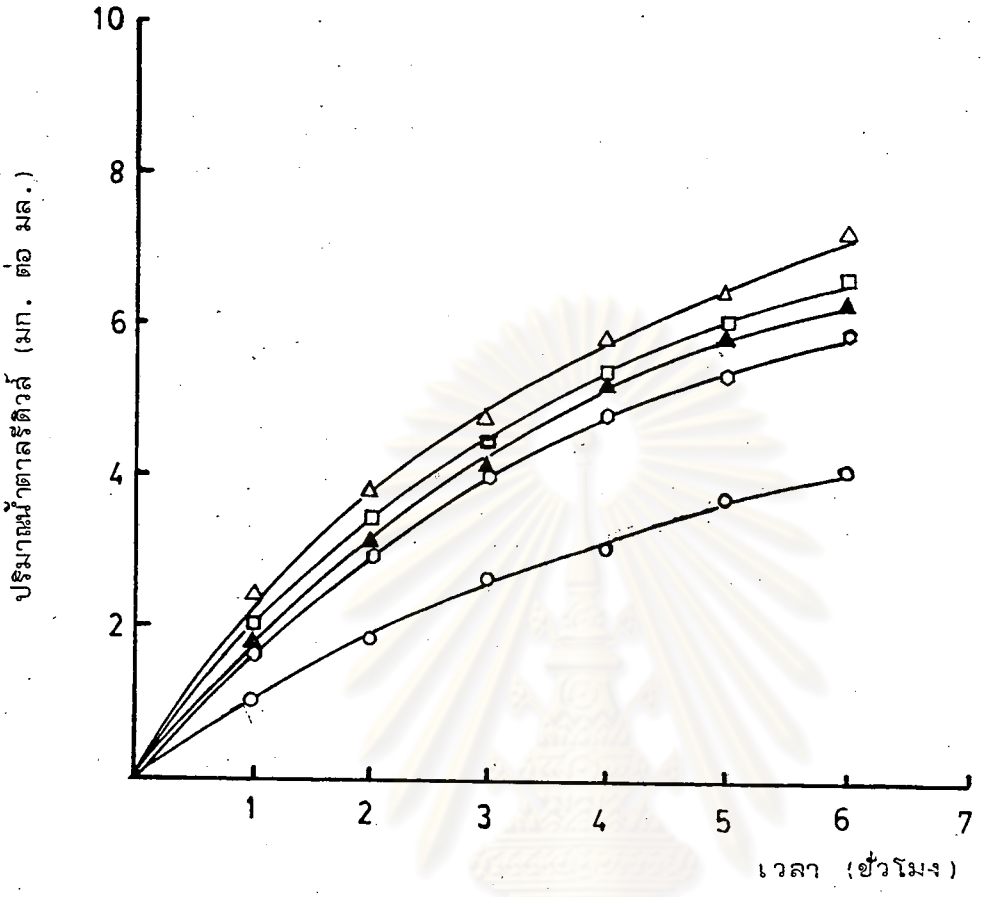
ผลการหาประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้ง โดยทดลองที่อุณหภูมิ 30, 37, 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ พบว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส การย่อยแป้งจะเกิดขึ้นได้ดีกว่า 37 และ 30 องศาเซลเซียส ดังรูป 3.59, 3.60, 3.61, 3.62

3.9 ผลการศึกษาใช้เซลที่ถูกตรึง 2 ชนิดร่วมกันในการย่อยแป้งมันสำปะหลัง

ผลการศึกษาการใช้เชื้อ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในโซเดียมอัลจิเนตภายหลังการปรับปรุงคุณภาพของเซลที่ถูกตรึง อัตราส่วน 1:1 ร่วมกันในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุก เทียบกับการใช้ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง พบว่าการใช้เชื้อผสมจะให้ความสามารถในการย่อยสูงกว่าการใช้เซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae เพียงอย่างเดียว แต่ต่ำกว่าการใช้ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงเล็กน้อย แต่อย่างไรก็ตามการใช้เซลที่ถูกตรึง 2 ชนิดผสมกันจะให้ความสามารถในการย่อยสูงกว่า ค่าเฉลี่ยของผลบวกของความสามารถในการย่อยแป้งของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. แต่ละชนิด ดังรูป 3.63

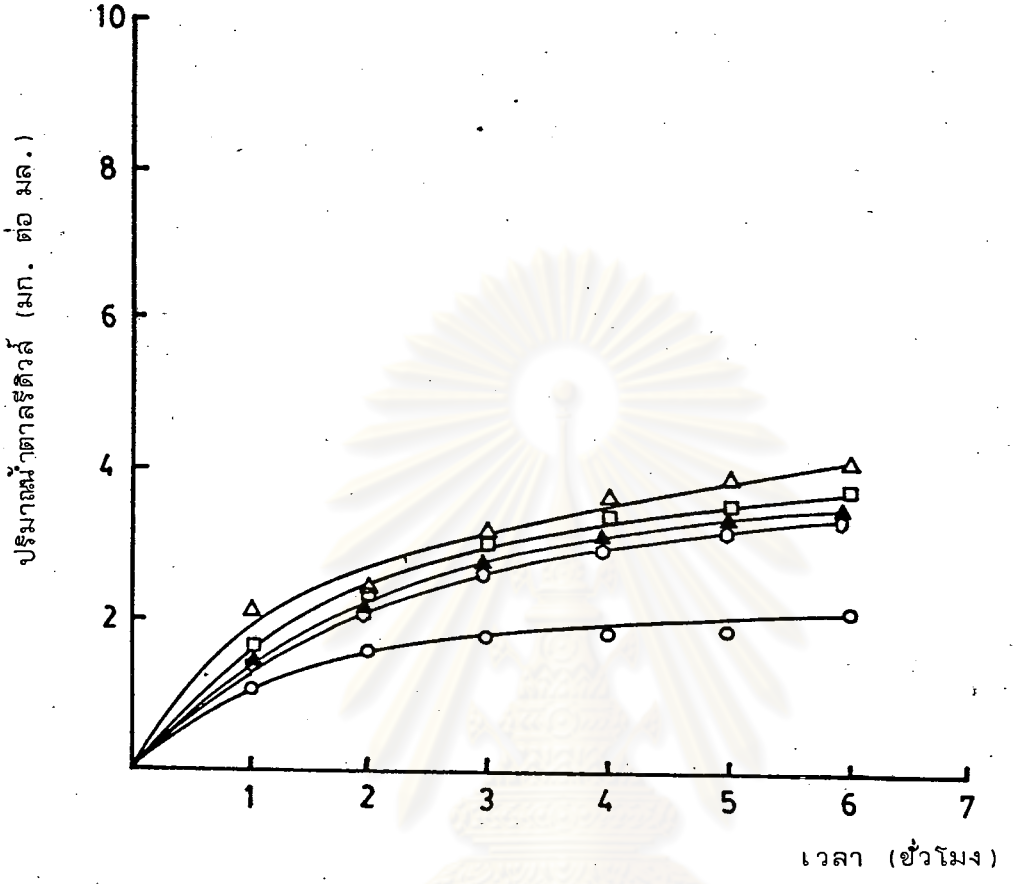
3.10 ผลการศึกษาการใช้เซลที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุกโดยนำเซลที่ถูกตรึงกลับมาใช้ใหม่

ผลการศึกษาการใช้ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุกโดยเปลี่ยนน้ำแป้งที่ใช้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการย่อยทุก ๆ 24 ชั่วโมง และหาปริมาณน้ำตาลที่ถูกรีดิวส์ที่เกิดขึ้น พบว่าความสามารถในการย่อยแป้งสุกของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. จะค่อย ๆ ลดลงจากวันที่ 1 ถึงวันที่ 4 โดยที่ความสามารถใน



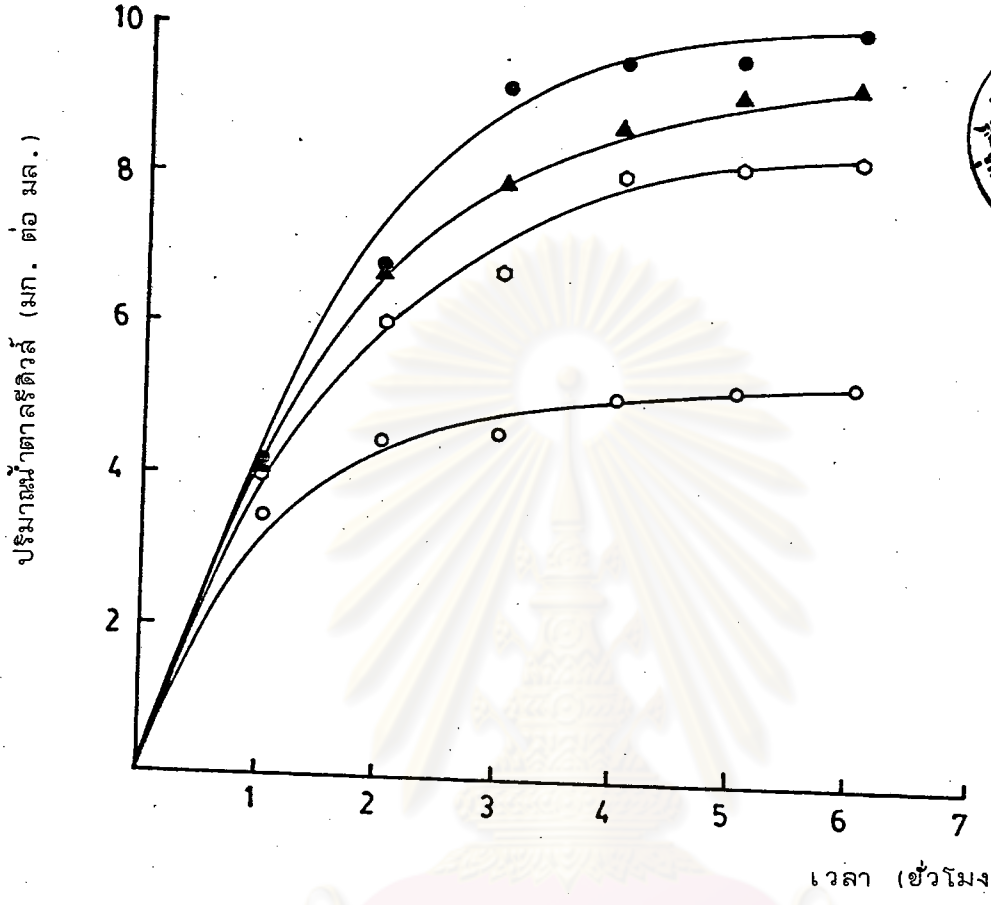
รูปที่ 3.55 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก ในสารละลายน้ำแป้งที่แปรผันความเป็นกรดด่างดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ตามลำดับ

- o ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 3.0
- △ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 3.5
- □ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 4.0
- ▲ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 5.0
- ○ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 6.0



รูปที่ 3.56 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งมันสำปะหลังดิบในสารละลายน้ำแป้งที่แปรผัน ความเป็นกรดด่างดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ตามลำดับ

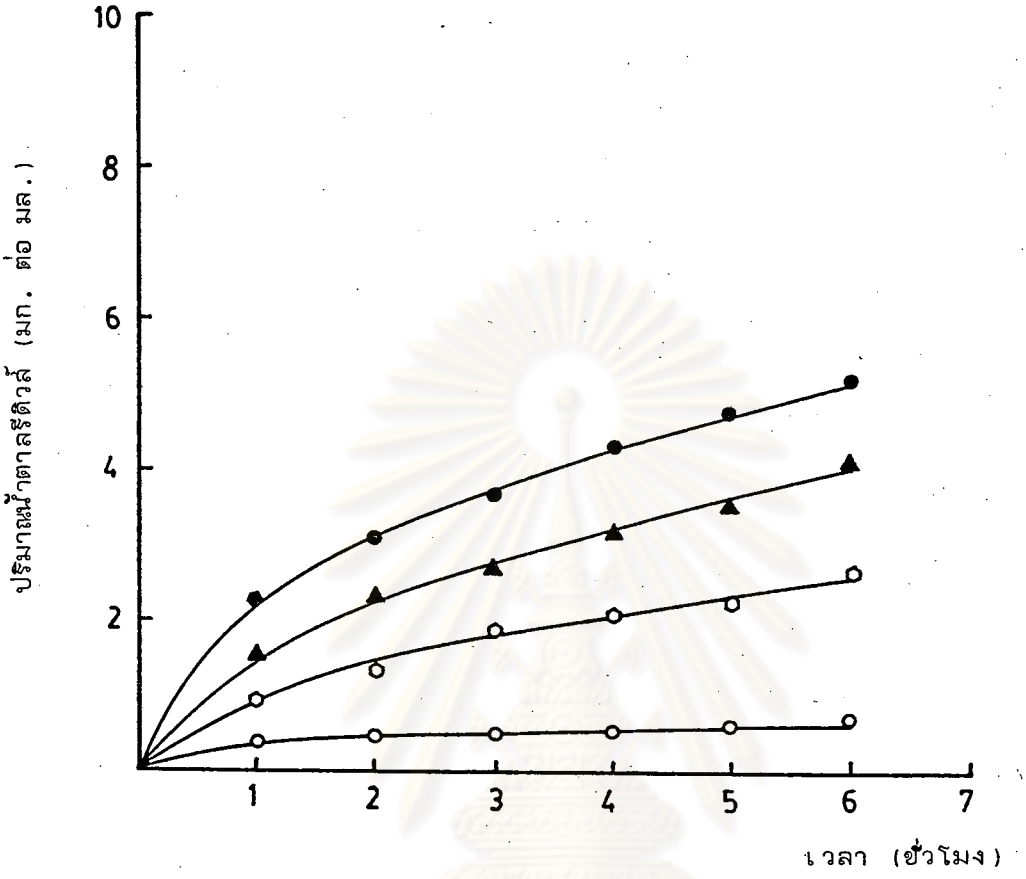
- ○ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 3.0
- △ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 3.5
- □ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 4.0
- ▲ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 5.0
- ○ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 6.0



หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

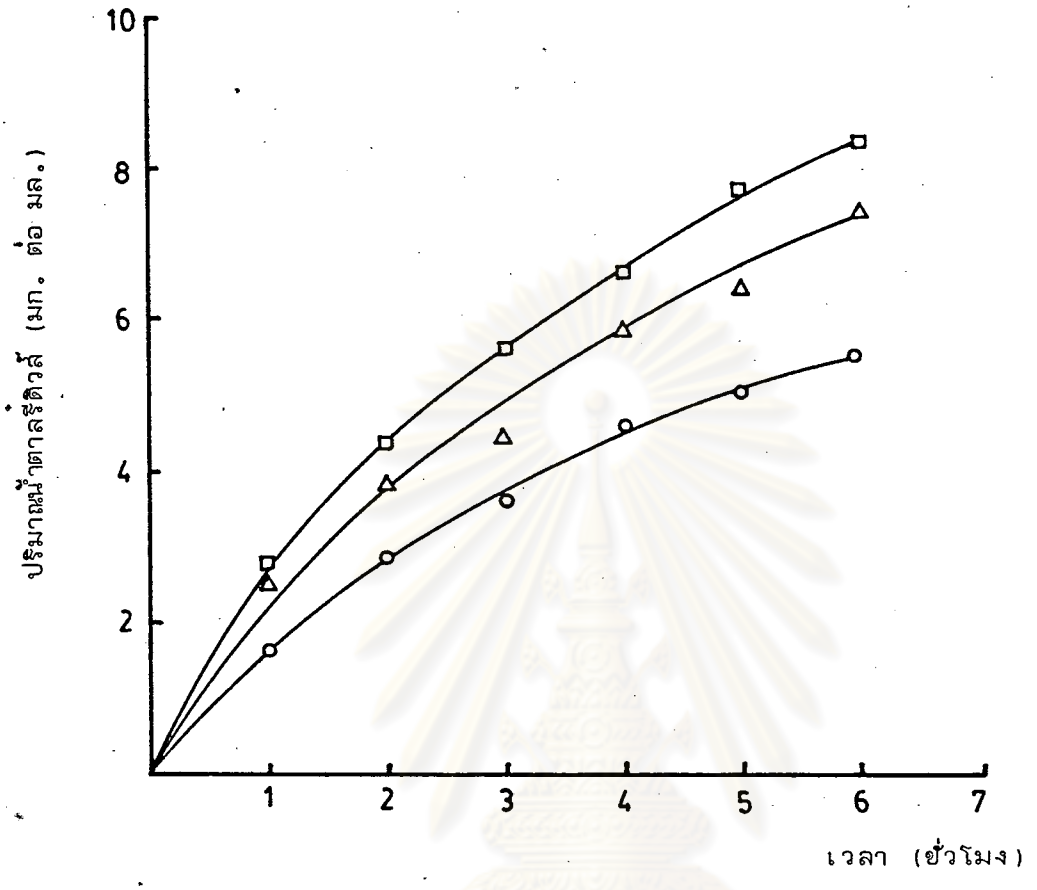
รูปที่ 3.57 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งลูกในสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่แปรผันความเป็นกรดด่าง ดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ตามลำดับ

- ○ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 3.0
- ● ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 4.5
- ▲ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 5.0
- ○ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 6.0



รูปที่ 3.58 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบในสารละลายแป้งมันสำปะหลังที่แปรผันความเป็นกรดด่าง ดังนี้คือ 3.0, 3.5, 4.0, 4.5, 5.0, 5.5, 6.0 ตามลำดับ

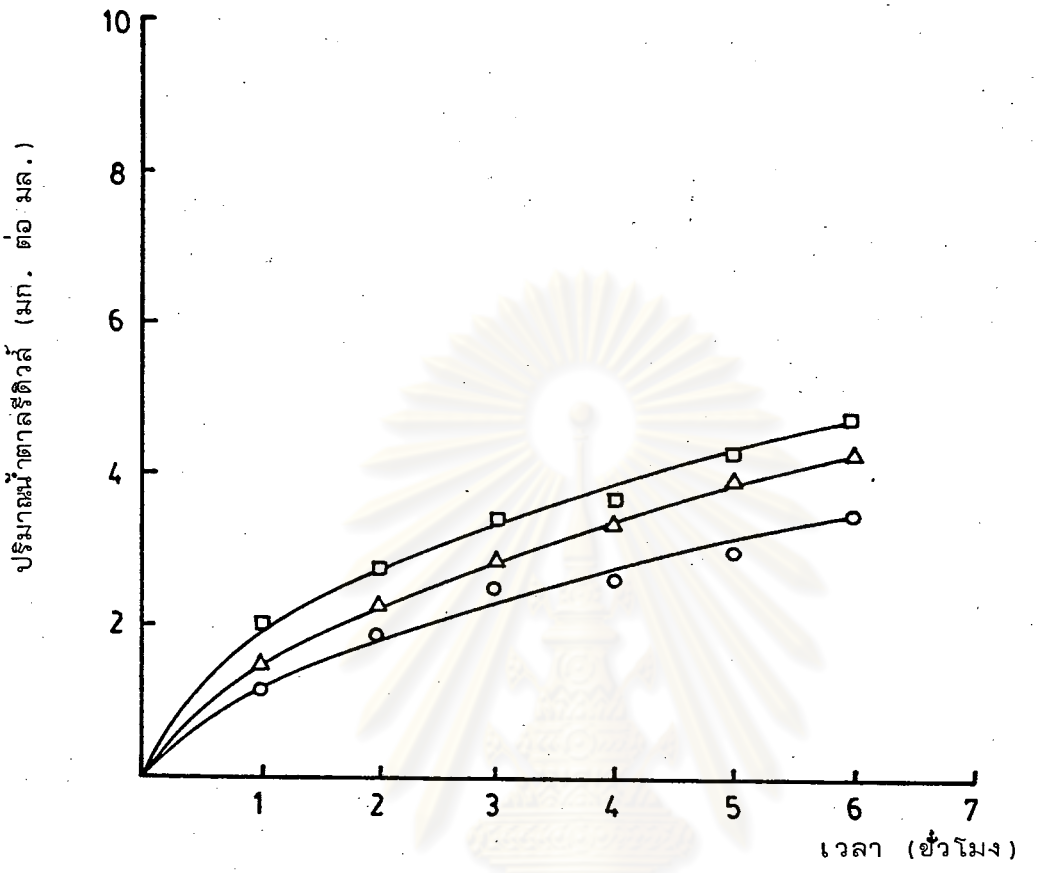
- ○ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 3.0
- ● ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 4.5
- ▲ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 5.0
- ○ ความเป็นกรดด่างของสารละลายน้ำแป้ง 6.0



รูปที่ 3.59 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก เมื่อแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยแป้ง 30, 37, 45 องศาเซลเซียส

- o อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
- Δ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- □ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

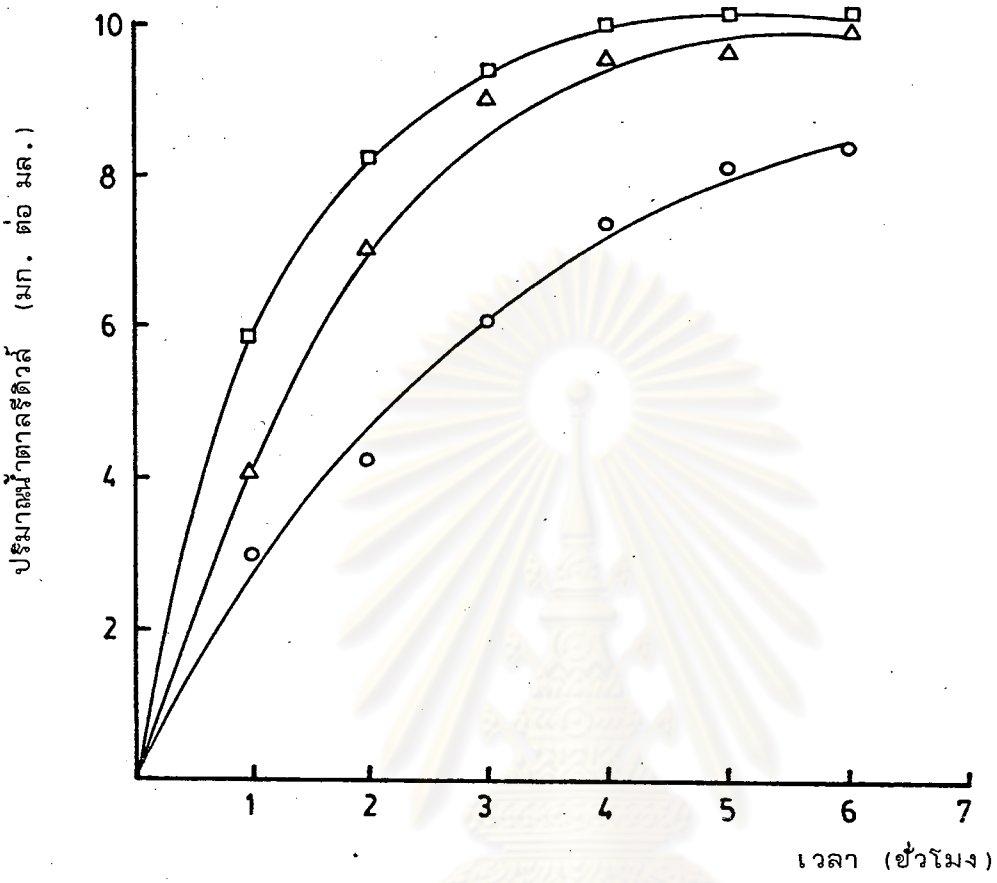
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.60 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ เมื่อแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยแป้ง 30, 37, 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

- ○ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
- △ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- □ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

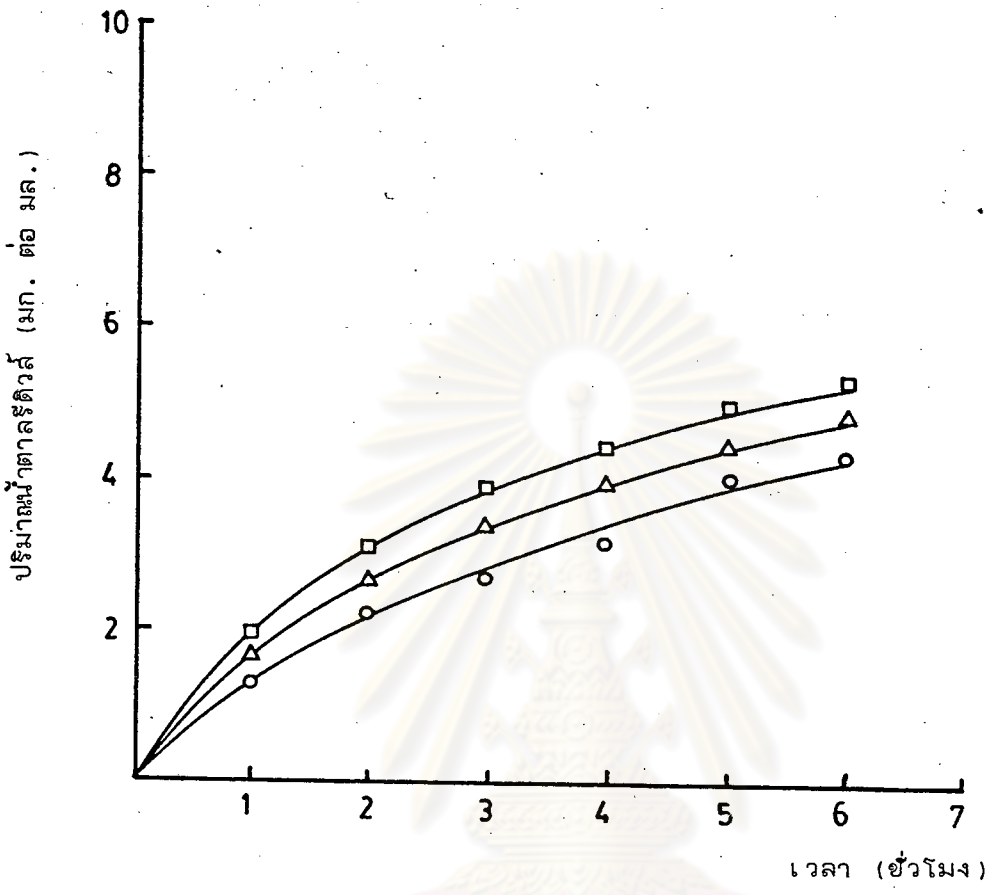
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.61 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก เมื่อแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยแป้งเป็น 30, 37, 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

- o อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส
- △ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส
- □ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



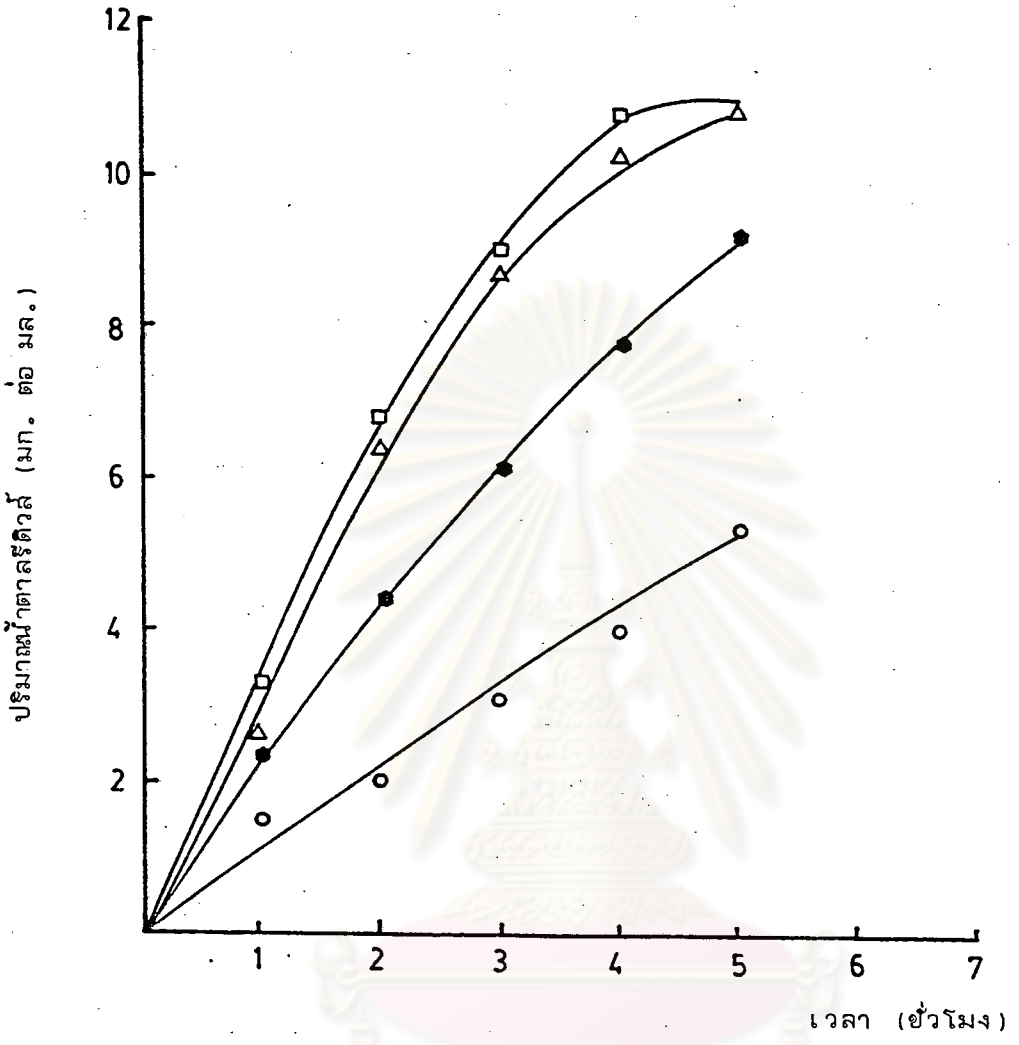
รูปที่ 3.62 แสดงประสิทธิภาพของเซล Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบ เมื่อแปรผันอุณหภูมิที่ใช้ในการย่อยแป้ง 30, 37, 45 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

○ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

△ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส

□ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.63 แสดงประสิทธิภาพของเซลที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งสุก ภายหลังการปรับสภาวะของอาหารเลี้ยงเซลที่ถูกตรึงให้เหมาะสม

o Aspergillus oryzae. 10 กรัม

□ Rhizopus sp. 10 กรัม

△ เชื้อผสมของ Aspergillus oryzae. และ Rhizopus sp. อัตราส่วน 1:1

o ผลการคำนวณค่าเฉลี่ยความสามารถในการย่อยแป้งของ Aspergillus oryzae 5 กรัม

Rhizopus sp. 5 กรัม

การย่อยของ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงจะสูงกว่า Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึง ดังรูป 3.64

3.11 ผลการศึกษาการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น

3.11.1 ผลการศึกษาการย่อยแป้งในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่นโดยไม่เติมสารอาหารให้แก่เซลที่ถูกตรึง

จากการทดลองตามข้อ 2.16.2 พบว่าความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุก ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ จะสูงถึง 80 เปอร์เซนต์ใน 3 วันแรก แล้วค่อย ๆ ลดต่ำลงอย่างช้า ๆ จนเหลือครึ่งหนึ่งในวันที่ 5 ของการทดลอง โดยความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงจะลดลงเหลือเพียง 20 เปอร์เซนต์ในวันที่ 7-8 ของการทดลอง และยังคงมีความสามารถในการย่อยแป้งแม้ถึงวันที่ 12 ของการทดลอง ดังรูป 3.65

3.11.2 ผลการศึกษาการย่อยแป้งในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่นโดยเติมสารอาหารให้แก่เซลเมื่อกระตุ้น (reactivate) เซลที่ถูกตรึงแล้วถ่ายของเหลวในหอปฏิกิริยาออก

จากการทดลองตามข้อ 2.16.3.1 พบว่าความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุก ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ จะสูง 90 เปอร์-เซนต์ใน 3 วันแรกและหลังจากวันที่ 3 เติมสารอาหารให้แก่เซลที่ถูกตรึงเพื่อกระตุ้น (reactivate) เซลเป็นเวลา 12 ชั่วโมง พบว่าหลังการกระตุ้น ความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงจะสูงถึง 90 เปอร์เซนต์ดังเดิมภายหลังจากการถ่ายของเหลวในหอปฏิกิริยาออกพบว่าความสามารถในการย่อยแป้งลดลงเหลือเพียง 50 เปอร์เซนต์ในวันที่ 4 แล้วสูงขึ้นในวันที่ 6 โดยมีเปอร์เซนต์การย่อย 60 เปอร์เซนต์ แล้วลดลงอย่างช้า ๆ จนเหลือ 30 เปอร์-เซนต์ในวันที่ 9 ของการทดลอง ดังรูป 3.66

3.11.3 ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งโดยเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่นโดยเติมสารอาหารให้แก่เซล

จากการทดลองตามข้อ 2.16.3.2 พบว่าความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งมันสำปะหลังสุก ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ จะสูง 90 เปอร์-

เซนต์และคงที่จนถึงวันที่ 6 ของการทดลองเมื่อมีการเติมสารอาหารให้แก่เซลหลังวันที่ 3 ของการทดลอง และทุก ๆ 3 วัน หลังจากวันที่ 6 ความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงจะลดลงอย่างช้า ๆ แล้วหลังจากวันที่ 9 ของการทดลองจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือความสามารถในการย่อย 20 เปอร์เซนต์

3.11.4 ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งโดยเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่นเมื่อแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่ใช้ในการตรึงสปอร์

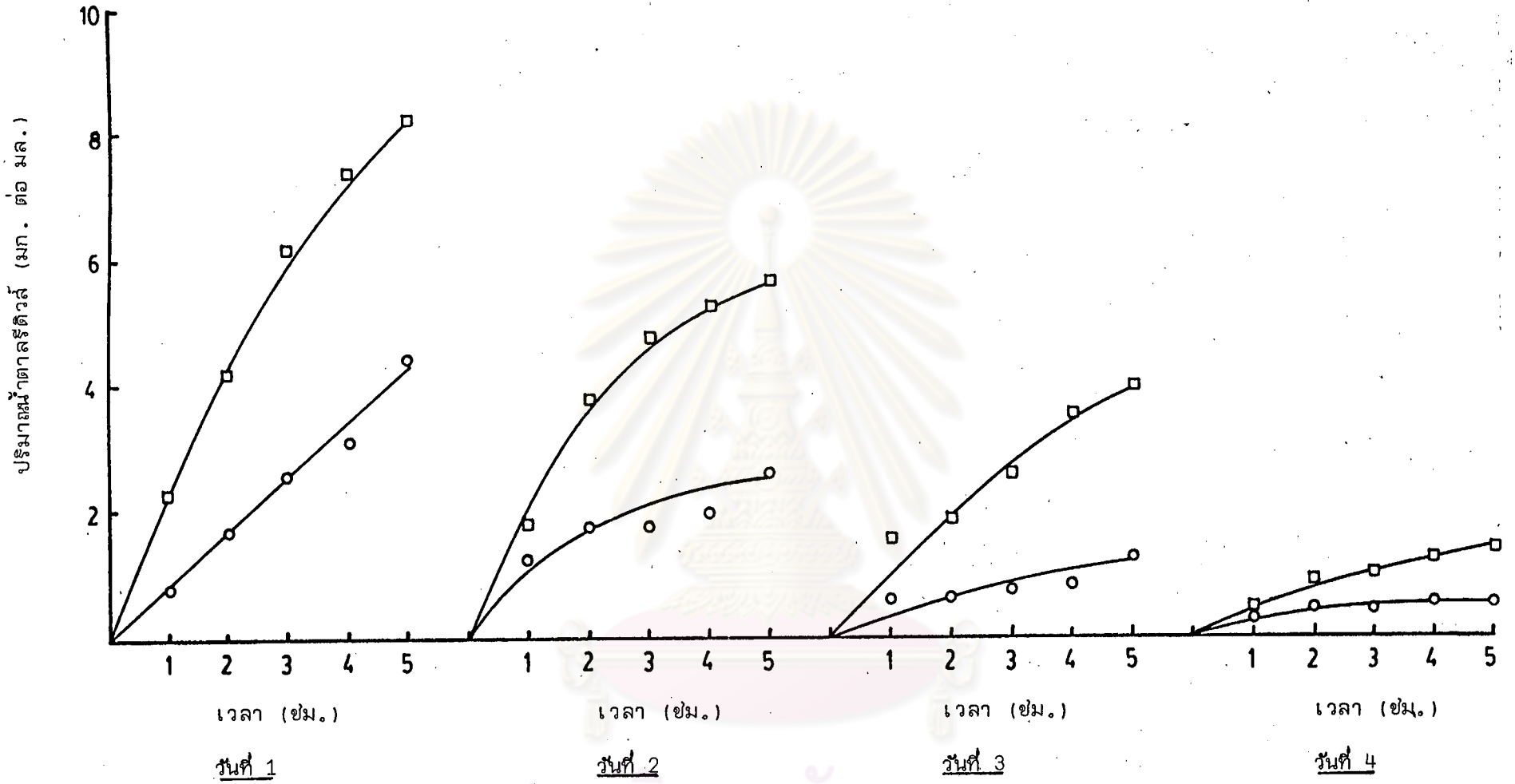
ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงในคอลัมน์แบบฟลูอิดไดเซชั่น เมื่อแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่ใช้ในการตรึงสปอร์ ตามข้อ 2.16.4.1 พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนต 0.75 เปอร์เซนต์ และ 0.2 เปอร์เซนต์ ความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงจะสูงเพียง 80 เปอร์เซนต์ และ 75 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ใน 2 วันแรก แล้วหลังจากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือครึ่งหนึ่งในวันที่ 4 จากนั้นจะลดลงอย่างรวดเร็วจนเหลือ 13 เปอร์เซนต์ และ 10 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ ซึ่งต่างจากการใช้โซเดียมอัลจิเนต ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ ซึ่งความสามารถในการย่อยแป้งจะลงช้าจนถึงวันที่ 6 ของการทดลอง แล้วค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ จนเหลือ 20 เปอร์เซนต์ ในวันที่ 11 ของการทดลอง ดังรูป 3.68

3.11.5 ผลการศึกษาความสามารถในการย่อยแป้งของเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่นเมื่อแปรผันความเข้มข้นของน้ำแป้งที่ผ่านเข้าสู่คอลัมน์เพื่อใช้เป็นสารตั้งต้นในการย่อย

จากการทดลองตามข้อ 2.16.4.2 พบว่าความสามารถในการย่อยแป้งจะสูงถึง 80 เปอร์เซนต์ใน 4 วันแรก ซึ่งจะให้ปริมาณน้ำตาลที่ถูกรีดิวส์ประมาณ 13 มก.ต่อ มล. ซึ่งสูงกว่าการใช้ ความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซนต์ จะได้ปริมาณน้ำตาลที่ถูกรีดิวส์ประมาณ 10 มก. ต่อ มล. แต่ความสามารถในการย่อยจะค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ จนความสามารถในการย่อยลดลงเหลือครึ่งหนึ่ง ในวันที่ 9 ได้ปริมาณน้ำตาลที่ถูกรีดิวส์ประมาณ 7 มก.ต่อ มล. ดังรูป 3.69

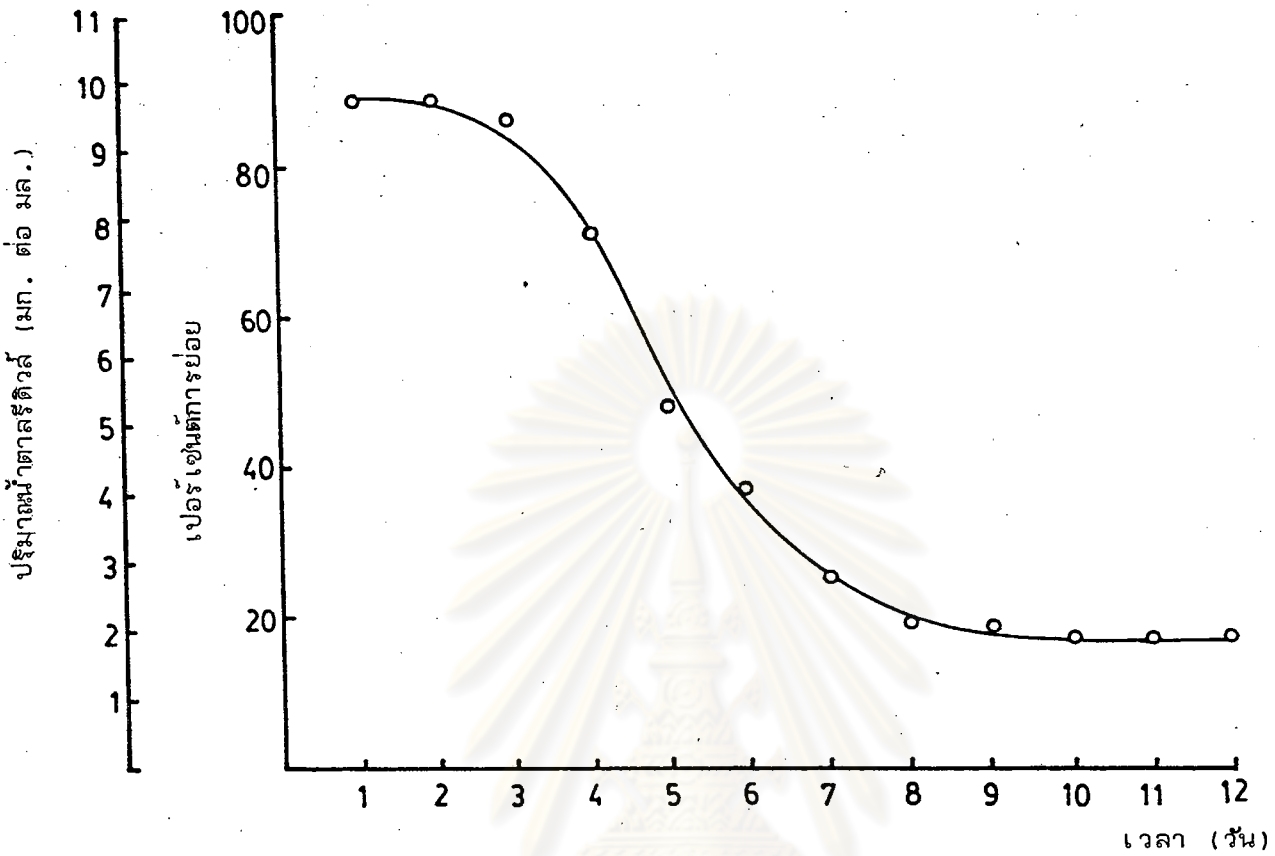
3.11.6 การศึกษาชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งในหอปฏิกิริยา

จากการตรวจสอบผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น พบว่าได้ผลลัพธ์เป็นน้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว ดังรูป 3.70



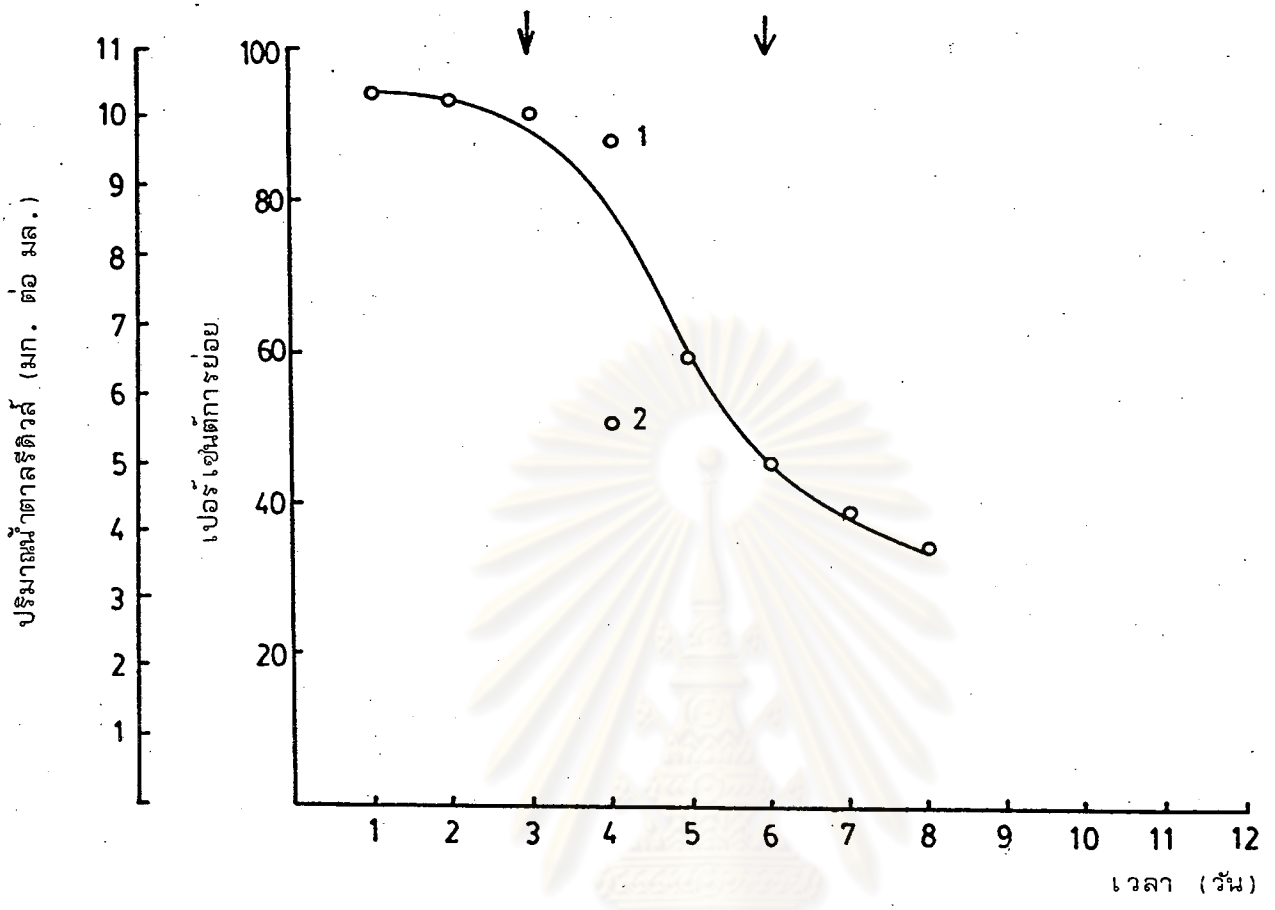
รูปที่ 3.64 แสดงประสิทธิภาพของเซล Aspergillus oryzae. และ Rhizopus sp. ในการย่อยแป้งสุก ที่ระยะเวลาต่าง ๆ โดยนำเซลที่ถูกตรึงกลับมาใช้ใหม่ โดยทุก ๆ 24 ชั่วโมง เปลี่ยนน้ำแป้งที่ใช้ในการย่อยออกและใส่น้ำแป้งใหม่แทน

- o Aspergillus oryzae. ที่ถูกตรึง
- □ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง



รูปที่ 3.65 แสดงความสามารถในการย่อยแป้งแบบต่อเนื่องของเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น โดยไม่มีการเติมสารอาหารให้กับเซลตลอดการทดลอง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



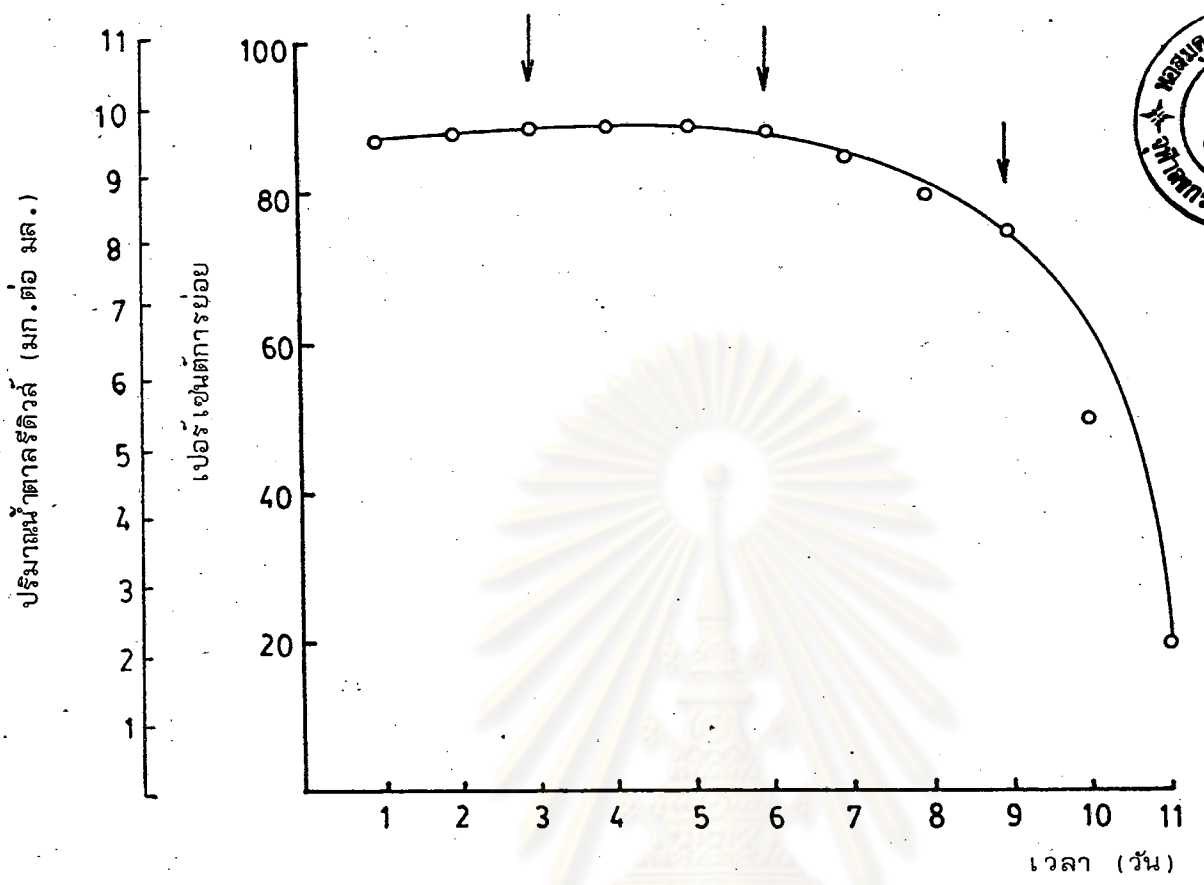
รูปที่ 3.66 แสดงความสามารถในการย่อยแป้งแบบต่อเนื่องของเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น โดยเติมสารอาหารไนโตรเจนและเกลือแร่ให้แก่เซล แล้วถ่ายของเหลวออกจากหอปฏิกิริยาหลัง 12 ชั่วโมง

↓ เติมสารอาหารให้แก่เซล

1 เปอร์เซ็นต์การย่อยในหอปฏิกิริยาก่อนถ่ายเอาของเหลวออก

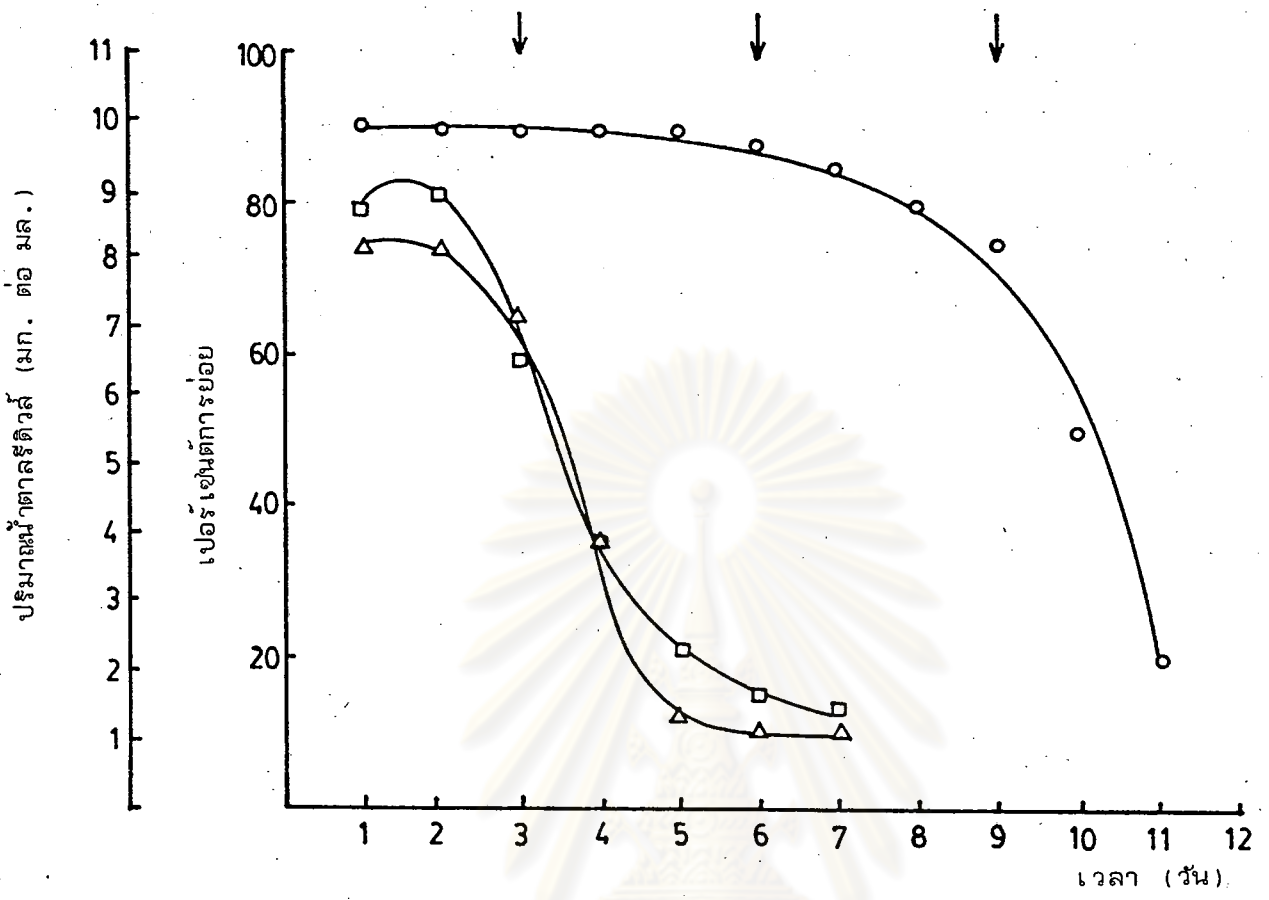
2 เปอร์เซ็นต์การย่อยในหอปฏิกิริยาหลังถ่ายเอาของเหลวออก

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.67 แสดงความสามารถในการย่อยแป้งแบบต่อเนื่องของเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น โดยเติมสารอาหารไนโตรเจนและเกลือแร่ให้แก่เซลหลังวันที่ 3 ของการทดลอง และเติมอย่างสม่ำเสมอทุก ๆ 3 วัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



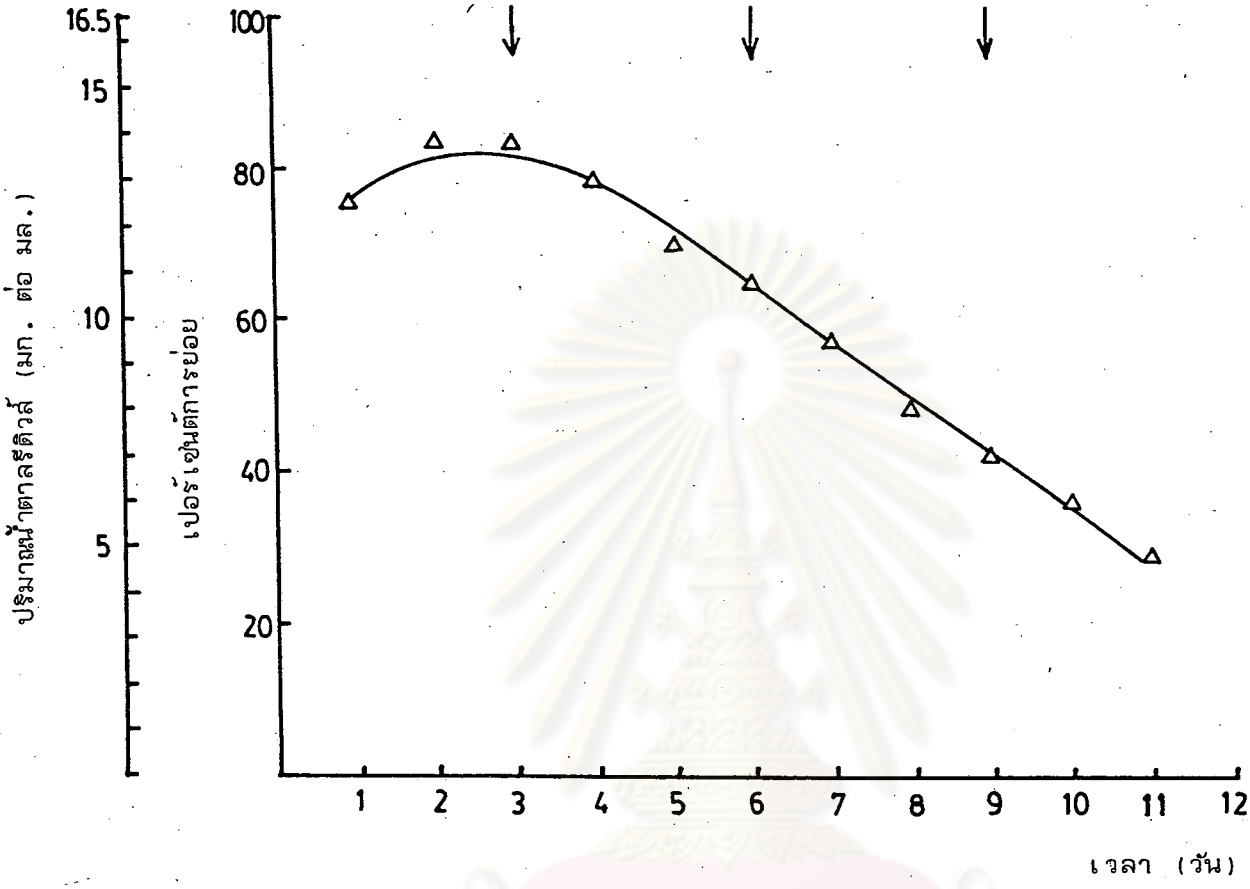
รูปที่ 3.68 แสดงความสามารถในการย่อยแป้งแบบต่อเนื่องของเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น โดยแปรผันความเข้มข้นของโซเดียมอัลจิเนตที่ใช้ในการตรึงสปอร์เป็น 0.75, 1.0, 2.0 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ

□ โซเดียมอัลจิเนต 0.75 เปอร์เซนต์

○ โซเดียมอัลจิเนต 1.0 เปอร์เซนต์

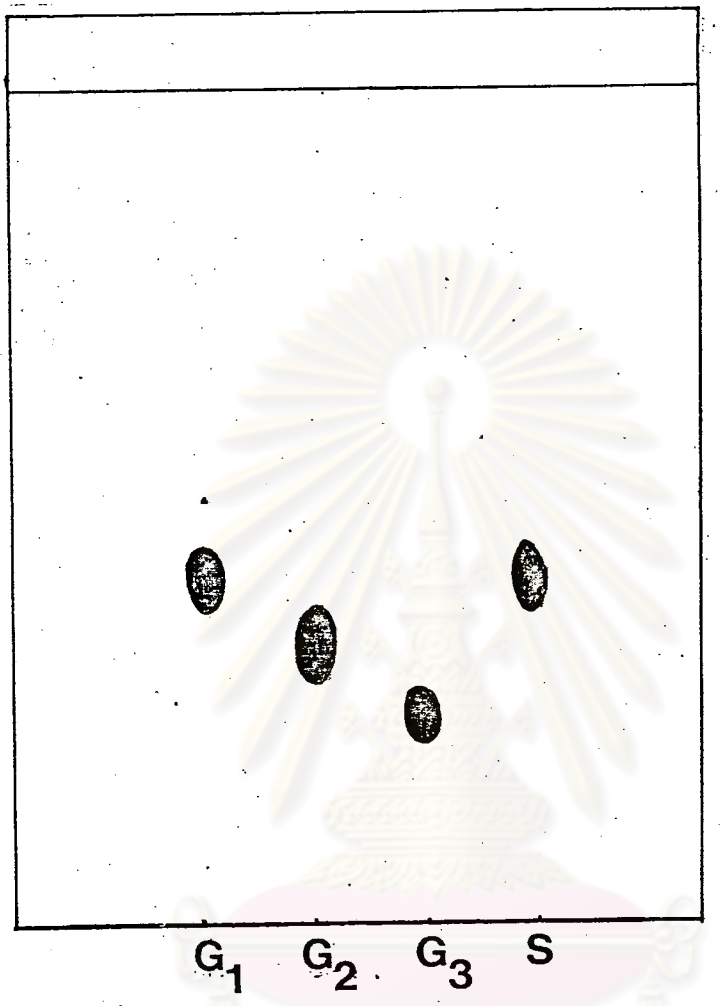
△ โซเดียมอัลจิเนต 2.0 เปอร์เซนต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.69 แสดงความสามารถในการย่อยแป้งแบบต่อเนื่องของเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำแป้งที่ผ่านเข้าสู่หอปฏิกิริยา เพื่อใช้ในการย่อยเป็น 1.5 เปอร์เซ็นต์

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 3.70 แสดงผลของการหาชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งโดยเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยาแบบฟลูอิดไดเซชั่น

G_1 = กลูโคส

G_2 = มอลโตส

G_3 = มอลโตไตรโอส

S = ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยโดยเซลที่ถูกตรึงในหอปฏิกิริยา

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีความสามารถเสริมความสามารถในการย่อยแป้งดิบซึ่งกันและกัน และสำหรับการย่อยแป้งสุกก็อาจอธิบายได้ด้วยเหตุผลเดียวกัน

4.4 การใช้เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อรา 2 ชนิดร่วมกันในการย่อยแป้ง

การใช้เอนไซม์ที่สกัดจาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. อัตราส่วน 1:1 ย่อยแป้งดิบและแป้งสุก ตามรูป 3.9 และ 3.10 พบว่าการใช้เอนไซม์ที่สกัดจากเชื้อรา 2 ชนิดร่วมกันในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกจะให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และน้ำตาลกลูโคสสูงกว่าการใช้เอนไซม์ที่สกัดจาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. เพียงชนิดเดียวในการย่อยแป้ง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ใช้เซลที่ถูกตรึงในข้อ 4.3 และอธิบายได้ด้วยเหตุผลอย่างเดียวกัน

4.5 การหาชนิดของผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยแป้ง

จากการทดลองย่อยแป้งดิบและแป้งสุก โดยการใช้เซลที่ถูกตรึงของ Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. และหาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์เปรียบเทียบกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการย่อยแป้งดิบและแป้งสุก พบว่าการใช้เชื้อผสมของเซล Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึง กับ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึง อัตราส่วน 1:1 และการใช้ Rhizopus sp. ที่ถูกตรึงในการย่อยแป้งดิบและแป้งสุก จะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสใกล้เคียงกับปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ส่วนการใช้ Aspergillus oryzae ที่ถูกตรึงจะให้น้ำตาลกลูโคสครึ่งหนึ่งของน้ำตาลรีดิวส์ที่เกิดขึ้นในการย่อยแป้งสุก และได้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสกับน้ำตาลรีดิวส์ใกล้เคียงกันในการย่อยแป้งดิบ และจากการทดลองใช้เอนไซม์ที่สกัดจาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. และการใช้เอนไซม์ผสมของทั้ง 2 เชื้อ อัตราส่วน 1:1 ก็ให้ผลการทดลองเช่นเดียวกับการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกโดยใช้เซลที่ถูกตรึง และจากการทดลองย่อยแป้งดิบและแป้งสุกโดยเซลที่ถูกตรึงและเอนไซม์ดังกล่าวนี้สอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้จากการทดสอบชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยแป้งดิบและแป้งสุกโดยเอนไซม์ที่สกัดจาก Aspergillus oryzae และ Rhizopus sp. โดยวิธีโครมาโตกราฟฟีกระดาษ กล่าวคือ เอนไซม์ที่สกัดจาก Aspergillus oryzae จะย่อยแป้งสุกได้ผลลัพธ์เป็นน้ำตาลกลูโคส, มอลโตส และมอลโตไตรโอส และย่อยแป้งดิบได้ผลลัพธ์เป็นน้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้เนื่องจาก Aspergillus oryzae สามารถสังเคราะห์ได้ทั้ง แอลฟา-อะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส (78) และเนื่องจาก