# บทที่ 4

## ผลการทดลอง

### 1. ผลการเก็บตัวอย่าง

1.1 ได้ทำการเก็บตัวอย่าง ดินบริเวณใต้ต้นปานศรนารายณ์ เศษใบแห้งของปานศรนารายณ์ เศษต้นปานศรนารายณ์ที่ตายแล้ว(รูปที่ 4.1) น้ำคั้นจากใบปานสด จากอำเภอโนนสูง จังหวัดนครราชสีมา จำนวน 40 ตัวอย่าง และดินบริเวณใต้ต้นปานศรนารายณ์ เศษใบแห้งของปานศรนารายณ์ น้ำคั้นจากใบปานสด น้ำที่ขังอยู่ตามพื้นดินโรงงานผลิตเชือก (รูปที่ 4.2) จากอำเภอหัวหิน จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ อีก 40 ตัวอย่าง

### 2. ผลการคัดแยกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

2.1 ผลการคัดแยกเชื้อราขั้นที่หนึ่ง โดยใช้วิธีการของ Mandels และ Sternberg (1976) ด้วยอาหารสูตร Czapex 's dox medium ที่มีกระดาษกรองเป็นแหล่งคาร์บอนเมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องนาน 1 สัปดาห์ จะเห็นเส้นใยของเชื้อราที่สามารถย่อยเซลลูโลส เจริญอยู่บนกระดาษกรองที่จุ่มอยู่ในอาหารเหลว และบริเวณรอยต่อของกระดาษกรองส่วนที่อยู่ในอากาศ (รูปที่ 4.3) ในขั้นตอนนี้ได้เชื้อรารวมทั้งสิ้น 45 isolates ดังแสดงไว้ในตารางที่ 4.1-4.5

2.2 ผลการคัดแยกเชื้อราขั้นที่สอง โดยใช้วิธีการของ Hankinและ Anagnostakis (1977) โดยดูการเกิดวงใสบนอาหารสูตร CMC medium เมื่อราดทับด้วย 0.1 % Congo red (รูปที่ 4.4) ได้เชื้อราที่ทำให้เกิดวงใสบนอาหารทดสอบ 23 isolates ได้แก่ Isolates ที่ 1, 4, 5, 6, 7, 8, 9, 10, 11, 12, 13, 15, 17, 19, 22, 23, 24, 25, 27, 36, 37, 39, และ 43

2.3 ผลการคัดแยกเชื้อราขั้นที่สาม โดยใช้วิธีของ หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ (2532) ด้วยอาหารสูตร production medium (รูปที่ 4.5) ได้เชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์ได้ดีที่สุด 7 isolates เชื้อราทั้ง 7 isolates คือ Isolates ที่ 13, 36, 37, 6, 19, 23, และ 11 จากผลการทดลองพบว่าที่อุณหภูมิ 30 °C เชื้อรา isolate ที่ 13 และ 36 ให้ปฏิกริยาเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุดในกลุ่มของเชื้อราที่คัดแยกได้ แสดงผลไว้ในตารางที่ 4.6

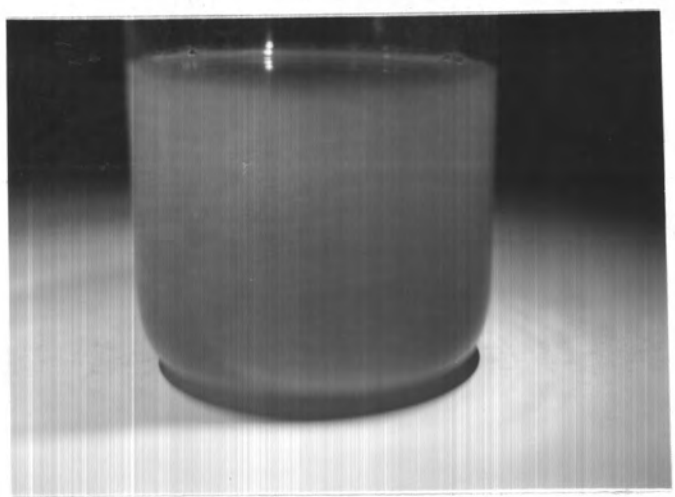
ก

ข

ค

รูปที่ 4.1 ก. เศษดินจากบริเวณโคนต้นปาหนันศรนารายณ์
ข. เศษใบแห้งของปาหนันศรนารายณ์
ค. เศษลำต้นปาหนันศรนารายณ์ที่ตายแล้ว

ก



ข

รูปที่ 4.2 ก. น้ำคั้นจากใบสด
ข. ชังที่อยู่ตามพื้นดิน

ก

ข

รูปที่ 4.3 Czapex 's dox medium ใช้แยกเชื้อรา

ก. ก่อนใส่ตัวอย่าง

ข. หลังใส่ตัวอย่าง พบเชื้อราเจริญบนกระดาษกรอง

**ตารางที่ 4.1** ผลการทดลองคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินใต้ต้นปาน อ.โนนสูง โดยวิธีของ Mandels และ Sternberg (1976)

| ตัวอย่างที่ | Isolate ที่ | สีโคโลนีของเชื้อรา |
|---|---|---|
| 1 | 1 | เหลืองส้ม |
| | 2 | ดำ |
| | 3 | ขาว |
| 2 | 4 | เขียว |
| 3 | 5 | เขียว |
| 4 | 6 | เทา |
| 5 | 7 | น้ำตาล |
| | 8 | ดำ |
| 6 | 9 | เหลืองส้ม |
| | 10 | เขียว |
| 7 | 11 | ขาวปนเทา |
| | 12 | เขียว |
| 8 | 13 | น้ำตาล |
| | 14 | เทา |
| 9 | 15 | เขียว |
| | 16 | ขาว |
| 10 | 17 | ส้มอ่อน |
| | 18 | ขาวใส |

**ตารางที่ 4.2** ผลการทดลองคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากเศษใบแห้ง อ.โนนสูง โดยวิธีของ Mandels และ Sternberg (1976)

| ตัวอย่างที่ | Isolate ที่ | สีโคโลนีของเชื้อรา |
|---|---|---|
| 1 | non* | non* |
| 2 | 19 | ส้มอ่อน |
| | 20 | ขาว |
| 3 | 21 | ขาวใส |
| | 22 | ขาว |
| 4 | non | non |
| 5 | 23 | เขียวเข้ม |
| | 24 | ดำ |
| 6 | 25 | น้ำตาล |
| 7 | non | non |
| 8 | non | non |
| 9 | 26 | ขาวใส |
| 10 | 27 | เขียว |
| | 28 | ดำ |

non* คือ ไม่พบเชื้อรา

**ตารางที่ 4.3** ผลการทดลองคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากต้นปานที่ตาย อ.โนนสูง โดยวิธีของ Mandels และ Sternberg (1976)

| ตัวอย่างที่ | Isolate ที่ | สีโคโลนีของเชื้อรา |
|---|---|---|
| 1 | non* | non* |
| 2 | 29 | เหลือง |
| 3 | non | non |
| 4 | non | non |
| 5 | 30 | ชมพู |
| 6 | 31 | ม่วง |
| 7 | non | non |
| 8 | 32 | เหลือง |
| 9 | 33 | เหลือง |
| 10 | non | non |

non* คือ ไม่พบเชื้อรา

**ตารางที่ 4.4** ผลการทดลองคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินใต้ต้นป่าน อ.หัวหิน โดยวิธีของ Mandels และ Sternberg (1976)

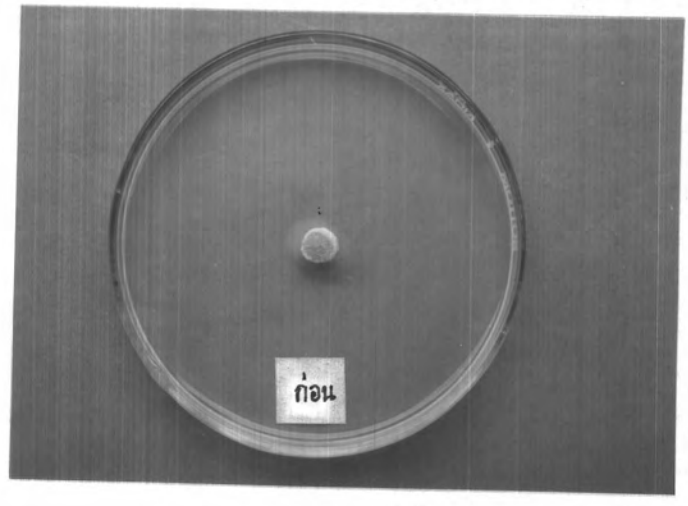
| ตัวอย่างที่ | Isolate ที่ | สีโคโลนีของเชื้อรา |
|---|---|---|
| 1 | 34 | สีชมพู |
| 2 | non* | non* |
| 3 | non | non |
| 4 | 35 | ขาวใส |
| 5 | non | non |
| 6 | non | non |
| 7 | non | non |
| 8 | non | non |
| 9 | non | non |
| 10 | non | non |

non* คือ ไม่พบเชื้อรา

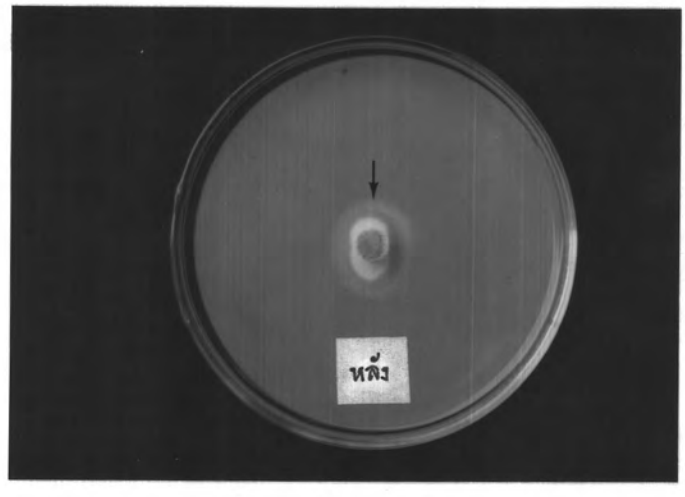
**ตารางที่ 4.5** ผลการทดลองคัดแยกเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากเศษใบแห้ง อ.หัวหิน โดยวิธีของ Mandels และ Sternberg (1976)

| ตัวอย่างที่ | Isolate ที่ | สีโคโลนีของเชื้อรา |
|---|---|---|
| 1 | 36 | ขาวนวล |
| 2 | 37 | เขียวปนเทา |
| | 38 | ขาวใส |
| 3 | non* | non* |
| 4 | 39 | น้ำตาลเข้ม |
| | 40 | non |
| 5 | non | non |
| 6 | 41 | ดำ |
| | 42 | ขาว |
| 7 | 43 | น้ำตาลเข้ม |
| 8 | non | non |
| 9 | 44 | ขาวใส |
| 10 | 45 | ดำ |

non* คือ ไม่พบเชื้อรา




ก

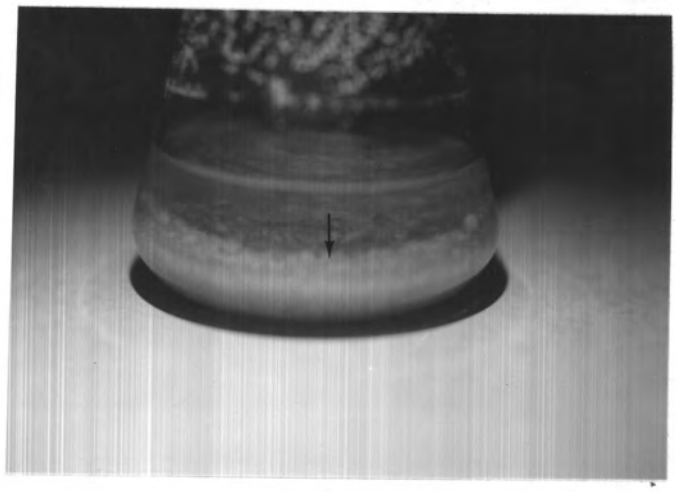



ข

รูปที่ 4.4 ก. ลักษณะโคโลนีของเชื้อราที่เจริญบน CMC medium อายุ 3 วัน ก่อนราดทับด้วย Congo red

ข. วงใส (ศรชี้) หลังจากราดทับด้วยสี Congo red

ก



ข

รูปที่ 4.5 Production medium ใช้ทดสอบการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

ก. ก่อนใส่เชื้อรา

ข. หลังใส่เชื้อรา 7 วัน จะสังเกตเห็นเชื้อราตกตะกอน (ศรชี้)

**ตารางที่ 4.6** ผลการทดสอบเชื้อราที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิ 30° C 37° C และ 45° C โดยวิธีของหรรษา ปุณณะพัยค์ (2532) มีความแตกต่างของแต่ละอุณหภูมิไม่เกิน 2° C

| Isolate [1] | อุณหภูมิ 30° C หน่วย/มล. | อุณหภูมิ 37° C หน่วย/มล . | อุณหภูมิ 45° C หน่วย/มล . |
|---|---|---|---|
| 13 [2] | 0.45 | 0.41 | 0.25 |
| 36 [2] | 0.42 | 0.17 | 0 |
| 37 | 0.28 | 0.24 | 0 |
| 6 | 0.27 | 0.33 | 0 |
| 19 | 0.25 | 0.18 | 0 |
| 23 | 0.20 | 0.33 | 0 |
| 11 | 0.19 | 0.21 | 0.28 |
| 5 | 0.12 | 0.06 | 0 |
| 4 | 0.12 | 0.09 | 0 |
| 12 | 0.11 | 0 | 0 |
| 15 | 0.11 | 0.14 | 0 |
| 27 | 0.11 | 0.02 | 0 |
| 10 | 0.10 | 0.13 | 0 |
| 25 | 0.10 | 0.03 | 0 |
| 8 | 0.09 | 0.04 | 0 |
| 24 | 0.07 | 0 | 0 |
| 22 | 0.06 | 0.09 | 0 |
| 39 | 0.06 | 0.07 | 0 |
| 43 | 0.05 | 0.06 | 0 |
| 7 | 0.05 | 0.09 | 0 |
| 9 | 0.04 | 0.07 | 0 |
| 17 | 0.03 | 0.09 | 0 |
| 1 | 0.03 | 0.08 | 0 |
| T.reesei QM9414 | 0.57 | 0.32 | 0 |

[1] เรียงลำดับตามประสิทธิภาพของเอนไซม์

[2] isolate ที่จะนำไปจำแนกโดยวิธีของ Barnrtt (1972)

3. **ผลการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส**

3.1 ผลการคัดแยกขั้นที่หนึ่ง โดยใช้วิธีของ Thayer และ David (1978) ด้วยอาหารสูตร mineral salt medium ที่มีกระดาษกรองเป็นแหล่งคาร์บอน (รูปที่ 4.6) ในขั้นนี้คัดแยกเชื้อแบคทีเรียได้มารวมทั้งสิ้น 78 isolates แสดงผลการทดลองไว้ในตารางที่ 4.7-4.11

3.2 ผลการคัดแยกขั้นที่สองโดยใช้วิธีของ Hankin และ Anagnostakis(1977) โดยดูจากวงใสที่เกิดบนอาหารสูตร CMC medium เมื่อราดทับด้วย 0.1% Congo red (รูปที่ 4.7) ได้เชื้อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดวงใสบนอาหารทดสอบ 26 isolates ได้แก่ isolates ที่ 1, 2, 6, 9, 10, 12, 15, 16, 18, 25, 26, 31, 34, 47, 48, 49, 50, 52, 53, 61, 62, 65, 68, 70, 74, และ 76

3.3 ผลการคัดแยกขั้นที่สาม โดยใช้วิธีของ Chosson และ Dupuy (1983) ด้วยอาหารสูตร enriched medium (รูปที่ 4.8) สามารถคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด 6 isolates เชื้อแบคทีเรียทั้ง 6 isolates คือ isolates ที่ 74, 65, 9, 16, 1, และ 18 จากผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย isolate ที่ 74 และ 65 ให้ปฏิกริยาเอนไซม์เซลลูเลสสูงสุดที่อุณหภูมิ 30 °C ตามลำดับ แสดงผลการทดลองไว้ในตารางที่ 4.12

4. **ผลการคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์**

4.1 ผลการคัดแยกขั้นที่หนึ่งโดยวิธีของคำพูนและคณะ (2526) จากการทดลองไม่สามารถจะคัดแยกได้จาก เศษใบแห้งของปานศรนารายณ์และเศษต้นปานที่ตายแล้ว แต่สามารถแยกได้จากตัวอย่างน้ำที่ขังอยู่ตามพื้นดินโรงงานผลิตเชือกและน้ำคั้นจากการขูดเส้นใยปานด้วยอาหารสูตร detection medium(รูปที่ 4.9) ในขั้นนี้ได้เชื้อแบคทีเรียรวมทั้งสิ้น 50 isolates แสดงผลไว้ในตารางที่ 4.13-4.15

4.2 ผลการคัดแยกขั้นที่สอง โดยวิธีของ คำพูน และคณะ (2526) ด้วยอาหารสูตร differrential medium ได้เชื้อแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีเขียวเข้ม 13 isolates(รูปที่ 4.10) ได้แก่ isolates ที่ 3, 5, 9, 15, 21, 25, 32, 33, 35, 37, 40, 44, และ 49

4.3 ผลการคัดแยกขั้นที่สาม โดยวิธีของ คำพูน และคณะ (2526) ด้วยอาหารสูตร fermentation medium (รูปที่ 4.11) ได้เชื้อแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้มากที่สุดเพียง 5 isolates แบคทีเรียทั้ง 5 isolates คือ isolate ที่ 9, 25, 15, 37, และ 44 จากผลการทดลองพบว่าเชื้อแบคทีเรีย isolate ที่ 9 และ 25 ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุด 30 °C ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4.16

**ตารางที่ 4.7** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินใต้ต้นปาน อ.โนนสูง โดยวิธีของ Thayer และ David (1978)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | 1 | ขาวขุ่น | rod* | + |
| 2 | 2 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 3 | แดง | rod | − |
| 3 | 4 | ขาวใส | rod | − |
| | 5 | เหลือง | rod | − |
| | 6 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 4 | 7 | ขาวใส | rod | − |
| | 8 | เหลือง | rod | − |
| 5 | 9 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 6 | 10 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 11 | เหลือง | rod | − |
| 7 | 12 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 13 | ขาวใส | rod | − |
| 8 | 14 | แดง | rod | − |
| | 15 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 9 | 16 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 17 | เหลือง | rod | − |
| 10 | 18 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 19 | ส้ม | rod | − |

rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

**ตารางที่ 4.8** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากเศษใบแห้ง อ.โนนสูง โดยวิธีของ Thayer และ David (1978)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | 20 | ขาวใส | rod* | - |
| | 21 | เหลือง | rod | - |
| 2 | 22 | ขาว | rod | - |
| | 23 | เหลือง | rod | - |
| 3 | 24 | ขาวใส | rod | - |
| 4 | 25 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 5 | 26 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 6 | 27 | ชมพู | rod | - |
| | 28 | ขาวใส | rod | - |
| 7 | 29 | ขาวใส | rod | - |
| | 30 | เหลือง | rod | - |
| 8 | 31 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 32 | แดง | rod | - |
| 9 | 33 | เหลือง | rod | - |
| | 34 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 10 | 35 | ขาวใส | rod | - |

rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

**ตารางที่ 4.9** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากเศษต้นป่านที่ตายแล้ว อ. โนนสูง โดยวิธีของ Thayer และ David (1978)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | 36 | เหลือง | rod* | - |
| | 37 | แดง | rod | - |
| 2 | 38 | ขาวใส | rod | - |
| 3 | 39 | ขาวใส | rod | - |
| 4 | 40 | ส้ม | rod | - |
| | 41 | ขาวใส | rod | - |
| 5 | 42 | ขาวใส | rod | - |
| | 43 | แดง | rod | - |
| 6 | 44 | ขาวใส | rod | - |
| 7 | 45 | เหลือง | rod | - |
| | 46 | ขาวใส | rod | - |
| 8 | 47 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 9 | 48 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 10 | 49 | ขาวขุ่น | rod | + |

rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

i17852782

**ตารางที่ 4.10** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากดินที่อยู่โคนต้นปาน อ.หัวหิน โดยวิธีของ Thayer และ David (1978)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | 50 | ขาวขุ่น | rod* | + |
| | 51 | ส้ม | rod | − |
| 2 | 52 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 3 | 53 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 4 | 54 | ขาวใส | rod | − |
| | 55 | เหลือง | rod | − |
| 5 | 56 | ขาวใส | rod | − |
| 6 | 57 | แดง | rod | − |
| 7 | 58 | ขาวใส | rod | − |
| 8 | 59 | ขาวใส | rod | − |
| 9 | 60 | ขาวใส | rod | − |
| 10 | 61 | ขาวขุ่น | rod | + |

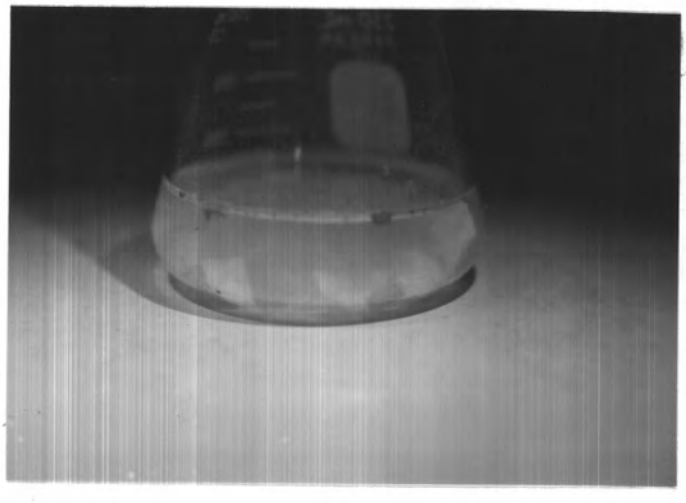
rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

**ตารางที่ 4.11** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสจากเศษใบแห้ง อ.หัวหิน โดยวิธีของ Thayer และ David (1978)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | 62 | ขาวขุ่น | rod* | + |
| 2 | 63 | ขาวใส | rod | - |
| | 64 | แดง | rod | - |
| 3 | 65 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 4 | 66 | เหลือง | rod | - |
| | 67 | ขาวใส | rod | - |
| 5 | 68 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 69 | ขาวใส | rod | - |
| 6 | 70 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 71 | แดง | rod | - |
| 7 | 72 | เหลือง | rod | - |
| | 73 | แดง | rod | - |
| 8 | 74 | ขาวขุ่น | rod | + |
| | 75 | ส้ม | rod | - |
| 9 | 76 | ขาวขุ่น | rod | + |
| 10 | 77 | เหลือง | rod | - |
| | 78 | ขาวใส | rod | - |

rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

ก

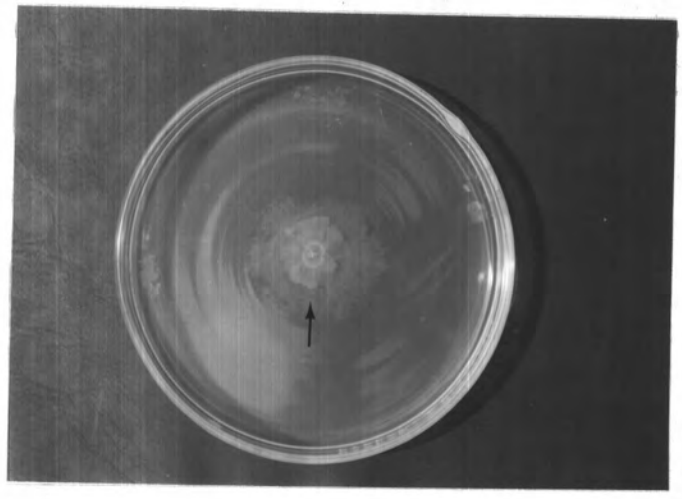


ข

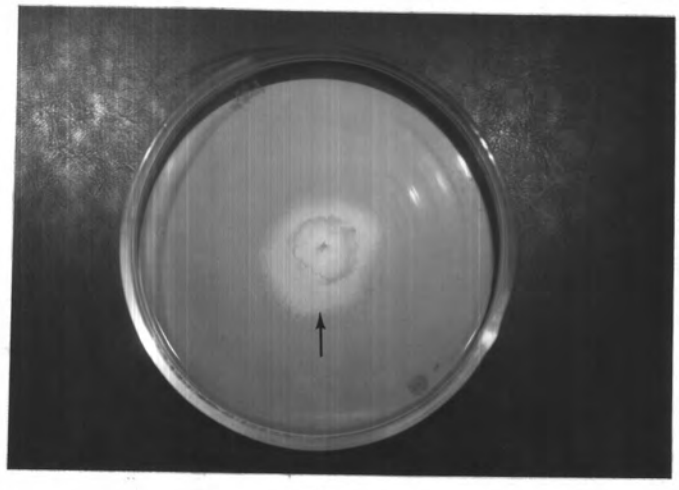
รูปที่ 4.6 Mineral salt medium ใช้แยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส

ก. ก่อนใส่ตัวอย่าง

ข. หลังจากใส่ตัวอย่าง 7 วัน พบว่ากระดาษกรองบางส่วนถูกย่อยสลายไป



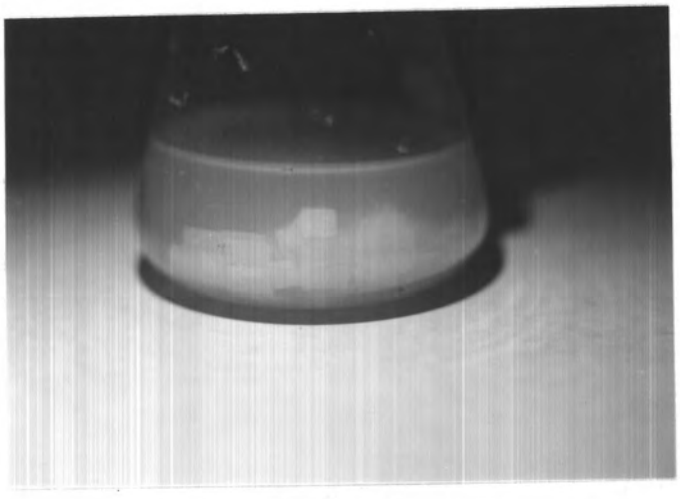
ก



ข

รูปที่ 4.7 ก. แบคทีเรียที่เจริญบน CMC medium อายุ 3 วัน (ศรชี้)
ข. ลักษณะของวงใสหลังจากราดทับด้วย Congo red (ศรชี้)

ก



ข

รูปที่ 4.8 Enrichec medium ใช้ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

ก. ก่อนใส่เชื้อแบคทีเรีย

ข. หลังจากใส่เชื้อแบคทีเรีย 7 วัน พบว่ากระดาษกรองบางส่วนถูกย่อยสลายไป

**ตารางที่ 4.12** ผลการทดสอบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิ 30 °C 37°C และ 45°C โดยวิธีของ Chosson และ Dupuy (1983) มีความแตกต่างของแต่ละอุณหภูมิไม่เกิน 2°C

| Isolates [1] | อุณหภูมิ 30° C หน่วย/มล. | อุณหภูมิ 37° C หน่วย/มล . | อุณหภูมิ 45° C หน่วย/มล . |
|---|---|---|---|
| 74 [2] | 0.067 | 0.033 | 0 |
| 65 [2] | 0.066 | 0.030 | 0 |
| 9 | 0.055 | 0.015 | 0 |
| 16 | 0.050 | 0.063 | 0 |
| 1 | 0.050 | 0.022 | 0 |
| 18 | 0.048 | 0.033 | 0 |
| 10 | 0.035 | 0.025 | 0 |
| 25 | 0.020 | 0.020 | 0 |
| 2 | 0.025 | 0 | 0 |
| 15 | 0.039 | 0 | 0 |
| 26 | 0.038 | 0.025 | 0 |
| 34 | 0.038 | 0.023 | 0 |
| 47 | 0.038 | 0.026 | 0 |
| 53 | 0.035 | 0 | 0 |
| 62 | 0.035 | 0 | 0 |
| 68 | 0.030 | 0.025 | 0 |
| 12 | 0.030 | 0.022 | 0 |
| 31 | 0.028 | 0 | 0 |
| 70 | 0.028 | 0 | 0 |
| 76 | 0.028 | 0 | 0 |
| 50 | 0.020 | 0 | 0 |
| 48 | 0.020 | 0 | 0 |
| 49 | 0.018 | 0 | 0 |

ตารางที่ 4.12 (ต่อ)

| Isolates [1] | อุณหภูมิ 30 °C หน่วย/มล. | อุณหภูมิ 37 °C หน่วย/มล . | อุณหภูมิ 45 °C หน่วย/มล . |
|---|---|---|---|
| 52 | 0.018 | 0 | 0 |
| 6 | 0.013 | 0 | 0 |
| 61 | 0.010 | 0 | 0 |

[1] เรียงลำดับตามประสิทธิภาพของเอนไซม์

[2] isolate ที่จะนำไปจำแนกโดยวิธีของ Bergey 's Manual. (1974)

**ตารางที่ 4.13** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำที่ขังอยู่ตามพื้นดินโรงงานผลิตเชือก อ.หัวหิน โดยวิธีของ คำพูน และคณะ (2526)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | 1 | ขาวใส | coc* | + |
| | 2 | ขาว | rod* | + |
| 2 | 3 | ขาว | rod | − |
| | 4 | ขาว | rod | + |
| 3 | 5 | ขาว | rod | − |
| | 6 | ขาว | rod | − |
| 4 | 7 | ขาวใส | coc | + |
| | 8 | ชมพู | rod | + |
| 5 | 9 | ขาว | rod | − |
| | 10 | แดง | coc | + |
| 6 | 11 | เหลือง | coc | + |
| | 12 | ขาวใส | coc | + |
| 7 | 13 | ขาว | rod | + |
| | 14 | ส้ม | coc | + |
| 8 | 15 | ขาว | rod | − |
| | 16 | ขาว | rod | − |
| 9 | 17 | ขาว | rod | + |
| | 18 | เหลือง | coc | + |
| 10 | 19 | ขาว | rod | − |
| | 20 | ชมพู | rod | + |

rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

coc* คือเซลล์มีลักษณะกลม

**ตารางที่ 4.14** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำคั้นจากใบปานสด อ.หัวหิน โดยวิธีของ คำพูน และคณะ (2526)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | 21 | ขาวใส | rod* | − |
| | 22 | ขาว | rod | − |
| 2 | 23 | เหลือ | coc* | + |
| | 24 | ขาว | rod | − |
| 3 | 25 | ขาว | rod | − |
| | 26 | ขาว | rod | + |
| 4 | 27 | ขาว | rod | − |
| | 28 | แดง | coc | + |
| 5 | 29 | ขาว | rod | − |
| | 30 | ขาว | rod | + |
| 6 | 31 | ขาวใส | coc | + |
| | 32 | ขาว | rod | − |
| 7 | 33 | ขาว | rod | − |
| | 34 | ขาว | rod | + |
| 8 | 35 | ขาว | rod | − |
| | 36 | ขาว | rod | − |
| 9 | 37 | ขาว | coc | + |
| | 38 | ขาว | rod | − |
| 10 | 39 | ขาว | rod | − |
| | 40 | ขาว | rod | + |

rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

coc* คือเซลล์มีลักษณะกลม

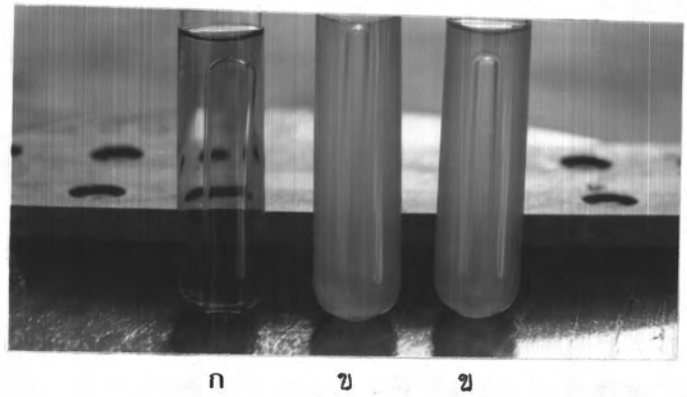
**ตารางที่ 4.15** ผลการทดลองคัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำคั้นจากใบปานสด อ.โนนสูง โดยวิธีของ คำพูน และคณะ (2526)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะของแบคทีเรีย | | |
|---|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง | ย้อมติดสีแกรม |
| 1 | non* | non | non | non |
| 2 | 41 | ขาว | rod* | − |
| | 42 | ขาว | rod | + |
| 3 | 43 | ขาว | coc* | + |
| | 44 | ขาว | rod | − |
| 4 | 45 | ขาว | rod | − |
| | 46 | แดง | coc | + |
| 5 | 47 | ขาว | coc | + |
| | 48 | ขาว | rod | − |
| 6 | 49 | ชมพู | coc | + |
| | 50 | ขาว | rod | − |
| 7 | non | non | non | non |
| 8 | non | non | non | non |
| 9 | non | non | non | non |
| 10 | non | non | non | non |

rod* คือเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง

coc* คือเซลล์มีลักษณะกลม

non* คือไม่เชื้อแบคทีเรีย



ก ข ข

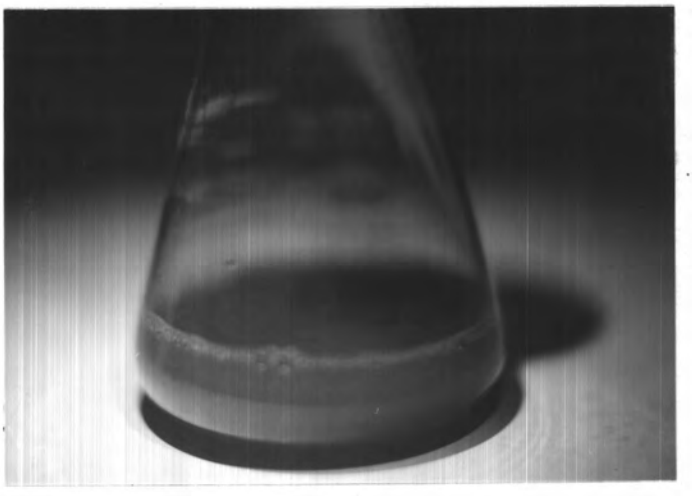
รูปที่ 4.9 การตัดแยกแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์ โดยใช้อาหารสูตร detection medium

ก. หลอดควบคุม ไม่พบฟองอากาศในหลอดเก็บกาซ

ข. หลังจากใส่ตัวอย่างลงไป 24 - 48 ชม. พบฟองกาซในหลอดเก็บกาซ

รูปที่ 4.10 ลักษณะโคโลนีเดียวของแบคทีเรีย ที่มีสีเขียวบน defferential medium (ศรชี้)

ก



ข

รูปที่ 4.11 Fermentation medium ใช้ทดสอบการสร้างแอลกอฮอล์
ก. ก่อนใส่เชื้อแบคทีเรีย
ข. หลังใส่เชื้อแบคทีเรีย 3 วัน พบว่ามีการสร้างแอลกอฮอล์

**ตาราง 4.16** ผลการทดสอบแบคทีเรียที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 30 °C 37 °C และ 45 °C โดยวิธีของ คำพูน และคณะ (2526) ความแตกต่างของแต่ละอุณหภูมิไม่เกิน 2 °C

| Isolates* | T. 30 °C | T. 37 °C | T. 45 °C |
|---|---|---|---|
| | alc | alc | alc |
| 9 [1] | 5.09 | 2.37 | 1.46 |
| 25 [1] | 5.08 | 2.49 | 1.40 |
| 15 | 5.06 | 2.77 | 1.10 |
| 37 | 5.02 | 2.51 | 0.65 |
| 44 | 4.15 | 3.49 | 0.91 |
| 5 | 3.76 | 1.10 | 0 |
| 21 | 3.66 | 1.00 | 0 |
| 33 | 3.33 | 0 | 0 |
| 3 | 3.20 | 1.15 | 0 |
| 49 | 3.18 | 0 | 0 |
| 32 | 3.10 | 1.45 | 0 |
| 40 | 3.10 | 0 | 0 |
| 35 | 2.99 | 0 | 0 |
| Z.mobilis | 72.29 | 47.86 | 0 |

T . = อุณหภูมิที่ใช้ทดลอง , Z.mobilis UQM 4

isolate * เรียงตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้

alc = ปริมาณแอลกอฮอล์ คิดเป็นหน่วย มก./มล.

[1] isolate ที่จะนำไปจำแนกโดยวิธีของ Bergey 's Manual. (1974)

**5. ผลการคัดแยกยีสต์ที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์**

5.1 ผลการคัดแยกขั้นที่หนึ่ง โดยใช้วิธีของ Kumnuant และคณะ(1981) จากการทดลองไม่สามารถจะคัดแยกได้จาก เศษใบแห้งของปานศรนารายณ์และเศษต้นปานที่ตายแล้ว แต่สามารถแยกได้จากตัวอย่างน้ำที่ขังอยู่ตามพื้นดินและน้ำคั้นจากใบปานสดด้วย molasses medium (รูปที่ 4.12) ในขั้นนี้ได้เชื้อยีสต์รวมทั้งสิ้น 14 isolates แสดงไว้ในตารางที่ 4.17-4.19

5.2 ผลการคัดแยกขั้นที่สอง โดยวิธีของ Szczodrak และ Targonski (1988) ด้วยสูตร fermentation medium (รูปที่ 4.13) ได้เชื้อยีสต์ที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์ได้ดีที่สุดเพียง 6 isolates เชื้อยีสต์ทั้ง 6 isolates ได้แก่ isolates ที่ 4, 6, 13, 3, 9, และ 12 จากผลการทดลองพบว่าเชื้อยีสต์ isolate ที่ 4 และ 6 ให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุดที่อุณหภูมิ 30 °C ตามลำดับ ผลการทดลองแสดงไว้ในตารางที่ 4.20

**ตารางที่ 4.17** ผลการคัดแยกยีสต์ที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำคั้นใบปานสด อ.โนนสูง โดยวิธีของ Kumnuant และคณะ (1981)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะเซลล์ยีสต์ | |
|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง |
| 1 | 1 | ขาวนวล | แทง |
| | 2 | " | กลม |
| 2 | 3 | " | รูปไข่ |
| 3 | non* | non | non |
| 4 | 4 | ขาวนวล | รูปไข่ |
| 5 | non | non | non |
| 6 | non | non | non |
| 7 | non | non | non |
| 8 | non | non | non |
| 9 | non | non | non |
| 10 | 5 | ขาวนวล | กลม |

non* = ไม่มีเชื้อยีสต์

**ตารางที่ 4.18** ผลการคัดแยกยีสต์ที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำคั้นใบปานสด อ.หัวหิน โดยวิธีของ Kumnuant และคณะ (1981)

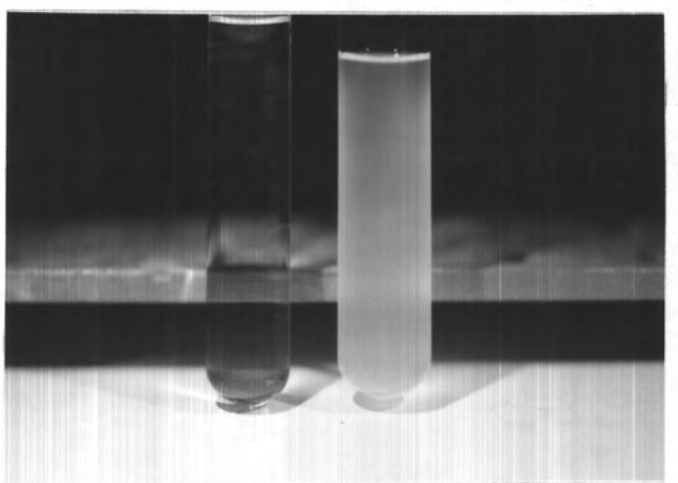
| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะเซลล์ยีสต์ | |
|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง |
| 1 | 6 | ขาวนวล | กลม |
| 2 | 7 | " | รูปไข่ |
| 3 | non* | non | non |
| 4 | non | non | non |
| 5 | 8 | ขาวนวล | รูปไข่ |
| 6 | 9 | ขาวนวล | กลม |
| 7 | 10 | ขาวนวล | แทง |
| 8 | non | non | non |
| 9 | non | non | non |
| 10 | non | non | non |

non* = ไม่มีเชื้อยีสต์

**ตารางที่ 4.19** ผลการคัดแยกยีสต์ที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำทิ้งอยู่บนพื้นดินโรงงานผลิตเชือก อ.หัวหิน โดยวิธีของ Kumnuant. และคณะ (1981)

| ตัวอย่างที่ | Isolates ที่ | ลักษณะเซลล์ยีสต์ | |
|---|---|---|---|
| | | สีโคโลนี | รูปร่าง |
| 1 | 11 | ขาวนวล | รูปไข่ |
| 2 | non* | non | non |
| 3 | non | non | non |
| 4 | non | non | non |
| 5 | 12 | ขาวนวล | รูปไข่ |
| 6 | 13 | ขาวนวล | รูปไข่ |
| 7 | non | non | non |
| 8 | 14 | ขาวนวล | กลม |
| 9 | non | non | non |
| 10 | non | non | non |

non* = ไม่มีเชื้อยีสต์



ก. ข.

รูปที่ 4.12 Molasses medium ใช้แยกยีสต์

ก. ก่อนใส่ตัวอย่าง

ข. หลังใส่ตัวอย่าง 7 วัน พบยีสต์ตะกอนสีขาว

ก.

ข.

รูปที่ 4.13 Basal medium ใช้ทดสอบการผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์

ก. ก่อนใส่เชื้อยีสต์

ข. หลังใส่เชื้อยีสต์ 3 วัน พบว่ามีการสร้างแอลกอฮอล์

**ตาราง 4.20** ผลการทดสอบยีสต์ที่สามารถสร้างแอลกอฮอล์ที่อุณหภูมิ 30°C,37°C และ 45°C โดยวิธีของ Szczodrak และ Targonski(1988) มีความแตกต่างของแต่ละอุณหภูมิไม่เกิน 2°C

| Isolates* | T. 30°C | T. 37°C | T. 45°C |
|---|---|---|---|
| | alc | alc | alc |
| 4 [1] | 66.31 | 80.57 | 26.82 |
| 6 [1] | 63.00 | 71.55 | 35.92 |
| 13 | 63.87 | 71.03 | 35.74 |
| 3 | 57.78 | 70.03 | 45.85 |
| 9 | 59.36 | 65.93 | 43.37 |
| 12 | 63.96 | 64.45 | 23.22 |
| 7 | 40.60 | 37.86 | 21.22 |
| 11 | 40.10 | 37.46 | 20.02 |
| 14 | 36.42 | 30.90 | 10.26 |
| 2 | 30.03 | 25.61 | - |
| 8 | 25.83 | 19.58 | - |
| 1 | 24.00 | 15.15 | - |
| 10 | 22.96 | 11.04 | - |
| 5 | 20.64 | 10.32 | - |
| Sacc | 57.64 | 68.31 | - |

T = อุณหภูมิที่ใช้ทดลอง

alc = ปริมาณแอลกอฮอล์ คิดเป็นหน่วย มก./มล.

isolate * เรียงตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้

[1] isolate ที่จะนำไปจำแนกตามแนวของ Lodder (1971)

Sacc = ยีสต์ Saccharomyces cerevisiar TISTR 5021

**6. ผลการจำแนกเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส**

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราโดยใช้ slide culture technique ตรวจสอบเชื้อรา isolate ที่ 13และ36 ตามแนวของ H.J. Barnett.(1972) ปรากฏว่าเชื้อรา isolate ที่ 13 คือ Botryotrichum sp. (รูปที่ 4.14) ส่วนเชื้อรา isolate ที่ 36 เนื่องจากไม่สร้างสปอร์จึงไม่สามารถจำแนกได้

**7. ผลการจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและผลิตแอลกอฮอล์**

ก. การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

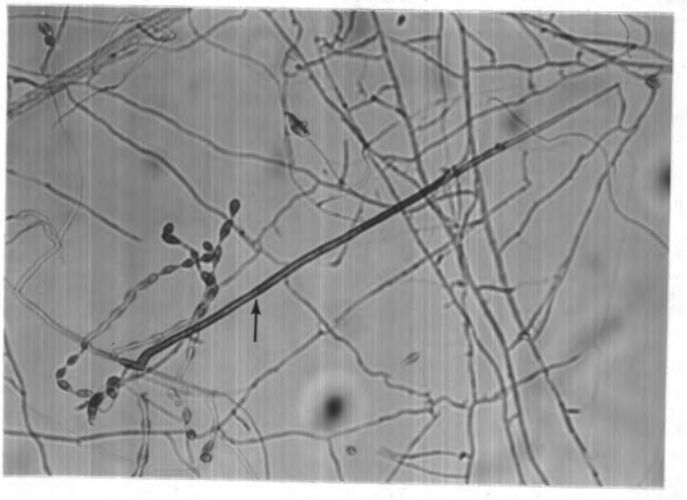
จากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีตามแนวของ Bergey's Manual. (1974) เพื่อตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย isolate ที่ 74 และ 65 ปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรีย isolate ที่ 74 (รูปที่ 4.15 และรูปที่ 4.17 ก.)และ isolate 65 ที่ (รูปที่ 4.16 และรูปที่ 4.17 ข.) คือ Bacillus sp. ดังตารางที่ 4.21 ซึ่งแสดงคุณสมบัติของแบคทีเรียทั้ง 2 isolate

**ตารางที่ 4.21** คุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรีย isolate ที่ 74 และ isolate ที่ 65

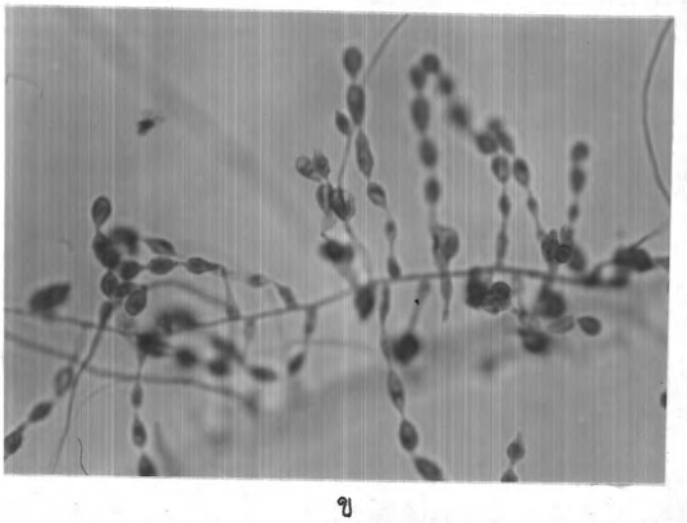
| ทดสอบ | isolate ที่ 74 | isolate ที่ 65 |
|---|---|---|
| Gram staining | $rod^+$ | $rod^+$ |
| Endospore forming | + | + |
| Motility | + | + |
| $H_2O_2$ | + | + |
| Glucose | + | + |

ข. การจำแนกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์

จากการทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีตามแนวของ Bergey's Manual.(1974) เพื่อตรวจสอบเชื้อแบคทีเรีย isolate ที่ 9 และ 25 ปรากฏว่าเชื้อแบคทีเรีย isolates ที่ 9 (รูปที่ 4.18) คือ Enterobacter sp. และ แบคทีเรีย isolate ที่ 25 (รูปที่ 4.19) คือ Klebsiella sp. และคุณสมบัติทางชีวเคมีดังแสดงในตารางที่ 4.22



ก



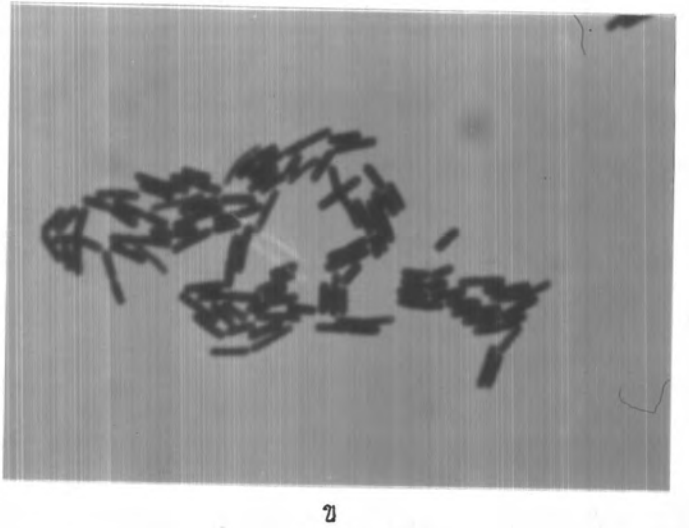
ข

รูปที่ 4.14 เชื้อรา isolate ที่ 13

ก. Sterile hair (ศรชี้) กำลังขยาย 800 เท่า

ข. สปอร์ กำลังขยาย 2000 เท่า

ก

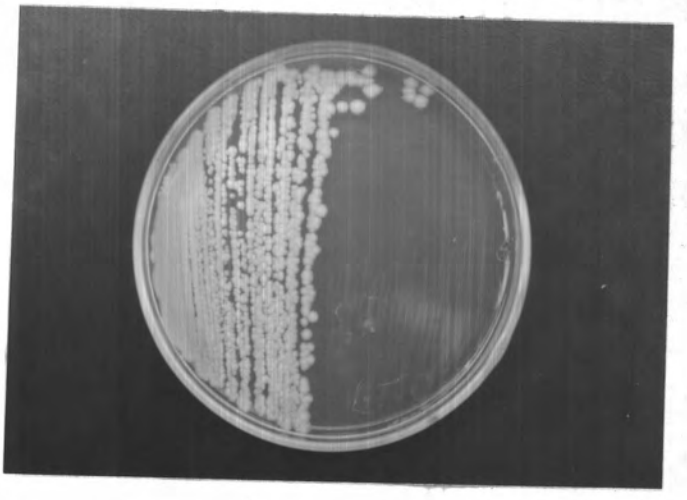


ข

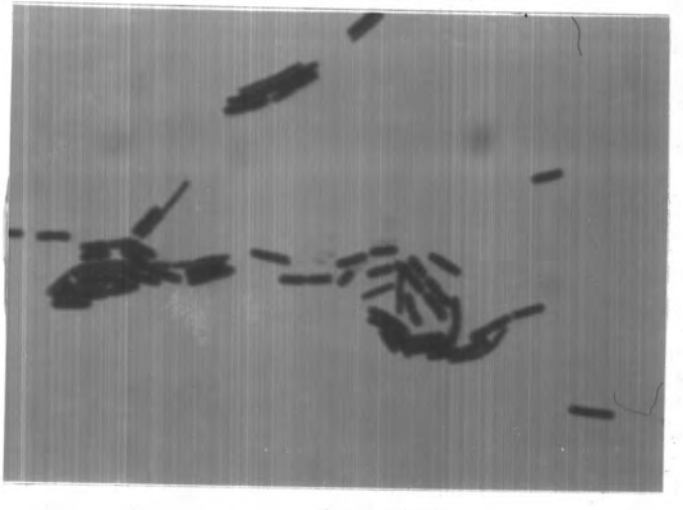
รูปที่ 4.15 แบคทีเรีย isolate ที่ 74

ก. ลักษณะโคโลนีเดียวของแบคทีเรีย

ข. การติดสีน้ำเงินแกรมบวกของแบคทีเรีย จะเห็นเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง กลังขยาย 2000 เท่า



ก

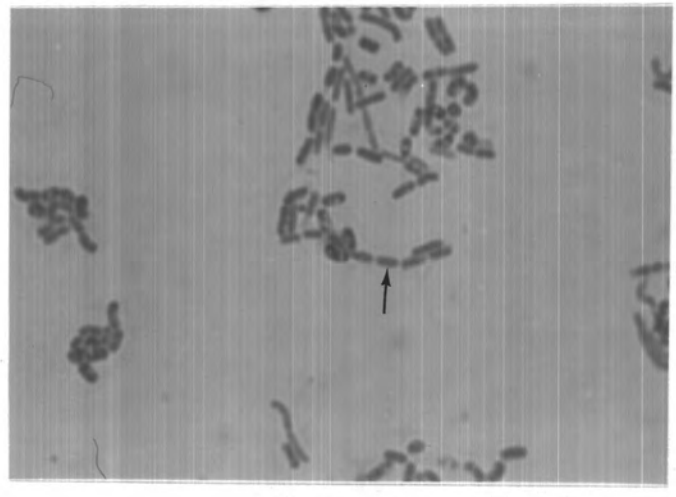


ข

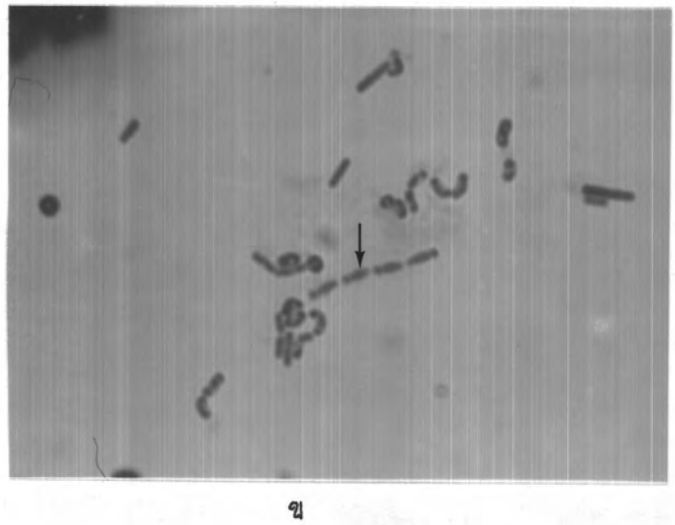
รูปที่ 4.16 แบคทีเรีย isolate ที่ 65

ก. ลักษณะโคโลนีเดียวของแบคทีเรีย

ข. การติดสีน้ำเงินแกรมบวกของแบคทีเรีย จะเห็นเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง กำลังขยาย 2000 เท่า



ก

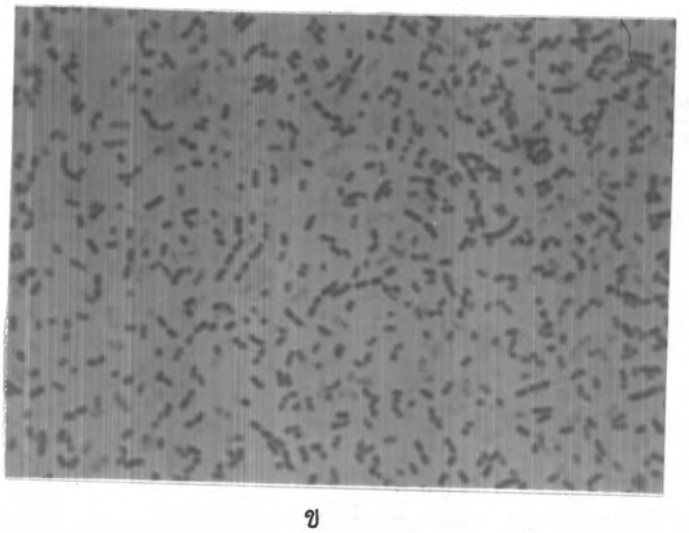


ข

รูปที่ 4.17 ก. สปอร์ของแบคทีเรีย isolate ที่ 74 (ศรชี้) กำลังขยาย 2000 เท่า

ข. สปอร์ของแบคทีเรีย isolate ที่ 65 (ศรชี้) กำลังขยาย 2000 เท่า

ก



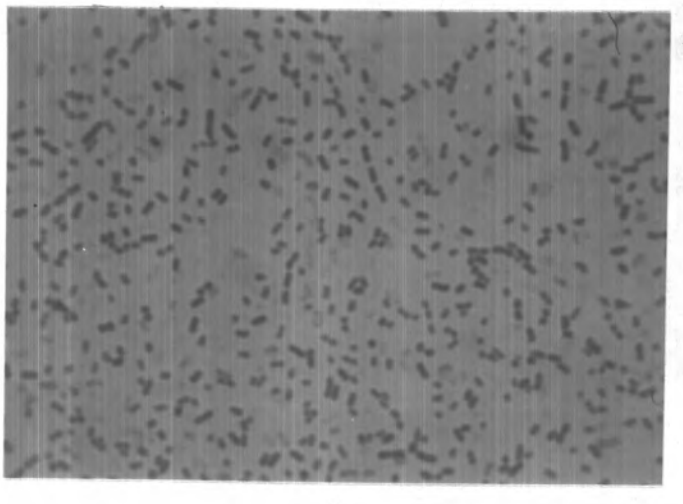
ข

รูปที่ 4.18 แบคทีเรีย isolate ที่ 9

ก. ลักษณะโคโลนีเดี่ยวของแบคทีเรีย

ข. การติดสีแกรมลบของแบคทีเรีย จะเห็นเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง กำลังขยาย 2000 เท่า

ก.



ข

รูปที่ 4.19 แบคทีเรีย isolate ที่ 25

ก. ลักษณะโคโลนีเดียวของแบคทีเรีย

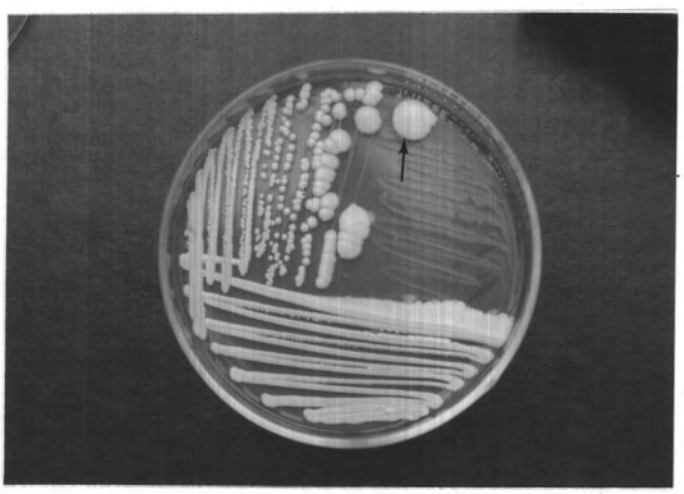
ข. การติดสีแดงแกรมลบของแบคทีเรีย จะเห็นเซลล์มีลักษณะเป็นแท่ง กำลังขยาย 2000 เท่า

**ตารางที่ 4.22** ผลการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์

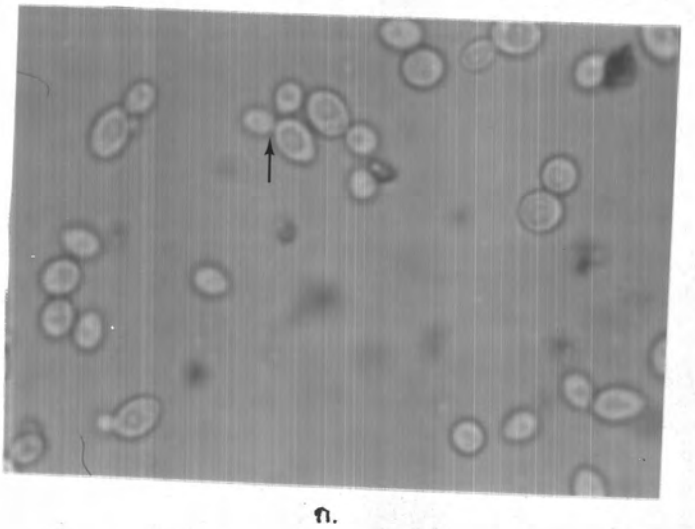
| ทดสอบ | isolate ที่ 9 | isolate ที่ 25 |
|---|---|---|
| Gram staining | $rod^-$ | $rod^-$ |
| MRVP | | |
| hydrogen ion concentrate | - | - |
| acetylmethyl carbinol | + | + |
| TSI | + | + |
| SIM | | |
| hydrogen sulphide | - | - |
| indole | - | - |
| motility | + | - |
| Simmom citrate | + | + |
| LIA | + | + |
| EMP | - | - |
| Urease | - | + |
| Sucrose | + | + |
| Glucose | + | + |
| Lactose | + | + |
| Fructose | + | + |
| Manitol | + | + |

**8. ผลการจำแนกยีสต์ที่สามารถหมักแอลกอฮอล์**

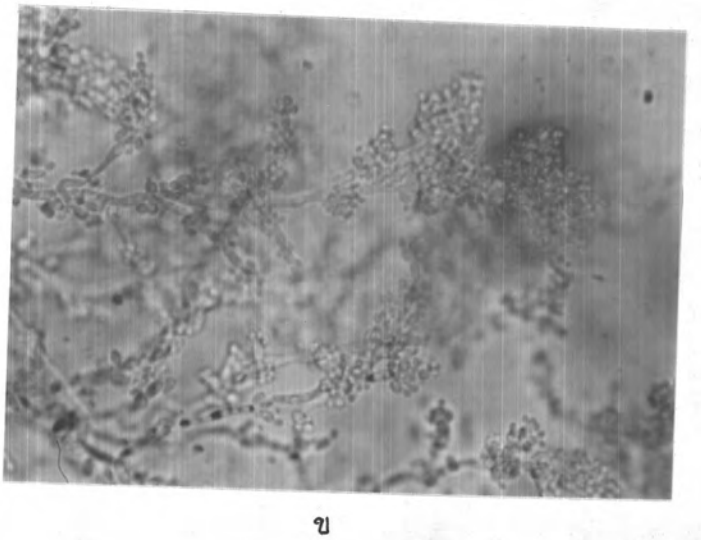
จากการทดสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยาแนวของ Lodder. (1971) ของยีสต์ isolate ที่ 4 และ isolate ที่ 6 ปรากฏว่ายีสต์ isolate ที่ 4 คือ Candida sp. และ (รูปที่ 4.20 - รูปที่ 4.21) และ isolate ที่ 6 (รูปที่ 4.22 - รูปที่ 4.23) คือ Schizosaccharomyces sp. และได้สรุปคุณสมบัติของยีสต์ทั้ง 2 isolates ไว้ในตารางที่ 4.23



รูปที่ 4.20 ยีสต์ isolate ที่ 4 มีลักษณะโคโลนีสีขาวนวลและขอบโคโลนีหยัก (ศรชี้)



ก.



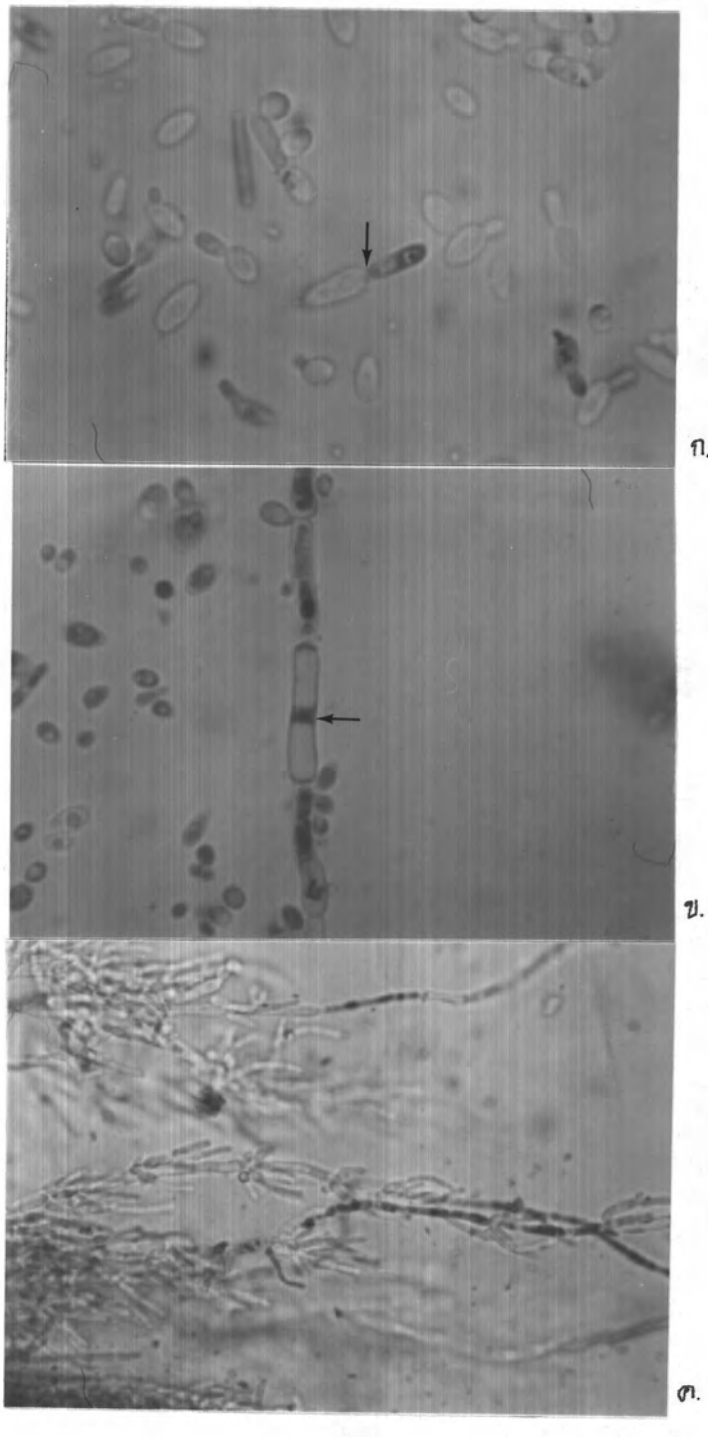
ข

รูปที่ 4.21 ยีสต์ isolate ที่ 4

ก. ลักษณะการแตกหน่อของยีสต์ (ศรชี้) กำลังขยาย 800 เท่า

ข. ลักษณะเส้นใยเทียม (ศรชี้) กำลังขยาย 800 เท่า

รูปที่ 4.22 ยีสต์ isolate ที่ 6 มีลักษณะโคโลนีสีขาวนวลและขอบโคโลนีหยัก (ศรชี้)




รูปที่ 4.23 ยีสต์ isolate ที่ 6

ก. ลักษณะการแตกหน่อของยีสต์ (ศรชี้) กำลังขยาย 800 เท่า

ข. ลักษณะการเกิด binary fission ของยีสต์ (ศรชี้) กำลังขยาย 800 เท่า

ค. ลักษณะเส้นใยเทียม (ศรชี้) กำลังขยาย 800 เท่า

รูปที่ 4.24 เส้นใยปานศรนารายณ์

ก. ก่อนนำมาทำปฏิกริยา

ข. เส้นใยพร้อมจะนำไปหมักแอลกอฮอล์ในกระบวนการหมักแบบ SSF

ค. หลังจากการหมัก 3,5 และ 7 วัน

**ตารางที่ 4.23** ผลการจำแนกยีสต์ที่สามารถหมักแอลกอฮอล์

| ลักษณะ | isolate ที่ 4 | isolate ที่ 6 |
|---|---|---|
| สีโคโลนี | ขาวนวล | ขาวนวล |
| ขอบโคโลนี | หยัก | หยัก |
| การสร้างเส้นใยเทียม | + | + |
| การสร้างสปอร์ | - | - |
| การแตกหน่อ | + | + |
| binary fission | - | + |

**9. ผลการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส**

ปรากฏว่าเชื้อรา isolate ที่ 13 ให้ปฏิกริยาของเอนไซม์เซลลูเลสสูงถึง 0.74 หน่วย/มล. ส่วน T.reesei QM 9414 ให้ปฏิกริยาของเอนไซม์เซลลูเลสเพียง 0.58 หน่วย/มล. สำหรับอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตคือ 37 C (± 2 C) และ pH เริ่มต้น คือ 5.0

**10. ผลการทดลองหมักแอลกอฮอล์แบบ Simultaneous Saccharification and Fermentation (SSF)**

10.1 การหมักแอลกอฮอล์โดยใช้ Microcrystalline cellulose เป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจาก T.reesei QM 9414 และใช้เชื้อยีสต์ C.brassicae IFO 1664 รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 4.24 และกราฟที่ 4.1

10.2 การหมักแอลกอฮอล์ โดยใช้การเส้นใยปานศรนารายณ์เป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจาก T.reesei QM 9414 และใช้เชื้อยีสต์ C.brassicae IFO 1664 รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 4.25 และกราฟที่ 4.2

10.3 การหมักแอลกอฮอล์ โดยใช้การเส้นใยปานศรนารายณ์เป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจากเชื้อรา isolate ที่ 13 (Botryotrichum sp.) และใช้ยีสต์ isolate ที่ 4 (Candida sp.)รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 4.26 และกราฟที่ 4.3

10.4 การหมักแอลกอฮอล์ โดยใช้การเส้นใยปานศรนารายณ์เป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจาก T.reesei QM 9414 และใช้เชื้อยีสต์ isolate ที่ 4 (Candida sp.)รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 4.27 และกราฟที่ 4.4

10.5 การหมักแอลกอฮอล์ โดยใช้การเส้นใยปานศรนารายณ์เป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจากเชื้อรา isolate ที่ 13 (Botryotrichum sp.) และใช้ยีสต์ C.brassicae IFO 1664 รายละเอียดแสดงไว้ในตารางที่ 4.28 และกราฟที่ 4.4

**ตารางที่ 4.24** ผลการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้ Microcrystalline cellulose เป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจาก T.reesei QM 9414 และใช้เชื้อยีสต์ C.brassicae IFO 1664

| การเปลี่ยนแปลงของ | วันเริ่มต้น | 3 วัน | 5 วัน | 7 วัน |
|---|---|---|---|---|
| ปริมาณแอลกอฮอล์ มก./มล. | 0 | 4.10 | 6.94 | 7.69 |
| ปริมาณแอลกอฮอล์ ก./ก. | 0 | 0.137 | 0.231 | 0.256 |
| ปริมาณน้ำตาลกลูโคส มก./มล. | 0 | 0.10 | 0.11 | 0.14 |
| ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มก./มล. | 0 | 0.90 | 0.98 | 1.04 |
| จำนวนเซลล์ | $3 \times 10^9$ | $6 \times 10^7$ | $5.6 \times 10^7$ | $3.5 \times 10^7$ |
| pH | 4.0 | 4.60 | 4.60 | 4.60 |

**ตารางที่ 4.25** ผลการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้กากเส้นใยปานเป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลส ที่ผลิตจาก T.reesei QM 9414 และใช้ยีสต์ C.brassicae IFO 1664

| การเปลี่ยนแปลงของ | วันเริ่มต้น | 3 วัน | 5 วัน | 7 วัน |
|---|---|---|---|---|
| ปริมาณแอลกอฮอล์ มก./มล. | 0 | 3.12 | 4.79 | 5.34 |
| ปริมาณแอลกอฮอล์ ก./ก. | 0 | 0.104 | 0.160 | 0.178 |
| ปริมาณน้ำตาลกลูโคส มก./มล. | 0 | 0.19 | 0.21 | 0.24 |
| ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มก./มล. | 0 | 1.06 | 1.11 | 1.24 |
| จำนวนเซลล์ | $3 \times 10^9$ | $4.2 \times 10^7$ | $3.6 \times 10^7$ | $2.3 \times 10^7$ |
| pH | 4.0 | 4.55 | 4.55 | 4.55 |

**ตารางที่ 4.26** ผลการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้การเส้นใยป่านเป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจากเชื้อรา isolate ที่ 13 (Botryotrichum sp.) และใช้ยีสต์ isolate ที่ 4 (Candida sp.)

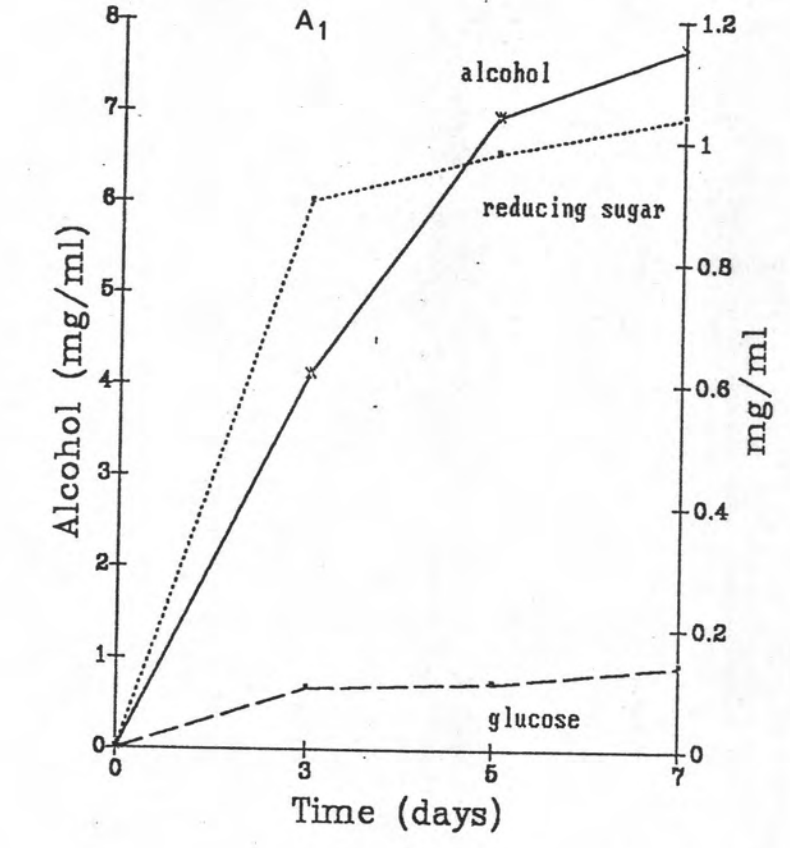
| การเปลี่ยนแปลงของ | วันเริ่มต้น | 3 วัน | 5 วัน | 7 วัน |
|---|---|---|---|---|
| ปริมาณแอลกอฮอล์ มก./มล. | 0 | 4.14 | 4.56 | 5.79 |
| ปริมาณแอลกอฮอล์ ก./ก. | 0 | 0.138 | 0.152 | 0.193 |
| ปริมาณน้ำตาลกลูโคส มก./มล. | 0 | 0.15 | 1.10 | 1.53 |
| ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มก./มล. | 0 | 0.74 | 2.32 | 2.85 |
| จำนวนเซลล์ | $3 \times 10^9$ | $5.5 \times 10^7$ | $2.8 \times 10^7$ | $2.8 \times 10^7$ |
| pH | 4.8 | 4.45 | 4.45 | 4.45 |

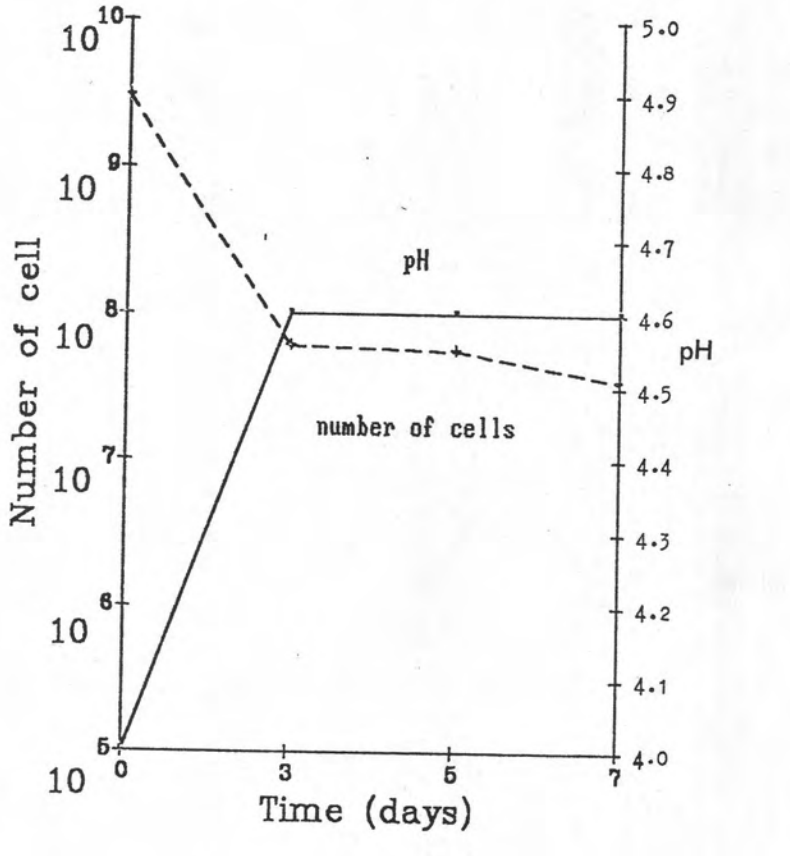
**ตารางที่ 4.27** ผลการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้การเส้นใยป่านเป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจาก T.reesei QM 9414 และใช้ยีสต์ isolate ที่ 4 (Candida sp.)

| การเปลี่ยนแปลงของ | วันเริ่มต้น | 3 วัน | 5 วัน | 7 วัน |
|---|---|---|---|---|
| ปริมาณแอลกอฮอล์ มก./มล. | 0 | 1.58 | 2.13 | 3.74 |
| ปริมาณแอลกอฮอล์ ก./ก. | 0 | 0.053 | 0.071 | 0.125 |
| ปริมาณน้ำตาลกลูโคส มก./มล. | 0 | 3.76 | 4.19 | 5.08 |
| ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มก./มล. | 0 | 7.05 | 7.53 | 8.90 |
| จำนวนเซลล์ | $3 \times 10^9$ | $7.0 \times 10^7$ | $2.8 \times 10^7$ | $4.5 \times 10^6$ |
| pH | 4.0 | 4.36 | 4.36 | 4.36 |

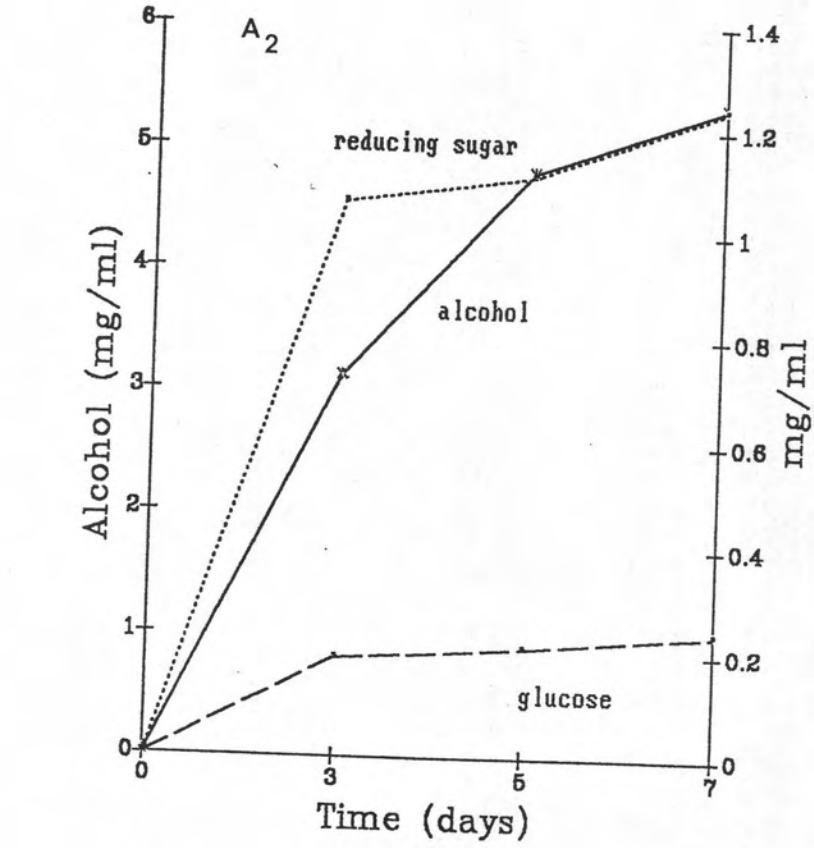
**ตารางที่ 4.28** ผลการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้การเส้นใยปานเป็นวัสดุหมักกับเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตจากจากเชื้อรา isolate ที่ 13 (Botryotrichum sp.) ใช้ยีสต์ C.brassicae IFO 1664

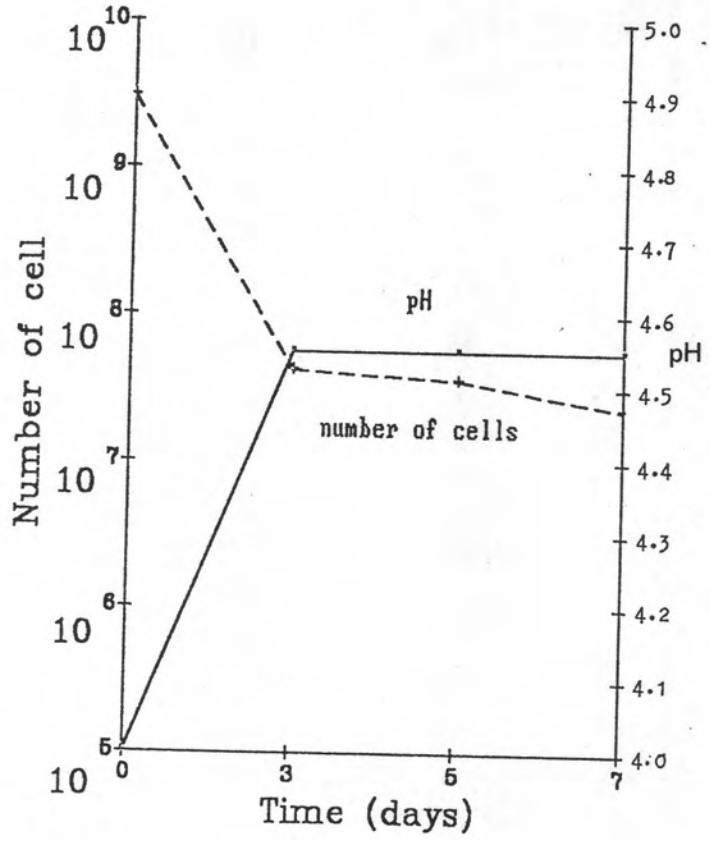
| การเปลี่ยนแปลงของ | วันเริ่มต้น | 3 วัน | 5 วัน | 7 วัน |
|---|---|---|---|---|
| ปริมาณแอลกอฮอล์ มก./มล. | 0 | 3.43 | 6.08 | 6.48 |
| ปริมาณแอลกอฮอล์ ก./ก. | 0 | 0.114 | 0.203 | 0.216 |
| ปริมาณน้ำตาลกลูโคส มก./มล. | 0 | 0.065 | 0.09 | 0.09 |
| ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ มก./มล. | 0 | 0.498 | 0.811 | 0.831 |
| จำนวนเซลล์ | $3 \times 10^9$ | $1.0 \times 10^8$ | $7.1 \times 10^7$ | $4.7 \times 10^7$ |
| pH | 4.8 | 5.00 | 5.00 | 5.00 |


A1
alcohol
reducing sugar
glucose
Alcohol (mg/ml)
mg/ml
Time (days)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
0
3
5
7

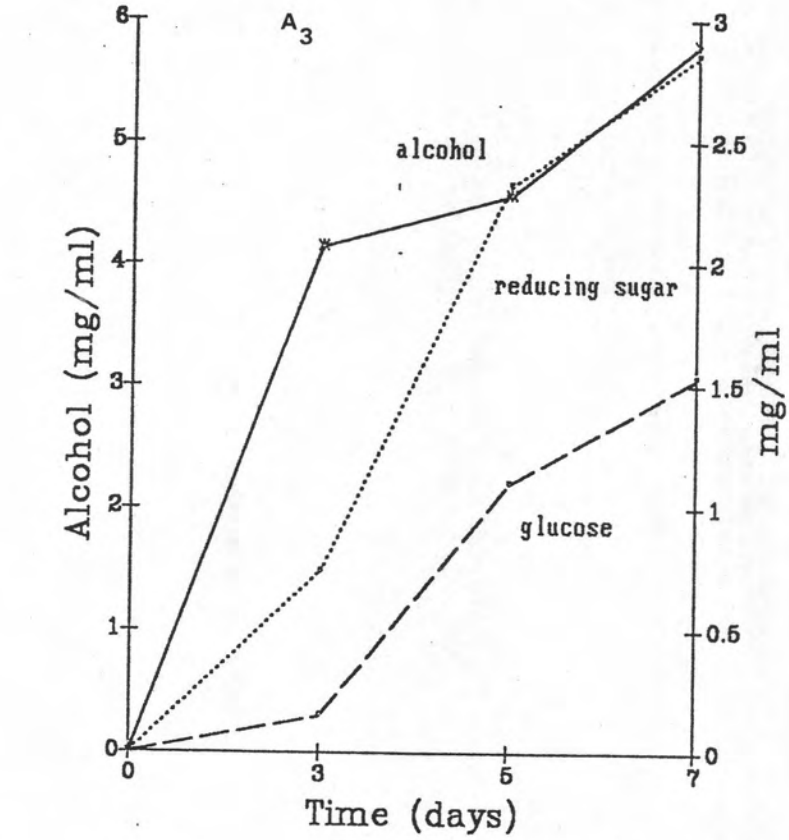

Number of cell
pH
number of cells
Time (days)
10^5
10^6
10^7
10^8
10^9
10^10
4.0
4.1
4.2
4.3
4.4
4.5
4.6
4.7
4.8
4.9
5.0
0
3
5
7

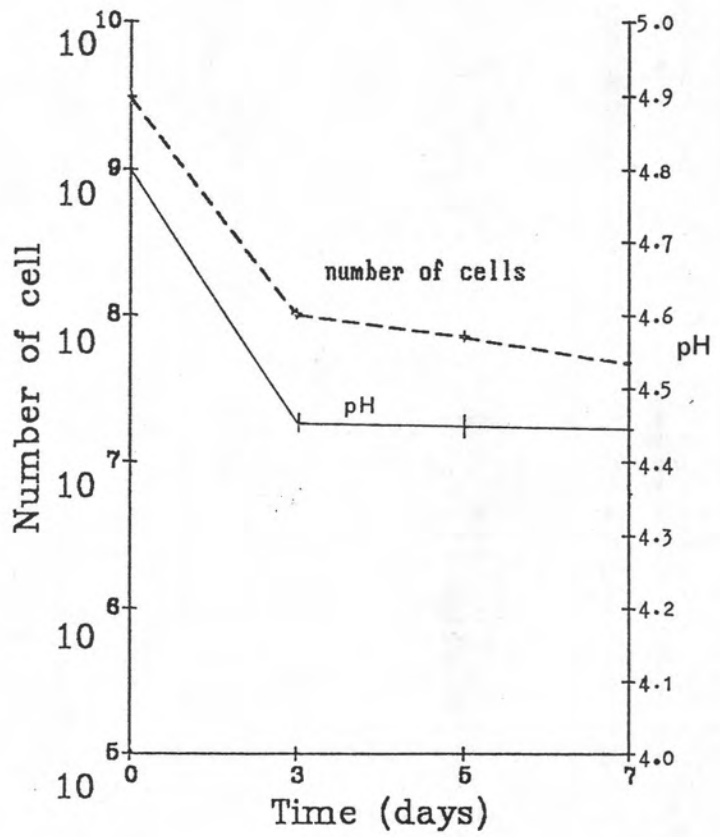
กราฟที่ 4.1


A2
reducing sugar
alcohol
glucose
Alcohol (mg/ml)
mg/ml
Time (days)
0
1
2
3
4
5
6
0.2
0.4
0.6
0.8
1
1.2
1.4
0
3
5
7

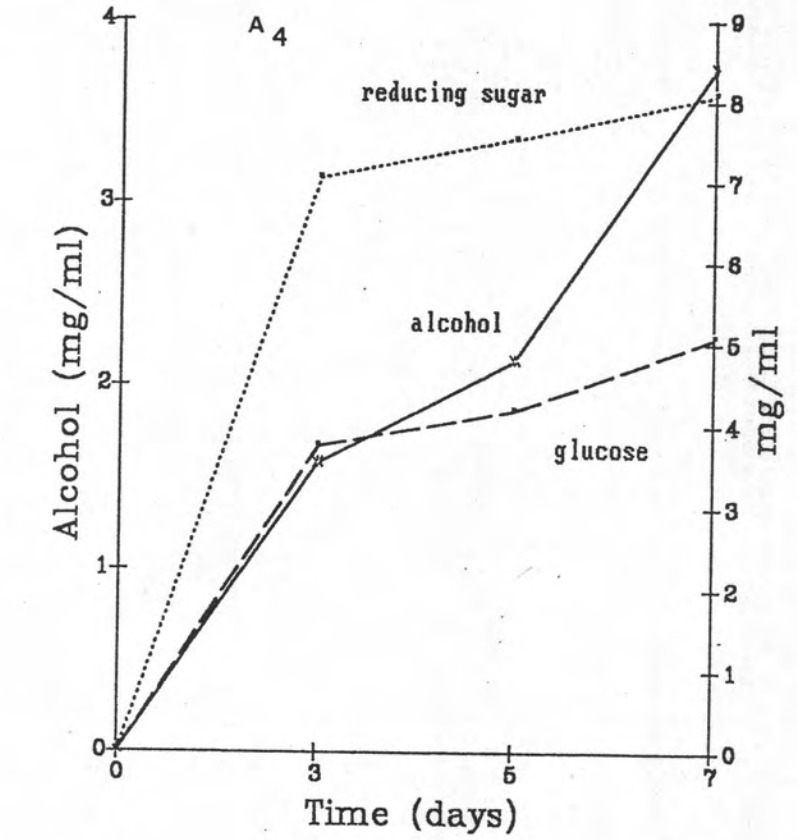

Number of cell
pH
number of cells
Time (days)
10
10
10
10
10
10
4.0
4.1
4.2
4.3
4.4
4.5
4.6
4.7
4.8
4.9
5.0
0
3
5
7

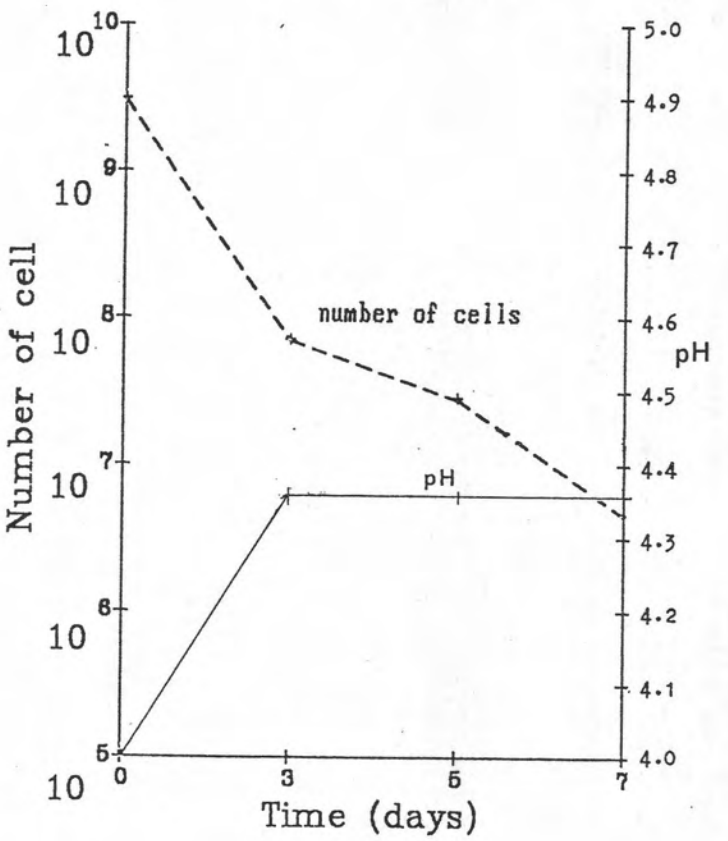
กราฟที่ 4.2


A3
alcohol
reducing sugar
glucose
Alcohol (mg/ml)
mg/ml
Time (days)
0
1
2
3
4
5
6
0.5
1.5
2.5

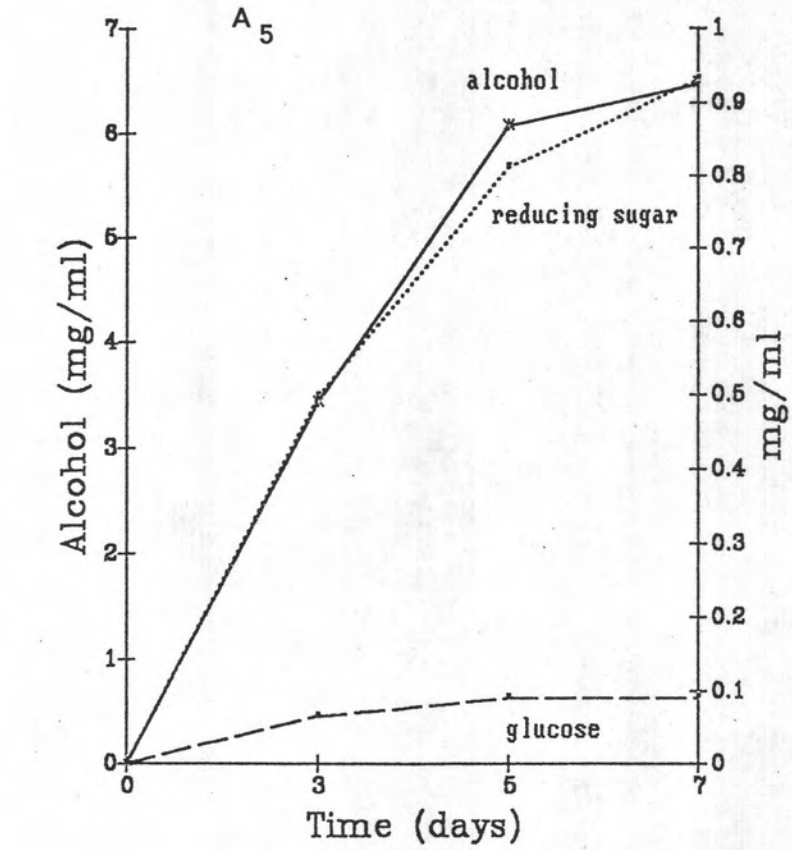

number of cells
pH
Number of cell
Time (days)
10
4.0
4.1
4.2
4.3
4.4
4.5
4.6
4.7
4.8
4.9
5.0

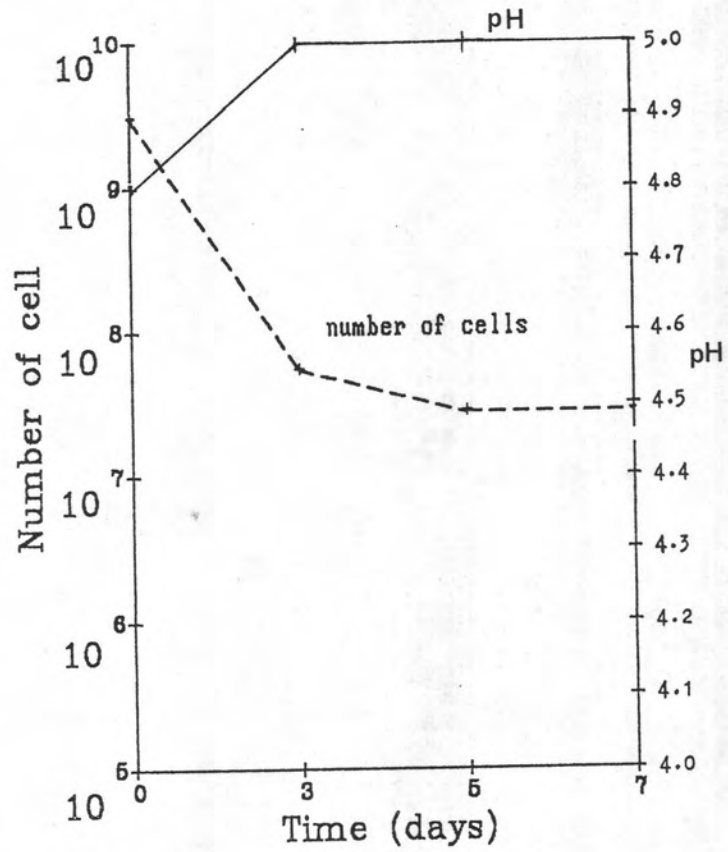
กราฟที่ 4.3


A 4
reducing sugar
alcohol
glucose
Alcohol (mg/ml)
mg/ml
Time (days)
0
1
2
3
4
5
6
7
8
9
0
3
5
7


number of cells
pH
Number of cell
Time (days)
10
10
10
10
10
10
5.0
4.9
4.8
4.7
4.6
4.5
4.4
4.3
4.2
4.1
4.0
0
3
5
7

กราฟที่ 4.4


A 5
alcohol
reducing sugar
glucose
Alcohol (mg/ml)
mg/ml
Time (days)
0
3
5
7
1
2
4
6
0.1
0.2
0.3
0.4
0.5
0.6
0.7
0.8
0.9


pH
number of cells
Number of cell
pH
Time (days)
10
5.0
4.9
4.8
4.7
4.6
4.5
4.4
4.3
4.2
4.1
4.0

กราฟที่ 4.5