บทที่ 3

ผลการวิจัย

ผลการคัดแยก (screening) เชื้อราที่สามารถฟอกสีน้ำกากส่าและการผลิตโพลีแซคคาไรด์จากตัวอย่างดิน น้ำ น้ำกากส่าและอากาศจากแหล่งต่างๆ

1) การเก็บรวบรวมราจากแหล่งต่างๆ

จากการแยกราจากตัวอย่างดิน น้ำ น้ำกากส่า และอากาศจากแหล่งต่างๆ ในประเทศไทย จำนวนทั้งสิ้น 9 แหล่ง จำนวน 158 ตัวอย่าง สามารถแยกราบนอาหารวุ้นแข็งตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ 2 ได้จำนวน 293 สายพันธุ์ ดังแสดงในตารางที่ 4 และได้ราจากการปนเปื้อนจากอากาศบริเวณภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย จำนวน 87 สายพันธุ์ รวมทั้งสิ้น 380 สายพันธุ์

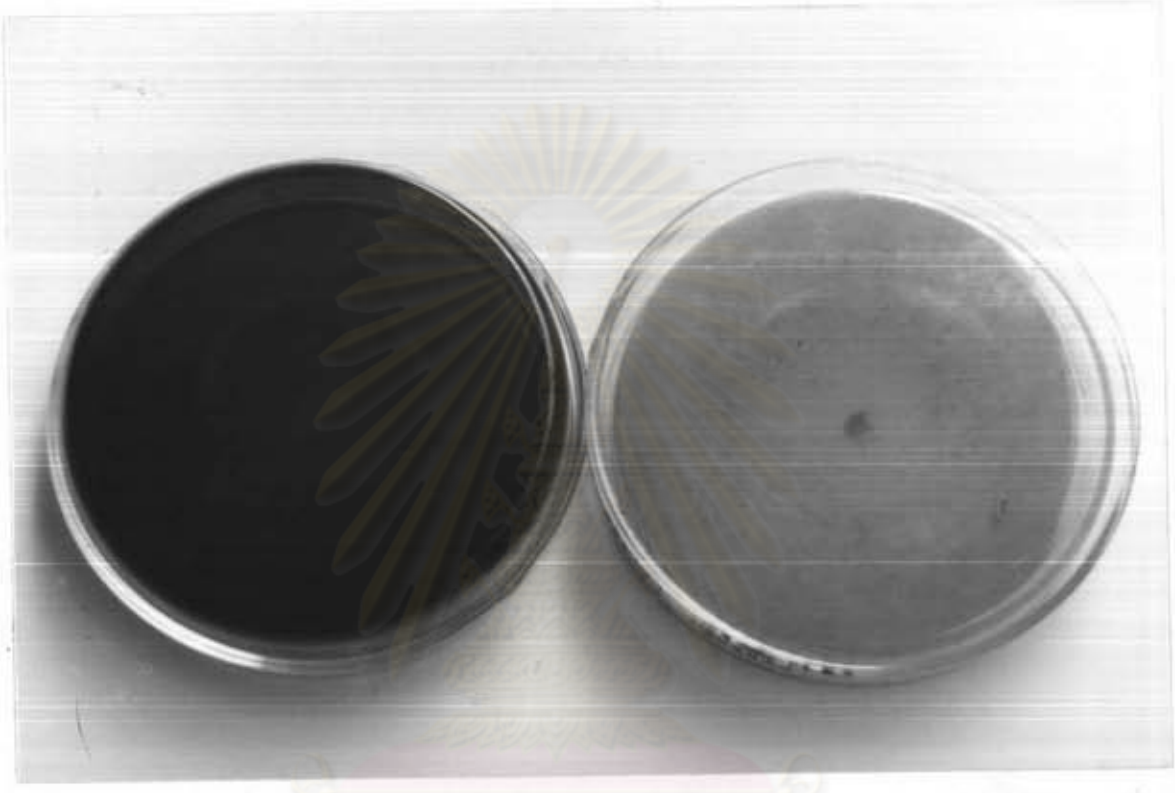
2) ผลการคัดเลือกราที่มีความสามารถฟอกสีน้ำกากส่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็ง (solid medium)

นำราที่แยกได้บริสุทธิ์และเก็บรวบรวมจากข้อ 1 จำนวนทั้งสิ้น 380 สายพันธุ์ มาตรวจสอบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MPA ตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ 3 พบว่ามีราจำนวน 7 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าบนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งได้คือ ราสายพันธุ์ D-1 , D-2 , D-3 , D-4 , D-5 , D-6 และ D-7 โดยสังเกตุจากสีของอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณรอบๆโคโลนีของราซึ่งปรกติจะมีสีน้ำตาลดำ จะพบว่าสีของอาหารเลี้ยงเชื้อรอบๆโคโลนีของราดังกล่าวจะจางลง ซึ่งแสดงถึงความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้ (รูปที่ 1)

ตารางที่ 4 แสดงจำนวนสายพันธุ์ราที่นำมาศึกษาความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าบนอาหารแข็ง (MPA) และจำนวนสายพันธุ์ราที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้

แหล่งตัวอย่าง	จำนวนสายพันธุ์ราที่แยกได้	จำนวนสายพันธุ์ราที่สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้
โรงงานสุราแสงโสม อ.สามพราน จ.นครปฐม	70	0
โรงงานสุรากรมสรรพสามิต จ.ฉะเชิงเทรา	47	0
โรงงานสุรากรมสรรพสามิต จ.อุตรดิตถ์	30	0
อ.เมือง จ.กาญจนบุรี	23	0
อ.เมือง จ.เชียงใหม่	15	0
อ.หาดใหญ่ จ.สงขลา	17	0
มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ บางแสน อ.เมือง จ.ชลบุรี	39	0
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปทุมวัน กรุงเทพ	52	0
รวม	293	0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



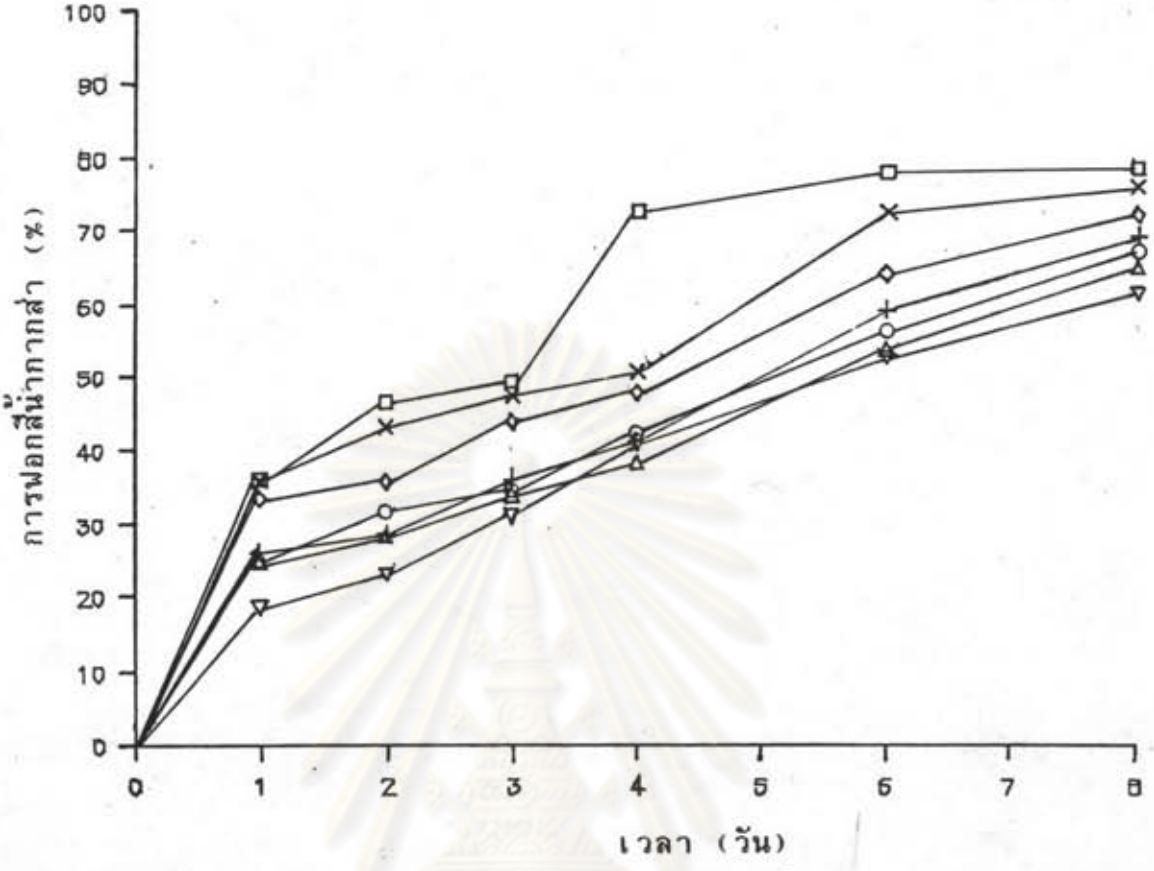
รูปที่ 1 แสดงตัวอย่างการคัดเลือกราที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า
บนอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPA)
ซ้ายเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MPA ที่ยังไม่ถูกฟอกสี
ขวาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MPA ที่ถูกฟอกสีแล้วโดยราสายพันธุ์ D-1

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3) ผลการคัดเลือกราที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว(liquid medium)

นำราทั้ง 7 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าในอาหารเลี้ยงเชื้อแข็งมาทดสอบการฟอกสีน้ำกากส่าในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า(MPM) การฟอกสีน้ำกากส่าของราทุกสายพันธุ์เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและสูงสุดในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ(รูปที่ 2)การเจริญสูงสุดของราประมาณวันที่ 4 สำหรับราสายพันธุ์ D-1,D-2,D-3,D-4,D-5 และวันที่ 5 สำหรับราสายพันธุ์ D-6,D-7(รูปที่ 3) การผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 4 ของการเลี้ยงเชื้อทั้ง 4 สายพันธุ์คือ สายพันธุ์ D-1,D-2,D-3 และ D-5 (รูปที่ 4) พบว่าราทั้ง 7 สายพันธุ์มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้มากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ภายในเวลา 8 วัน นอกจากนี้พบว่ามีรา 4 สายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์อีกด้วย คือ ราสายพันธุ์ D-1,D-2,D-3 และ D-5 (ตารางที่ 5)

เมื่อเปรียบเทียบการฟอกสีน้ำกากส่าของราทั้ง 7 สายพันธุ์พบว่าราสายพันธุ์ D-1 ซึ่งแยกได้จากภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้สูงที่สุดคือ 78 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 8 วัน ส่วนสายพันธุ์ที่ฟอกสีน้ำกากส่าต่ำสุดคือ ราสายพันธุ์ D-6 ซึ่งวัดความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้ 61 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 8 วัน ส่วนการเจริญนั้นราสายพันธุ์ D-1 มีการเจริญได้ 0.6305 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนสายพันธุ์ที่มีการเจริญต่ำสุดคือสายพันธุ์ D-6 ซึ่งมีการเจริญได้ 0.3859 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ในเวลา 6 วัน และนอกจากนี้เมื่อเปรียบเทียบการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราทั้ง 4 สายพันธุ์ คือราสายพันธุ์ D-1,D-2,D-3 และ D-5 แล้วยังพบว่าราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้สูงที่สุดอีกด้วยคือ 0.2800 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรในเวลา 4 วันสายพันธุ์ที่ผลิตโพลีแซคคาไรด์ต่ำสุดคือสายพันธุ์ D-2 ซึ่งมีน้ำหนัก 0.1405 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรในเวลา 4 วัน ส่วนราสายพันธุ์ D-4,D-6,D-7 ไม่สามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ ด้วยเหตุนี้จึงเลือกราสายพันธุ์ D-1 มาทำการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าได้สูงที่สุดและผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ได้มากที่สุดต่อไป



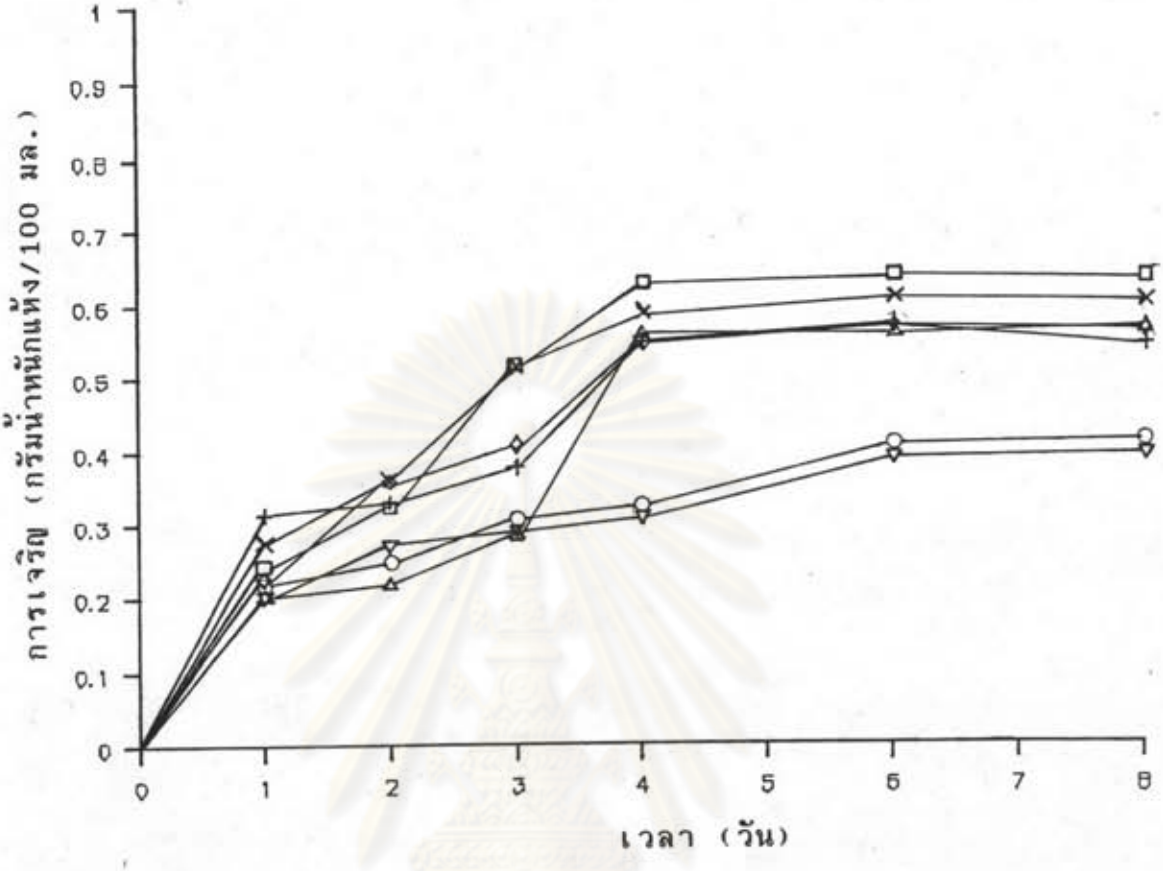
รูปที่ 2 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 , D-2 , D-3 , D-4 , D-5 , D-6 และ D-7 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal ความเร็ว 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : D-1 + : D-2 ◇ : D-3 △ : D-4

× : D-5 ▽ : D-6 ○ : D-7

หมายเหตุ ค่าเปอร์เซ็นต์ของความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองสามซ้ำ

I15220195

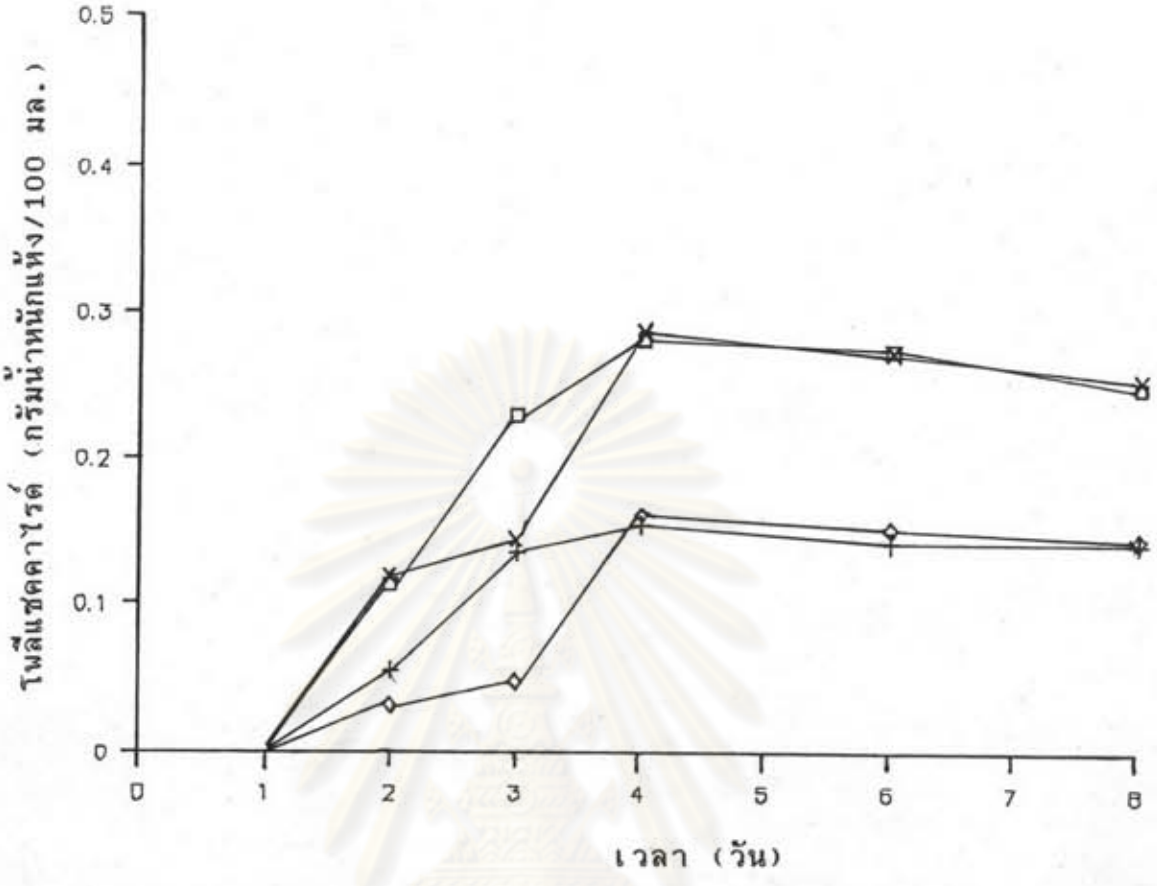


รูปที่ 3 แสดงการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 , D-2 , D-3 , D-4 , D-5 , D-6 และ D-7 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : D-1 ┼ : D-2 ◇ : D-3 △ : D-4

× : D-5 ▽ : D-6 ○ : D-7

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 4 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 , D-2 , D-3 , D-4 , D-5 , D-6 และ D-7 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : D-1 ┼ : D-2 ◇ : D-3 △ : D-4

× : D-5 ▽ : D-6 ○ : D-7

ตารางที่ 5 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1, D-2, D-3, D-4, D-5, D-6 และ D-7 ที่แยกจากอากาศในภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

รา สายพันธุ์	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มล.)	การผลิต โพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มล.)
D-1	78	0.6305	0.2800
D-2	69	0.5412	0.1405
D-3	72	0.5601	0.1450
D-4	65	0.5633	0
D-5	75	0.5965	0.2533
D-6	61	0.3859	0
D-7	68	0.3884	0

หมายเหตุ ค่าเปอร์เซ็นต์ของความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าเป็นค่าเฉลี่ยของการทดลองสามซ้ำ

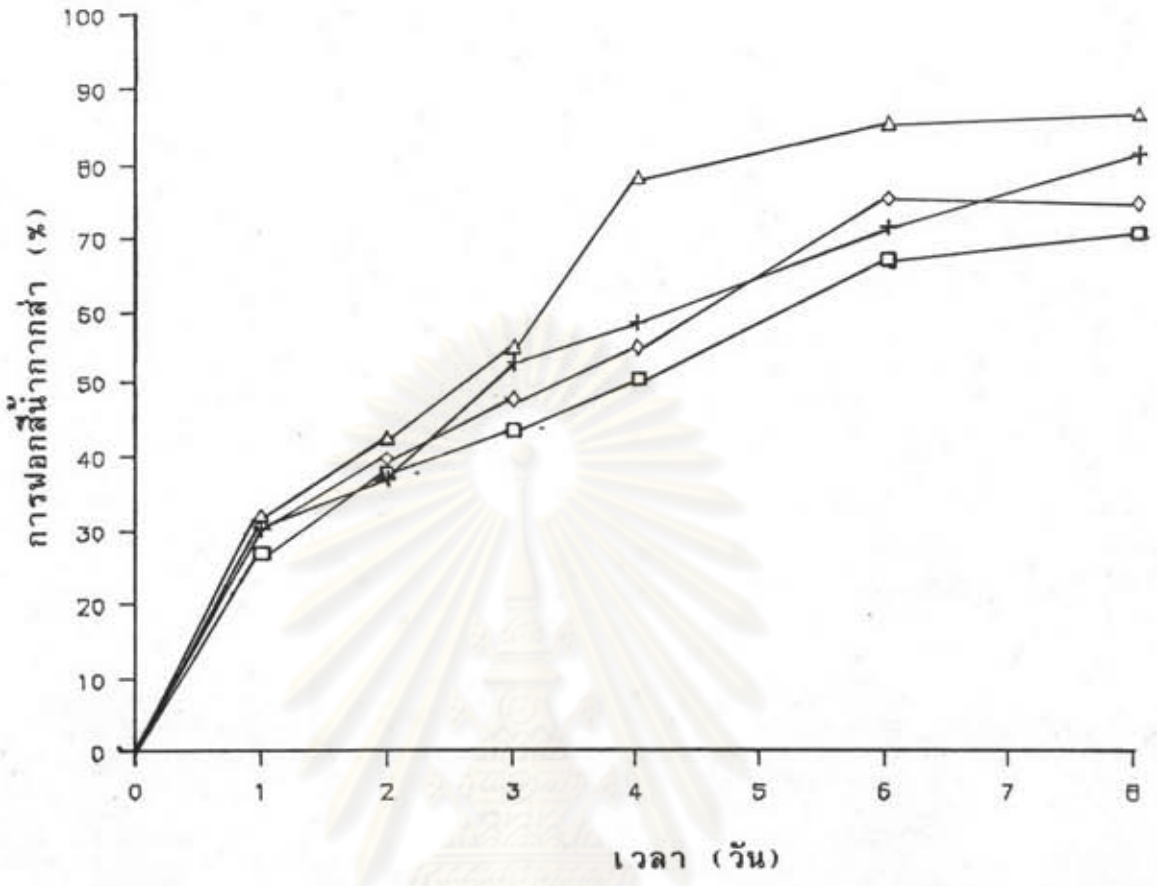
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4) ผลการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1เพื่อการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในระดับขวดเขย่า

4.1) ผลการเปรียบเทียบรูปแบบของเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ

ทำการทดลองเปรียบเทียบรูปแบบของเชื้อเริ่มต้น ระหว่างสปอร์และสายใยของราสายพันธุ์ D-1 ว่าแบบใดจะให้ผลในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ดีกว่าตามวิธีการในบทที่ 2 ข้อ10.1 การเปรียบเทียบการฟอกสีน้ำกากส่าของรูปแบบของเชื้อเริ่มต้นนั้นพบว่าทั้ง 2 รูปแบบมีการฟอกสีเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา โดยการใช้สายใยบนเครื่องเขย่าแบบ rotary นั้นจะมีการฟอกสีสูงสุด การใช้สปอร์บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocalจะมีการฟอกสีต่ำสุด(รูปที่ 5) การเจริญของทุกรูปแบบจะมีการเจริญสูงสุดช่วงระยะเวลาวันที่ 6(รูปที่ 6) การผลิตโพลีแซคคาไรด์จะสูงสุดในวันที่ 4 ของการเลี้ยงเชื้อสำหรับรูปแบบการใช้สายใยที่ใช้เครื่องเขย่าทั้ง 2 แบบ การใช้สปอร์บนเครื่องเขย่าแบบ rotaryจะผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุดในวันที่ 8 ส่วนการใช้สปอร์บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocalจะผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุดในวันที่ 8 (รูปที่ 7) โดยค่าที่ได้จากการทดลองเป็นค่าที่ได้จากการทดลอง 8 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่รามีการการฟอกสีน้ำกากส่า มีการเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในช่วงเวลานี้

พบว่าเมื่อใช้สายใยของราสายพันธุ์ D-1 ปริมาณ 0.2 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 1 มิลลิลิตรเป็นเชื้อเริ่มต้นในการเลี้ยงเชื้อและเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน ราสายพันธุ์ D-1 จะมีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้สูงสุดคือ 86 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญสูงสุดคือ 0.6254 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 1 มิลลิลิตรและมีความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุดคือ 0.2739 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร การใช้สายใยราบนเครื่องเขย่าแบบ reciprocalในสภาวะเดียวกันจะมีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำลงคือ 74 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.5668 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร มีผลิตการโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.2430 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนการใช้สปอร์ของราสายพันธุ์ D-1 ปริมาณ $1x10^7$ สปอร์ต่อมิลลิลิตร ในสภาวะเดียวกันกับการใช้สายใยราบนเครื่องเขย่าแบบ rotary นั้นพบว่ามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่ารองลงมาจากการใช้สายใยคือ 81 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญได้ 0.6221 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.2703 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและเมื่อใช้สปอร์ในสภาวะเดียวกันบนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal พบว่ามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำสุดคือ 70 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.5035 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ 0.1596 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 6)



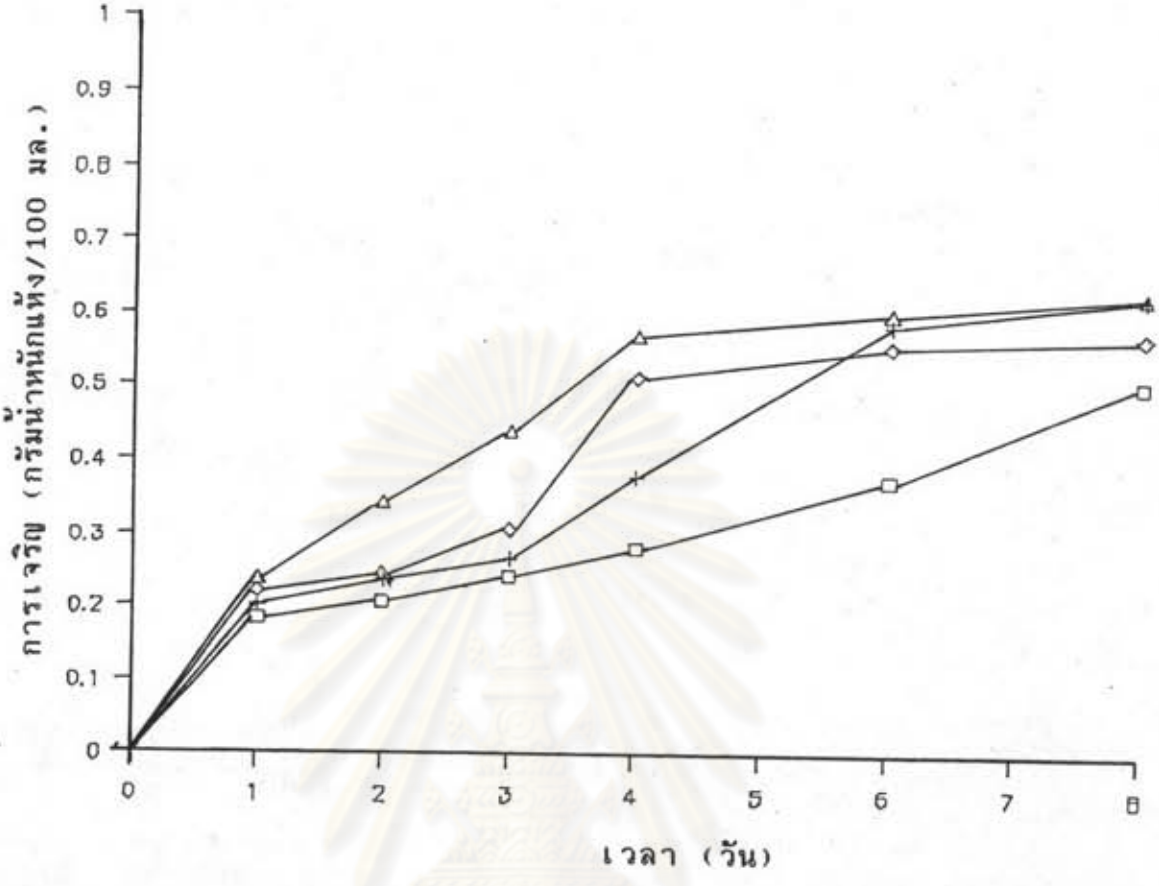
รูปที่ 5 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 ระหว่างการใช้สปอร์กับสายใยเป็นเชื้อเริ่มต้นเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่า 2 แบบคือ แบบ reciprocal และแบบ rotary ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : เชื้อเริ่มต้น สปอร์ ใช้เครื่องเขย่าแบบ reciprocal

┼ : เชื้อเริ่มต้น สปอร์ ใช้เครื่องเขย่าแบบ rotary

◇ : เชื้อเริ่มต้น สายใย ใช้เครื่องเขย่าแบบ reciprocal

△ : เชื้อเริ่มต้น สายใย ใช้เครื่องเขย่าแบบ rotary



รูปที่ 6 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 ระหว่างการใช้สปอร์กับสายใยเป็นเชื้อเริ่มต้น เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่า 2 แบบคือ แบบ reciprocal และแบบ rotary ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

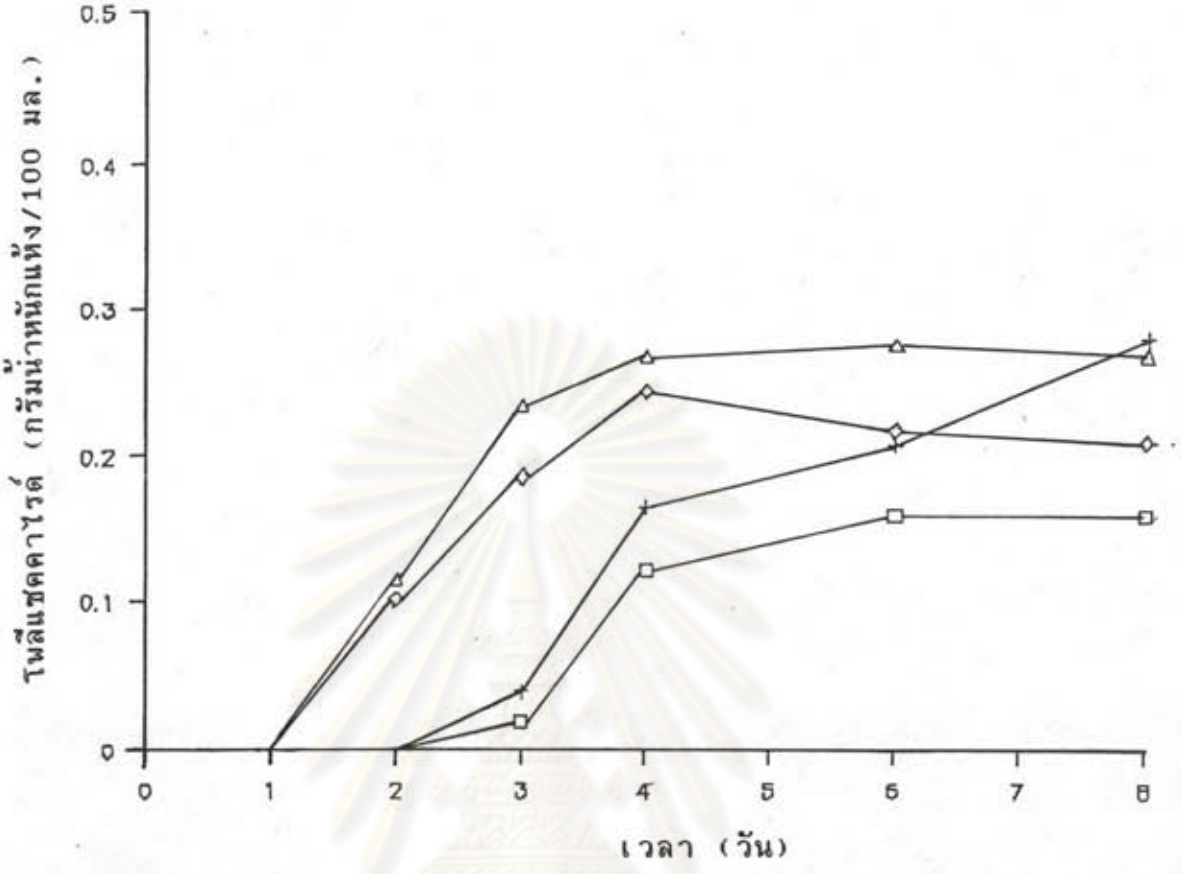
□ : เชื้อเริ่มต้น สปอร์ ใช้เครื่องเขย่าแบบ reciprocal

┼ : เชื้อเริ่มต้น สปอร์ ใช้เครื่องเขย่าแบบ rotary

◇ : เชื้อเริ่มต้น สายใย ใช้เครื่องเขย่าแบบ reciprocal

△ : เชื้อเริ่มต้น สายใย ใช้เครื่องเขย่าแบบ rotary

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 7 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 ระหว่างการใช้สปอร์กับสายใยเป็นเชื้อเริ่มต้นเมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่า 2 แบบคือ แบบ reciprocal และแบบ rotary ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : เชื้อเริ่มต้น สปอร์ ใช้เครื่องเขย่าแบบ reciprocal

┼ : เชื้อเริ่มต้น สปอร์ ใช้เครื่องเขย่าแบบ rotary

◇ : เชื้อเริ่มต้น สายใย ใช้เครื่องเขย่าแบบ reciprocal

△ : เชื้อเริ่มต้น สายใย ใช้เครื่องเขย่าแบบ rotary

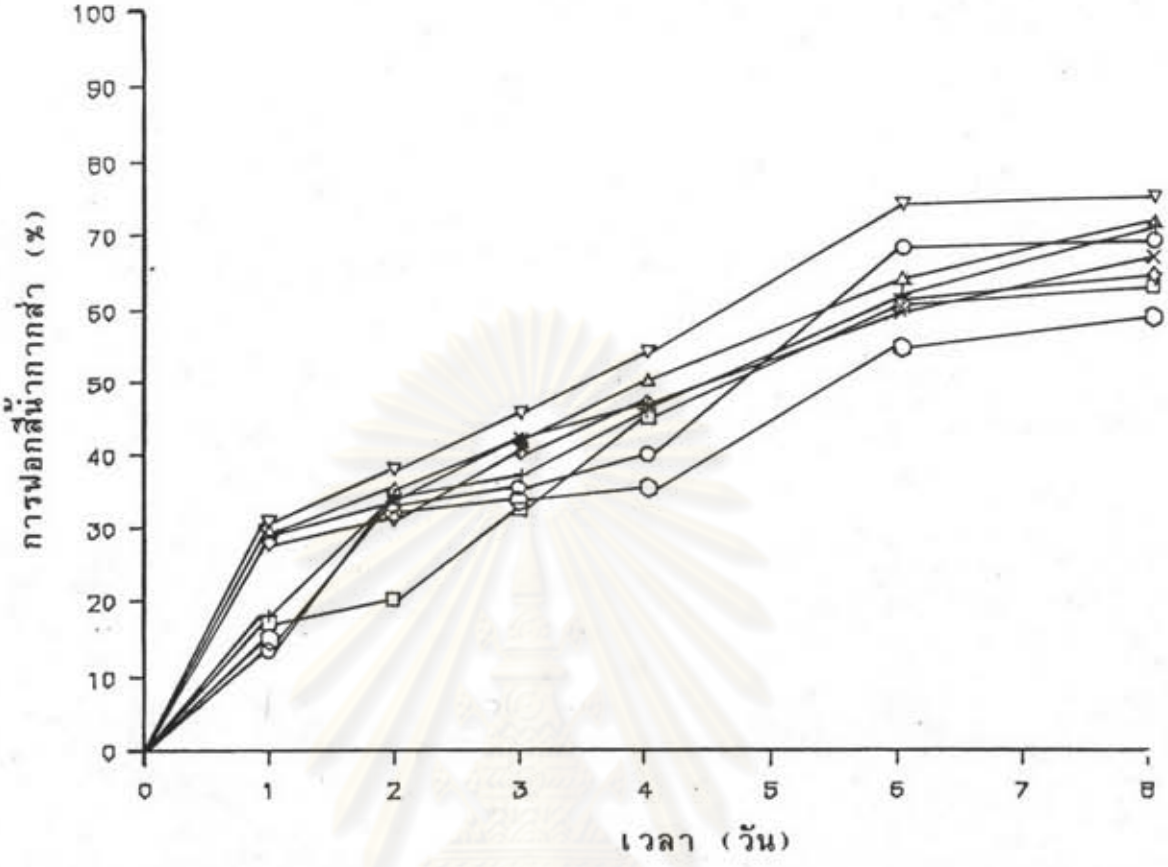
ตารางที่ 6 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 ระหว่างการใช้สปอร์กับสายใยเป็นเชื้อเริ่มต้น เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่ผสมสารละลายสีน้ำกากส่า (MPM) ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่า 2 แบบคือ แบบ reciprocal และแบบ rotary ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

รูปแบบเชื้อเริ่มต้น	ชนิดของเครื่องเขย่า	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)
สปอร์	reciprocal	70	0.5035	0.1596
สปอร์	rotary	81	0.6221	0.2703
สายใย	reciprocal	74	0.5668	0.2430
สายใย	rotary	86	0.6254	0.2739

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2) ผลการเปรียบเทียบลักษณะการให้อากาศในระดับขวดเขย่าบนเครื่องเขย่า 2 แบบ

เมื่อทำการทดลองเปรียบเทียบลักษณะการให้อากาศในการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 ด้วยเครื่องเขย่า 2 แบบคือ แบบ reciprocal และ rotary ในแต่ละชนิดของเครื่องเขย่าใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 4 ระดับคือ 50,100,150 และ 200 รอบต่อนาที และในแต่ละระดับความเร็วใช้ขวดเขย่าความจุแตกต่างกัน 2 ขนาด คือ 250 มิลลิลิตรและ 500 มิลลิลิตร เพื่อเปรียบเทียบว่าลักษณะการให้อากาศแบบใดเหมาะสมในการปอกสีน้ำกากส่าและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 ได้ดีที่สุด การเปรียบเทียบการปอกสีน้ำกากส่านั้นพบว่าทุกรูปแบบมีความสามารถในการปอกสีน้ำกากส่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและคงที่ประมาณวันที่ 8 การเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ขวดขนาด 500 มิลลิลิตร จะมีความสามารถในการปอกสีน้ำกากส่าสูงสุดและที่ความเร็วรอบ 50 รอบต่อนาที ขวดขนาด 250 มิลลิลิตรจะมีความสามารถในการปอกสีน้ำกากส่าต่ำสุด(รูปที่ 8,11) การเจริญของเชื้อพบว่าการเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal มีการเจริญมากขึ้นตามระยะเวลาและคงที่ประมาณวันที่ 8 และมีการเจริญได้น้ำหนักแห้งของสายใยใกล้เคียงกัน ส่วนการเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary จะมีการเจริญมากขึ้นตามระยะเวลาและคงที่ประมาณวันที่ 6 แต่มีน้ำหนักแห้งของสายใยแตกต่างกันมาก(รูปที่ 9,12) การผลิตโพลีแซคคาไรด์ พบว่าการเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal จะมีปริมารน้อยและมีปริมาณคงที่ในวันที่ 8 ส่วนการเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบrotary จะมีปริมาณมากกว่าและสูงสุดในวันที่ 4 (รูปที่ 10, 13) พบว่าเมื่อเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ในขวดเลี้ยงเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร จะทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการปอกสีน้ำกากส่าได้สูงสุดคือ 86 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญสูงสุดคือ 0.6174 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุดคือ 0.3066 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ความเร็วรอบ 50 รอบต่อนาทีเครื่องเขย่าแบบ rotary และขนาดขวด 250 หรือ 500 มิลลิลิตร จะไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ นอกจากนี้แล้วการเจริญและการปอกสียังต่ำสุดอีกด้วย (ตารางที่ 7)



รูปที่ 8 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal ใช้ความเร็วในการเขย่า 4 ระดับคือ 50,100,150 และ 200 รอบต่อนาที ความเร็วแต่ละระดับใช้ขนาดของขวดต่างกัน 2 ขนาดคือ 250 มล. และ 500 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

⬡ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

□ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

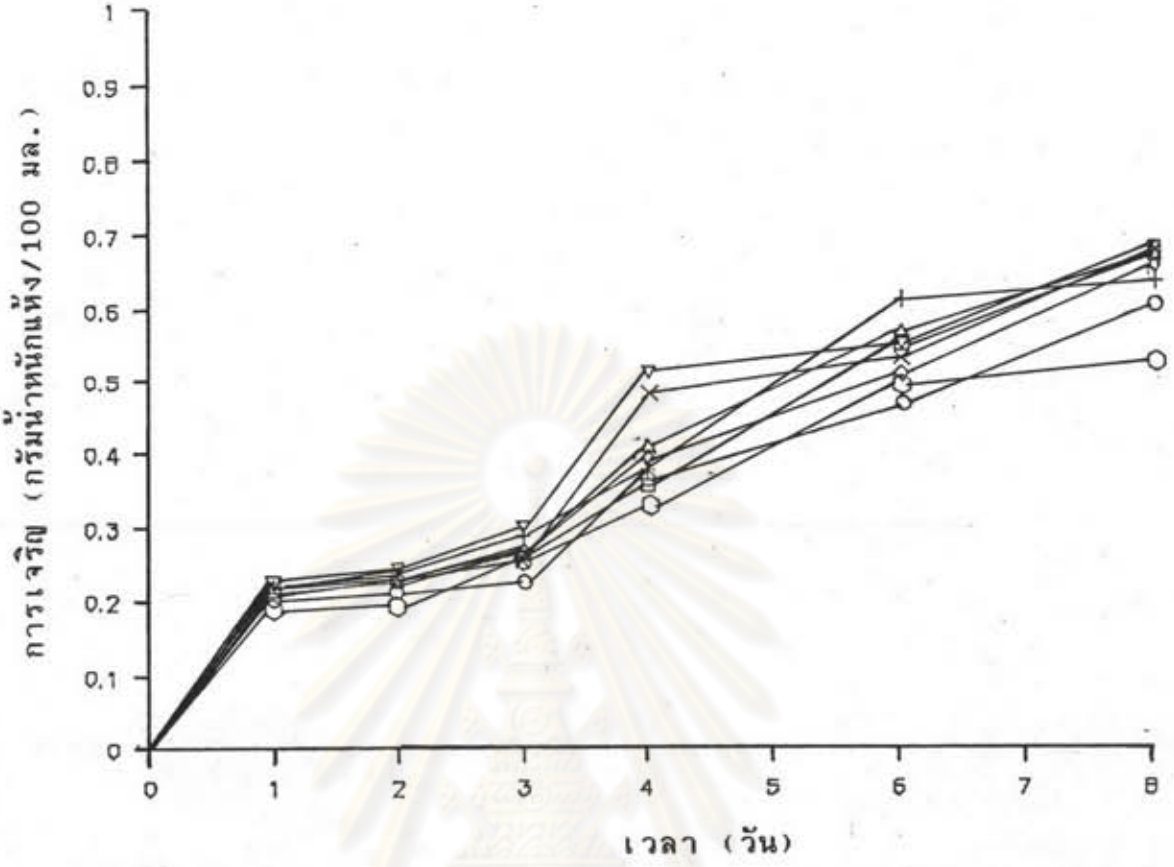
+ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

◇ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

△ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

× : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

▽ : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.



รูปที่ 9 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal ใช้ความเร็วในการเขย่า 4 ระดับคือ 50, 100,150 และ 200 รอบต่อนาที ความเร็วแต่ละระดับใช้ขนาดของขวดต่างกัน 2 ขนาดคือ 250 มล.และ 500 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

⬡ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

□ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

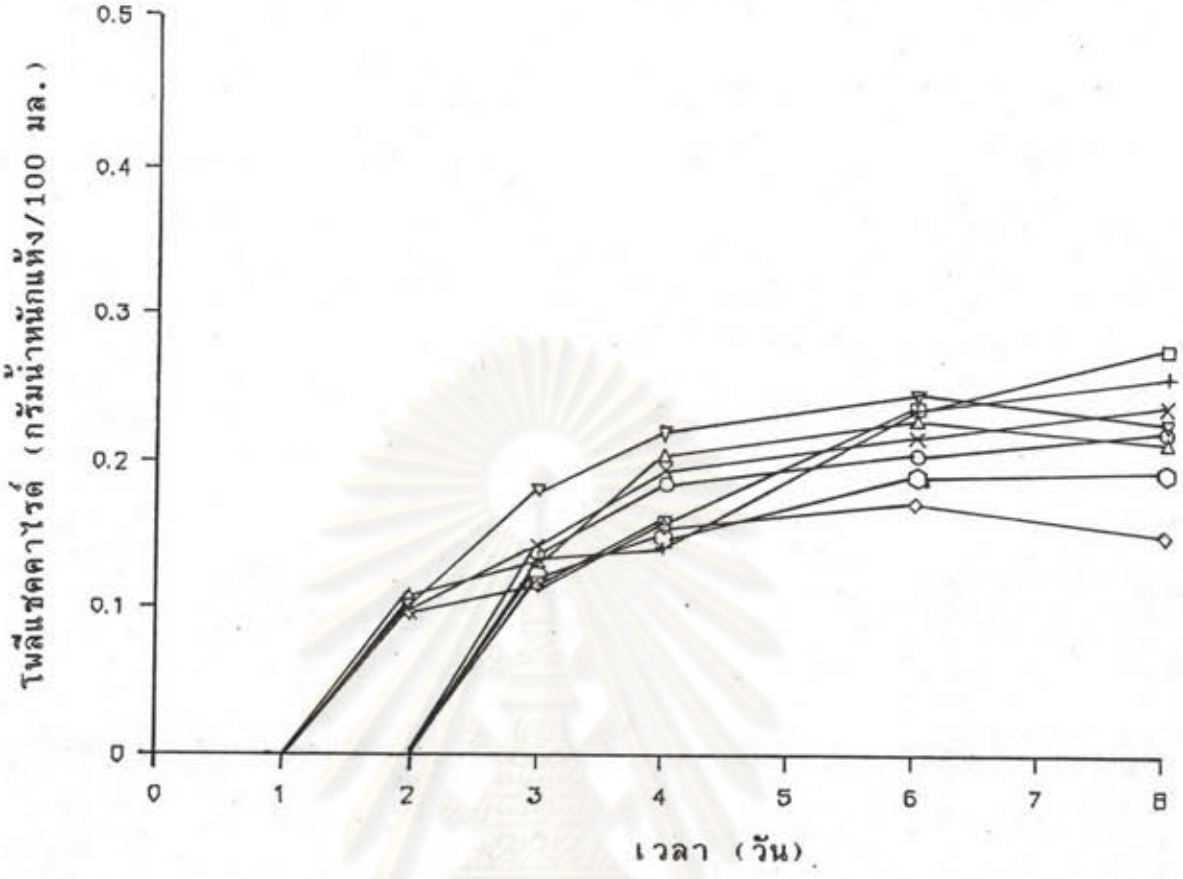
+ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

◇ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

△ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

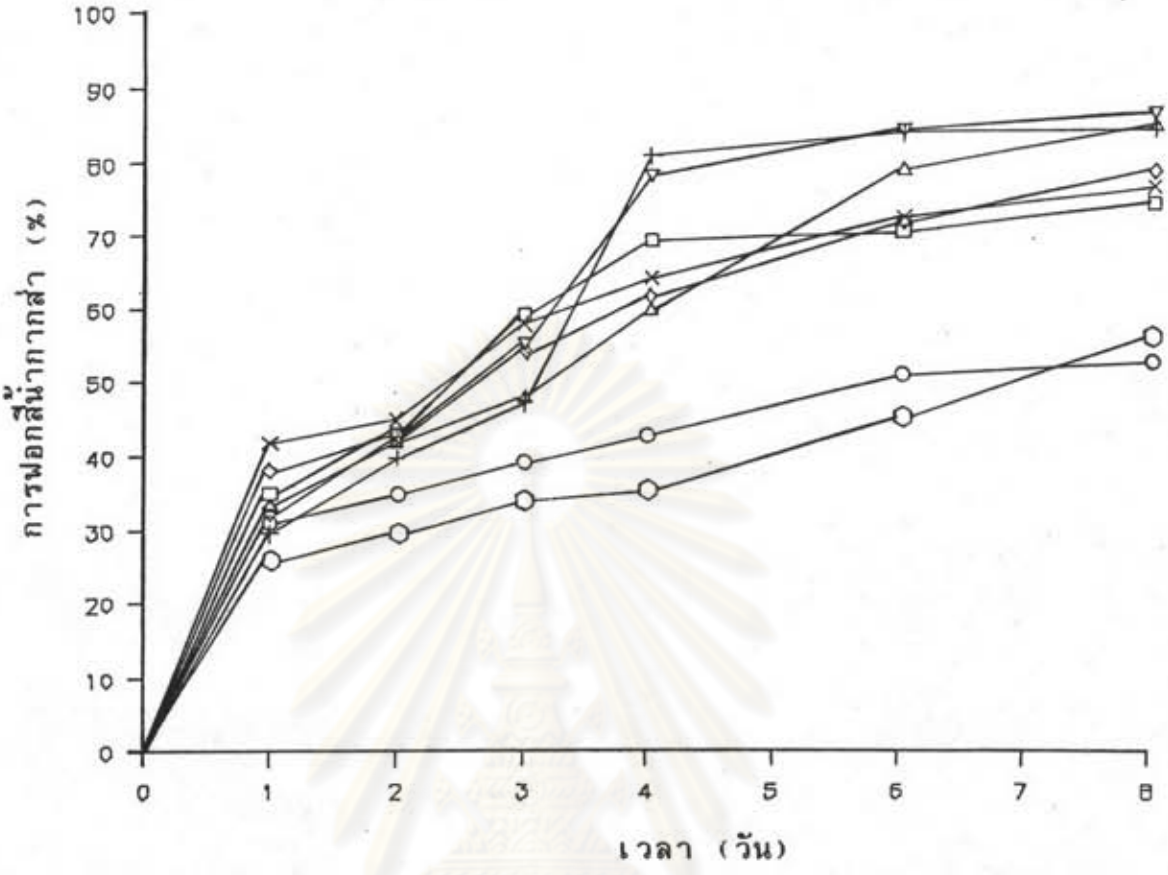
× : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

▽ : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.



รูปที่ 10 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ reciprocal ใช้ความเร็วในการเขย่า 4 ระดับคือ 50,100,150 และ 200 รอบต่อนาที ความเร็วแต่ละระดับใช้ขนาดของขวดต่างกัน 2 ขนาดคือ 250 มล.และ 500 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.
⬡ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.
□ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.
+ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.
◇ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.
△ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.
× : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.
▽ : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.



รูปที่ 11 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ใช้ความเร็วในการเขย่า 4 ระดับคือ 50,100,150 และ 200 รอบต่อนาที ความเร็วแต่ละระดับใช้ขนาดของขวดต่างกัน 2 ขนาดคือ 250 มล. และ 500 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

⬡ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

□ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

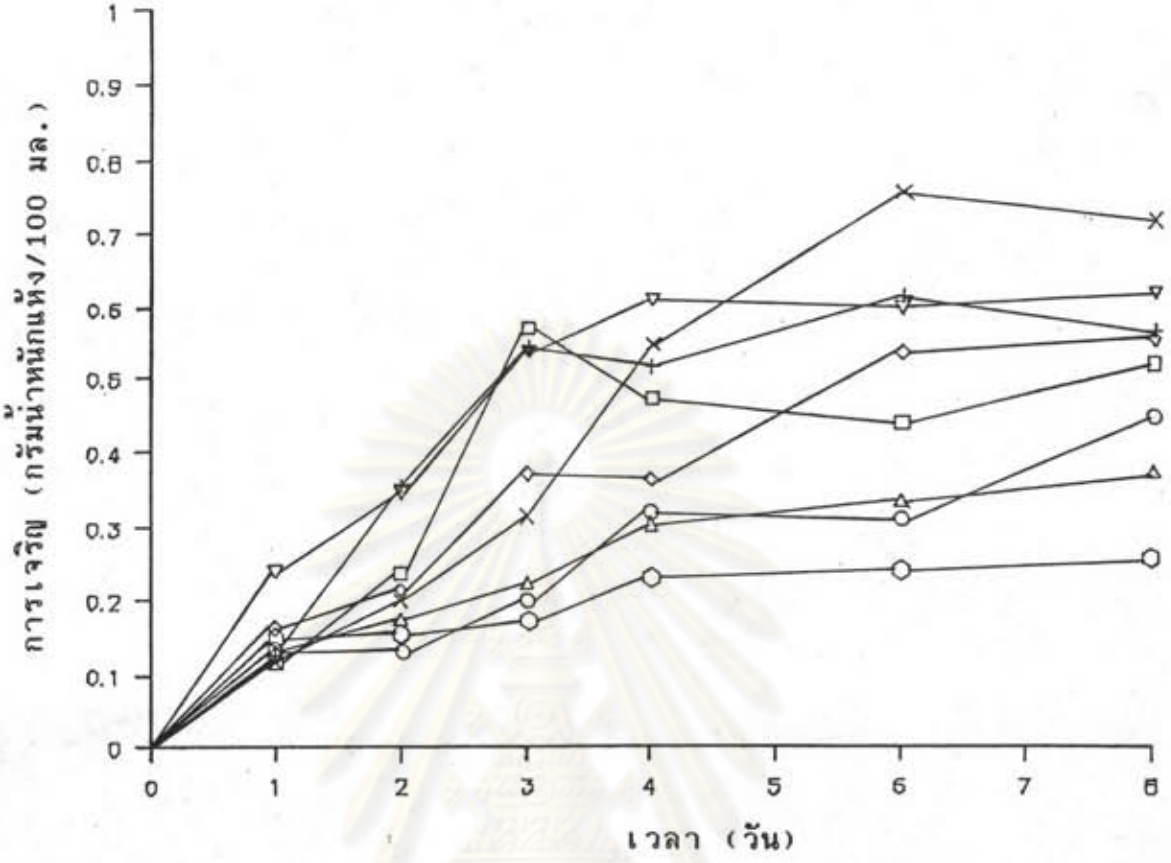
+ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

◇ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

△ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

× : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

▽ : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.



รูปที่ 12 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ใช้ความเร็วในการเขย่า 4 ระดับคือ 50,100,150 และ 200 รอบต่อนาที ความเร็วแต่ละระดับใช้ขนาดของขวดต่างกัน 2 ขนาดคือ 250 มล.และ 500 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

⬡ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

□ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

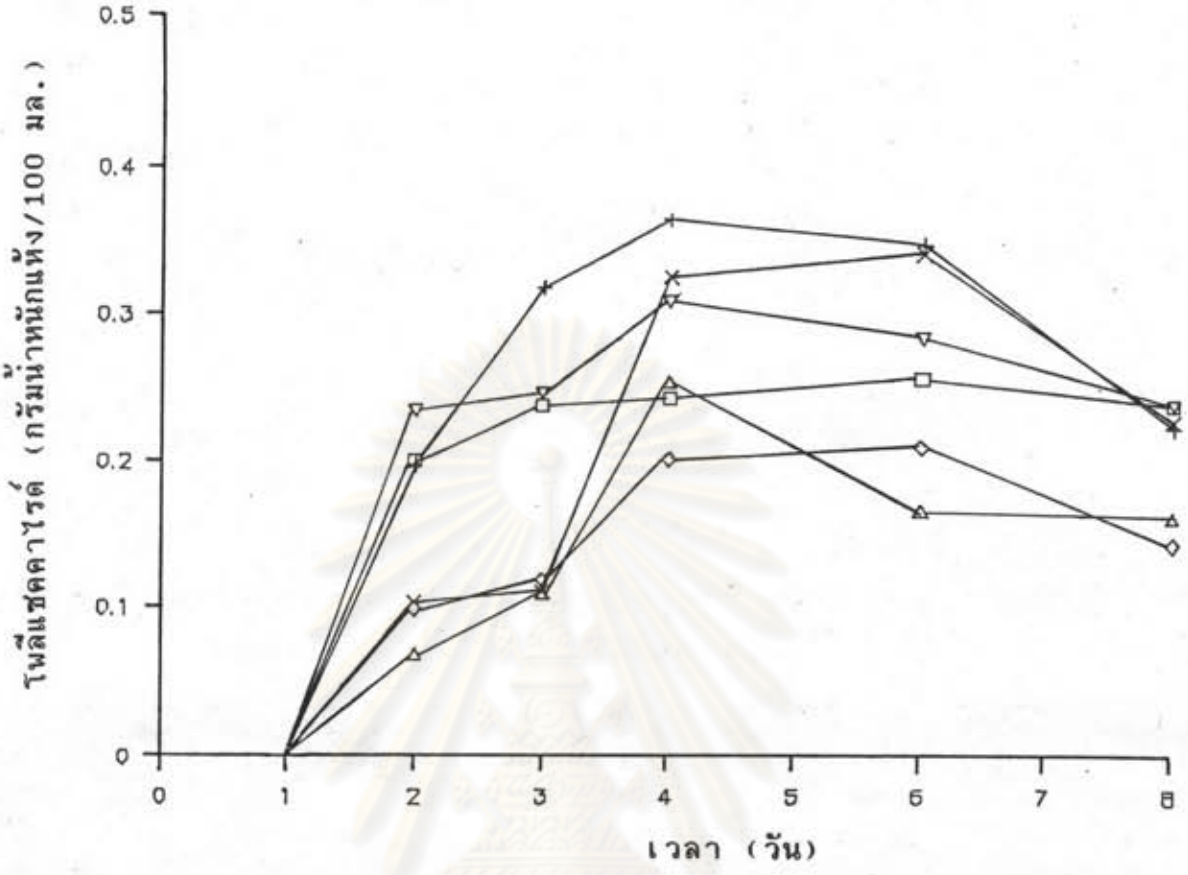
+ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

◇ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

△ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

× : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

▽ : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.



รูปที่ 13 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ใช้ความเร็วในการเขย่า 4 ระดับคือ 50,100,150 และ 200 รอบต่อนาที ความเร็วแต่ละระดับใช้ขนาดของขวดต่างกัน 2 ขนาดคือ 250 มล.และ 500 มล. อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

⬡ : ความเร็ว 50 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

□ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

+ : ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

◇ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

△ : ความเร็ว 150 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

× : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 250 มล.

▽ : ความเร็ว 200 รอบต่อนาที ในขวดขนาด 500 มล.

ตารางที่ 7 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่า 2 แบบคือแบบ reciprocal และแบบ rotary ความเร็วรอบในการเขย่า 4 ระดับคือ 50,100,150 และ 200 รอบต่อนาที และในขนาดของขวดต่างกัน 2 ขนาดคือ 250 มิลลิลิตร และ 500 มิลลิลิตร อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

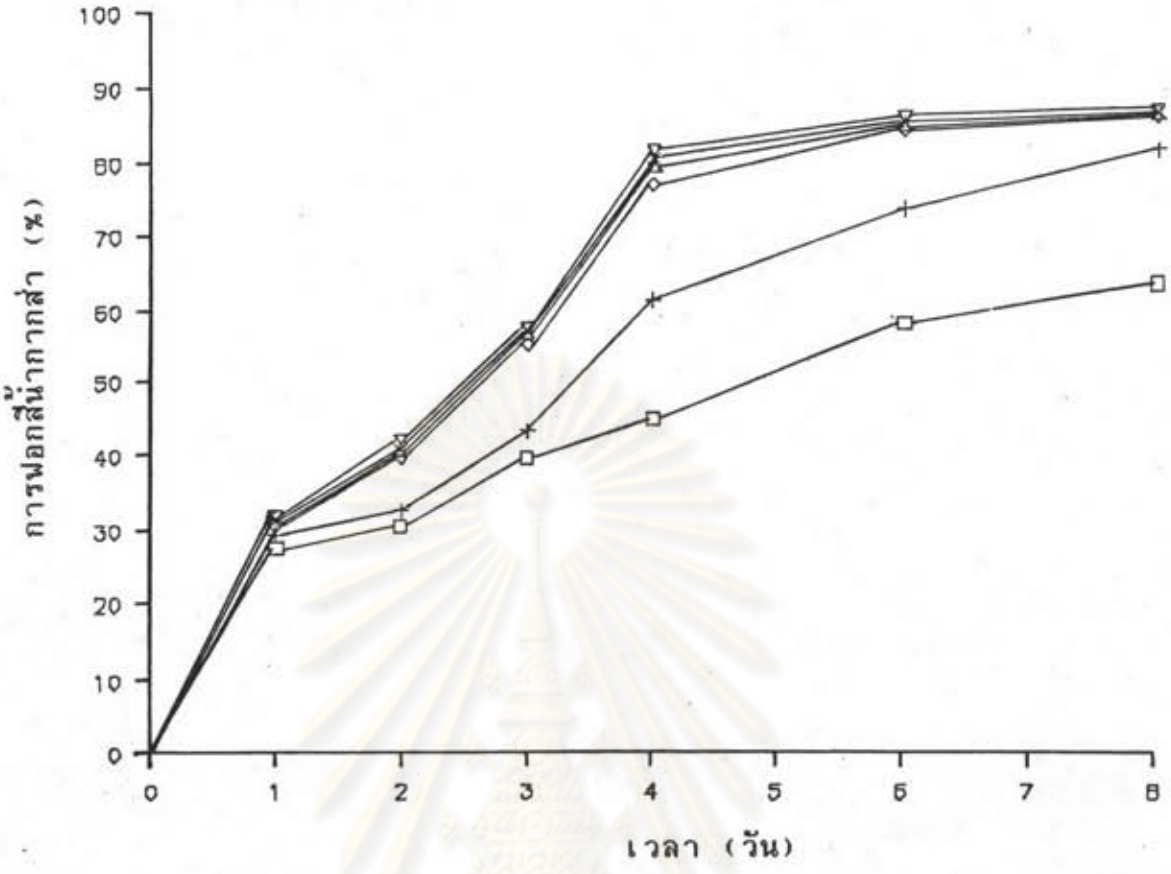
รูปแบบเครื่องเขย่า	ความเร็ว (rpm)	ขนาดขวด (มล.)	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)	โพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)
reciprocal	50	250	70	0.6271	0.2153
reciprocal	50	500	62	0.5199	0.1437
reciprocal	100	250	63	0.6789	0.2747
reciprocal	100	500	71	0.6344	0.1410
reciprocal	150	250	61	0.6681	0.1713
reciprocal	150	500	71	0.6807	0.2267
reciprocal	200	250	59	0.6625	0.3153
reciprocal	200	500	75	0.6548	0.2430
rotary	50	250	54	0.4334	0
rotary	50	500	57	0.2001	0
rotary	100	250	74	0.5180	0.2547
rotary	100	500	84	0.5654	0.3633
rotary	150	250	78	0.5522	0.2077
rotary	150	500	85	0.5714	0.2527
rotary	200	250	76	0.7173	0.3390
rotary	200	500	86	0.6174	0.3066

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.3) ผลการศึกษาปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1

จากการทดลองเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีในขวดเลี้ยงเชื้อขนาด 500 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่แตกต่างกันดังนี้คือ 0.05,0.10,0.15,0.20, 0.25 และ 0.30 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร เพื่อหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่น้อยที่สุดที่รามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ การเปรียบเทียบการฟอกสีน้ำกากส่าพบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.30,0.25,0.20,0.15 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร สามารถฟอกสีน้ำกากส่าได้มากกว่า 86 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 4 วัน ส่วนปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.10 และ 0.05 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร จะมีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้ต่ำกว่า 86 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 4 วัน(รูปที่ 14) การเจริญของเชื้อพบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.30,0.25,0.20,0.15 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร มีการเจริญสูงสุดในวันที่ 6 ส่วนปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.10 และ 0.05 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร จะมีการเจริญสูงสุดในวันที่ 8 (รูปที่ 15) ส่วนการผลิตโพลีแซคคาไรด์พบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.30,0.25,0.20, 0.15 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 4 ส่วนปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.10 และ 0.05 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร จะผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 8 (รูปที่ 16)

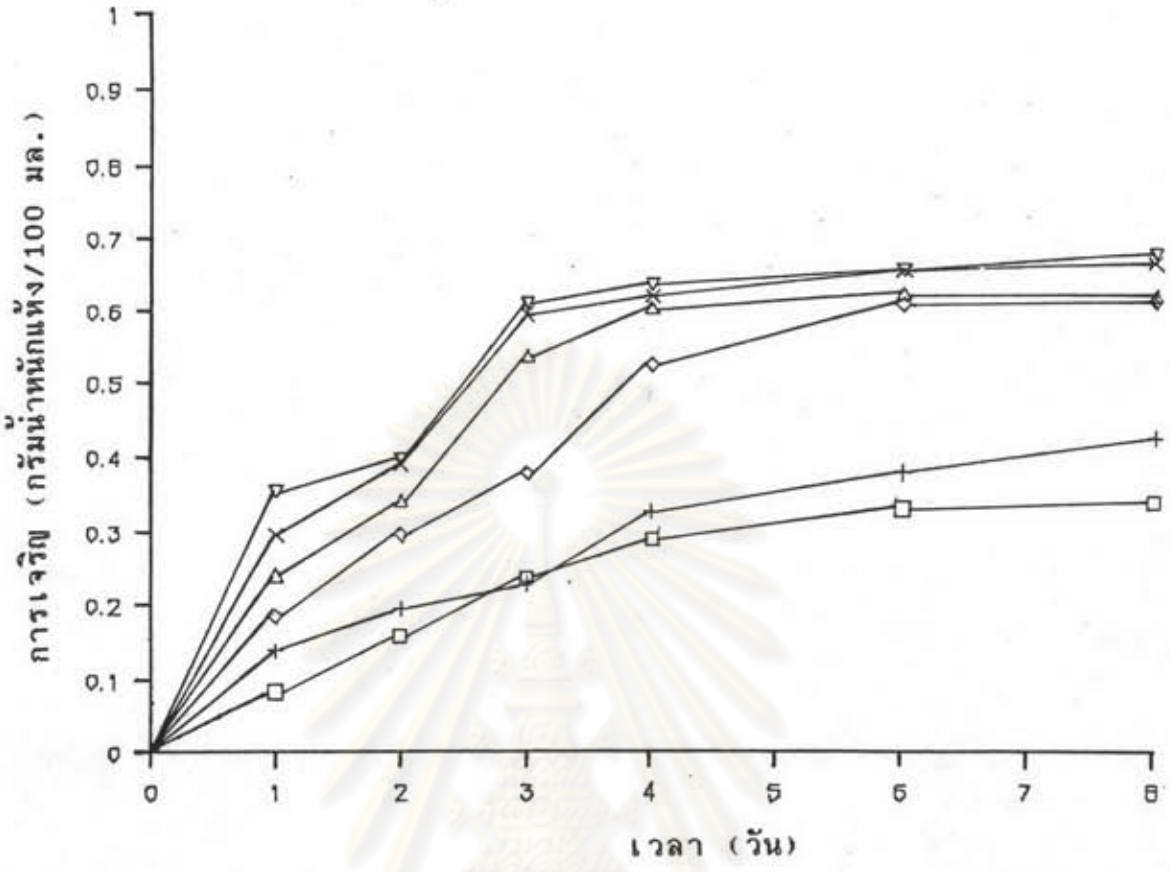
พบว่าเมื่อใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้นสายใยของราไม่ต่ำกว่า 0.15 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร จะทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 86 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 4 วัน มีการเจริญมากกว่า 0.6112 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร และผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ไม่ต่ำกว่า 0.3048 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ในขณะที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นต่ำกว่า 0.15 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร จะให้การฟอกสีน้ำกากส่าต่ำกว่า 86 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 8 วัน โดยปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.10 และ 0.05 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรจะให้การฟอกสีน้ำกากส่า 64 และ 45 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับในเวลา 4 วันและพบว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้น 0.05 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร จะให้การฟอกสีน้ำกากส่าต่ำสุด คือ 65 เปอร์เซ็นต์ในเวลา 8 วัน มีการเจริญ 0.3364 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ 0.2878 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร (ตารางที่ 8)



รูปที่ 14 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรปริมาณเชื้อเริ่มต้นตั้งแต่ 0.05 ถึง 0.30 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มล. เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : 0.05 + : 0.10 ◇ : 0.15

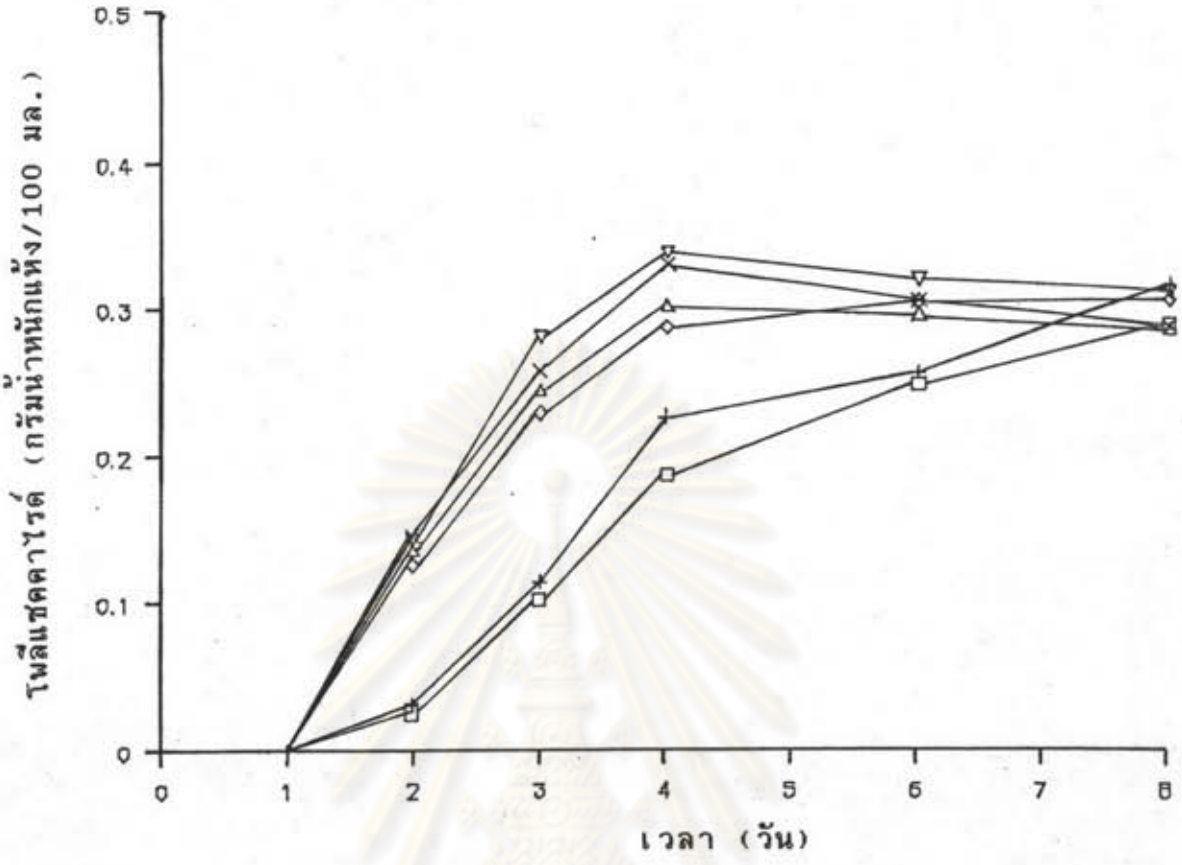
△ : 0.20 × : 0.25 ▽ : 0.30



รูปที่ 15 แสดงการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรปริมาณเชื้อเริ่มต้นตั้งแต่ 0.05 ถึง 0.30 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มล. เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : 0.05 + : 0.10 ◇ : 0.15

△ : 0.20 × : 0.25 ▽ : 0.30



รูปที่ 16 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรปริมาณเชื้อเริ่มต้นตั้งแต่ 0.05 ถึง 0.30 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มล. เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : 0.05 + : 0.10 ◇ : 0.15

△ : 0.20 × : 0.25 ▽ : 0.30

ตารางที่ 8 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อใช้สายใยราเป็นเชื้อเริ่มต้นในปริมาณต่างๆกัน เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

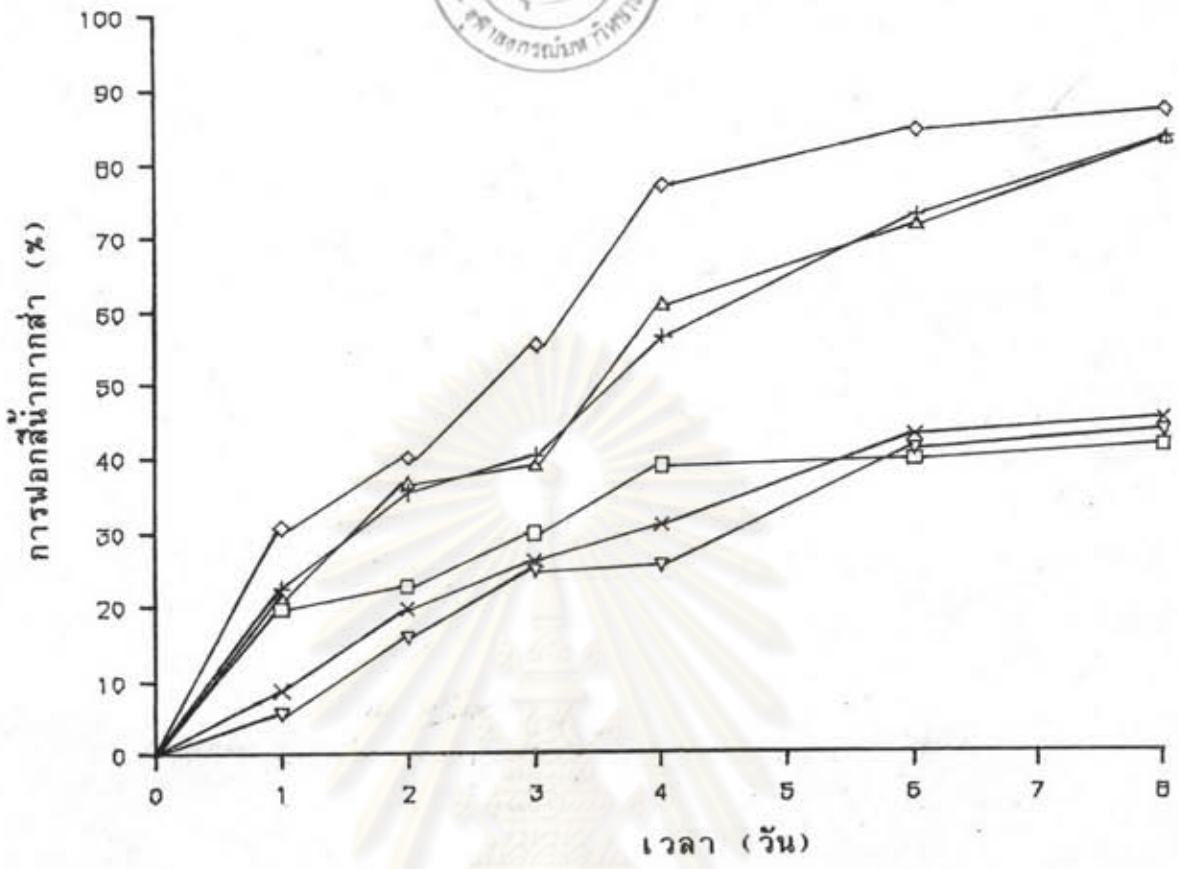
ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (ก.น้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มล.)	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มล.)
0.05	45	0.3364	0.2878
0.10	64	0.4231	0.3141
0.15	86	0.6112	0.3048
0.20	86	0.6173	0.2838
0.25	86	0.6628	0.2861
0.30	86	0.6755	0.3086

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4) ผลการศึกษาความเป็นกรดด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์

จากการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1ในสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อจากข้อ 4.3 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM และทำการปรับความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนทำการเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกันดังนี้คือ 3,4,5,6,7 และ 8 เพื่อหาความเป็นกรดด่างเริ่มต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ การเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าพบว่าที่ความเป็นกรดด่าง 4, 5 และ 6 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่ามากขึ้นตามระยะเวลาโดยที่ความเป็นกรดด่าง 5 จะมีการฟอกสีสูงสุด รองลงมาคือความเป็นกรดด่าง 4 และ 6 ตามลำดับ ส่วนที่ความเป็นกรดด่าง 3,7 และ 8 มีการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำมากโดยเฉพาะที่ความเป็นกรดด่าง 3 มีการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำสุด (รูปที่ 17) การเจริญของราที่ความเป็นกรดด่าง 4, 5, 6, 7 และ 8 พบว่ามีการเจริญเพิ่มขึ้นตามระยะเวลา มีปริมาณใกล้เคียงกันและสูงสุดในวันที่ 6 ส่วนที่ความเป็นกรดด่าง 3 มีการเจริญต่ำสุด (รูปที่ 18) การผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราพบว่าที่ความเป็นกรดด่าง 5, 4 และ 6 สามารถสร้างสารโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุดในวันที่ 4 โดยที่ความเป็นกรดด่าง 5 สามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้สูงสุด ส่วนที่ความเป็นกรดด่าง 3 , 7 และ 8 ไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (รูปที่ 19)

พบว่าเมื่อใช้ความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนทำการเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 5 จะทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 86 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญ 0.6136 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร และผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.2864 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ความเป็นกรดด่าง 3,7 และ 8 มีการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำมากคือ 41, 44 และ 42 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ มีการเจริญ 0.4423 , 0.5969 และ 0.5929 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ และไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ตารางที่ 9)

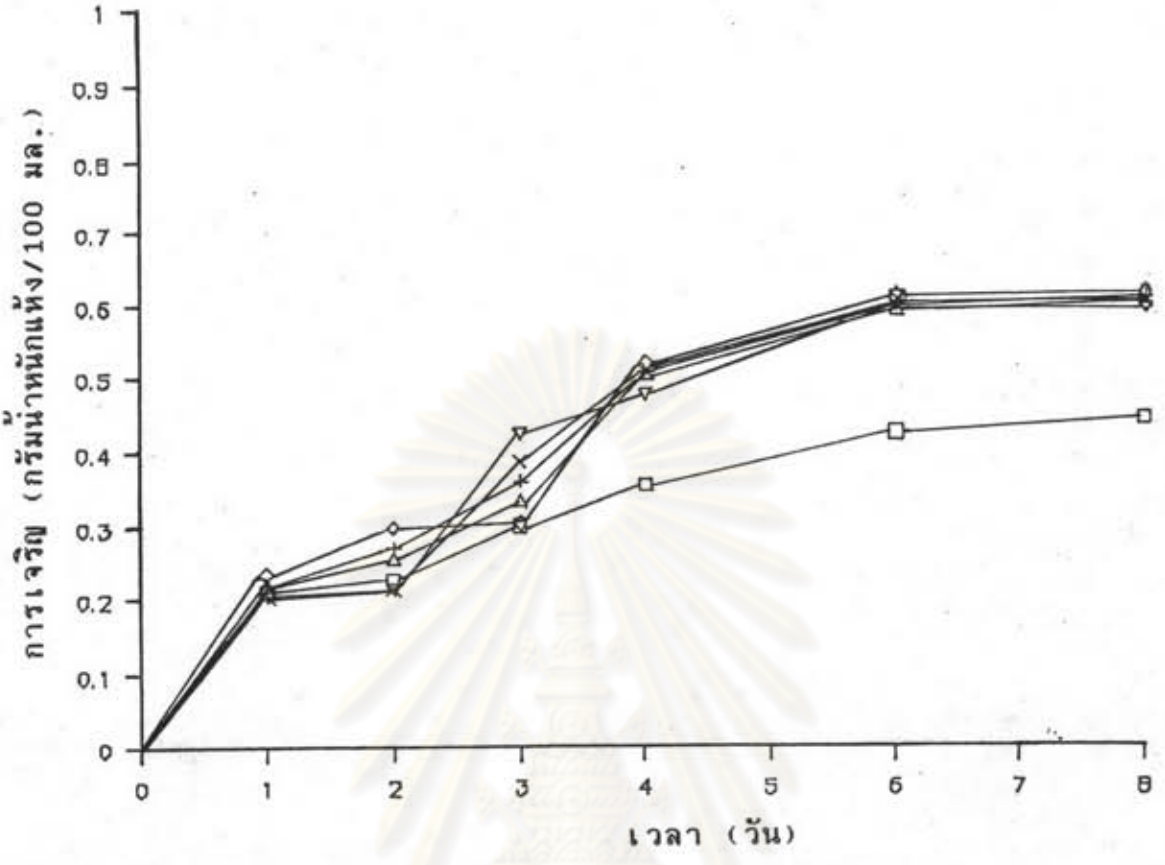


รูปที่ 17 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ก่อนทำการเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 3 ถึง 8 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ :pH 3 + :pH 4 ◇ :pH 5

△ :pH 6 × :pH 7 ▽ :pH 8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

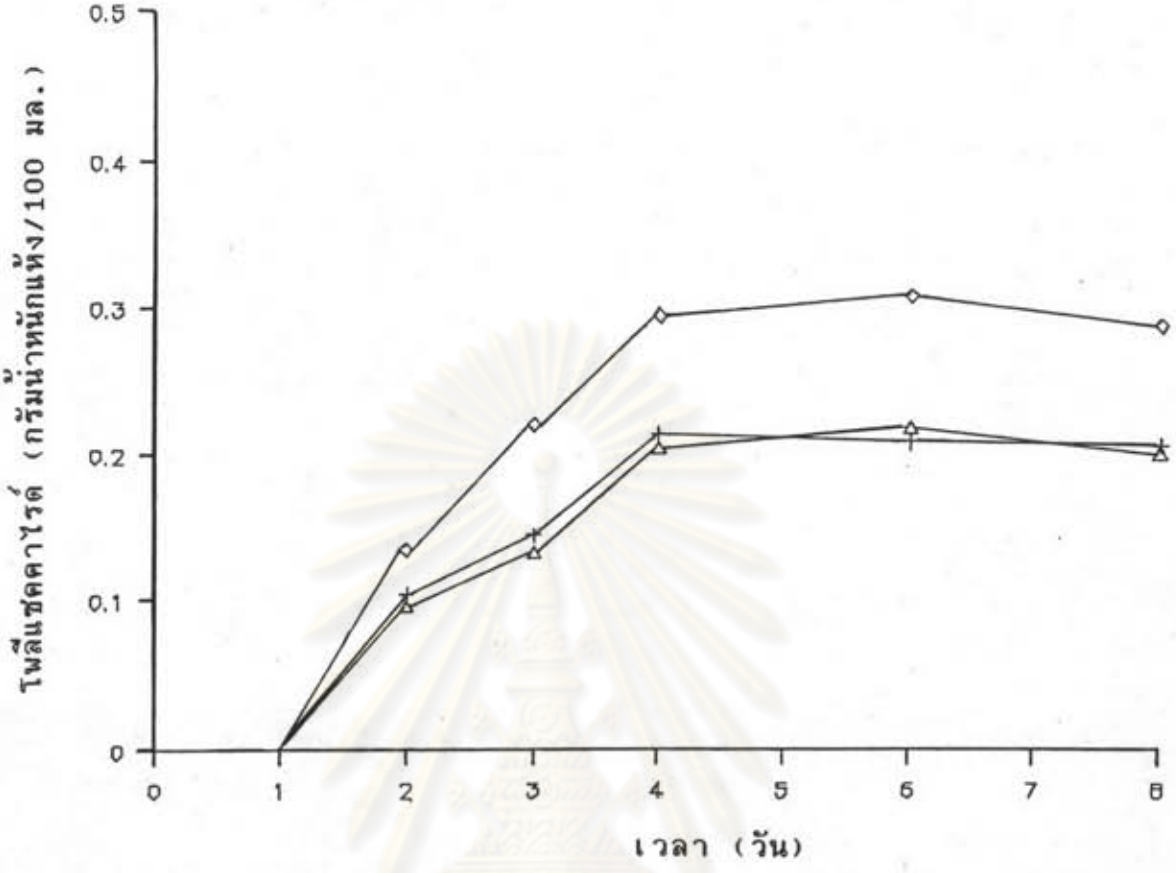


รูปที่ 18 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ก่อนทำการเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 3 ถึง 8 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ :pH 3 ┼ :pH 4 ◇ :pH 5

△ :pH 6 × :pH 7 ▽ :pH 8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 19 แสดงผลการเปรียบเทียบการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ก่อนเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 3 ถึง 8 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ :pH 3 + :pH 4 ◇ :pH 5

△ :pH 6 × :pH 7 ▽ :pH 8

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 9 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและ การผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรความเป็นกรดด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 3 ถึง 8 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

ความเป็นกรดด่าง	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)
3	41	0.4423	0
4	83	0.6073	0.2053
5	86	0.6136	0.2864
6	82	0.5989	0.2001
7	44	0.5969	0
8	42	0.5929	0

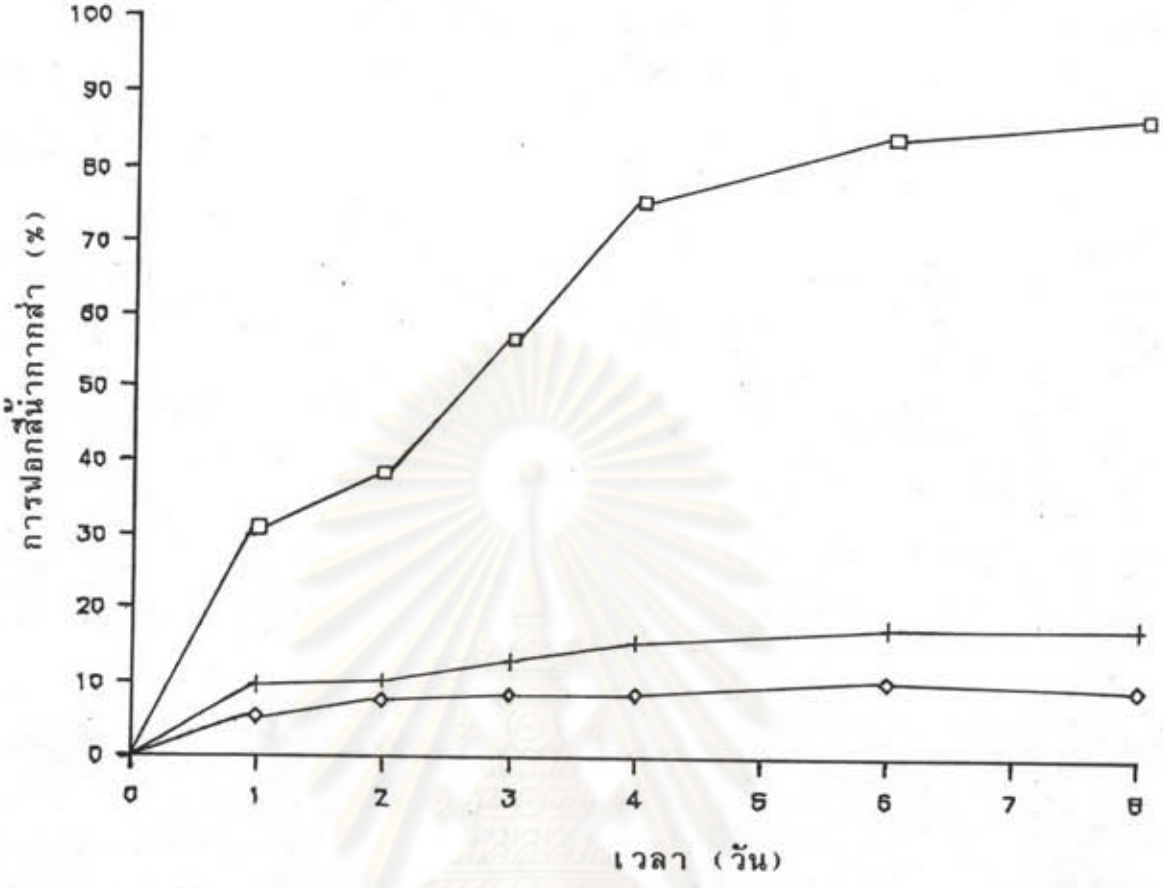
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5) ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์

ทำการเลี้ยงราในสภาวะที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อจากข้อ 4.4 แล้วทำการผันแปรอุณหภูมิในการบ่มเชื้อด้วยอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 3 ระดับคือ 30, 40 และ 50 องศาเซลเซียส เพื่อหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ การเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าพบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีการฟอกสีน้ำกากส่าสูงสุดในวันที่ 8 ที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียส มีการฟอกสีต่ำมากมีค่าใกล้เคียงกันและสูงสุดในวันที่ 4 (รูปที่ 20) การเจริญของราที่อุณหภูมิ 30,40,50 องศาเซลเซียสมีการเจริญเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาและสูงสุดในวันที่ 4 โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีการเจริญสูงสุด (รูปที่ 21) การผลิตโพลีแซคคาไรด์ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีปริมาตรสูงสุดในวันที่ 4 ส่วนที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียสไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (รูปที่ 22)

พบว่าเมื่อใช้ความอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 30 องศาเซลเซียส จะทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 86 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.6134 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร และมีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.3323 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร การฟอกสีน้ำกากส่าและการเจริญต่ำสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ที่อุณหภูมิ 40 และ 50 องศาเซลเซียสไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ตารางที่ 10)

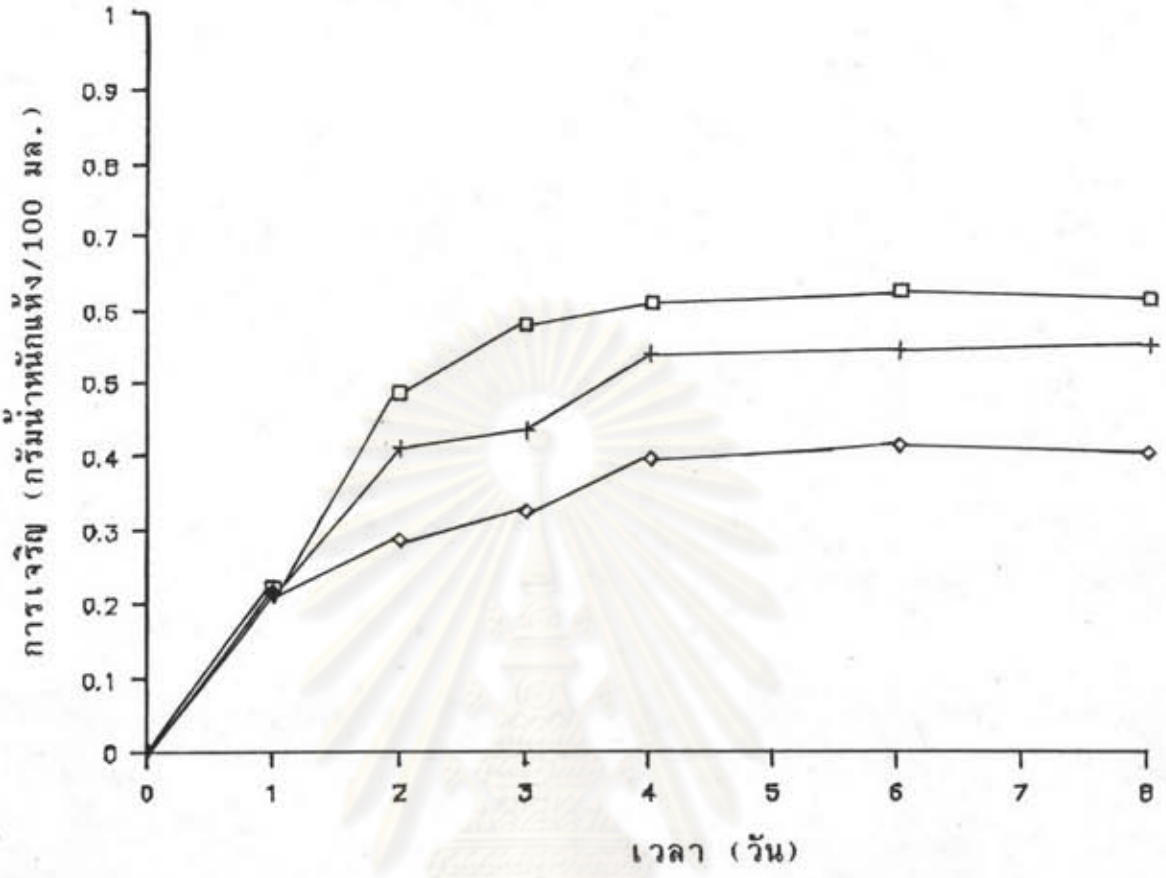
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 20 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 30 ถึง 50 องศาเซลเซียส เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 วัน

□ : 30 ° c + : 40 ° c ◇ : 50 ° c

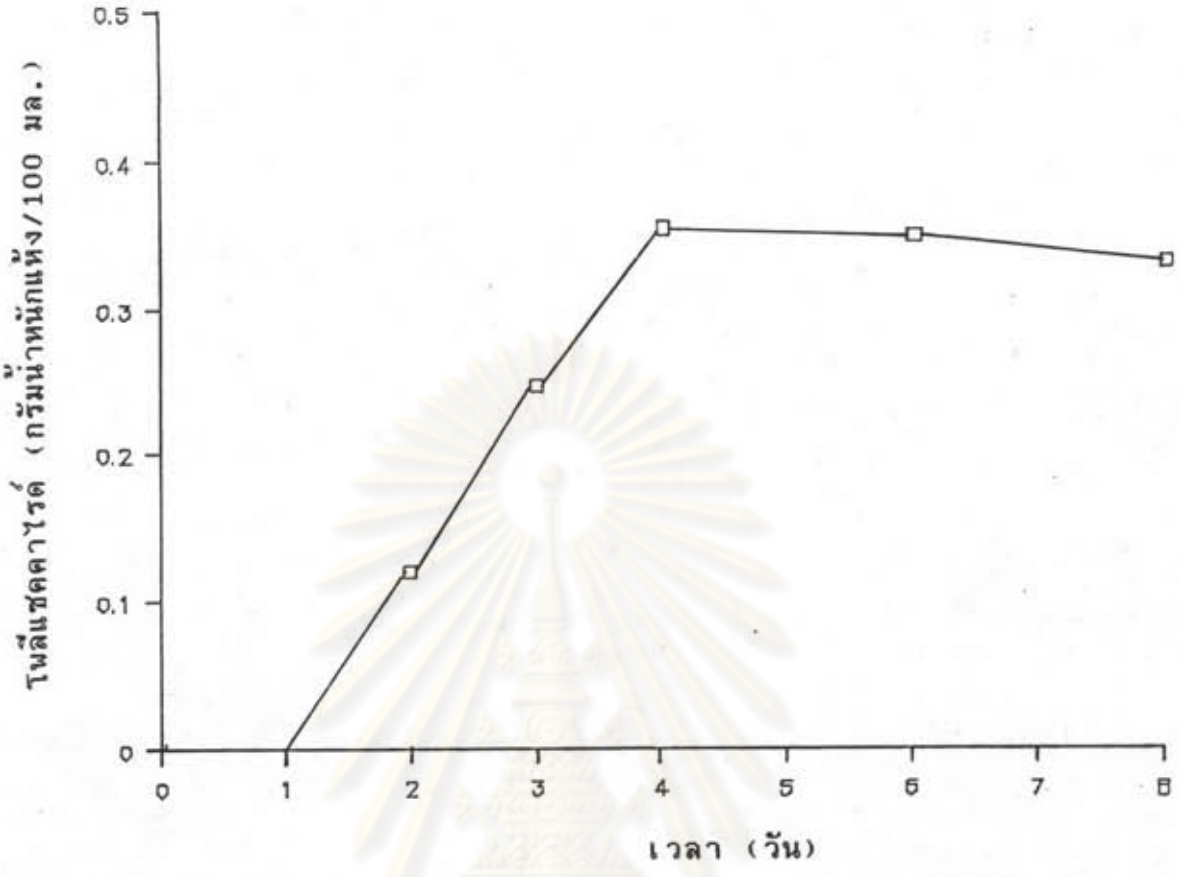
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 21 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 30 ถึง 50 องศาเซลเซียส เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ด้วยความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 วัน

□ : 30 ° c + : 40 ° c ◇ : 50 ° c

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 22 แสดงผลการเปรียบเทียบการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกัน ตั้งแต่ 30 ถึง 50 องศาเซลเซียส เลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 วัน

□ : 30 ° c + : 40 ° c ◇ : 50 ° c

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 10 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรอุณหภูมิในการเลี้ยงเชื้อในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 30 ถึง 50 องศาเซลเซียส และเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 8 วัน

อุณหภูมิ (°c)	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้ง ต่อ 100 มล.)
30	86	0.6134	0.3323
40	17	0.5514	0
50	9	0.4025	0

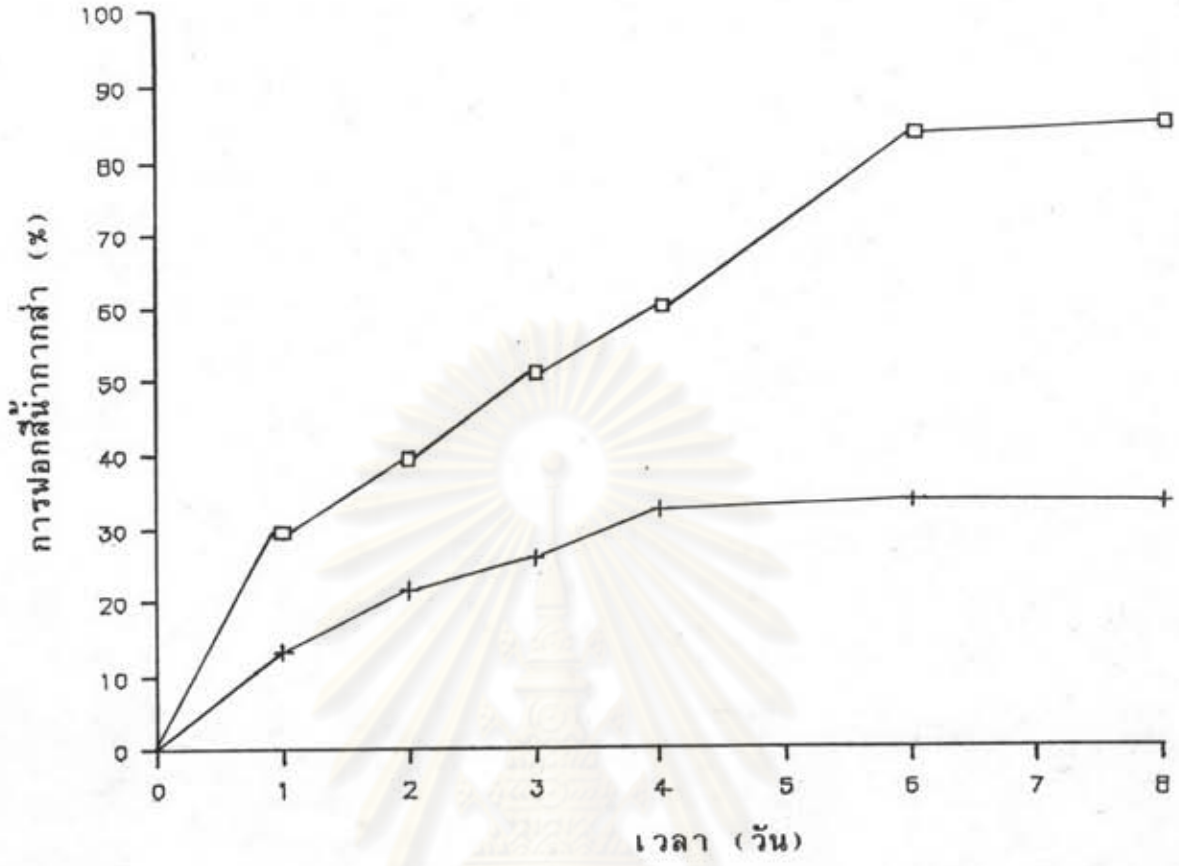
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5) ผลการศึกษาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1

5.1) ผลการศึกษาชนิดของแหล่งอาหารคาร์บอนที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1

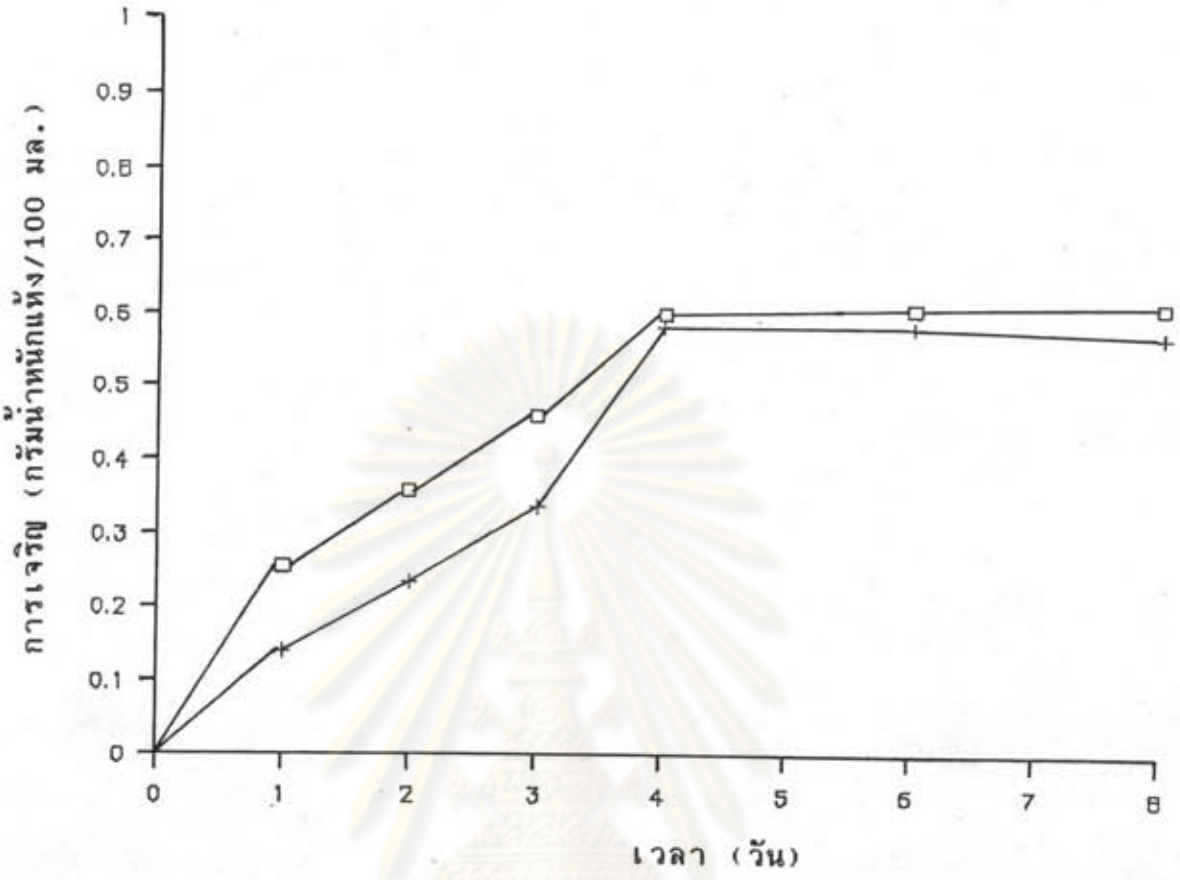
จากการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่มีการผันแปรชนิดของแหล่งอาหารคาร์บอน 2 ชนิดคือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส เพื่อหาชนิดของแหล่งอาหารคาร์บอนที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ การเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า พบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสทำให้รามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าสูงสุดในวันที่ 6 ส่วนการเติมน้ำตาลซูโครสจะมีการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำลงและสูงสุดในวันที่ 4 (รูปที่ 23) การเจริญพบว่าการเติมน้ำตาลทั้ง 2 ชนิดมีผลให้รามีการเจริญใกล้เคียงกันและมีการเจริญสูงสุดในวันที่ 4 โดยการเติมน้ำตาลกลูโคสมีการเจริญสูงกว่าเล็กน้อย (รูปที่ 24) การผลิตโพลีแซคคาไรด์ พบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสทำให้รามีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 4 ส่วนการเติมน้ำตาลซูโครสมีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ต่ำกว่าการเติมน้ำตาลกลูโคส และมีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 3 แล้วลดลงจนมีปริมาณคงที่ (รูปที่ 25)

พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน จะทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 86 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.6113 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร และผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.2284 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ในขณะที่การเติมน้ำตาลซูโครสจะมีผลในการทำให้ความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญ และการผลิตโพลีแซคคาไรด์ต่ำกว่าการเติมน้ำตาลกลูโคส (ตารางที่ 11)



รูปที่ 23 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรชนิดของแหล่งอาหารคาร์บอน 2 ชนิดคือ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

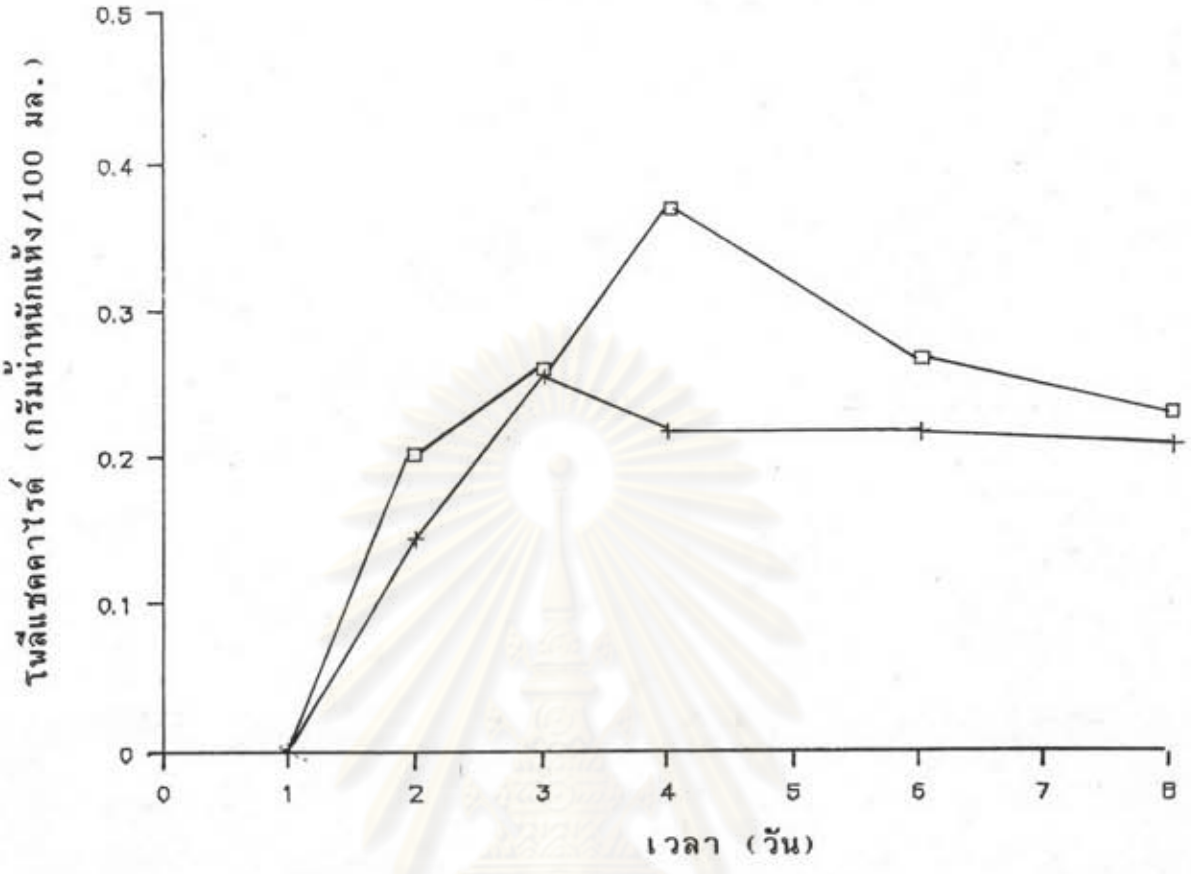
□ : น้ำตาลกลูโคส + : น้ำตาลซูโครส



รูปที่ 24 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรชนิดของแหล่งอาหารคาร์บอน 2 ชนิดคือ น้ำตาลกลูโคส และน้ำตาลซูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : น้ำตาลกลูโคส + : น้ำตาลซูโครส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 25 แสดงผลการเปรียบเทียบการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรชนิดของแหล่งอาหารคาร์บอน 2 ชนิดคือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครสในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : น้ำตาลกลูโคส + : น้ำตาลซูโครส

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 11 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและ การผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรชนิดของแหล่งอาหารคาร์บอน 2 ชนิดคือ น้ำตาลกลูโคสและน้ำตาลซูโครส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 เลี้ยงเชื้อ บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

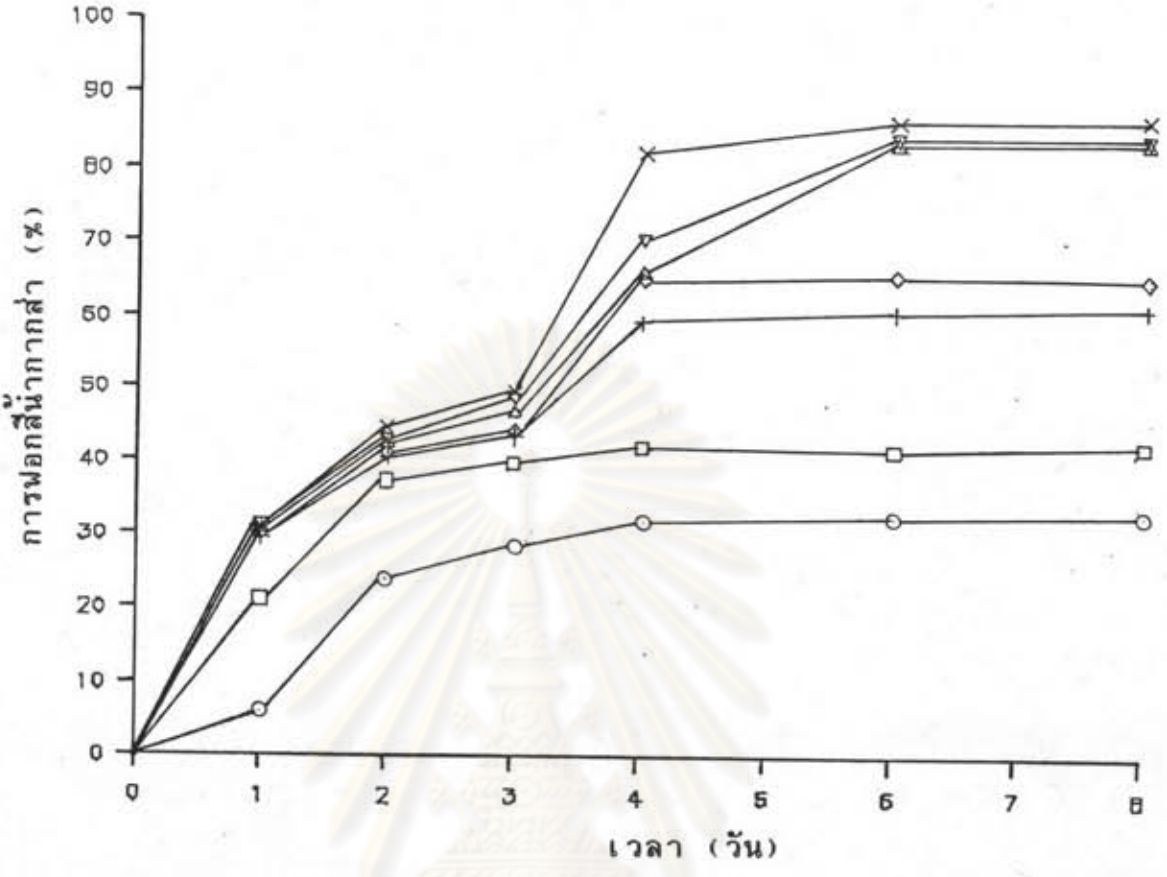
แหล่งอาหารคาร์บอน	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)
กลูโคส	86	0.6113	0.2284
ซูโครส	33	0.5715	0.2063

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5.2) ผลการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1

จากการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนจากผลการทดลองในข้อ 5.1 แล้วทำการผันแปรปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในระดับต่างๆกันดังนี้คือ 0,0.5,1.0,1.5,2.0,2.5 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์การเปรียบเทียบ ความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า พบว่าเมื่อมีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลมากขึ้นจาก 0.5 ถึง 2.5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้รามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่ามากเพิ่มขึ้นจาก 42 ถึง 88 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมากกว่าการใช้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเดิมคือ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีการฟอกสีน้ำกากส่าได้ 86 เปอร์เซ็นต์และมีการฟอกสีน้ำกากส่าสูงสุดในวันที่ 4 ส่วนการไม่เติมน้ำตาลกลูโคสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการฟอกสีน้ำกากส่าได้ต่ำสุด(รูปที่ 26)การเจริญพบว่ารามีการเจริญและมีปริมาณสายใยมากขึ้นตามปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เพิ่มขึ้นและมีการเจริญสูงสุดในวันที่ 4 ส่วนการไม่เติมน้ำตาลกลูโคสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะทำให้มีการเจริญต่ำสุด (รูปที่ 27) การผลิตโพลีแซคคาไรด์ พบว่ารามีการผลิตโพลีแซคคาไรด์มากเพิ่มขึ้นตามปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มมากขึ้นและมีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 4 ส่วนการไม่เติมน้ำตาลกลูโคสลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (รูปที่ 28)

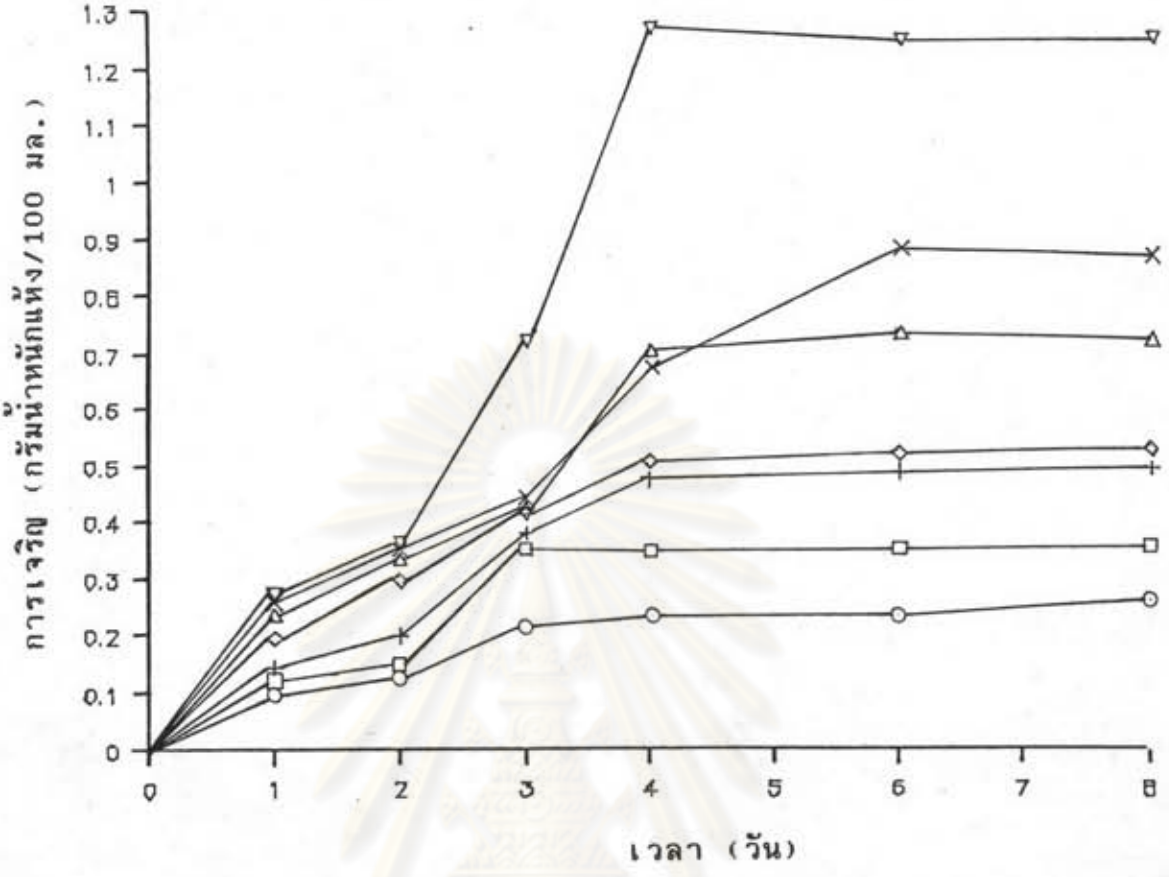
พบว่าเมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ในปริมาณ 2.5 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน จะทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 88 เปอร์เซ็นต์มีการเจริญ 0.8650 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.2557 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร ในขณะที่ตัวควบคุมผลการทดลอง(control) ที่ใช้น้ำตาลกลูโคส 2.0 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 86 เปอร์เซ็นต์เท่าเดิม มีการเจริญ 0.7199 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.2157 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร แต่เมื่อมีการเพิ่มน้ำตาลกลูโคสเป็น 3.0 เปอร์เซ็นต์ จะพบว่าการเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์เพิ่มขึ้นคือ มีการเจริญ 1.2480 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.3623 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร แต่มีการมีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าลดลงคือ 84 เปอร์เซ็นต์ (ตารางที่ 12)



รูปที่ 26 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 0 ถึง 3.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○: 0.0 % □: 0.5 % +: 1.0 % ◇: 1.5 %

△: 2.0 % ×: 2.5 % ▽: 3.0 %

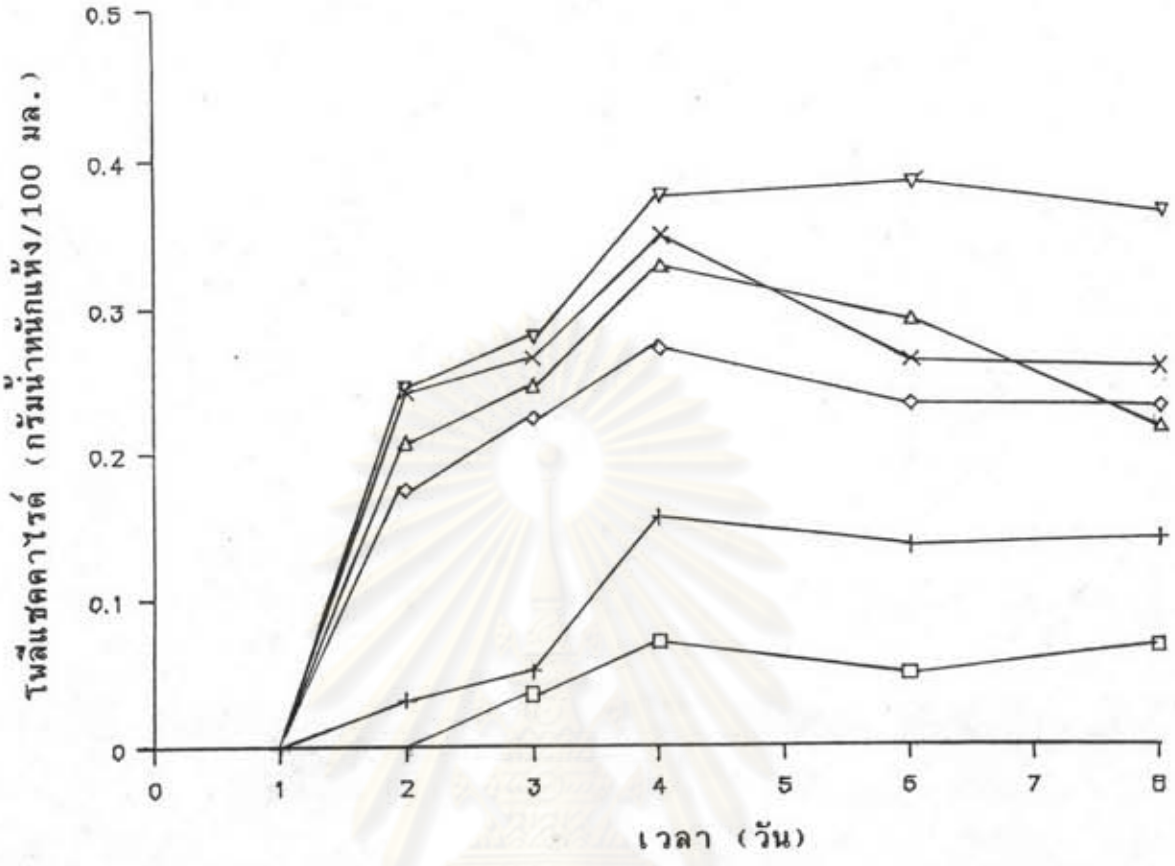


รูปที่ 27 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 0 ถึง 3.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : 0.0 % □ : 0.5 % + : 1.0 % ◇ : 1.5 %

△ : 2.0 % × : 2.5 % ▽ : 3.0 %

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 28 แสดงผลการเปรียบเทียบการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 0 ถึง 3.0 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาทีอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : 0.0 % □ : 0.5 % + : 1.0 % ◇ : 1.5 %
△ : 2.0 % × : 2.5 % ▽ : 3.0 %

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในปริมาณต่างๆ กันตั้งแต่ 0 ถึง 3.0 เปอร์เซ็นต์ และเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

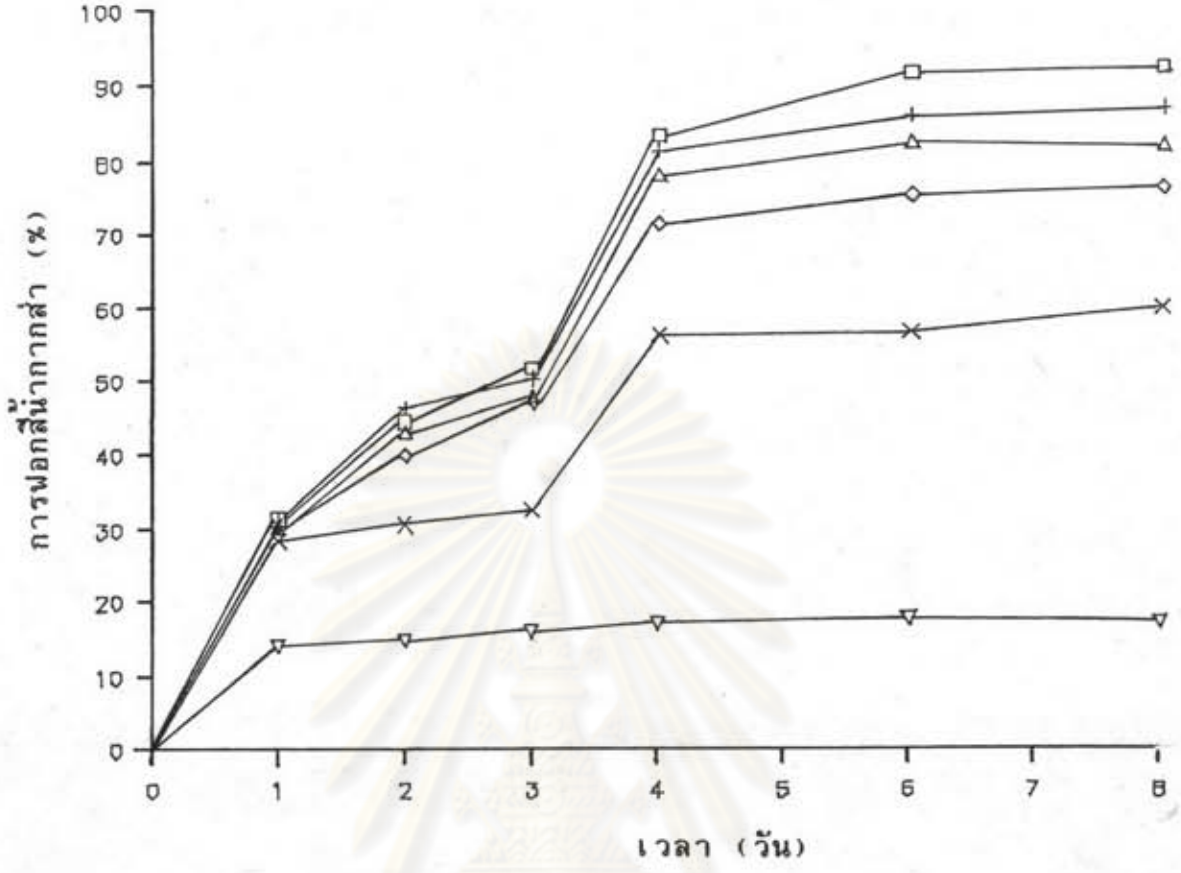
ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (%)	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)
0.0	31	0.2356	0
0.5	42	0.3532	0.0668
1.0	61	0.4889	0.1397
1.5	65	0.5230	0.2293
2.0	86	0.7199	0.2157
2.5	88	0.8650	0.2557
3.0	84	1.2480	0.3623

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5.3) ผลการศึกษาชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์

จากการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งอาหารคาร์บอนและใช้ปริมาณความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการผันแปรชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจน 6 ชนิดคือ ยีสต์สกัด(yeast extract), เปปโตน(peptone), โพลีเปปโตน (polypeptone), โซเดียมไนเตรท ($NaNO_3$), แอมโมเนียมซัลเฟต[$(NH_4)_2SO_4$] และยูเรีย(Urea) เพื่อหาชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ การเปรียบเทียบ ความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า พบว่าการใช้ ยีสต์สกัด, เปปโตน, โพลีเปปโตน, โซเดียมไนเตรท และ แอมโมเนียมซัลเฟต ทำให้ราสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่ามากกว่า 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไปและมีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าสูงสุดในวันที่ 4 ส่วน การใช้ยูเรียจะทำให้ราสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำสุด (รูปที่ 29) การเจริญพบว่าเมื่อใช้ ยีสต์สกัด, เปปโตน, โพลีเปปโตนและโซเดียมไนเตรท ทำให้รามีการเจริญมากขึ้นตามระยะเวลาและสูงสุดในวันที่ 6 ส่วนการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย ทำให้รามีการเจริญค่อนข้างต่ำและมีการเจริญสูงสุดในวันที่ 8 (รูปที่ 30) การผลิตโพลีแซคคาไรด์ พบว่าการใช้ ยีสต์สกัด, เปปโตน, โพลีเปปโตนและโซเดียมไนเตรท ทำให้รามีการผลิตโพลีแซคคาไรด์มากขึ้นตามระยะเวลา และพบว่าการใช้ยีสต์สกัดและโซเดียมไนเตรท ทำให้รามีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 4 การใช้เปปโตนและโพลีเปปโตน ทำให้รามีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 6 และค่อยๆลดลง ส่วนการใช้แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ทำให้ราไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (รูปที่ 31)

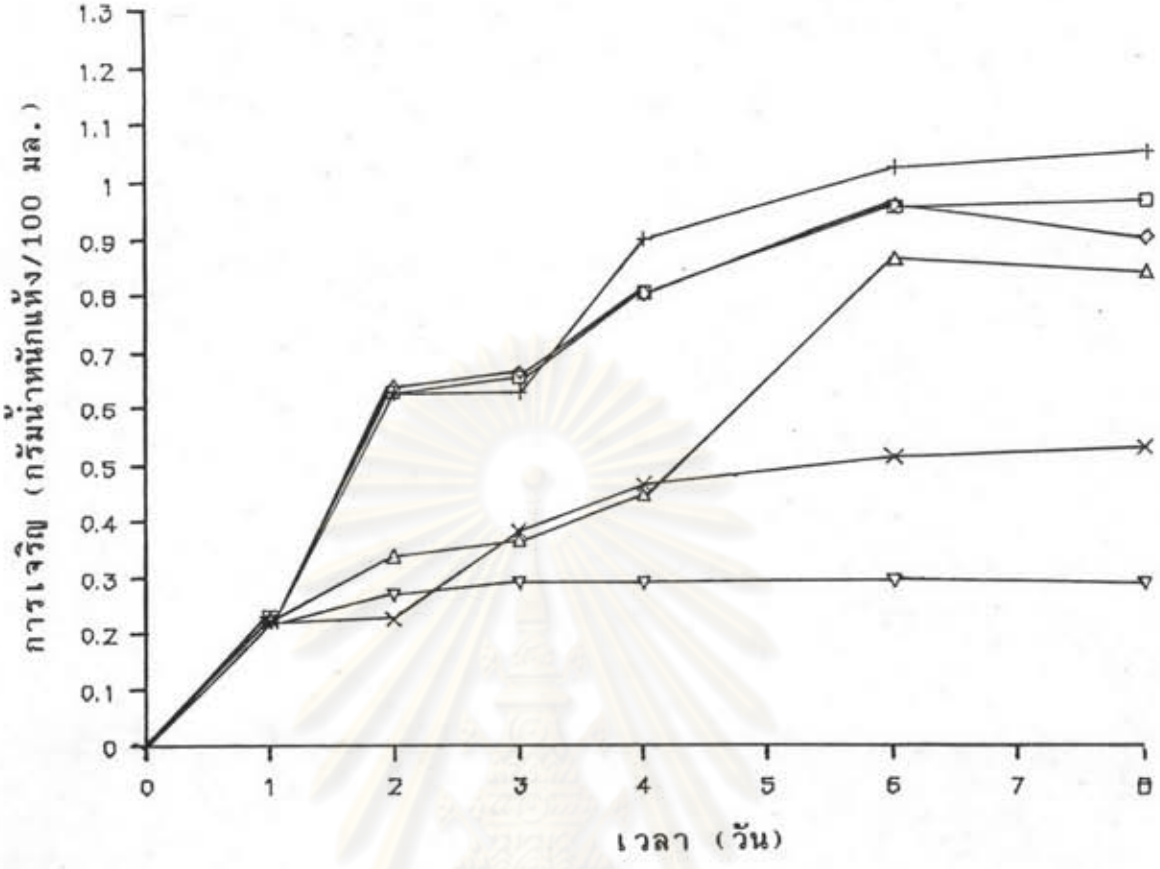
พบว่าเมื่อใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 8 วัน จะทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 92 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.9680 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและมีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.3034 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร แหล่งอาหารไนโตรเจนที่ให้ผลรองลงมาคือเปปโตน ซึ่งมีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้ 86 เปอร์เซ็นต์ แต่มีการเจริญสูงที่สุดคือ 1.0537 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.2915 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิ ส่วนแหล่งอาหารไนโตรเจนที่ทำให้มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำสุดคือ ยูเรีย ซึ่งทำให้รามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าได้เพียง 16 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.2884 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและไม่สามารถผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ (ตารางที่ 13)



รูปที่ 29 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจน 6 ชนิดคือ ยีตส์สกัด, เปปโตน, โพลีเปปโตน , โซเดียมไนเตรท , แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

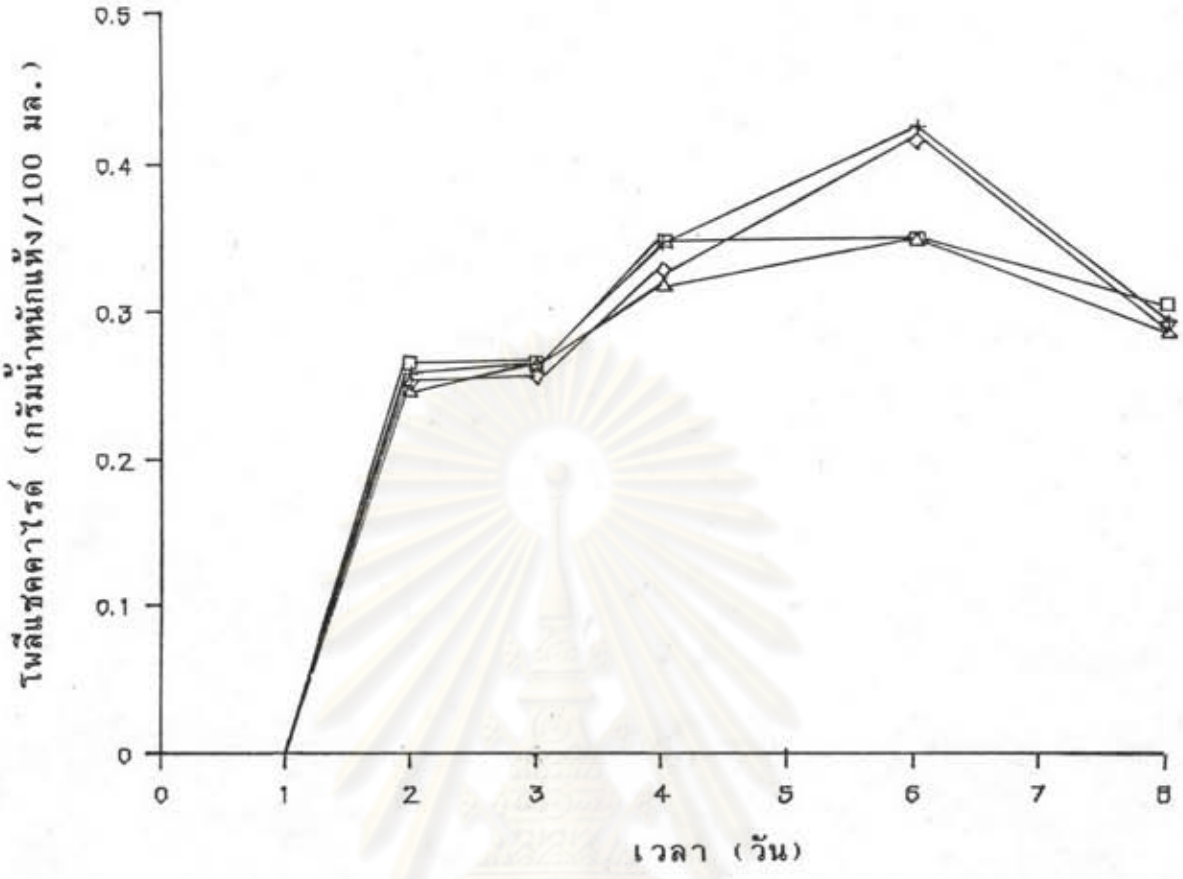
□ : ยีสต์สกัด + : เปปโตน ◇ : โพลีเปปโตน

△ : โซเดียมไนเตรท × : แอมโมเนียมซัลเฟต ▽ : ยูเรีย



รูปที่ 30 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจน 6 ชนิดคือ ยีสต์สกัด , เปปโตน ,โพลีเปปโตน , โซเดียมไนเตรท , แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : ยีสต์สกัด + : เปปโตน ◇ : โพลีเปปโตน
△ : โซเดียมไนเตรท × : แอมโมเนียมซัลเฟต ▽ : ยูเรีย



รูปที่ 31 แสดงผลการเปรียบเทียบการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรชนิดของแหล่งอาหารแหล่งอาหารไนโตรเจน 6 ชนิดคือ ยีตส์สกัด, เปปโตน , โพลีเปปโตน, โซ่เดียมไนเตรท , แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

□ : ยีสต์สกัด + : เปปโตน ◇ : โพลีเปปโตน

△ : โซเดียมไนเตรท × : แอมโมเนียมซัลเฟต ▽ : ยเรีย

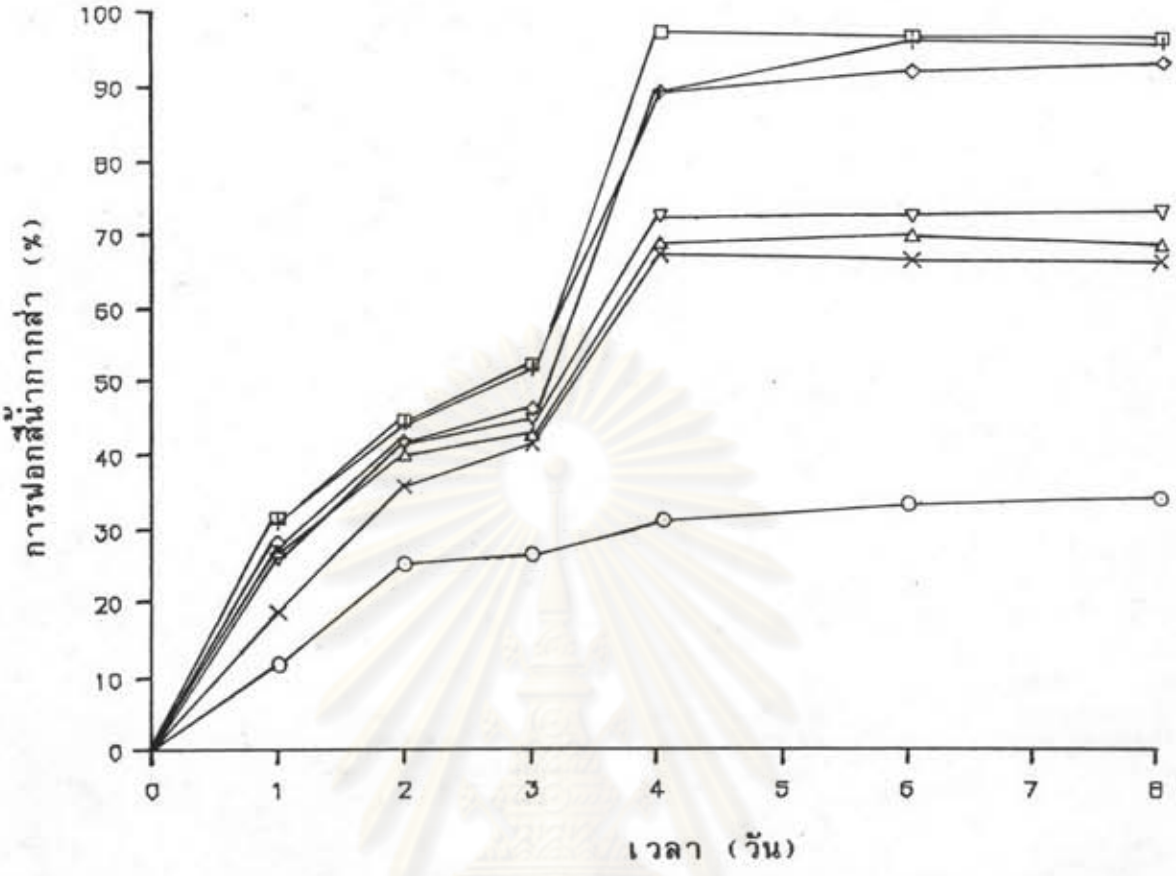
ตารางที่ 13 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและ การผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรชนิดของแหล่งอาหารไนโตรเจน 6 ชนิดคือ ยีตส์สกัด ,เปปโตน ,โพลีเปปโตน , โซเดียมไนเตรท แอมโมเนียมซัลเฟต และยูเรีย ในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

แหล่งอาหารไนโตรเจน	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)
ยีสต์สกัด	92	0.9680	0.3034
เปปโตน	86	1.0537	0.2915
โพลีเปปโตน	76	0.9041	0.2903
โซเดียมไนเตรท	82	0.8404	0.2853
แอมโมเนียมซัลเฟต	59	0.5297	0
ยูเรีย	16	0.2884	0

5.4) ผลการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์

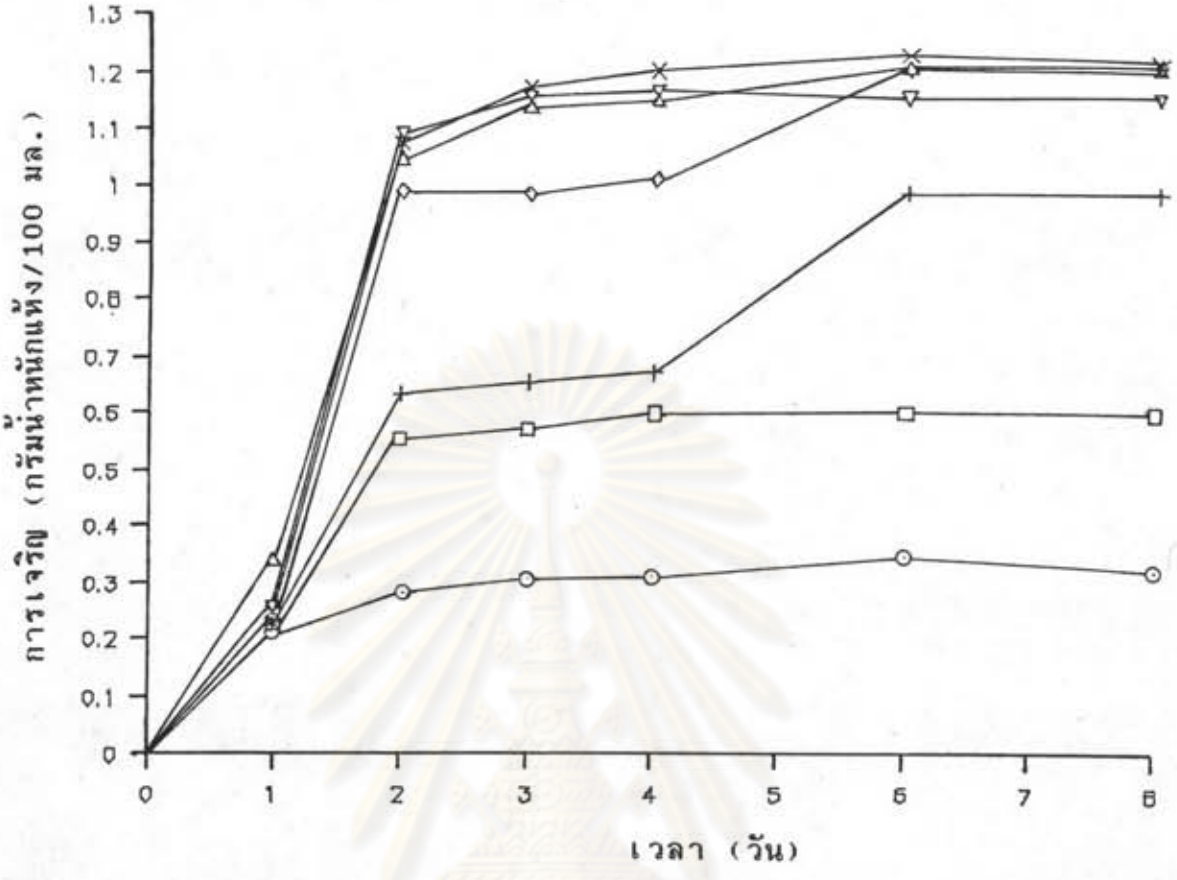
จากการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งอาหารไนโตรเจน แล้วทำการผันแปรปริมาณความเข้มข้นของยีสต์สกัดที่ใช้ในระดับต่างๆกันดังนี้คือ 0,0.1,0.2,0.3,0.4,0.5 และ 0.6 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นของแหล่งอาหารไนโตรเจนที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ การเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าพบว่าการใช้ยีสต์สกัดในปริมาณน้อย ทำให้รามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าสูงมากกว่าการใช้ยีสต์สกัดในปริมาณมาก เมื่อเพิ่มปริมาณยีสต์สกัดมากขึ้นเรื่อยๆกลับทำให้รามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าลดลงเรื่อยๆ การฟอกสีน้ำกากส่าทุกความเข้มข้นสูงสุดในวันที่ 4 การไม่เติมยีสต์สกัดทำให้รามีการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำมาก (รูปที่ 32) การเจริญพบว่าการใช้ผงยีสต์สกัดในปริมาณมากขึ้นทำให้รามีการเจริญมากเพิ่มขึ้นและสูงสุดในวันที่ 6 การไม่เติมยีสต์สกัดทำให้รามีการเจริญต่ำสุด (รูปที่ 33) การผลิตโพลีแซคคาไรด์พบว่าที่ปริมาณความเข้มข้นของยีสต์สกัด 0.1 และ 0.2 เปอร์เซ็นต์มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 4 ที่ปริมาณความเข้มข้นของยีสต์สกัด 0.3 เปอร์เซ็นต์มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์สูงสุดในวันที่ 6 แต่ที่ปริมาณความเข้มข้นของยีสต์สกัด 0.4,0.5,0.6 เปอร์เซ็นต์และไม่เติมยีสต์สกัด ไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (รูปที่ 34)

พบว่าเมื่อใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ในปริมาณความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน ทำให้ราสายพันธุ์ D-1 มีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า 97 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.9832 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและผลิตโพลีแซคคาไรด์ได้ 0.3036 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตร เมื่อไม่เติมยีสต์สกัดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้รามีความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำสุดคือ 31 เปอร์เซ็นต์ มีการเจริญ 0.3169 กรัมน้ำหนักแห้งต่อ 100 มิลลิลิตรและไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ การเพิ่มปริมาณยีสต์สกัดทำให้รามีการเจริญมากขึ้น แต่มีการฟอกสีน้ำกากส่าต่ำลงตามปริมาณยีสต์สกัดที่เพิ่มขึ้น และเมื่อมีปริมาณยีสต์สกัดมากเพิ่มขึ้นตั้งแต่ 0.4 ถึง 0.6 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ราไม่มีการผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ตารางที่ 14)



รูปที่ 32 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเข้มข้นของยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในระดับต่างๆกัน ตั้งแต่ 0 ถึง 0.6 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

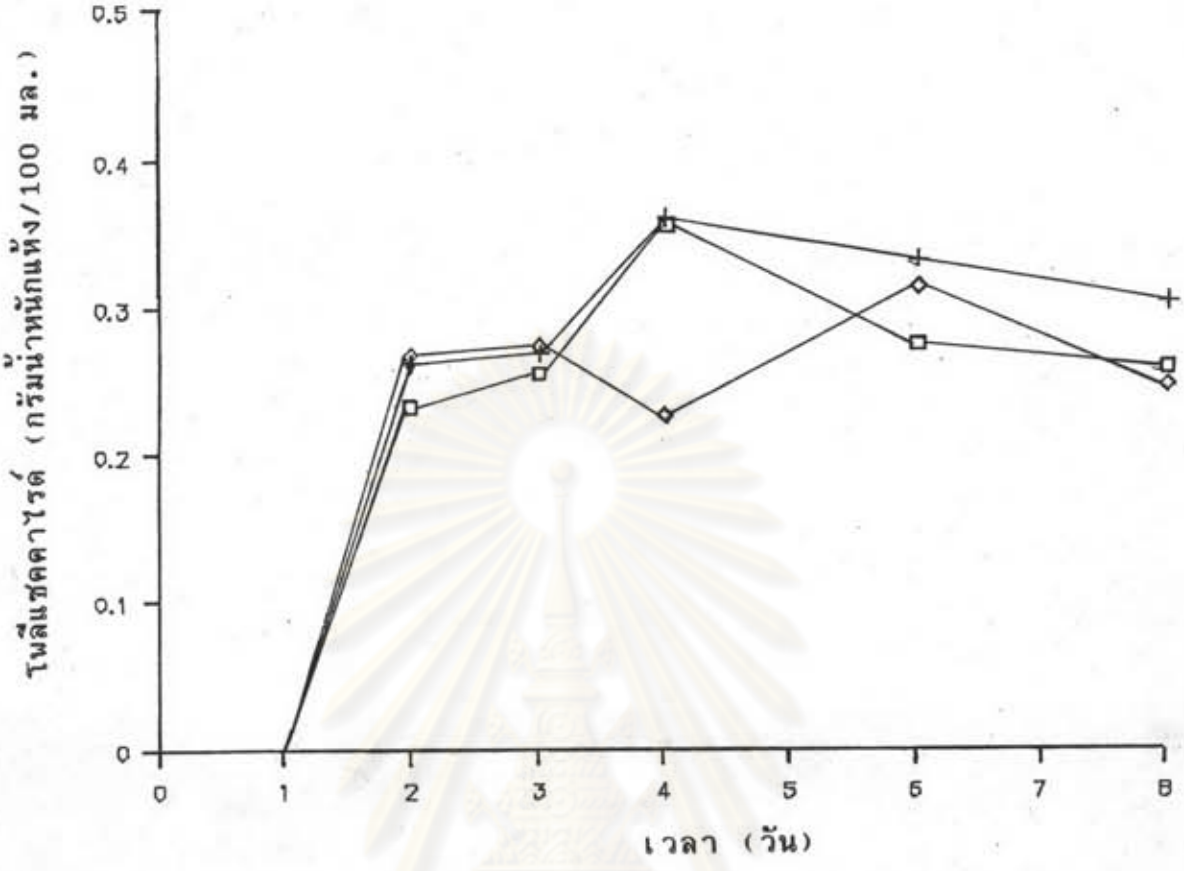
○ : 0.0 % □ : 0.1 % + : 0.2 % ◇ : 0.3 %
△ : 0.4 % × : 0.5 % ▽ : 0.6 %



รูปที่ 33 แสดงผลการเปรียบเทียบการเจริญของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเข้มข้นของยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 0 ถึง 0.6 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○ : 0.0 % □ : 0.1 % + : 0.2 % ◇ : 0.3 %

△ : 0.4 % × : 0.5 % ▽ : 0.6 %



รูปที่ 34 แสดงผลการเปรียบเทียบการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อผันแปรความเข้มข้นของยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในระดับต่างๆกันตั้งแต่ 0 ถึง 0.6 เปอร์เซ็นต์ บนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็ว 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

○: 0.0 % □: 0.1 % +: 0.2 % ◇: 0.3 %

△: 0.4 % ×: 0.5 % ▽: 0.6 %

ตารางที่ 14 แสดงผลการเปรียบเทียบความสามารถในการฟอกสีน้ำกากส่า การเจริญและการผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 เมื่อทำการผันแปรความเข้มข้นของผงยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ความเป็นกรดด่างเท่ากับ 5.0 ในปริมาณต่างๆกันตั้งแต่ 0 ถึง 0.6 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 วัน

ความเข้มข้นยีสต์สกัด (%)	การฟอกสี (%)	การเจริญ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)	การผลิตโพลีแซคคาไรด์ (ก.น้ำหนักแห้งต่อ 100 มล.)
0.0	31	0.3169	0
0.1	97	0.9832	0.3036
0.2	95	0.5967	0.2587
0.3	92	1.2071	0.2469
0.4	68	1.2047	0
0.5	66	1.2124	0
0.6	72	1.1497	0

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

6) สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1

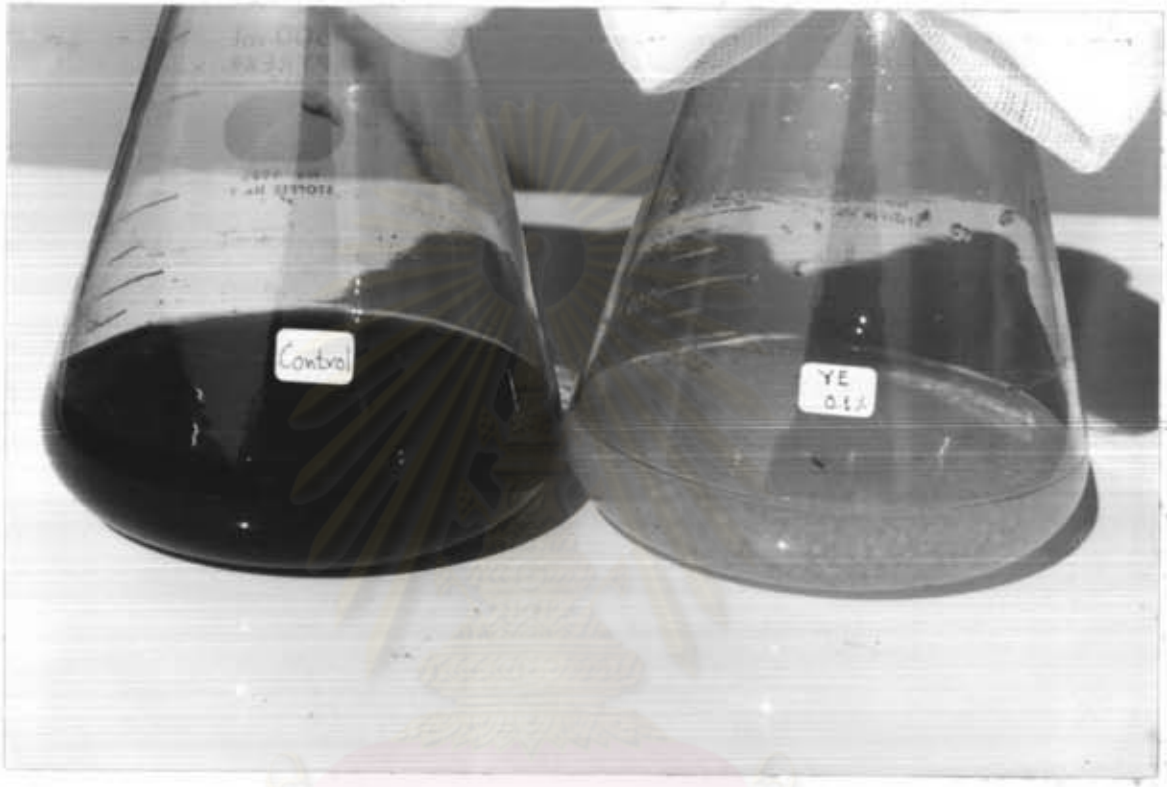
จากผลการทดลองปรับปรุงสภาวะการเลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 และปรับปรุงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม ในการในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซคคาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 นั้นคือ เลี้ยงราสายพันธุ์ D-1 ด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ปรับปรุงสูตรแล้วดังตารางที่ 15 และเลี้ยงเชื้อบนเครื่องเขย่าแบบ rotary ด้วยความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 ° c เป็นเวลา 8 วัน

ผลการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1ในขวดเลี้ยงเชื้อ ผลการฟอกสีน้ำกากส่าภายหลังการแยกสายใยของราออกแล้ว (สารละลายสีน้ำกากส่าภายหลังการฟอกสีด้วยราสายพันธุ์ D-1 แล้ว) และสารโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากราสายพันธุ์ D-1 ภายหลังการตกตะกอนด้วยเอธานอล 95 เปอร์เซ็นต์แล้ว ได้แสดงไว้ในรูปที่ 35 , 36 และ 37 ตามลำดับ

ตารางที่ 15 แสดงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM (Molasses Pigment Medium) ที่ปรับปรุงสูตรที่เหมาะสมในการในการฟอกสีน้ำกากส่าและผลิตโพลีแซค คาไรด์ของราสายพันธุ์ D-1 แล้ว

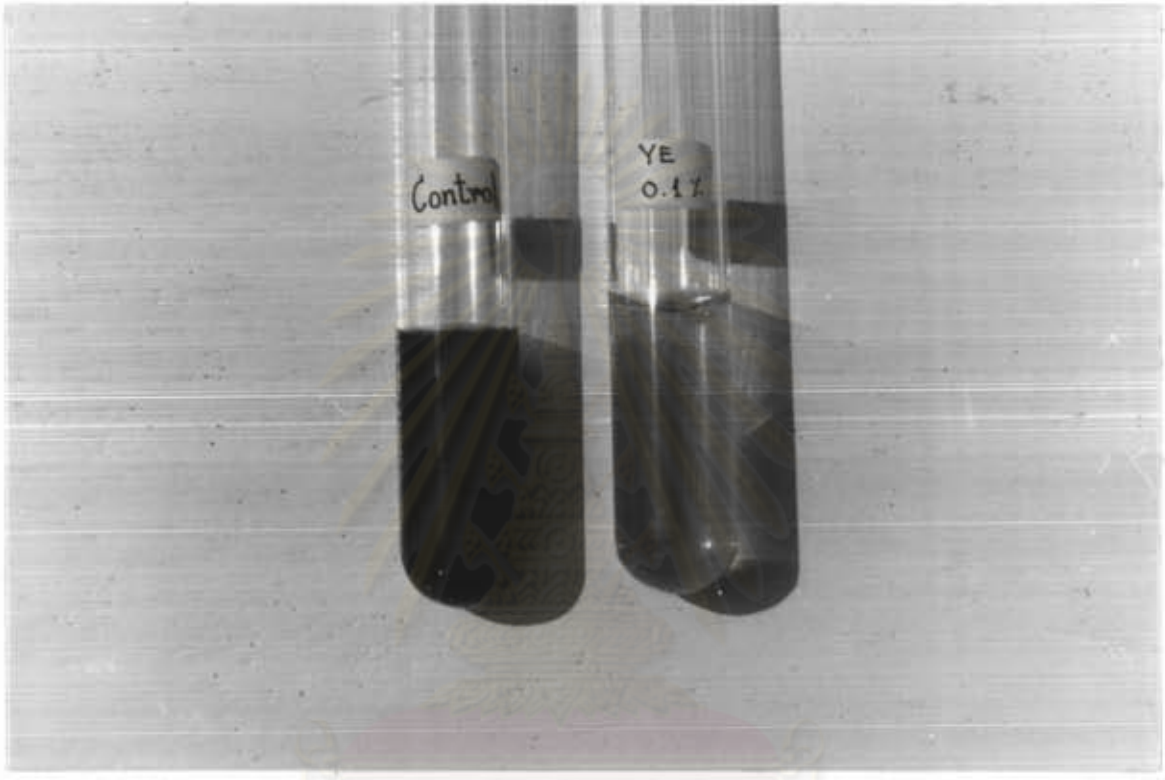
สารเคมี	ปริมาณ	
น้ำตาลกลูโคส	2.5	กรัม
ผงยีสต์สกัด	0.1	กรัม
โปแตสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต	0.1	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.05	กรัม
สารละลายสีน้ำกากส่า	100	มล.
ความเป็นกรดด่าง	5	
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1000.0	มล.

นึ่งฆ่าเชื้อที่ความดันไอ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

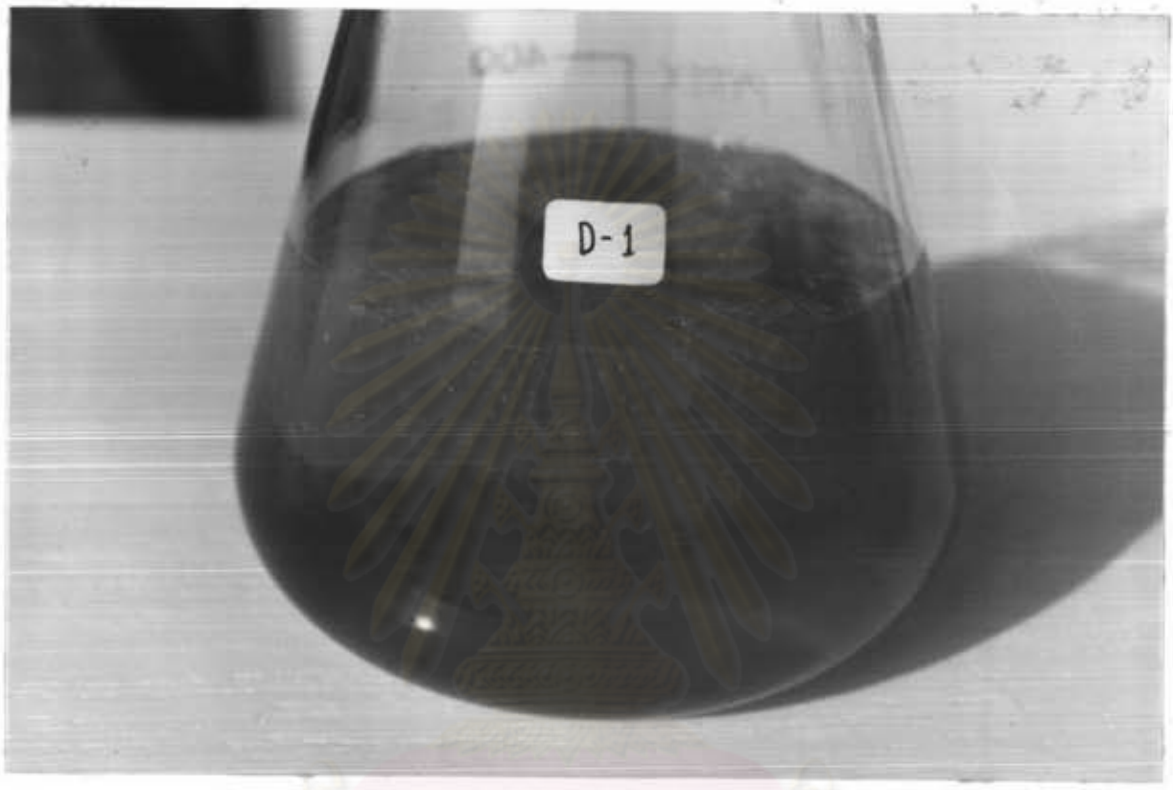


รูปที่ 35 แสดงภาพถ่ายผลการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 ในขวดเลี้ยงเชื้อ ซ้ายเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ยังไม่ได้ทำการฟอกสี ส่วนขวาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ทำการฟอกสีด้วยราสายพันธุ์ D-1 แล้ว

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 36 แสดงภาพถ่ายผลการฟอกสีน้ำกากส่าของราสายพันธุ์ D-1 ในหลอดทดลองภายหลัง การแยกสายใยของรา D-1 ออกแล้ว ซ้ายเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ยังไม่ได้ทำการฟอกสี ส่วนขวาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ MPM ที่ทำการฟอกสีด้วยราสายพันธุ์ D-1 แล้ว (สารละลายสีน้ำกากส่าภายหลังการฟอกสีด้วยราสายพันธุ์ D-1 แล้ว)



รูปที่ 37 แสดงภาพถ่ายสารโพลีแซคคาไรด์ที่ผลิตได้จากราสายพันธุ์ D-1 ภายหลัง การตกตะกอนด้วยเอธานอล 95 % แล้ว

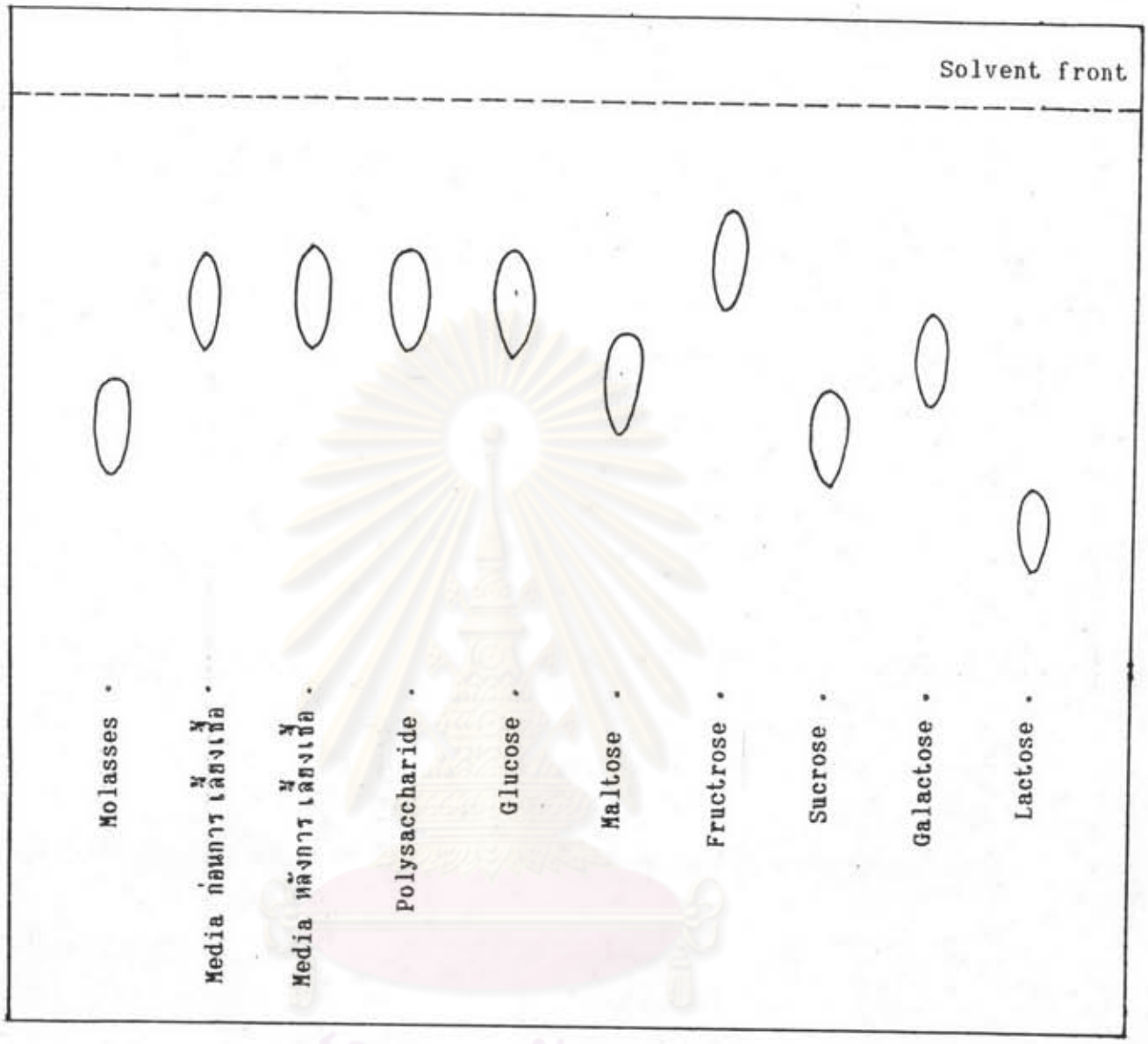
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

7) ผลการศึกษาคุณสมบัติบางประการของโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากรา

ผลการศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของโพลีแซคคาไรด์

จากการนำโพลีแซคคาไรด์ที่ได้มาทำการไฮโดรไลซ์อย่างสมบูรณ์ (complete hydrolysis) และตรวจสอบชนิดของน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการไฮโดรไลซ์โพลีแซคคาไรด์อย่างสมบูรณ์ด้วยวิธีโครมาโทกราฟีกระดาษ (paper chromatography) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลกลูโคส, น้ำตาลมอลโตส, น้ำตาลฟรุตโตส, น้ำตาลซูโครส, น้ำตาลกาแลคโตส และน้ำตาลแลคโตส พบว่าโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากราสายพันธุ์ D-1 ประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส เพียงชนิดเดียว ดังแสดงผลจากโครมาโทกราฟีกระดาษในรูปที่ 38

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 38 แสดงผลโครมาโตกราฟีกระดาษ (paper chromatography) ของน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการไฮโดรไลซ์โพลีแซคคาไรด์อย่างสมบูรณ์ (complete hydrolyze) เปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐาน น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลมอลโตส น้ำตาลฟรุตโตส น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกาแลคโตส และน้ำตาลแลคโตส พบว่าโพลีแซคคาไรด์ที่ได้จากราสายพันธุ์ D-1 ประกอบไปด้วยน้ำตาลกลูโคส ชนิดเดียว