การผลิตและการใช้มัลติเอนไซม์เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยสับปะรด

นางสาวพิชญาภา นิรมล

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทคัดย่อและแฟ้มข้อมูลฉบับเต็มของวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ปีการศึกษา 2554 ที่ให้บริการในคลังปัญญาจุฬาฯ (CUIR)
เป็นแฟ้มข้อมูลของนิสิตเจ้าของวิทยานิพนธ์ ที่ส่งผ่านทางบัณฑิตวิทยาลัย
The abstract and full text of theses from the academic year 2011 in Chulalongkorn University Intellectual Repository (CUIR)
are the thesis authors' files submitted through the University Graduate School.

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ ภาควิชาวัสดุศาสตร์
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2559
ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Production and Application of Multi-enzyme for Pineapple Fiber Scouring

Miss Pitchayapa Niramon

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science Program in Applied Polymer Science and Textile Technology
Department of Materials Science
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2016

Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตและการใช้มัลติเอนไซม์เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยสับปะรด
โดย	นางสาวพิชญาภา นิรมล
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษา แสงวัฒนาโรจน์
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	ดร. ธิดารัตน์ นิ่มเชื้อ

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

.....คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(รองศาสตราจารย์ ดร. พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

.....ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร. ดวงดาว อาจองค์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษา แสงวัฒนาโรจน์)

.....อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(ดร. ธิดารัตน์ นิ่มเชื้อ)

.....กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สิรีรัตน์ จารุจินดา)

.....กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ดร. นราพร รังสิมันตกุล)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

พิชญาภา นิรมล : การผลิตและการใช้มัลติเอนไซม์เพื่อกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยสับปะรด (Production and Application of Multi-enzyme for Pineapple Fiber Scouring) อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก: ผศ. ดร. อุษา แสงวัฒนาโรจน์, อ.ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม: ดร. ธิดารัตน์ นิ่มเชื้อ, 106 หน้า.

งานวิจัยนี้แสดงการศึกษาการผลิตมัลติเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเพกติเนส เซลลูเลสและไซแลนเนสจากเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* sp. สำหรับใช้กำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด โดยทดลองหาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อราที่ใช้ผลิตมัลติเอนไซม์ให้มีแอกทิวิตีสูงและวิเคราะห์อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานมัลติเอนไซม์ จากนั้นหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ แล้วศึกษาสมบัติของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกจากทั้งสองกระบวนการเปรียบเทียบกัน จากผลการทดลองพบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีสูงคือ อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบหลักของรำข้าวสาลี เพปโตนและยีสต์สกัด ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (Submerged fermentation, SmF) ที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 7 วัน โดยมัลติเอนไซม์มีภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้งานคือ ที่พีเอช 4 และอุณหภูมิ 50°C สำหรับกระบวนการที่เหมาะสมในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์คือ ใช้มัลติเอนไซม์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 60 นาที และกระบวนการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์คือ ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 60 นาที การทดสอบสมบัติของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกพบว่า เส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ต่างมีสมบัติใกล้เคียงกันกล่าวคือ สิ่งเจือปนบนเส้นด้ายถูกกำจัดออกไปมากพอที่ทำให้เส้นด้ายดูดซึมน้ำได้ทันทีอย่างสม่ำเสมอ และหลังนำเส้นด้ายไปย้อมสีพบว่า เส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกทั้งสองวิธีมีสีเข้มและเฉดสีใกล้เคียงกัน นอกจากนี้พบว่า การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์สามารถลดความเหลืองของเส้นด้ายลง (ขาวมากขึ้น) ได้มากกว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ อีกทั้งเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์จะมีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ แต่มีค่าความเหนียวและการยืดตัวที่จุดขาดสูงกว่าประมาณ 33 และ 18 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

ภาควิชา	วัสดุศาสตร์	ลายมือชื่อนิสิต .....
สาขาวิชา	วิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ	ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก .....
		ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม .....
ปีการศึกษา	2559	

5772077223 : MAJOR APPLIED POLYMER SCIENCE AND TEXTILE TECHNOLOGY
KEYWORDS: ASPERGILLUS SP.; MULTI-ENZYME; PECTINASE; PINEAPPLE YARN SCOURING; XYLANASE

PITCHAYAPA NIRAMON: Production and Application of Multi-enzyme for Pineapple Fiber Scouring. ADVISOR: ASST. PROF. USA SANGWATANAROJ, Ph.D., CO-ADVISOR: THIDARAT NIMCHUA, Ph.D., 106 pp.

This research aimed to produce a multi-enzyme consisting of pectinase, cellulase, and xylanase from *Aspergillus* sp. and to use it for impurity removal from raw pineapple yarn in the process of scouring. In terms of enzyme production, various culture media formulations and culture conditions were investigated. The formulation and condition that could deliver high activities of pectinase and xylanase as well as low activity of cellulase were selected. In addition, optimal pH and temperature for enzyme activity were also identified for further uses in scouring process. Then, a suitable multi-enzyme was used to scour raw pineapple yarn at various enzyme concentrations and scouring times. Raw yarn was also scoured in NaOH solution at various concentrations and times for a comparison. Experimental results from the enzyme production in this research indicated that the appropriate culture medium for *Aspergillus* sp. was composed of wheat brand, peptone, and yeast extract, and the best culture condition was at 30ºC for 7 days in a submerged fermentation. At optimal pH of 4 and temperature of 50ºC for enzyme activity, the produced multi-enzyme showed pectinase activity of 504.18 U/ml, cellulase activity of 182.82 U/ml, and xylanase activity of 281.59 U/ml. Based on the results of enzymatic scouring and chemical scouring of pineapple yarn, it was found that the appropriate enzymatic scouring condition was to scour at pH 4, 50ºC for 60 minutes using 20% (w/v) of crude multi-enzyme, 4 g/l of wetting agent, and a yarn to liquor ratio of 1:50, and the best NaOH scouring condition was at 100ºC for 60 minutes using 0.2% (w/v) of NaOH, 4 g/l of wetting agent, and a yarn to liquor ratio of 1:25. Both processes provided successful scouring outcomes. All scoured yarns showed adequate water absorbency and similar dyeability. However, it was found that enzymatic scoured yarn showed less yellowness and higher tenacity than the NaOH scoured yarn and raw yarn.

Department:	Materials Science	Student's Signature .....
Field of Study:	Applied Polymer Science and Textile Technology	Advisor's Signature .....
		Co-Advisor's Signature .....
Academic Year:	2016	

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี ทั้งนี้ผู้วิจัยได้รับคำแนะนำ รวมถึงแนวทางการแก้ไขปัญหาในการทำงานวิจัย ตลอดจนการเขียนวิทยานิพนธ์ ด้วยความดูแลเอาใจใส่เป็นอย่างดีจากอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อุษา แสงวัฒนาโรจน์ และอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร. ธิดารัตน์ นิ่มเชื้อ ผู้วิจัยจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ผู้วิจัยขอขอบคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.ดวงดาว อาจองค์ ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สิรีรัตน์ จารุจินดา และ ดร.นราพร รังสิมันตกุล ที่สละเวลามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และให้คำแนะนำในการเขียนวิทยานิพนธ์จนสำเร็จสมบูรณ์

ผู้วิจัยขอขอบคุณ นางสาวปวีณา ทองเกร็ด และนางสาวจุฑามาส สุวรรณประทีป ผู้ช่วยนักวิจัยห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเอนไซม์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และเจ้าหน้าที่ในหน่วยงานทุกท่านที่ให้ความรู้ คำแนะนำ และการช่วยเหลือสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ห้างหุ้นส่วนสามัญนิติบุคคลธนไพศาลที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้เครื่องมือและห้องปฏิบัติการของโรงงงาน สำหรับการทำงานวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบคุณ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และบริษัท ไทยนำโชคเท็กซ์ไทล์ จำกัด สำหรับทุนอุดหนุนงานวิจัย ภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท ทั้งนี้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้ สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัยและบริษัท ไทยนำโชคเท็กซ์ไทล์ จำกัด ไม่จำเป็นต้องเห็นด้วยเสมอไป

ผู้วิจัยขอขอบคุณ ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัยและเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือ คำแนะนำ สนับสนุนเครื่องมือ สารเคมีและสถานที่ในการทำงานวิจัย

ผู้วิจัยขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ สำหรับการช่วยเหลือและให้กำลังใจในการทำงานวิจัย

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่ให้การสนันสนุน เป็นกำลังใจและแรงผลักดันให้งานวิจัยนี้สำเร็จไปด้วยดี

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ฏ
สารบัญรูปภาพ ..... ฑ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1
1.2 วัตถุประสงค์ 2
1.3 ขอบเขตของการวิจัย 3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ 3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 4
2.1 เส้นใยสับปะรด (Pineapple fiber) 4
2.1.1 ความเป็นมาของเส้นใยสับปะรด 4
2.1.2 การสกัดแยกเส้นใยสับปะรด 4
2.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยสับปะรด 5
2.1.4 สมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงกลของเส้นใยสับปะรด 9
2.2 เอนไซม์ (Enzyme) 10
2.2.1 นิยาม 10
2.2.2 แหล่งผลิตเอนไซม์ 10
2.2.3 กลุ่มและลักษณะการทำงานของเอนไซม์ 10
2.2.4 กลไกการทำงานของเอนไซม์ 11

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

หน้า

2.2.5 ทฤษฎีความจำเพาะของเอนไซม์ 11
2.2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ 12
2.2.7 การวัดความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ 15
2.3 กระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก (scouring) บนเส้นใยธรรมชาติ 16
2.3.1 วิธีการกำจัดสิ่งสกปรก 16
2.3.2 ประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรก 17
2.4 เอนไซม์ที่สามารถใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยธรรมชาติจากพืช 18
2.4.1 เพกติเนส (Pectinase) 18
2.4.2 เซลลูเลส (Cellulases) 19
2.4.3 ไซแลนเนส (Xylanase) 20
2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 21
บทที่ 3 การทดลอง 24
3.1 วัสดุและสารเคมี 24
3.1.1 เส้นด้าย 24
3.1.2 เอนไซม์ 24
3.1.3 สารเคมี 24
3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ 26
3.3 วิธีการทดลอง 26
3.3.1 การศึกษาภาวะการเลี้ยงเชื้อและสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์ 26
3.3.1.1 การเพาะกล้าเชื้อ 26
3.3.1.2 การผลิตเอนไซม์ 27
3.3.1.3 การสกัดเอนไซม์ 29

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

3.3.1.4 การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ด้วยวิธีการกรองแบบไหลขวาง (Cross Flow Filtration).....30
3.3.2 การวัดวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์และการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์.....30
3.3.2.1 การวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์.....30
3.3.2.2 การศึกษาลักษณะสมบัติของมัลติเอนไซม์.....32
3.3.3 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด.....33
3.3.3.1 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยสารเคมี.....33
3.3.3.2 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์.....34
3.3.3.3 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วย Blank Treatment.....34
3.3.4 การวิเคราะห์สมบัติของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรก.....35
3.3.4.1 การทดสอบหาน้ำหนักของเส้นด้ายที่หายไป.....35
3.3.4.2 การทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำของเส้นด้าย.....35
3.3.4.3 การวัดค่าดัชนีความเหลือง (yellowness index) ของเส้นด้าย.....35
3.3.4.4 การทดสอบความสามารถในการย้อมติดสี.....35
3.3.4.5 ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนของเส้นด้าย.....36
3.3.4.6 ความต้านทานแรงดึงขาดและระยะยืดตัวก่อนจุดขาด.....36
3.3.4.7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใย.....37
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....38
4.1 ผลการศึกษาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตมัลติเอนไซม์.....38
4.1.1 ผลการเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp. ในภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation, SSF) และการหมักแบบอาหารเหลว (submerged fermentation, SmF).....38

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

หน้า

4.1.2 ผลของชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (SmF).....40

4.1.3 ผลของการใช้ธาตุอาหารต่างๆ และสารลดแรงตึงผิวสำหรับการเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตมัลติเอนไซม์.....42

4.1.3.1 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดกลูโคส.....42

4.1.3.2 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดแอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย.....43

4.1.3.3 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดเพปโตนและยีสต์สกัด.....44

4.1.3.4 ผลของการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิด Tween 80.....46

4.1.3.5 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตและโพแทสเซียมคลอไรด์.....48

4.1.4 ผลของภาวะของการเพาะเลี้ยงเชื้อราประกอบด้วยอุณหภูมิ พีเอช และความเร็วรอบของเครื่องเขย่าต่อการผลิตมัลติเอนไซม์.....50

4.1.5 ผลของอัตราส่วนระหว่างอาหารแข็งและน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตมัลติเอนไซม์.....53

4.2 ผลการศึกษาลักษณะสมบัติของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้.....54

4.2.1 ผลของอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส.....54

4.2.2 ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส.....57

4.2.3 ผลของการเติม Tween 80 ต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส.....60

4.3 ผลการศึกษาภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด.....61

4.3.1 ผลการศึกษาภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยสารเคมี.....61

4.3.2 ผลการศึกษาภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์ 62

4.4 ผลการศึกษาสมบัติของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยภาวะและวิธีที่เหมาะสม 64

4.4.1 ความสามารถในการดูดซึมน้ำ น้ำหนักของเส้นด้ายที่หายไป และค่าดัชนีความเหลืองของเส้นด้าย 64

4.4.2 ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนของเส้นด้าย 66

4.4.3 ความสามารถในการย้อมติดสีของเส้นด้าย 66

4.4.4 ความสามารถในการทนแรงดึงของเส้นด้าย 67

4.4.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใย 68

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 69

5.1 สรุปผลการทดลอง 69

5.2 ข้อเสนอแนะ 71

รายการอ้างอิง 72

ภาคผนวก ก 78

ภาคผนวก ข 80

ภาคผนวก ค 86

ภาคผนวก ง 88

ภาคผนวก จ 89

ภาคผนวก ฉ 90

ภาคผนวก ช 104

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 106

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

สารบัญตาราง

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยธรรมชาติชนิดต่างๆ จากพืช.....6

ตารางที่ 3.1 แอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัย 24

ตารางที่ 3.2 สูตรอาหารการหมักแบบอาหารแข็งและการหมักแบบอาหารเหลว 27

ตารางที่ 3.3 สูตรอาหารแข็งจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ใช้ผลิตเอนไซม์ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (SmF).....28

ตารางที่ 3.4 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้น 0.05-0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10-60 นาที 33

ตารางที่ 3.5 การกำจัดสิ่งสกปรกเส้นด้ายสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 10-100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30-120 นาที.....34

ตารางที่ 4.1 แอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ในภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation, SSF) และการหมักแบบอาหารเหลว (submerged fermentation, SmF)....38

ตารางที่ 4.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนสในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (submerged fermentation, SmF).....40

ตารางที่ 4.3 ผลของน้ำตาลกลูโคสต่อการผลิตมัลติเอนไซม์.....42

ตารางที่ 4.4 ผลของการเติมอาหารที่ให้ธาตุอาหารไนโตรเจนต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ 43

ตารางที่ 4.5 ผลของการเติมเพปโตนและยีสต์สกัดต่อการผลิตมัลติเอนไซม์.....44

ตารางที่ 4.6 ผลของ Tween 80 ต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ 46

ตารางที่ 4.7 ผลของธาตุอาหารจำพวกเกลือโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ต่อการผลิตเอนไซม์เพกติเนส 48

ตารางที่ 4.8 ผลของธาตุอาหารจำพวกเกลือโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส.....49

ตารางที่ 4.9 ผลของธาตุอาหารจำพวกเกลือโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ต่อการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส 49

ตารางที่ 4.10 ผลของอุณหภูมิ พีเอช และความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เพกติเนส 50

ตารางที่ 4.11 ผลของอุณหภูมิ พีเอชและความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส.....51

ตารางที่ 4.12 ผลของอุณหภูมิ พีเอชและความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่มีต่อการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส.....52

ตารางที่ 4.13 ผลของอัตราส่วนระหว่างอาหารแข็ง (substrate) กับน้ำในการเพาะเลี้ยงเชื้อราต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ 53

ตารางที่ 4.14 ผลของอุณหภูมิและพีเอชต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส ..59

ตารางที่ 4.15 ผลของ Tween 80 ต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50^{o}C 60

ตารางที่ 4.16 ผลของ Tween 80 ต่อความเสถียรของเอนไซม์ไซแลนเนสที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50 ^{o}C.....60

ตารางที่ 4.17 เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายใยสับปะรดหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ 62

ตารางที่ 4.18 เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายใยสับปะรดหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ 63

ตารางที่ 4.19 เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำ ร้อยละของน้ำหนักเส้นด้ายที่หายไป และค่าดัชนีความเหลืองของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์.....65

ตารางที่ 4.20 ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนบนเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์ 66

ตารางที่ 4.21 ความเข้มสีและเฉดสีของเส้นด้ายใยสับปะรดที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์หลังการย้อมสี.....67

ตารางที่ 4.22 ความเหนียว (tenacity) และการยืดตัว ณ จุดขาดของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์.....68

สารบัญรูปภาพ

รูปที่ 2.1 การขูดแยกเส้นใยสับปะรดด้วยมือ 4
รูปที่ 2.2 การแยกเส้นใยสับปะรดด้วยเครื่องจักรกล 5
รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส.....6
รูปที่ 2.4 โครงสร้างของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในเฮมิเซลลูโลส 7
รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส 7
รูปที่ 2.6 โมโนลิกนอลที่สำคัญในโครงสร้างของลิกนินที่พบในธรรมชาติ 8
รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของลิกนิน 8
รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของเพกติน 9
รูปที่ 2.9 กลไกการเร่งปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ 11
รูปที่ 2.10 กลไกการทำงานของเอนไซม์ตามทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ 12
รูปที่ 2.11 กลไกการทำงานของเอนไซม์ตามทฤษฎีการเหนี่ยวนำรูปร่าง.....12
รูปที่ 2.12 ผลของอุณหภูมิต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์.....13
รูปที่ 2.13 ผลของการเพิ่มความเข้มข้นของซับสเตรทต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา 13
รูปที่ 2.14 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน (competitive inhibition) และ
การยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (non-competitive inhibition).....14
รูปที่ 2.15 กลไกการเร่งปฏิกิริยาการสลายเพกตินด้วยเอนไซม์เพกติเนส.....18
รูปที่ 2.16 กลไกการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส.....19
รูปที่ 2.17 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเฮมิเซลลูโลสที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก 20
รูปที่ 4.1 ลักษณะการเติบโตของเชื้อราในวันที่ 5.....47
รูปที่ 4.2 ลักษณะการเติบโตของเชื้อราในวันที่ 7.....47
รูปที่ 4.3 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสที่ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C
พีเอช 5.5 54

รูปที่ 4.4 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสที่ช่วงพีเอช 3–9 ในสารละลายบัพเฟอร์ 3 ชนิด คือ โซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์ (พีเอช 3-6) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 6-8) และทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (พีเอช 8-9) ที่อุณหภูมิ 50°C 55

รูปที่ 4.5 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ไซแลนเนสที่ช่วงพีเอช 3–9 ในสารละลายบัพเฟอร์ 3 ชนิด คือ โซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์ (พีเอช 3-6) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 6-8) และทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (พีเอช 8-9) ที่อุณหภูมิ 60°C 55

รูปที่ 4.6 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสที่พีเอช 4 ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C.....56

รูปที่ 4.7 ความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส ที่อุณหภูมิ 60°C และพีเอช 4.....57

รูปที่ 4.8 ความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์ไซแลนเนสที่พีเอช 4 และพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 50°C 58

รูปที่ 4.9 ความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์เพกติเนสที่พีเอช 4 และพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 50°C 58

รูปที่ 4.10 ลักษณะเส้นด้ายใยสับปะรด 65

รูปที่ 4.11 ลักษณะเส้นด้ายหลังการย้อมสี 67

รูปที่ 4.12 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยที่กำลังขยาย 500 เท่า.....68

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

สับปะรดถือว่าเป็นพืชเศรษฐกิจของประเทศไทยที่มีความสำคัญ โดยที่ไทยเป็นผู้ส่งออกสับปะรดกระป๋องมากเป็นอันดับ 1 ของโลก มีพื้นที่ปลูกสับปะรดเกือบ 600,000 ไร่ และมีใบสับปะรดสดถูกทิ้งรวมมากกว่า 4,000 กิโลกรัมต่อไร่ พบว่าในใบสับปะรดสดมีปริมาณเส้นใยโดยเฉลี่ยราว 2.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก การแยกเส้นใยสับปะรดออกจากใบจะได้เส้นใยอย่างน้อยประมาณ 100 กิโลกรัมต่อไร่ และในบางพื้นที่สามารถแยกเส้นใยได้ถึง 270 กิโลกรัมต่อไร่ [1] เมื่อปลายปี 2557 สำนักงานพัฒนาเศรษฐกิจจากฐานชีวภาพ ได้รายงานผลการประเมินความก้าวหน้าการจับคู่ธุรกิจการแปรรูปใบสับปะรดเพื่ออุตสาหกรรมสิ่งทอของเกษตรกรบ้านโป่งกระทิง จังหวัดราชบุรี ว่า จากโครงการนี้ในเบื้องต้น ได้เกิดเงินหมุนเวียนการซื้อขายใบสับปะรดโดยเฉลี่ยวันละ 2,000 บาทหรือราว 60,000 บาทต่อเดือน [2] ดังนั้นจะเห็นได้ว่า หากสามารถนำของเหลือทิ้งทางการเกษตรอย่างใบสับปะรดมาแยกเส้นใยออกและนำเส้นใยไปใช้ผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ เพื่อจำหน่ายทั้งในและต่างประเทศ เช่น เสื้อผ้าเครื่องนุ่งห่ม เคหะสิ่งทอและสิ่งทอเทคนิคเป็นต้น จะสามารถช่วยกำจัดของเหลือทิ้งทางการเกษตร ช่วยพัฒนาผลิตภัณฑ์จากเส้นใยสับปะรดและช่วยเพิ่มรายได้ให้แก่เกษตรกรผู้ปลูกสับปะรดอีกด้วย

ในการผลิตผลิตภัณฑ์ใยสับปะรดเริ่มจากการนำใบสับปะรดมาแยกเส้นใยสดออก ซึ่งอาจแยกโดยการใช้อุปกรณ์แข็งๆ ขูดเส้นใยออกจากใบด้วยแรงคน อาจแช่ใบในน้ำจนเปื่อยแล้วค่อยแยกเส้นใยออกด้วยมือ หรืออาจแยกเส้นใยด้วยเครื่องจักรกล โดยเส้นใยที่ได้จะมีความละเอียดแตกต่างกันสำหรับผลิตผลิตภัณฑ์ต่างกัน คือ เส้นใยหยาบ (coarse fiber หรือ Bastos) เส้นใยละเอียด (fine fiber หรือ Pinarupok) และเส้นใยละเอียดมาก (finest fiber หรือ Liniuan) [2] เมื่อได้เส้นใยสดแล้ว จะล้างด้วยน้ำหรือน้ำผสมสารซักฟอก ตากแห้ง แล้วจึงนำเส้นใยไปปั่นด้ายและทอเป็นผ้าลอกแป้ง กำจัดสิ่งสกปรกและฟอกผ้าก่อนนำผ้าไปย้อมพิมพ์หรือตกแต่งสำเร็จ อย่างไรก็ตาม สามารถนำเส้นด้ายมากำจัดสิ่งสกปรก ฟอก และย้อมก่อนนำไปทอเป็นผ้าผืนได้ด้วยเช่นกัน การกำจัดสิ่งสกปรกออกจากเส้นใยสับปะรดจะเป็นการกำจัดสิ่งเจือปนที่มากับเส้นใยเช่น เพกตินประมาณ 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ไขมันและขี้ผึ้ง 2-3 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ลิกนิน 4-6 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และอื่นๆ เพื่อทำให้เส้นใยสามารถดูดซึมน้ำ สารเคมีและสีย้อมได้อย่างดีและสม่ำเสมอในกระบวนการย้อมขั้นต่อไป หากขั้นตอนการกำจัดสิ่งสกปรกทำได้ไม่ดีหรือไม่สมบูรณ์แบบ จะทำให้เกิดปัญหาในการย้อมสีเส้นใย สารเคมีที่นิยมใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกประกอบด้วยโซดาไฟและสารช่วยเปียก

(wetting agent) และต้องต้มเดือดเส้นใยในสารเหล่านี้ซึ่งจะสามารถกำจัดสิ่งสกปรกออกจากเส้นใยได้มาก (ผ่านปฏิกิริยา saponification) แต่บ่อยครั้งพบว่าเกิดการทำลายเส้นใยด้วยเช่นกัน และหากมีโซดาไฟตกค้างในเส้นใยจะทำให้เกิดปัญหากับกระบวนการย้อมอีกด้วย นอกจากนี้การใช้โซดาไฟในการกำจัดสิ่งสกปรกยังจะให้น้ำเสียชนิดด่างที่ร้อนมากและต้องนำไปบำบัด [3] ดังนั้นหากสามารถนำสารอื่นที่ใช้กำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยสับปะรดได้และปลอดภัยกว่าโซดาไฟมาใช้แทน เช่น เอนไซม์หรือมัลติเอนไซม์ (ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสและใช้อุณหภูมิราว 40-60°C) ก็จะทำให้ได้กระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและประหยัดพลังงาน และได้เส้นใยสับปะรดที่ปลอดภัยและพร้อมสำหรับกระบวนการย้อมต่อไป

ประเทศไทยได้นำเอนไซม์มาใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอมาเป็นเวลาช้านานแล้วและมีการใช้มากขึ้นในปัจจุบัน โดยเริ่มจากการใช้อะไมเลสในกระบวนการลอกแป้งออกจากผ้าทอ การใช้เซลลูเลสสำหรับการกำจัดขนบนผ้าใยเซลลูโลสและสำหรับการฟอกสีผ้าเดนิม การใช้คาทาเลสสำหรับการกำจัดไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ออกจากผ้าหลังการฟอก การใช้เพกติเนสในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกออกจากผ้าใยเซลลูโลส ซึ่งให้ประสิทธิภาพในการทำงานเทียบเคียงกับการใช้สารเคมี [4, 5] แต่เอนไซม์เหล่านี้จำเป็นต้องนำเข้าจากต่างประเทศเนื่องจากไม่มีผู้ผลิตเอนไซม์ในประเทศที่สามารถผลิตเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพและมีปริมาณการผลิตที่เพียงพอต่อการใช้งานในระดับอุตสาหกรรม มีรายงานระบุว่าเชื้อรากลุ่มแอสเปอร์จิลลัส (*Aspergillus* sp.) สามารถผลิตมัลติเอนไซม์ที่ประกอบด้วยอะไมเลส เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนส เป็นต้น [6, 7] ซึ่งสามารถผลิตมัลติ-เอนไซม์เพื่อใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกออกจากเส้นใยสับปะรดได้ โดยในปัจจุบันศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติให้การสนับสนุนในการขยายปริมาณการผลิตเอนไซม์หรือมัลติเอนไซม์ที่มีแนวโน้มใช้ได้ในอุตสาหกรรมต่างๆ ในประเทศ คณะผู้วิจัยจึงมีความสนใจที่จะผลิตมัลติเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลสและไซแลนเนสจากเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* sp. เพื่อใช้กำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดดิบเปรียบเทียบกับการกำจัดสิ่งสกปรกโดยใช้โซดาไฟและศึกษาหาภาวะและสูตรที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์

1.2 วัตถุประสงค์

1) ผลิตมัลติเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนส จากเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* sp.
2) ศึกษาภาวะและสูตรสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์ที่ผลิตขึ้น

1.3 ขอบเขตของการวิจัย

1) ศึกษาภาวะและสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตมัลติเอนไซม์จากเชื้อรา *Aspergillus* sp.
2) ศึกษาลักษณะสมบัติของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้
3) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการใช้งานมัลติเอนไซม์ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด
4) ศึกษาสมบัติของเส้นด้ายใยสับปะรดที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้มัลติเอนไซม์และกระบวนการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เส้นใยสับปะรด (Pineapple fiber)

2.1.1 ความเป็นมาของเส้นใยสับปะรด

ใบสับปะรดเป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีปริมาณสูง ซึ่งการเพาะปลูกสับปะรด 1 ไร่ จะมีปริมาณใบสับปะรดเหลือทิ้งประมาณ 4,000 กิโลกรัมต่อไร่ โดยในใบสับปะรดสดจะมีปริมาณเส้นใยประมาณ 2.7 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก และสามารถแยกเส้นใยออกมาได้อย่างน้อยประมาณ 100 กิโลกรัมต่อไร่ เส้นใยสับปะรดมีองค์ประกอบของเซลลูโลสสูง มีความนุ่ม ความแข็งแรงและความขาวมากกว่าเส้นใยจากพืชชนิดอื่นๆ เช่น ใยกล้วย ใยบัว ปอกระเจาและเส้นใยอื่นๆ เป็นต้น เส้นใยสับปะรดจึงเหมาะสำหรับผลิตเป็นเส้นใยสิ่งทอโดยการนำใบสับปะรดมาแปรรูปเป็นเส้นใยและผลิตเป็นผลิตภัณฑ์สิ่งทอ ในการนำเส้นใยสับปะรดมาทำผลิตภัณฑ์สิ่งทอเริ่มต้นมาจากภูมิปัญญาชาวบ้านของประเทศสาธารณรัฐฟิลิปปินส์ที่นำเอาเส้นใยสับปะรดมาทอเป็นผ้าบารอง (Balong หรือ Pina) ซึ่งเป็นเสื้อผ้าประจำชาติ ต่อมาในปัจจุบันผลิตภัณฑ์สิ่งทอจากเส้นใยสับปะรดเริ่มแพร่หลายไปยังหลายประเทศมากขึ้น [1, 8]

2.1.2 การสกัดแยกเส้นใยสับปะรด

กระบวนการแยกเส้นใยจากใบสับปะรดมี 3 ขั้นตอนหลัก ดังนี้ [9-13]

1) การแยกเส้นใย ขั้นตอนนี้จะเป็นการทำให้เส้นใยสับปะรดแตกออกจากกันแล้วแยกเส้นใยออกมา ซึ่งสามารถทำได้ 2 วิธีคือ

1.1) การขูดแยกเส้นใยด้วยมือ (scraping) เริ่มจากการนำใบสับปะรดไปแช่น้ำประมาณ 18 วัน จนกระทั่งใบสับปะรดอิ่มน้ำและเปื่อยนิ่ม ก่อนนำมาขูดด้วยมีดเล็กๆ เพื่อลอกผิวที่ใบและเป็นการกำจัดไขมันและขี้ผึ้งที่ผิวใบออก แล้วล้างทำความสะอาดและตากให้แห้ง ต่อมาจึงแยกเส้นใยให้แตกออกจากกันโดยการตี ขูด และฉีกเส้นใยออก ดังแสดงในรูปที่ 2.1 ซึ่งวิธีนี้จะทำให้ได้เส้นใยที่มีคุณภาพและปริมาณผลผลิตสูงแต่ใช้เวลานาน

รูปที่ 2.1 การขูดแยกเส้นใยสับปะรดด้วยมือ [12]

1.2) การแยกด้วยเครื่องจักรกล (decorticating machine) โดยนำใบสับปะรดเข้าเครื่องรีดเพื่อให้ใบแตกออกจากกัน ใบสับปะรดจะผ่านการรีดด้วยลูกกลิ้ง 3 ส่วนประกอบด้วย ส่วนแรกคือ ลูกกลิ้งป้อน (feed roller) ทำหน้าที่ป้อนใบสับปะรดจากเครื่องไปยังลูกกลิ้ง ส่วนที่สองคือ ลูกกลิ้งขูด (scratching roller) ทำหน้าที่ขูดผิวที่ใบเพื่อกำจัดขี้ผึ้งและไขมันที่ผิวใบออก และส่วนสุดท้ายคือ ลูกกลิ้งฟันปลา (serrated roller) ทำหน้าที่ฉีกแยกใบสับปะรดให้แตกออกจากกันและแยกเส้นใยออกมา การแยกเส้นใยด้วยเครื่องจักรกลแสดงดังรูปที่ 2.2

รูปที่ 2.2 การแยกเส้นใยสับปะรดด้วยเครื่องจักรกล [13]

2) การแช่หมัก (water retting) กระบวนการนี้จะนำใบสับปะรดที่ผ่านการขูดแยกเส้นใยแล้วไปแช่ในน้ำที่อัตราส่วนน้ำหนักเส้นใยต่อปริมาตรน้ำประมาณ 1 ต่อ 20 เป็นเวลา 5-7 วัน ซึ่งแบคทีเรียในน้ำจะช่วยย่อยและกำจัดสิ่งเจือปนต่างๆที่มากับเส้นใย เช่น ลิกนิน เพกติน เฮมิเซลลูโลส ไขมันและเถ้า เป็นต้น เพื่อให้เส้นใยสะอาดขึ้น เปื่อยและแยกออกจากกันมากขึ้น นอกจากนี้กระบวนการนี้อาจมีการเติมสารเคมีอื่นๆ ลงไปด้วยเช่น ยูเรียหรือไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเพื่อช่วยให้กระบวนการแช่หมักเร็วขึ้น ซึ่งสามารถช่วยลดเวลาในการแช่หมักเหลือประมาณ 48 ชั่วโมง

3) การล้างและทำความสะอาดเส้นใย หลังการแช่หมักจะนำเส้นใยมาล้างทำความสะอาดในน้ำสะอาดหรือน้ำสบู่ แล้วนำไปตากให้แห้งก่อนจะนำเส้นใยไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ

2.1.3 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยสับปะรด

เส้นใยจากใบสับปะรดจะมีองค์ประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน ซึ่งมีปัจจัยมาจากสายพันธุ์ของสับปะรด แหล่งที่มาและวิธีการเพาะปลูก อายุของใบสับปะรด รวมถึงวิธีการแยกเส้นใย โดยทั่วไปแล้วเส้นใยสับปะรดจะประกอบด้วยเซลลูโลส 69.5-71.5 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 17.0-17.8 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน 4.4-4.7 เปอร์เซ็นต์ เพกติน 1.0-1.2 เปอร์เซ็นต์ ไขมันและขี้ผึ้ง 3.0-3.3 เปอร์เซ็นต์ และเถ้า 0.71-0.82 เปอร์เซ็นต์ โดยองค์ประกอบทางเคมีที่ไม่ใช่เซลลูโลสจะมีสมบัติที่ไม่ชอบน้ำและทำให้เส้นใยแข็งกระด้าง ซึ่งจำเป็นต้องกำจัดสารเหล่านี้ออกผ่านกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก (scouring)

เพื่อให้เส้นใยมีสมบัติที่ดีขึ้น อย่างไรก็ตาม เส้นใยสับปะรดถือว่ามีองค์ประกอบของเซลลูโลสปริมาณสูงกว่าเส้นใยธรรมชาติอื่นๆ ดังแสดงในตารางที่ 2.1 เส้นใยสับปะรดจึงเป็นเส้นใยธรรมชาติที่น่าสนใจสำหรับนำไปผลิตเป็นเส้นด้ายและแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์สิ่งทอ [14]

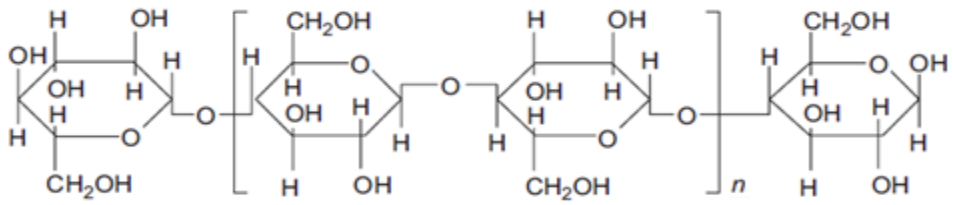
ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของเส้นใยธรรมชาติชนิดต่างๆ จากพืช [9, 10]

	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)			
ชนิดของเส้นใย	**เซลลูโลส**	**เฮมิเซลลูโลส**	**ลิกนิน**	**เถ้า**
ใบสับปะรด	69.5-71.5	17.0-17.8	4.4-4.7	0.71-0.82
ฟางข้าวโพด	38-40	28	7-21	3.6-7.0
มะพร้าว	36-43	0.15-0.25	41-45	2.7-10.2
ชานอ้อย	32-48	19-24	23-32	1.5-5
กล้วย	60-65	6-8	5-10	4.7
ฟางข้าวสาลี	33-38	26-32	17-19	6-8
ฟางข้าว	28-36	23-28	12-14	14-20
ปอกระเจา	45-71.5	13.6-21	12-26	0.5-2
ป่านศรนารายณ์	47-78	10-24	7-11	0.6-1

1) เซลลูโลส [15, 16]

เซลลูโลสเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทโฮโมพอลิเมอร์ ที่ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส 600-1,000 โมเลกุลมาเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ที่ตำแหน่ง β-1,4 ซึ่งกลูโคสแต่ละโมเลกุลจะหมุนทำมุมกับโมเลกุลของกลูโคสข้างเคียง 180 องศา ทำให้เซลลูโลสมีโครงสร้างยืดตัวเป็นเส้นตรง โดยหน่วยซ้ำ (repeating unit) ของเซลลูโลสจะเรียกว่า เซลโลไบโอส (cellobiose)

เซลลูโลสแต่ละโมเลกุลจะเกิดอันตรกิริยาระหว่างกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและจัดเรียงตัวอย่างระเบียบ ทำให้เซลลูโลสมีความเป็นผลึกสูง ประมาณ 60-80 เปอร์เซ็นต์ ดั้งนั้นเซลลูโลสจึงมีความแข็งแรงสูง มีสมบัติชอบน้ำแต่ไม่ละลายน้ำและตัวละลายอินทรีย์ โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสแสดงดังรูปที่ 2.3

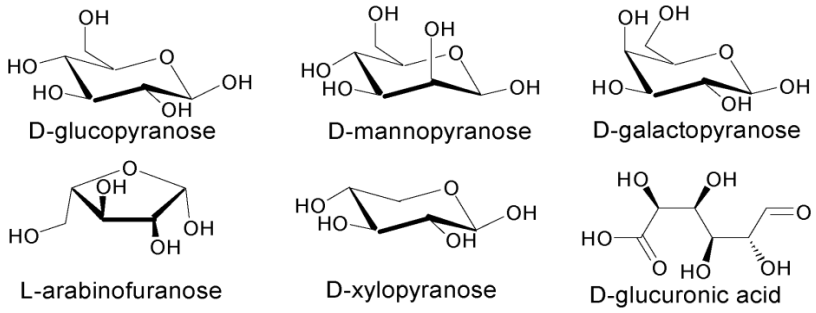


รูปที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

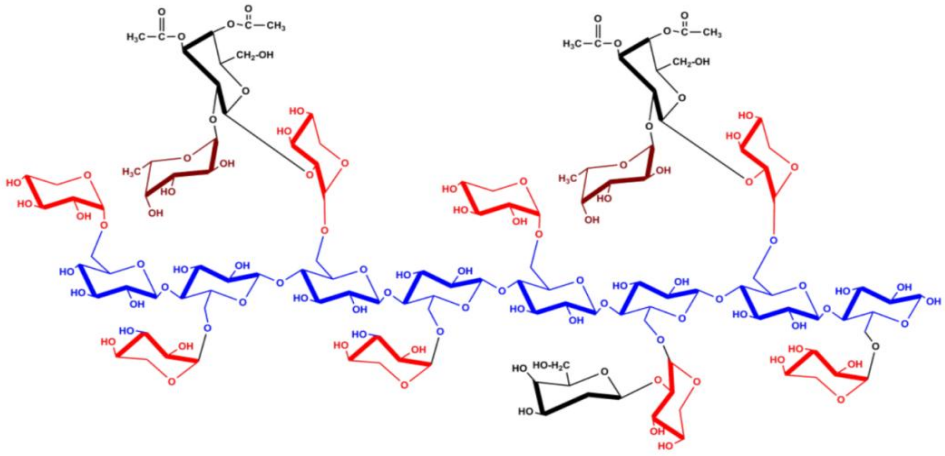
2) เฮมิเซลลูโลส [17-19]

เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ประเภทเฮเทอโรพอลิเมอร์ (heteropolymer) เนื่องจากเป็นพอลิเมอร์ที่มาจากมอนอแซ็กคาไรด์หลายชนิดประกอบกัน สายโซ่หลักของเฮมิเซลลูโลสมาจากการเชื่อมต่อกันของน้ำตาลไซโลส (xylose) ด้วยพันธะไกลโคซิดิกที่ตำแหน่ง β-1,4 และอาจมีน้ำตาลชนิดอื่นๆ มาร่วมต่อในสายโซ่หลักด้วย เช่น น้ำตาลแมนโนส (mannose) กาแล็กโทส (galactose) หรือกลูโคส (glucose) อีกทั้งมีน้ำตาลชนิดอื่นมาต่อกันเป็นสายโซ่กิ่ง ได้แก่ น้ำตาลอะราบิโนส (arabinose) กรดกลูคูโรนิก (glucuronic acid) โครงสร้างของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่กล่าวมาข้างต้น แสดงดังรูปที่ 2.4 และมีโครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลสดังรูปที่ 2.5

เฮมิเซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์อสัณฐานที่มีระดับการเกิดพอลิเมอร์ไม่เกิน 200 และมีโครงสร้างแบบโซ่กิ่งประกอบด้วยโครงสร้างปฐมภูมิ (primary structure) 4 กลุ่มคือ ไซแลน (xylans) แมนแนน (mannans) บีต้ากลูเคน (β-glucans) และไซโลกลูเคน (xyloglucans) โดยทั่วไปเฮมิเซลลูโลสในธรรมชาติที่พบในไม้เนื้อแข็งมีองค์ประกอบของไซแลนมากที่สุด ขณะที่ไม้เนื้ออ่อนจะพบองค์ประกอบของแมนแนนมากที่สุด สมบัติโดยทั่วไปของเฮมิเซลลูโลสจะไม่ชอบน้ำและละลายได้ง่ายในสารละลายด่าง



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวในเฮมิเซลลูโลส [17]

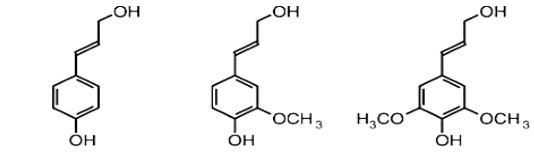


รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของเฮมิเซลลูโลส [18]

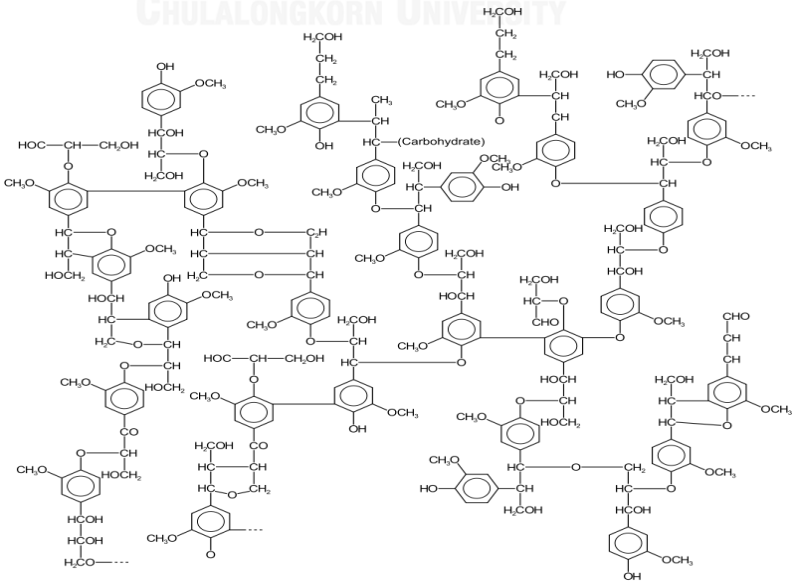
3) ลิกนิน [20, 21]

ลิกนินเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบในเซลล์ผนังพืช 20-30 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนัก ขึ้นอยู่กับแหล่งกำเนิดของลิกนิน ซึ่งในไม้เนื้ออ่อนประกอบด้วยลิกนินประมาณ 25-35 เปอร์เซ็นต์ และไม้เนื้อแข็งประกอบด้วยลิกนิน 20-25 เปอร์เซ็นต์ ลิกนินพบมากในบริเวณลาเมลลาชั้นกลาง (middle lamella) และผนังเซลล์ชั้นปฐมภูมิ (primary cell wall) ของพืช มีโครงสร้างเป็นร่างแหที่เชื่อมขวางกันล้อมรอบเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส ทำหน้าที่ให้ความแข็งแรงแก่ผนังพืชและป้องกันการสลายตัวของพอลิแซ็กคาไรด์เนื่องจากแมลงและเชื้อจุลินทรีย์

ลิกนินประกอบด้วยหน่วยย่อยของฟีนิลโพรพานอยด์ (phenylpropanoid) ซึ่งรู้จักในชื่อมอนอลิกนอล (monolignols) หรือ สารตั้งต้นลิกนิน (lignin precursors) ที่ถูกเชื่อมติดกันโดยพันธะระหว่างคาร์บอนและคาร์บอนและพันธะระหว่างคาร์บอนและออกซิเจน โดยมีระดับของเมทอก-ซิเลชัน (methoxylation) ที่หลากหลาย สำหรับมอนอลิกนอลจะถูกจัดอยู่ในกลุ่มสารต่างๆ ได้แก่ p-coumaryl, coniferyl, และ sinapyl alcohols ซึ่งกลุ่มสารทั้ง 3 ชนิดนี้จะเป็นสารตั้งต้น (precursors) ของหน่วยย่อยต่างๆที่พบในโครงสร้างของลิกนินได้แก่ *p*-hydrophenyl (H), guaiacyl (G), และ syringyl (S) ตามลำดับ



รูปที่ 2.6 โมโนลิกนอลที่สำคัญในโครงสร้างของลิกนินที่พบในธรรมชาติ [20]

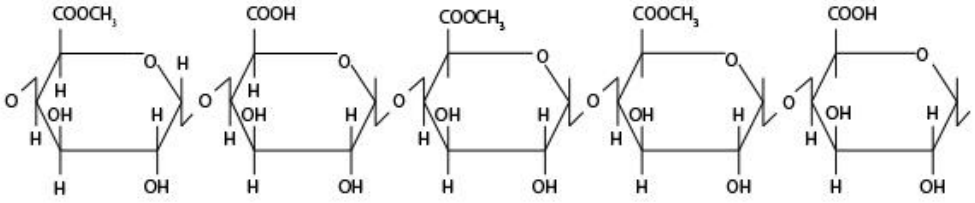


รูปที่ 2.7 โครงสร้างทางเคมีของลิกนิน [21]

4) เพกติน [22-24]

เพกตินเป็นเฮทเทอโรพอลิแซ็กคาไรด์ที่ประกอบด้วยหน่วยของกรดกาแล็กทูโรนิก (D-galacturonic acid) ที่เชื่อมต่อด้วยพันธะแอลฟา 1-4 ไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ประมาณ 100-1,000 หน่วย เป็นโครงสร้างหลักประมาณ 65 เปอร์เซ็นต์ และประกอบด้วยเมทิลกาแล็กทูโรเนต และน้ำตาลอื่นๆ เป็นโครงสร้างรอง ซึ่งน้ำตาลที่อาจพบในสายโซ่ของเพกตินได้แก่ กาแล็กโตส อะราบิโนส และแรมโนส เป็นต้น โครงสร้างทางเคมีของเพกตินแสดงดังรูปที่ 2.8

เพกตินเป็นสารโมเลกุลใหญ่ที่มีโครงสร้างแบบกิ่ง มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000-150,000 ดาลตัน พบในผนังเซลล์พืชลาเมลาชั้นกลาง (middle lamella) ทำหน้าที่ยึดเหนี่ยวเซลล์พืชให้เชื่อมติดกัน



รูปที่ 2.8 โครงสร้างทางเคมีของเพกติน [23]

2.1.4 สมบัติทางกายภาพและสมบัติเชิงกลของเส้นใยสับปะรด

เส้นใยสับปะรดมีความยาว 3-9 มิลลิเมตร กว้าง 20-80 ไมโครเมตร ความหนาแน่นประมาณ 1.44 กรัม/ลูกบาศก์เซนติเมตร มีลักษณะเป็นสีขาวครีม พื้นผิวเรียบและมันวาว ไม่ทนกรด ปริมาณความชื้นในเส้นใย 10-13 เปอร์เซ็นต์ เนื่องจากเส้นใยสับปะรดมีองค์ประกอบของเซลลูโลสปริมาณมากและมีระดับความเป็นผลึก (crystallinity) สูงถึง 44-60 เปอร์เซ็นต์ จึงทำให้เส้นใยสับปะรดมีความแข็งแรงสูง โดยมีค่าความทนแรงดึง 413×10^{6}-1627×10^{6} นิวตันต่อตารางเมตร (N/m^2) ค่ามอดุลัส 34.5-82.52 จิกะนิวตันต่อตารางเมตร (GN/m^2) ค่าความเหนียว 0.7-3.8 กรัม/ดีเนียร์ (g/d) และระยะยืด ณ จุดขาด 0.8-1.6 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ยังพบว่าเส้นใยสับปะรดขณะเปียกส่งผลให้ความแข็งแรงลดลง 50 เปอร์เซ็นต์ แต่หากนำเส้นใยสับปะรดมาปั่นเป็นด้ายจะทำให้มีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น 13 เปอร์เซ็นต์ [9, 10]

2.2 เอนไซม์ (Enzyme)

2.2.1 นิยาม

เอนไซม์คือ สารชีวโมเลกุลซึ่งส่วนใหญ่เป็นโปรตีนที่ประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกรดแอมิโนเรียงต่อกันด้วยพันธะเพปไทด์ มีน้ำหนักโมเลกุล 12,000-1,000,000 ดาลตัน ผลิตได้จากสิ่งมีชีวิต โดยเอนไซม์จะทำหน้าที่เร่งหรือกระตุ้นปฏิกิริยาทางชีวเคมี เอนไซม์จะเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลเริ่มต้นที่เรียกว่า ซับสเตรท (substrate) แล้วเปลี่ยนซับสเตรทเหล่านี้ไปเป็นโมเลกุลอื่นที่เรียกว่า ผลิตภัณฑ์ (product) ซึ่งเอนไซม์แต่ละชนิดจะมีความจำเพาะต่อซับสเตรทที่เข้ามาทำปฏิกิริยาสูง สามารถทำงานภายใต้ภาวะที่ไม่รุนแรงและเอนไซม์จะไม่มีการเปลี่ยนแปลงใดๆ โดยหลังจากที่เกิดการเร่งปฏิกิริยาแล้วจะสามารถเกิดปฏิกิริยาได้ใหม่ ซึ่งสามารถบอกเป็นค่าคงที่เรียกว่า turnover number [25]

2.2.2 แหล่งผลิตเอนไซม์

เอนไซม์ผลิตได้จากสิ่งมีชีวิต ซึ่งส่วนมากในเชิงอุตสาหกรรมจะผลิตเอนไซม์จากเชื้อจุลินทรีย์ที่มีระดับความปลอดภัยทางชีวภาพสูง [25] อาทิ

1) รา เช่น กลุ่ม *Aspergillus*, *Penicillium, Rhizopus* และ *Mucor*

2) ยีสต์ เช่น *Saccharomyces cerevesiae*

3) แบคทีเรีย เช่น กลุ่มจีนัส *Bacillus, streptonmyces* และ *Lactobacillus*

2.2.3 กลุ่มและลักษณะการทำงานของเอนไซม์

เอนไซม์สามารถแบ่งกลุ่มได้จากลักษณะการทำงานที่เฉพาะได้เป็น 6 กลุ่ม [26] ได้แก่

1) ออกซิโดรีดักเทส (oxidoreductase) ทำหน้าที่ออกซิไดส์ซับสเตรทผ่านการเร่งปฏิกิริยาที่มีการถ่ายเทอิเล็กตรอนหรือไฮโดรเจนของซับสเตรทไปให้สารตัวรับ ซึ่งหากการเร่งปฏิกิริยาโดยการรับอิเล็กตรอนด้วยตัวรับที่ไม่ใช่ออกซิเจนจะเรียกเอนไซม์นี้ว่า ดีไฮโดรจิเนส (dehydrogenases) แต่ถ้าใช้ออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนจะเรียกเอนไซม์นี้ว่า (oxidase) เช่น กลูโคสออกซิเดส (glucose oxidase)

2) ทรานส์เฟอเรส (transferase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเคลื่อนย้ายหมู่สาร (ที่ไม่ใช่โปรตรอน) จากตัวให้ (donor) ไปยังตัวรับ (acceptor) ที่ไม่ใช่น้ำ

3) ไฮโดรเลส (hydrolase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสเพื่อทำลายพันธะเคมีของซับสเตรทโดยมีน้ำร่วมทำปฏิกิริยา ตัวอย่างเช่น การสลายพันธะไกลโคซิลในคาร์โบไฮเดรต พันธะเพปไทด์ในโปรตีนและพันธะเอสเทอร์ในลิพิด เป็นต้น

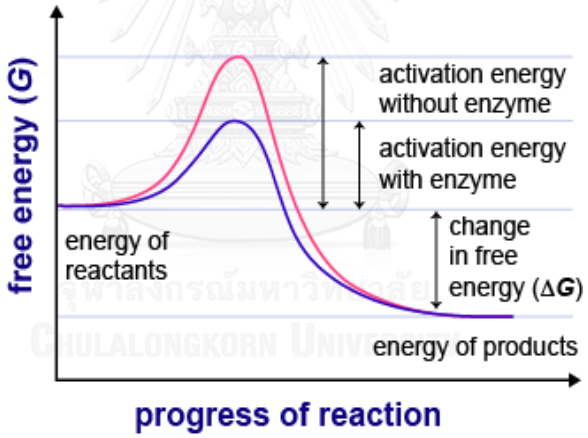
4) ไลเอส (lyases) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการแยกโปรตอน (H) ของซับสเตรท โดยไม่มีน้ำเป็นตัวเร่ง ทำให้เกิดพันธะคู่ในสารประกอบผลิตภัณฑ์

5) ไอโซเมอเรส (isomerase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการเปลี่ยนไอโซเมอร์ของซับสเตรทจากซิสไอโซเมอร์เป็นทรานส์ไอโซเมอร์หรือจากแอลไอโซเมอร์เป็นดีไอโซเมอร์

6) ไลเกส (ligase) ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาการสร้างพันธะโคเวเลนซ์ระหว่างโมเลกุล 2 โมเลกุล โดยอาศัยพลังงานจากการสลายโมเลกุลของพันธะไพโรฟอสเฟตใน ATP หรือสารไตรฟอสเฟตอื่น เอนไซม์กลุ่มนี้ใช้ในการสังเคราะห์โปรตีน กรดนิวคลิอิก ลิพิด และการสังเคราะห์คาร์โบไฮเดรต ซึ่งส่วนใหญ่เกิดในเซลล์ของสิ่งมีชีวิต

2.2.4 กลไกการทำงานของเอนไซม์

เอนไซม์จะทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาชีวเคมีทำให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้น 10^5-10^{17} เท่า โดยเอนไซม์จะเข้าไปลดพลังงานกระตุ้น (activation energy) ของปฏิกิริยาทำให้ปฏิกิริยาเกิดได้ง่ายขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 2.9 เอนไซม์จะเข้าจับกับซับสเตรทที่มีความจำเพาะมาที่บริเวณเร่ง แล้วเกิดเป็นสารประกอบเชิงซ้อนที่มีพลังงานกระตุ้นในการเกิดปฏิกิริยาต่ำ จากนั้นซับสเตรทจะเกิดการแตกตัวเป็นสารผลิตภัณฑ์ โดยที่เอนไซม์จะคงสภาพและไม่ทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้น หลังเกิดปฏิกิริยาเอนไซม์จะสามารถกลับมาทำงานกับซับสเตรทตัวอื่นๆ ได้อีกหากไม่เสื่อมสลายไปก่อน [26, 27]

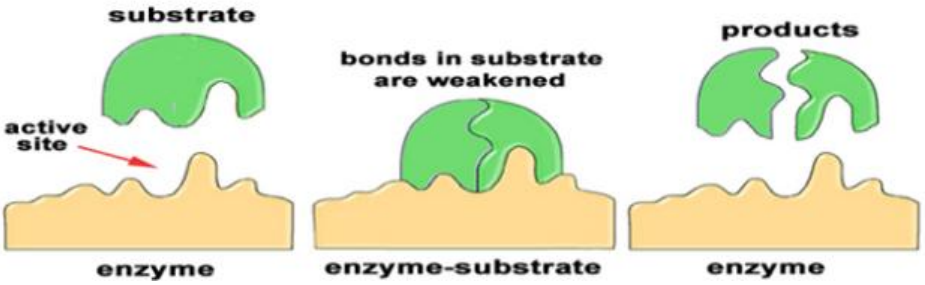


รูปที่ 2.9 กลไกการเร่งปฏิกิริยาเคมีของเอนไซม์ [27]

2.2.5 ทฤษฎีความจำเพาะของเอนไซม์

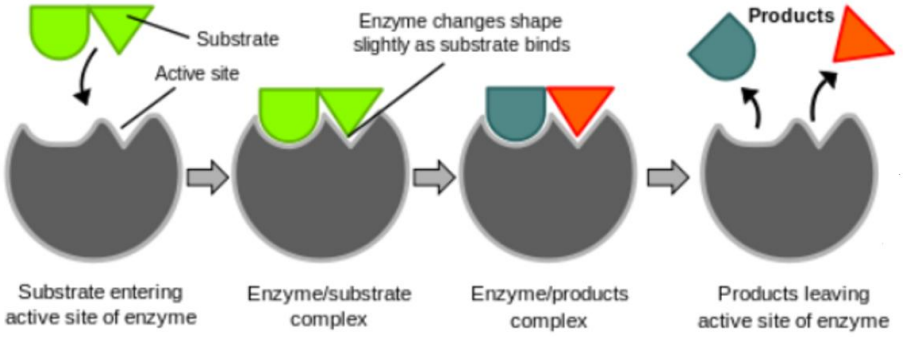
ความจำเพาะต่อซับสเตรทเป็นสมบัติที่สำคัญอย่างหนึ่งของเอนไซม์ในการเร่งปฏิกิริยาชีวเคมีที่มีข้อดีคือ ทำให้สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้ปริมาณเพิ่มขึ้นและลดการเกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียงที่ไม่ต้องการ โดยความจำเพาะของเอนไซม์นั้น ได้ถูกตั้งสมมติฐานเพื่ออธิบายสมบัติดังกล่าว ดังนี้ [28, 29]

1) สมมติฐานแม่กุญแจและลูกกุญแจ (Lock and Key) ในปี ค.ศ. 1884 Emil Fischer ได้ตั้งสมมุติฐานว่า เอนไซม์และซับสเตรทจะมีโครงสร้างที่คงที่ไม่ยืดหยุ่น โดยซับสเตรทจะเข้าไปจับกับเอนไซม์ในบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ และจะสามารถจับกันได้พอดีเหมือนแม่กุญแจกับลูกกุญแจก่อนที่จะเปลี่ยนซับสเตรทไปเป็นผลิตภัณฑ์ แสดงดังรูปที่ 2.10



รูปที่ 2.10 กลไกการทำงานของเอนไซม์ตามทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ [29]

2) สมมติฐานการเหนี่ยวนำรูปร่าง (Induced-fit) ในปีค.ศ. 1973 Koshland เสนอว่าเอนไซม์และซับสเตรทมีโครงสร้างที่ยืดหยุ่นได้ หากซับสเตรทจับกับเอนไซม์จะทำให้บริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ถูกเหนี่ยวนำให้เปลี่ยนรูปร่างได้เพื่อให้สามารถจับกับซับสเตรทได้ดีขึ้นและทำให้กรดแอมิโนในบริเวณเร่งอยู่ตำแหน่งที่เหมาะสมสำหรับทำปฏิกิริยามากขึ้น รวมถึงสารเริ่มต้นก็สามารถเปลี่ยนรูปร่างเพื่อให้สามารถจับกับบริเวณเร่งของเอนไซม์ได้พอดี แสดงดังรูปที่ 2.11



รูปที่ 2.11 กลไกการทำงานของเอนไซม์ตามทฤษฎีการเหนี่ยวนำรูปร่าง [29]

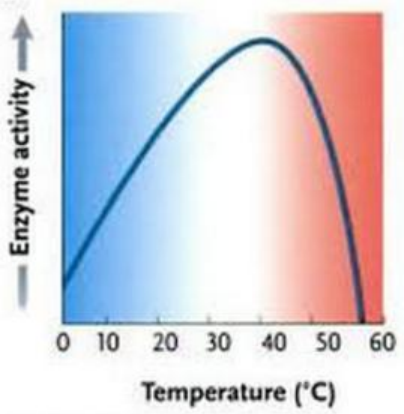
2.2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์

ความสามารถในการทำงานของเอนไซม์ขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ ดังนี้ [4, 30]

1) ความจำเพาะของเอนไซม์ เอนไซม์เป็นสารชีวโมเลกุลที่มีความจำเพาะต่อซับสเตรทค่อนข้างสูง แต่เอนไซม์บางตัวอาจมีความจำเพาะต่ำกว่า ซึ่งขึ้นกับแหล่งที่มาและชนิดของเอนไซม์ โดยเอนไซม์ที่มีความจำเพาะต่ำจะสามารถเข้าทำปฏิกิริยากับซับสเตรทได้หลายชนิดและอาจได้ผลิตภัณฑ์ที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นระดับความจำเพาะของเอนไซม์จึงมีความสำคัญต่อการเลือกเอนไซม์มาใช้งานเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์เป้าหมายปริมาณสูง

2) ค่าพีเอช เอนไซม์แต่ละชนิดจะทำงานได้ดีที่สุดในภาวะที่มีค่าพีเอชที่พอเหมาะ ซึ่งเอนไซม์ส่วนใหญ่จะเร่งปฏิกิริยาได้ในช่วงพีเอชระหว่าง 4-10 โดยการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชนั้นจะส่งผลต่อประจุบนโมเลกุลของโปรตีนจึงมีผลต่อการทำงานที่บริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์

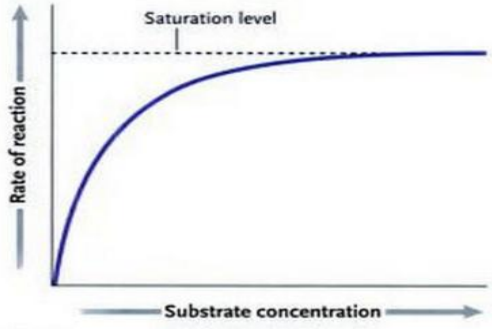
3) อุณหภูมิ เอนไซม์แต่ละชนิดจะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการทำงานที่แตกต่างกัน โดยช่วงอุณหภูมิที่เหมาะต่อการทำงานของเอนไซม์จะทำให้เกิดอัตราเร็วของปฏิกิริยาสูงสุด แต่หากอุณหภูมิปฏิกิริยาสูงเกินไปจะส่งให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาลดลงหรือหยุดลงได้ เนื่องจากเอนไซม์จะเกิดการเสียสภาพ (denaturation) จากความร้อนทำให้เอนไซม์เสียรูปร่างและไม่สามารถเข้าจับกับซับสเตรทได้ แสดงดังรูปที่ 2.12



รูปที่ 2.12 ผลของอุณหภูมิต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ [30]

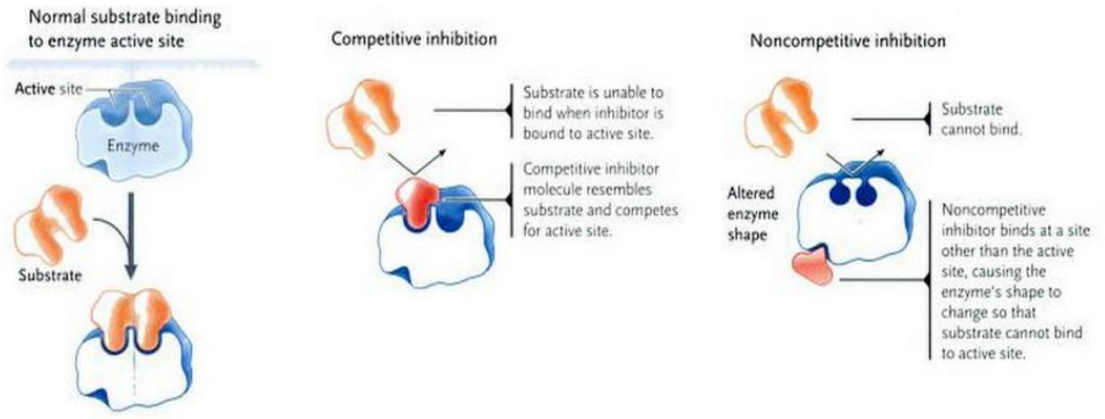
4) ปริมาณของเอนไซม์ การเพิ่มปริมาณของเอนไซม์ขึ้นจะทำให้ปฏิกิริยาเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าเอนไซม์มากเกินพอความเร็วของปฏิกิริยาจะไม่เพิ่มขึ้น เนื่องจากไม่มีซับสเตรทเหลือพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยา

5) ปริมาณซับสเตรท การเพิ่มปริมาณของซับสเตรทจะส่งผลให้อัตราเร็วของปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นในช่วงแรกและเมื่อเพิ่มปริมาณซับสเตรทไปจนถึงจุดอิ่มตัว อัตราการเกิดปฏิกิริยาจะเริ่มเข้าสู่ภาวะคงที่ เนื่องจากปริมาณเอนไซม์ไม่เพียงพอที่จะเข้าทำปฏิกิริยากับซับสเตรท แสดงดังรูปที่ 2.13



รูปที่ 2.13 ผลของการเพิ่มความเข้มข้นของซับสเตรทต่ออัตราการเกิดปฏิกิริยา [30]

6) ตัวกระตุ้นและตัวยับยั้ง เอนไซม์บางชนิดมีจะตัวกระตุ้นและตัวยับยั้งในการทำงาน โดยที่ตัวกระตุ้น (activator) จะทำหน้าที่เร่งการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์ เช่น การเติมคลอไรด์ไอออนกระตุ้นการทำงานของอะไมเลสในน้ำลาย การเติมแมกนีเซียมไอออนกระตุ้นฟอสเฟตในพลาสมา เป็นต้น ส่วนตัวยับยั้ง (inhibitor) จะทำหน้าที่ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ โดยแบ่งการทำงานออกเป็น 2 ลักษณะคือ การยับยั้งแบบแข่งขัน (competitive inhibition) โดยตัวยับยั้งจะมีรูปร่างคล้ายซับสเตรททำหน้าที่แย่งเข้าจับกับบริเวณเร่ง (active site) ของเอนไซม์ได้ การยับยั้งแบบนี้สามารถผันกลับได้ (reversible) และการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (non-competitive inhibition) ตัวยับยั้งจะทำงานโดยเข้าไปรบกวนการเกิดสารเชิงซ้อนของเอนไซม์กับสารตั้งต้น ทำให้ปฏิกิริยาเกิดช้าลงหรือเกิดไม่ได้ ซึ่งการยับยั้งแบบนี้จะผันกลับไม่ได้ แสดงรูปที่ 2.14



รูปที่ 2.14 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์แบบแข่งขัน (competitive inhibition) และการยับยั้งแบบไม่แข่งขัน (non-competitive inhibition) [30]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

2.2.7 การวัดความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์

โดยทั่วไปการเตรียมเอนไซม์ส่วนใหญ่จะไม่ทราบค่าความเข้มข้นของเอนไซม์ที่แน่นอน ดังนั้น การรายงานความสามารถในการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์จึงรายงานออกมาเป็นค่าแอกทิวิตีแทน ซึ่งแอกทิวิตีของเอนไซม์ (enzyme activity) หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาบนซับสเตรทให้เกิดผลิตภัณฑ์ในหน่วยไมโครโมลหรือไมโครกรัม (μmole, μg) ภายในหนึ่งหน่วยเวลา ได้แก่ นาทีหรือวินาที (min, sec) ภายใต้ภาวะที่กำหนด ซึ่งการกำหนดค่าแอกติวิตีของเอนไซม์จะถูกกำหนดให้อยู่ในหน่วยที่เรียกว่า ยูนิต (Unit, U) ตัวอย่างเช่น แอกติวิตีของเอนไซม์ 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณของเอนไซม์ที่เปลี่ยนแปลงซับสเตรทให้เกิดสารผลิตภัณฑ์ปริมาณ 1 ไมโครโมล ภายในเวลา 1 นาที ในการกำหนดค่าแอกติวิตีของเอนไซม์สามารถระบุได้หลายรูปแบบขึ้นอยู่กับเทคนิคและวิธีการวัดค่าแอกทิตีของเอนไซม์ เช่น การระบุค่าแอกทิวิตีในหน่วยสากล (International unit, I.U.) การระบุค่าแอกติวิตีของเอนไซม์ในหน่วยคาทาล (katal) การระบุค่าแอกติวิตีในรูปแบบแอกทิวิตีจำเพาะของเอนไซม์ (enzyme specific activity) และการระบุค่าแอกทิวิตีในหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร (U/ml) เป็นต้น

การตรวจวัดปริมาณของสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นหลังจากการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพื่อนำมาใช้ในการคำนวณค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์สามารถทำได้หลายวิธี โดยขึ้นอยู่กับสารผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นหลังจากการทำปฏิกิริยา ในการตรวจวัดปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นเป็นเทคนิคหนึ่งที่นิยมใช้ในการวัดค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ สำหรับเอนไซม์ที่เข้าทำปฏิกิริยาแล้วให้สารผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลรีดิวซ์ เช่น เอนไซม์อะไมเลส เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนส เป็นต้น ซึ่งการวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อาจทำโดยใช้วิธี 3,5-dinitro salicylic acid (DNS method) โดยนำสารละลายของซับสเตรทหลังจากทำปฏิกิริยากับเอนไซม์มาเติมด้วย 3,5-dinitro salicylic acid ลงไป และต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ก่อนนำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลมาตรฐานและค่าการดูดกลืนแสง ซึ่งทำให้สามารถหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ออกมาได้ แล้วนำไปคำนวณค่าแอกทิวิตีต่อไป [31-33]

2.3 กระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก (scouring) บนเส้นใยธรรมชาติ

กระบวนการการกำจัดสิ่งสกปรก (scouring) เป็นขั้นตอนในกระบวนการเปียกของการผลิตสิ่งทอ (wet process) ที่สำคัญที่สุดสำหรับการผลิตวัสดุสิ่งทอก่อนที่จะนำไปย้อมหรือพิมพ์ ส่วนใหญ่เป็นกระบวนการทำความสะอาดและกำจัดสิ่งสกปรกหรือสิ่งเจือปนออกจากสิ่งทอ ซึ่งในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกอาจทำตั้งแต่เป็นเส้นใยธรรมชาติ เส้นด้าย หรือผ้าผืน หลังผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกเส้นใยธรรมชาติจากพืชควรเหลือเฉพาะองค์ประกอบของแอลฟาเซลลูโลส ซึ่งเป็นส่วนที่ชอบน้ำและช่วยให้เส้นใยมีความสามารถในการดูดซึมน้ำและสารเคมีที่เพียงพอสำหรับกระบวนการต่อไป (การฟอก การย้อมสีหรือการพิมพ์) ซึ่งเป็นพื้นฐานสำคัญสำหรับกระบวนการตกแต่งสำเร็จ สำหรับการประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกเบื้องต้นจะทำโดยทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำของวัสดุหลังจากการกำจัดสิ่งสกปรก [34-36]

2.3.1 วิธีการกำจัดสิ่งสกปรก

การกำจัดสิ่งสกปรกจะทำเพื่อกำจัดสิ่งเจือปนในเส้นใยธรรมชาติจากพืชที่ไม่พึงประสงค์เช่น ไขมัน ขี้ผึ้ง เพกติน ลิกนิน หรือสิ่งสกปรกอื่นๆ ที่ไม่ละลายน้ำและอนุภาคหรือสิ่งสกปรกที่เป็นของแข็งเกาะติดอยู่กับเส้นใย ซึ่งจะขัดขวางกระบวนการย้อมสี การพิมพ์และกระบวนการตกแต่งสำเร็จ กระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกสามารถทำได้ 2 วิธี โดยแบ่งตามสารที่ใช้ในกระบวนการคือ

1) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยสารเคมี (chemical scouring) [35]

กระบวนการนี้ใช้สารเคมีในการกำจัดสิ่งสกปรกออกจากเส้นใย โดยสารที่นิยมใช้คือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยอาจใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง (ความเข้มข้นประมาณ 1.0 เปอร์เซ็นต์) ใช้เวลาในการทำความสะอาดประมาณ 10 ชั่วโมง หรือใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นสูง (ความเข้มข้นประมาณ 8.0 เปอร์เซ็นต์) ใช้เวลาในการทำความสะอาดประมาณ 2-20 นาที และอุณหภูมิที่ใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกจะอยู่ในช่วง 100-120°C ขึ้นกับปริมาณสิ่งสกปรกและชนิดของเส้นใยธรรมชาติ ในขั้นตอนนี้พบว่าเมื่อสารละลายด่างเข้าทำปฏิกิริยากับสิ่งสกปรกบนเส้นใยที่เป็นไขมันทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสบู่ขึ้นผ่านปฏิกิริยาสะพอนิฟิเคชัน (saponification) ซึ่งสบู่ที่เกิดขึ้นจะช่วยกำจัดสิ่งสกปรกที่ไม่ละลายน้ำออกจากเส้นใยด้วย

ข้อดีของกระบวนนี้คือ สารเคมีที่ใช้มีราคาถูกและเป็นกระบวนการที่มีประสิทธิภาพสูง

ข้อเสียของกระบวนการนี้คือ เป็นกระบวนการที่ใช้พลังงานสูงและใช้น้ำปริมาณมาก เนื่องจากต้องใช้น้ำในการล้างเส้นใยที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยสารละลายด่างให้เป็นกลาง กระบวนการนี้มีภาวะที่ค่อนข้างรุนแรงอาจทำให้เกิดการทำลายเซลลูโลสในเส้นใยด้วย นอกจากนี้ยังก่อให้เกิดน้ำเสียและเป็นมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกด้วย

2) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยเอนไซม์ (bio-scouring) [36]

การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยเอนไซม์คือ การใช้เอนไซม์เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสของสิ่งสกปรกที่ไม่ใช่เซลลูโลสบนเส้นใยธรรมชาติจากพืชเช่น ลิกนิน เพกติน เฮมิเซลลูโลส ไขมัน เป็นต้น ให้สลายตัวเป็นสารโมเลกุลเล็กๆ ส่วนมากให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่สามารถละลายน้ำได้จึงทำให้สิ่งสกปรกบนเส้นใยหลุดออกมา กระบวนการนี้จะทำงานภายใต้ภาวะที่ไม่รุนแรงคือ ทำในช่วงอุณหภูมิต่ำกว่า 100°C (ประมาณ 40-60°C) และช่วงพีเอชที่ค่อนข้างเป็นกลาง (พีเอชตั้งแต่ 4 ถึง 8) ภายใต้ความดันบรรยากาศ ซึ่งกระบวนการนี้จำเป็นที่จะต้องเติมสารลดแรงตึงผิว (surfactant) ลงไปด้วยเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ โดยเอนไซม์ที่นิยมใช้ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยพืชคือ เพกติเนส และเซลลูเลส เป็นต้น

ข้อดีของกระบวนการนี้คือ ใช้พลังงานต่ำและใช้น้ำในกระบวนการน้อย ไม่เป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อม อีกทั้งเอนไซม์มีความจำเพาะต่อซับสเตรทสูงและทำงานในภาวะที่ไม่รุนแรงจึงไม่ส่งผลต่อการทำลายเซลลูโลสในเส้นใยพืช

ข้อเสียของกระบวนการคือ เอนไซม์มีราคาสูง ช่วงอุณหภูมิและพีเอชในการทำงานเอนไซม์ค่อนข้างแคบ ซึ่งเป็นปัจจัยทำให้เอนไซม์เกิดการเสียสภาพ (denaturation) ได้ง่าย ต้องระมัดระวังในการควบคุมภาวะของกระบวนการให้มีความเสถียร

2.3.2 ประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรก

หลังจากกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก สามารถประเมินประสิทธิภาพของกระบวนการจากสมบัติของเส้นใยหลังผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกได้ดังนี้ [34]

1) ความสามารถในการดูดซึมน้ำดีขึ้นและสามารถดูดซึมน้ำได้อย่างสม่ำเสมอ

2) น้ำหนักของเส้นใยที่หายไปหลังการกำจัดสิ่งสกปรก

3) ความยาวของเส้นใยลดลงเนื่องจากเส้นใยเกิดการหดตัวระหว่างกระบวนการ

4) ขนาดเส้นใยเกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากการสูญเสียน้ำหนัก

5) ความแข็งแรงของเส้นใยเกิดการเปลี่ยนแปลง โดยทั่วไปจะมีความแข็งแรงมากขึ้น

2.4 เอนไซม์ที่สามารถใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยธรรมชาติจากพืช

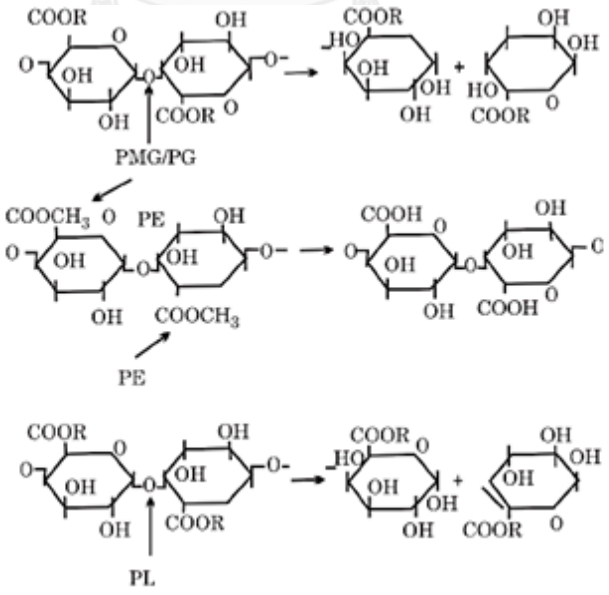
2.4.1 เพกติเนส (Pectinase)

เพกติเนสทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสลายของเพกติน ประกอบด้วยเอนไซม์ที่ย่อยแกนหลักของเพกตินและเอนไซม์ที่ย่อยโซ่กิ่งของเพกติน โดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยแกนหลักของเพกติน แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ได้แก่

1) เอสเทอร์เรส (esterases) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ทำลายหมู่เอสเทอร์ของเพกติน ประกอบด้วยเอนไซม์ทำลายหมู่เมทอกซิลเอสเทอร์ (methoxy esters) และหมู่เมทิลเอสเทอร์ (methyl esters) ของกรดกาแล็กทูโรนิก

2) ดีพอลิเมอร์เรส (depolymerases) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ทำลายสายโซ่พอลิเมอร์โดยการตัดพันธะแอลฟา 1-4 ไกลโคซิดิกในแกนหลักของเพกติน ซึ่งเป็นทั้งเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดร-เลสหรือกลุ่มไลเอส

เพกติเนสที่นิยมใช้ในเชิงพานิชประกอบด้วย เอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส ได้แก่ เอนไซม์กลุ่มพอลิกาแล็กทูโรเนส (polygalacturonase, PG) ซึ่งเป็นไกลโคซิลไฮโดรเลส และเพกตินเอสเทอเรส (pectin esterase, PE) ซึ่งเป็นเอสเทอร์ไฮโดรเลส และเอนไซม์กลุ่มไลเอส ได้แก่ เพกเทตไลเอส (pectate lyase, PAL) และเพกตินไลเอส (pectin lyase, PL) เอนไซม์พวกนี้จะเร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายเพกตินโดยอาจมีเอนไซม์อื่นๆ ร่วมด้วย [36, 37] ซึ่งกลไกการเร่งปฏิกิริยาการสลายเพกตินด้วยเอนไซม์เพกติเนส แสดงดังรูปที่ 2.15



รูปที่ 2.15 กลไกการเร่งปฏิกิริยาการสลายเพกตินด้วยเอนไซม์เพกติเนส [37]

2.4.2 เซลลูเลส (Cellulases)

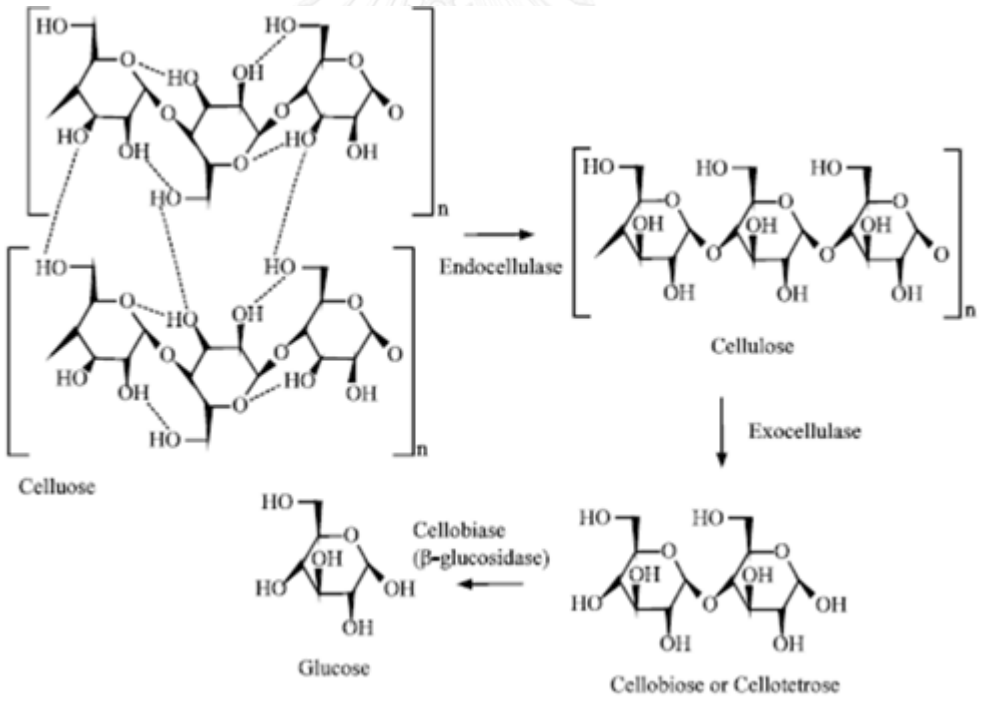
เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มไฮโดรเลส (hydrolases) ทำหน้าที่เร่งการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเซลลูโลส โดยการสลายพันธะบีต้า-1,4-ไกโคซิดิกภายในโมเลกุลและให้สารผลิตภัณฑ์เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ กลูโคส ซึ่งมีกลไกการเร่งปฏิกิริยาแสดงดังรูปที่ 2.16

เซลลูเลสประกอบด้วยเอนไซม์ 3 กลุ่มหลักคือ

1) เอนโดกลูแคเนส (endoglucanase) ทำหน้าที่ย่อยสายโซ่เซลลูโลสแบบสุ่มจากด้านในสายโซ่ ส่วนมากจะย่อยในบริเวณอสัณฐานของออลิโกแซ็กคาไรด์เกิดเป็นปลายโซ่เปิดออกหลายๆ ตำแหน่ง

2) เอกโซกลูแคเนส (exoglucanase) ทำหน้าที่ย่อยสายโซ่เซลลูโลสจากปลายโซ่ที่เปิดออกทั้งสองด้าน โดยย่อยทีละ 2 หน่วยกลูโคส แล้วได้เซลโลไบโอสเป็นผลิตภัณฑ์หลัก

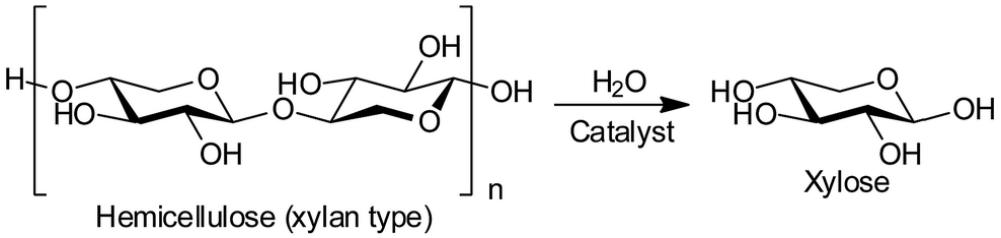
3) บีต้ากลูโคซิเดส (β-glucosidase) ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลสสายสั้นที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลายของเอนโดกลูแคเนสและเอกโซกลูแคเนสได้เป็นน้ำตาลกลูโคส [6, 25]



รูปที่ 2.16 กลไกการเร่งปฏิกิริยาการสลายตัวของเซลลูโลสด้วยเอนไซม์เซลลูเลส [6]

2.4.3 ไซแลนเนส (Xylanase)

เอนไซม์ไซแลนเนสเป็นเอนไซม์ในกลุ่มเฮมิเซลลูเลส ที่ทำหน้าที่ย่อยเฮมิเซลลูโลสผ่านการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของไซแลนและปลดปล่อยสารผลิตภัณฑ์ออกมาเป็น น้ำตาลไซโลส แสดงดังรูป 2.17



รูปที่ 2.17 ปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสของเฮมิเซลลูโลสที่มีไซแลนเป็นองค์ประกอบหลัก [38]

เอนไซม์ไซแลนเนสที่นิยมใช้กันมากในอุตสาหกรรมไซแลนเนสแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

1) เอนโดไซแลนเนส

เอนโดไซแลนเนส (endoxylanases หรือ β-1,4-xylanxylano hydrolases) มีแหล่งที่มาจากราและแบคทีเรีย โดยมีรา *Trichoderma* และ *Aspergillus* เป็นแหล่งที่มาสำคัญในการผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในอุตสาหกรรมเอนไซม์ชนิดนี้ทำหน้าที่เร่งปฏิกิริยาย่อยสายโซ่พอลิเมอร์ของไซแลนแบบสุ่ม ซึ่งมีแกนหลักเป็นออลิโกแซ็กคาไรด์ของไซโลสที่เกิดจากโมเลกุลไซโลสที่ต่อกันด้วยพันธะบีต้า-1,4 ไกลโคซิดิก

2) เอกโซไซแลนเนส

เอกโซไซแลนเนส (exoxylanases หรือ β-1,4-xylanxylohydrolases) มีแหล่งที่มาที่สำคัญคือ แบคทีเรียกลุ่ม *Pumilus* และจากรากลุ่ม *Aspergillus* เอนไซม์ชนิดนี้ทำหน้าที่เร่งการย่อยออลิโกแซ็กคาไรด์จากปลายนอนรีดิวซ์ (non-reducing end) ให้ความยาวสายสั้นลง นอกจากนี้หากเอนไซม์ชนิดนี้สามารถย่อยไซโลไบโอสให้ได้ไซโลส เอนไซม์แบบนี้จะมีชื่อเรียกเฉพาะว่า บีตา-ไซโลซิเดส (β-xylosidase) [19, 25, 38]

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Saha และคณะ [39] ได้ศึกษาลักษณะพื้นผิวและลักษณะทางสัณฐานวิทยารอยแตกของเส้นใยจากใบสับปะรดด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด โดยศึกษาเส้นใยดิบและเส้นใยที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 5, 10 และ 18 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้องและฟอกด้วยโซเดียมคลอไรท์ ($NaClO_2$) ความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 45°C และ 80°C และความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 80°C ซึ่งพบว่าเส้นใยใบสับปะรดประกอบด้วยองค์ประกอบหลักคือ แอลฟาเซลลูโลส 68.50 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 18.80 เปอร์เซ็นต์ ลิกนิน 6.04 เปอร์เซ็นต์ ไขมันและขี้ผึ้ง 3.20 เปอร์เซ็นต์ โดยเส้นใยที่กำจัดสิ่งสกปรกด้วย NaOH ความเข้มข้น 18 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสและลิกนินเหลืออยู่น้อยที่สุดคือ 7.10 และ 5.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และการฟอกด้วย $NaClO_2$ ความเข้มข้น 0.7 เปอร์เซ็นต์ จะมีปริมาณเฮมิเซลลูโลสและลิกนินเหลือน้อยที่สุดคือ 13.2 เปอร์เซ็นต์ และ 1.80 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยใบสับปะรดที่ไม่ผ่านกระบวนการทางเคมีจะมีลักษณะเป็นเซลล์หลายชั้นซ้อนกันเห็นโครงสร้างภายในไม่ชัดเจน และมีลักษณะรอยแตกของเส้นใยไปในทิศทางเดียวกัน เนื่องจากเฮมิเซลลูโลสและลิกนินทำหน้าที่เป็นสารยึดติดเซลล์ชั้นนอกของเส้นใยเข้าด้วยกัน เมื่อเส้นใยผ่านสารเคมีเหล่านี้ เฮมิเซลลูโลสและลิกนินจะถูกกำจัดออกไป จึงเห็นพื้นผิวภายนอกเส้นใยที่เรียบขึ้น เห็นโครงสร้างภายในเส้นใยชัดเจนขึ้นและลักษณะรอยแตกของเส้นใยไม่เป็นระเบียบ

Sricharussin และคณะ [40] ได้ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยใบสับปะรดก่อนกระบวนการย้อมสีธรรมชาติ โดยกำจัดสิ่งสกปรกด้วยเอนไซม์ทางการค้าสองชนิดคือ ใช้เอนไซม์เพกติเนสที่อุณหภูมิ 45°C พีเอช 4.5 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิ 55°C พีเอช 7 เป็นเวลา 2 ชั่วโมง นอกจากนี้ยังเปรียบเทียบกับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยสารเคมีอย่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่อุณหภูมิ 80°C เป็นระยะเวลา 30 นาที พบว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยเอนไซม์ทั้งสองชนิดส่งผลให้เส้นใยดูดซึมสีย้อมได้ดีกว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย NaOH โดยทั้งในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกที่ใช้เอนไซม์และใช้ NaOH แสดงให้เห็นว่าสมบัติของเส้นใยหลังการย้อมสีจะมีความคงทนของสีต่อแสงและมีความทนต่อแรงดึงใกล้เคียงกัน แต่เส้นใยที่ผ่านเอนไซม์ทั้งสองชนิดจะมีการสูญเสียน้ำหนักน้อยกว่าเส้นใยที่ผ่าน NaOH เนื่องจากว่า NaOH สามารถกำจัดขี้ผึ้งและไขมันบนเส้นใยออกไปได้มากกว่าจึงทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักสูงกว่า แต่เอนไซม์ทั้งสองชนิดคือ เพกติเนสและเซลลูเลสมีความจำเพาะเจาะจงต่อเพกตินและเซลลูโลสในการกำจัดสิ่งสกปรกทำให้ในการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยเอนไซม์สองชนิดนี้ไม่สามารถกำจัดขี้ผึ้งและไขมันได้ ซึ่งพบว่าประสิทธิภาพของการใช้เอนไซม์ใกล้เคียงกับการใช้สารเคมี อีกทั้งยังเป็นกระบวนการที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมและเป็นกระบวนการที่สูญเสียพลังงานต่ำอีกด้วย

Nerurkar และคณะ [41] ได้ศึกษาผลจากการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้ายด้วยเอนไซม์ไลเปสจากแบคทีเรีย *Bacillus sonorensis* ที่ได้จากหอยกาบทะเล ซึ่งทำหน้าที่กำจัดขี้ผึ้งและไขมันออกจากเส้นใยที่ภาวะการกำจัดสิ่งสกปรกแตกต่างกัน แล้วเปรียบเทียบกับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย NaOH ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักผ้า (of weight of fabric, owf) ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ซึ่งพบว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดของการใช้เอนไซม์ในการกำจัดสิ่งสกปรกคือ ใช้ไลเปสที่ความเข้มข้น 8 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักผ้า พีเอช 9 อุณหภูมิ 60°C ระยะเวลา 120 นาที ซึ่งทำให้เกิดการสูญเสียน้ำหนักผ้ามากที่สุดและสมบัติการดูดซึมน้ำของผ้าดีที่สุด เมื่อเปรียบเทียบลักษณะสัณฐานวิทยาของผ้าหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปสกับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย NaOH พบว่าเส้นใยบนผ้าที่ผ่านเอนไซม์ไลเปสมีลักษณะพื้นผิวเรียบ แต่ที่ผ่าน NaOH มีลักษณะพื้นผิวขรุขระเนื่องจากเส้นใยบนผ้าถูกทำลายจึงส่งผลให้ความทนแรงดึงและการยืดตัวของผ้าที่จุดขาดหลังผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย NaOH มีค่าต่ำกว่าผ้าที่ผ่านเอนไซม์ไลเปส แต่ค่าความขาวของผ้าที่กำจัดสิ่งสกปรกด้วยเอนไซม์ไลเปสจะมีค่าต่ำกว่าผ้าที่กำจัด สิ่งสกปรกด้วย NaOH เนื่องจากเอนไซม์ไลเปสกำจัดได้เฉพาะขี้ผึ้งและไขมันเท่านั้น ไม่สามารถกำจัดสีธรรมชาติบนเส้นใยฝ้ายดิบได้ ในขณะที่ผ้าจากทั้งสองกระบวนการมีความสามารถในการเปียกน้ำและมีความคงทนของสีใกล้เคียงกัน

Michniewicz และคณะ [42] ได้ศึกษาการกำจัดลิกนินออกจากผ้าลินินด้วยเอนไซม์แลกเคสจาก *Cerrena unicolor* ที่ภาวะต่างๆ แล้วเปรียบเทียบกับการกำจัดลิกนินด้วย NaOH ความเข้มข้น 1.8 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 98°C ระยะเวลา 60 นาที ซึ่งภาวะของการใช้เอนไซม์แลกเคสในการกำจัดลิกนินที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดคือ ใช้เอนไซม์แลกเคส 2.4 ยูนิตต่อน้ำหนักผ้า (กรัม) พีเอช 5.5 อุณหภูมิ 60°C ระยะเวลา 60 นาที และจากการเปรียบเทียบกับการใช้ NaOH พบว่า ผ้าที่ยังไม่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกจะมีเฮมิเซลลูโลส 4.7 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 4.13 เปอร์เซ็นต์ โดยน้ำหนักของผ้าแห้ง เมื่อกำจัดสิ่งสกปรกแล้วพบว่าการใช้ NaOH จะทำให้เฮมิเซลลูโลสลดลงมากกว่าการใช้เอนไซม์แลกเคส (ปริมาณเฮมิเซลลูโลสหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย NaOH และแลกเคสคือ 4.00 และ 4.29 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ) แต่ปริมาณการลดลงของลิกนินจากการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย NaOH และเอนไซม์แลกเคสจะมีค่าใกล้เคียงกัน (ปริมาณลิกนินหลังการกำจัดสิ่งสกปรกคือด้วย NaOH และเอนไซม์แลกเคสคือ 3.68 และ 3.71 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ) และการกำจัดลิกนินบนผ้าด้วยเอนไซม์แลกเคสและฟอกด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์จะทำให้ผ้าดูดซึมน้ำดีกว่าและค่าความขาวของผ้าสูงกว่าผ้ากำจัดลิกนินด้วย NaOH และฟอกด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

Wang และคณะ [43] ได้ศึกษาผลของการใช้เอนไซม์ผสมในการกำจัดสิ่งสกปรกแบบขั้นตอนเดียวบนผ้าฝ้ายถัก โดยใช้เอนไซม์ที่ผลิตจากห้องปฏิบัติการซึ่งประกอบด้วย เอนไซม์เพกติเนสที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus subtilis* WSHB04-02 ที่ให้แอกทิวิตี 12.5 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และเอนไซม์ไซแลนเนสที่ผลิตจากเชื้อ *Bacillus pumilus* ที่ให้แอกทิวิตี 600 ยูนิตต่อมิลลิลิลตร ร่วมกับการใช้เอนไซม์ทางการค้าที่ประกอบด้วย เอนไซม์เซลลูเลสที่มีแอกทิวิตี 42,000 ยูนิตต่อลิตร และเอนไซม์โปรติเอสที่มีแอกติวิตี 3,000 ยูนิตต่อกรัม พบว่าสูตรเอนไซม์ที่ดีที่สุดสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้ายถัก คือ สูตรเอนไซม์ผสมที่ประกอบด้วย เพกติเนส 4 กรัมต่อลิตร เซลลูเลส 0.5 กรัมต่อลิตร และไซแลนเนส 2 กรัมต่อลิตร กำจัดสิ่งสกปรกที่อุณหภูมิ 57°C พีเอช 9.1 เป็นเวลา 75 นาที ซึ่งสามารถปรับปรุงสมบัติการดูดซึมน้ำของผ้าให้ดีขึ้นเมื่อเทียบการใช้เอนไซม์แต่ละชนิดและการใช้โซเดียม-ไฮดรอกไซด์ในการกำจัดสิ่งสกปรกคือ ผ้าที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยเอนไซม์ผสมด้วยสูตรที่ดีที่สุดจะสามารถดูดซึมน้ำภายใน 8 วินาที ผ้าที่ผ่านเอนไซม์แต่ละชนิด ได้แก่ เพกติเนส เซลลูเลส ไซแลนเนส และโปรติเอส จะดูดซึมน้ำภายใน 86, 42.3, 210 และ 180 วินาที ตามลำดับ และผ้าที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะดูดซึมน้ำภายใน 9 วินาที เมื่อเปรียบเทียบผ้าที่ผ่านเอนไซม์ผสมกับผ้าที่ผ่านโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่า การกำจัดสิ่งสกปรกทั้งสองวิธีทำให้ผ้าหลังการย้อมสีมีค่าเฉดสี ความเข้มสี ความทนทานของสีผ้าต่อการซักและต่อการขัดถูใกล้เคียงกัน นอกจากนี้ พบว่าผ้าที่ผ่านเอนไซม์ผสมจะมีความแข็งแรงและมีความขาวมากกว่าผ้าที่ผ่านโซเดียม-ไฮดรอกไซด์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 3
การทดลอง

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาภาวะและสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมัลติ-เอนไซม์จากเชื้อรา *Aspergillus* sp. ที่ส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสที่มีแอกทิวิตีสูง และเอนไซม์เซลลูเลสที่มีแอกทิวิตีต่ำ และศึกษาประสิทธิภาพของการใช้มัลติเอนไซม์ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด ซึ่งการทดลองแบ่งเป็น 4 ส่วน คือ ส่วนแรกคือการศึกษาภาวะการเลี้ยงเชื้อและสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์ ส่วนที่สองคือการศึกษาวิเคราะห์แอกทิวิตีของเอนไซม์และหาอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของมัลติเอนไซม์ ส่วนที่สามคือการศึกษาภาวะที่เหมาะสมของกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด และส่วนสุดท้ายคือการศึกษาสมบัติของด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์เปรียบเทียบกับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยเคมี

3.1 วัสดุและสารเคมี

3.1.1 เส้นด้าย

ด้ายสับปะรดดิบ 100 เปอร์เซ็นต์ ขนาด 590.5 เท็กซ์ (Tex) จากบริษัท ไทยนำโชคเท็กซ์-ไทล์ จำกัด

3.1.2 เอนไซม์

เอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัยนี้ผลิตจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีเอนไซม์ ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ ประเทศไทย โดยแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์แสดงในตารางที่ 3.1

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ตารางที่ 3.1 แอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่ใช้ในงานวิจัย

เอนไซม์	แอกทิวิตี (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	แอกทิวิตีจำเพาะ (ยูนิตต่อมิลลิกรัม)
เพกติเนส	504.18	288.10
เซลลูเลส	182.82	104.47
ไซแลนเนส	281.59	160.91

3.1.3 สารเคมี

Glucose standard

- D-glucose จากบริษัท Carlo Erba, Italy

Xylose standard

- xylose จากบริษัท Carlo Erba, Italy

Enzyme substrate

- carboxymethyl cellulose sodium salt จากบริษัท Fluka, Switzerland
- pectin from citrus peel จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany
- xylan from Beachwood จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany

DNS reagent

- 3,5-dinitrosalicylic acid จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany
- sodium hydroxide จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany
- sodium metabisulfite จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany
- sodium potassium tartrate จากบริษัท Carlo Erba, Italy
- phenol จากบริษัท Fluka, Switzerland

Salt solution

- potassium dihydrogen phosphate จากบริษัท Carlo Erba, Italy
- sodium hydrogen phosphate จากบริษัท Carlo Erba, Italy
- potassium chloride จากบริษัท Carlo Erba, Italy

Trace element

- zinc citrate monohydrate จากบริษัท APS Ajax Finechem, Australia
- nickel(II) chloride hexahydrate จากบริษัท APS Ajax Finechem, Australia
- copper(II) sulfate pentahydrate จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany
- iron(II) sulfate heptahydrate จากบริษัท Carlo Erba, Italy

Tris-HCl buffer

- hydrochloric acid จากบริษัท Merck, Germany
- Tris (hydroxymethyl) aminomethane จากบริษัท Carlo Erba, Italy

Sodium acetate buffer

- glacial acetic acid จากบริษัท Merck, Germany
- sodium acetate จากบริษัท Emsure®ACS, Germany

Phosphate buffer

- dibasic sodium phosphate จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany
- monobasic sodium phosphate จากบริษัท Carlo Erba, Italy

Others

- Tween 80 (nonionic wetting agent) จากบริษัท Sigma-Aldrich, Germany
- benzopurpurine 4B จากบริษัท Tokyo Kasei Kogyo, Japan
- nonionic wetting agent

3.2 เครื่องมือและอุปกรณ์

1) เครื่องวัดความเป็นกรด–ด่าง (pH tester20, Eutech Instrument)
2) นาฬิกาจับเวลา (Stop watch, Citizen)
3) เครื่องชั่ง (Balance, Mettler Toledo, Model AB 204)
4) เครื่องวัดสี (Macbeth reflectance spectrophotometer, COLOR-EYE 7000)
5) เครื่องย้อม (Laboratory dyeing machine, Labortex)
6) เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge, Model BS-08L, Sorvall)
7) หม้อนึ่งความดัน (Autoclave, Model SX-700, tomy)
8) UV-Visible spectrophotometer (Victor V 1420 Multitable Counter, Perkin Elmer)
9) Heating box (Digital dry bath, Accublock™,Labnet International, Inc.)
10) เครื่องชั่งระบบอินฟราเรด (Infrared Moisture Balance, Model AD-4715)

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การศึกษาภาวะการเลี้ยงเชื้อและสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์

การศึกษาการผลิตมัลติเอนไซม์ประกอบด้วย เพกติเนส ไซแลนเนสและเซลลูเลส จากเชื้อรา *Aspergillus* sp. เพื่อให้ได้สูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย 4 ขั้นตอน คือ 1) การเพาะกล้าเชื้อ 2) การผลิตเอนไซม์ 3) การสกัดเอนไซม์ และ 4) การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ แต่ละขั้นตอนมีรายละเอียดดังนี้

3.3.1.1 การเพาะกล้าเชื้อ

การเพาะกล้าเชื้อ *Aspergillus* sp. สำหรับผลิตมัลติเอนไซม์ทำโดยหมักเชื้อในข้าวสาร 20 กรัม และสารละลายอาหารเหลว 20 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยเพปโตน 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัด 2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) กลูโคส 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) และโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นสกัดสปอร์ด้วยสารละลาย Tween 80 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปริมาณ 50 มิลลิลิตร เพื่อนำไปใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตเอนไซม์ในขั้นตอนต่อไป

3.3.1.2 การผลิตเอนไซม์

การผลิตเอนไซม์นั้น ผู้วิจัยจะหาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ โดยมีขั้นตอนการศึกษาดังนี้

1) ศึกษาผลของภาวะการหมักเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* sp. ต่อแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้ โดยเปรียบเทียบระหว่างภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation, SSF) กับภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (submerged fermentation, SmF) เพื่อคัดเลือกภาวะการเลี้ยงที่เหมาะสมที่สุด เริ่มจากเตรียมอาหารแข็งหรือซับสเตรท (substrate) 5 กรัม ซึ่งประกอบด้วย เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีกากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบหลัก 5 กรัม ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมอาหารเหลวลงไปตามสูตรที่แสดงดังตารางที่ 3.2 ปิดฝาขวดด้วยจุกสำลีและทำการเขย่าผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที วางอาหารเพาะเชื้อให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเติมกล้าเชื้อความเข้มข้นสปอร์ 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C แล้วเก็บตัวอย่างมัลติเอนไซม์เพื่อนำไปวิเคราะห์แอกทิวิตีหลังจากนำไปบ่มเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน โดยการเลี้ยงเชื้อแบบอาหารเหลว (SmF) ระหว่างการบ่มจะเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที ซึ่งจากการศึกษาพบว่าการเพาะเชื้อในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (SmF) มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์สูงกว่าการหมักแบบอาหารแข็งจึงถูกคัดเลือกเพื่อนำไปใช้สำหรับการศึกษาขั้นต่อไป

ตารางที่ 3.2 สูตรอาหารการหมักแบบอาหารแข็งและการหมักแบบอาหารเหลว

ภาวะการหมัก	อาหารแข็ง : สารละลายอาหารเหลว* (กรัม:มิลลิลิตร)
การหมักแบบอาหารแข็ง	1:1
การหมักแบบอาหารเหลว	1:50

หมายเหตุ *สารละลายอาหารเหลวประกอบด้วยเพปโตน 5 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร สารละลายเกลือ 0.25 มิลลิลิตรต่อกรัมของอาหารแข็งและ Trace element 0.01 มิลลิลิตรต่อกรัมของอาหารแข็ง

2) ศึกษาอิทธิผลของชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อที่มาจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่อแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ด้วยการหมักแบบอาหารเหลว (SmF) โดยเตรียมอาหารแข็ง 5 กรัม ตามสูตรที่แสดงในตารางที่ 3.3 ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมสารละลายอาหารเหลวลงไป 50 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบด้วยเพปโตน 5 กรัมต่อลิตร ยีสต์สกัด 5 กรัมต่อลิตร สารละลายเกลือ 0.25 มิลลิลิตรต่อกรัมของอาหารแข็ง และTrace element 0.01 มิลลิลิตรต่อกรัมของอาหารแข็ง จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121°C เป็นเวลา 15 นาที ทิ้ง

อาหารเพาะเชื้อให้เย็นที่อุณหภูมิห้องแล้วเติมกล้าเชื้อความเข้มข้นสปอร์ 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30°C และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที แล้วเก็บตัวอย่างมัลติเอนไซม์เพื่อนำไปวิเคราะห์แอกทิวิตี หลังจากเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 3, 5 และ 7 วัน

ตารางที่ 3.3 สูตรอาหารแข็งจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่ใช้ผลิตเอนไซม์ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (SmF)

อาหารเลี้ยงเชื้อ	อัตราส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อ (กรัม)				
	ซังข้าวโพด	รำข้าว	รำสาลี	กากมันสับปะหลังผสม	กากถั่วเหลือง
สูตรที่ 1 เศษวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรที่มีกากมันสำปะหลังเป็นวัตถุดิบหลัก	0	0	0	5	0
สูตรที่ 2 ซังข้าวโพด	5	0	0	0	0
สูตรที่ 3 รำข้าว	0	5	0	0	0
สูตรที่ 4 รำสาลี	0	0	5	0	0
สูตรที่ 5 ซังข้าวโพด + กากถั่วเหลือง	3.5	0	0	0	1.5
สูตรที่ 6 รำข้าว + กากถั่วเหลือง	0	3.5	0	0	1.5
สูตรที่ 7 รำสาลี + กากถั่วเหลือง	0	0	3.5	0	1.5

3) ศึกษาผลของการเติมธาตุอาหารอื่นๆ ที่ใช้สำหรับการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp. ต่อการผลิตมัลติเอนไซม์โดยมีสูตรอาหารในชุดควบคุมคือ ชุดการทดลองที่ประกอบด้วยรำสาลี 5 กรัม ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และเติมสารละลายอาหารเหลวดังที่กล่าวไปในข้อ 2 ลงไป 50 มิลลิลิตร โดยทำการศึกษาชนิดและปริมาณของธาตุอาหารอื่นๆ เพิ่มเติมดังนี้

3.1) ศึกษาผลของการเติมน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้น 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

3.2) ศึกษาผลของปริมาณแหล่งไนโตรเจนอื่นๆ เปรียบเทียบกับชุดการทดลองควบคุมคือ อาหารที่เติมเพปโตนและยีสต์สกัดอย่างละ 5 กรัม/ลิตร ดังนี้

3.2.1) แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_3)_2SO_4$ ปริมาณ 0.1, 0.3 และ 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

3.2.2) ยูเรีย (CH_4NO_2) ปริมาณ 0.3, 1.0 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

3.3) ศึกษาผลของปริมาณเพปโตนและยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อและอัตราส่วนระหว่างสารทั้งสอง ได้แก่ อัตราส่วนระหว่างเพปโตนและยีสต์สกัดที่ 5 ต่อ 5, 5 ต่อ 2.5, 5 ต่อ 1, 2.5 ต่อ 5, 2.5 ต่อ 2.5, 2.5 ต่อ 1, 1 ต่อ 5, 1 ต่อ 2.5 และ 1 ต่อ 1 กรัมต่อลิตร และสูตรที่ไม่เติมทั้งเพปโตนและยีสต์สกัด

3.4) ศึกษาผลของการเติม Tween 80 ความเข้มข้น 0.05, 0.1, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

3.5) ศึกษาผลของธาตุอาหารจำพวกเกลือได้แก่ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจน-ฟอสเฟส (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่อัตราส่วน KH_2PO_4 ต่อ KCl ในปริมาณที่ต่างกัน ดังนี้ 0.08 ต่อ 0.015, 0.16 ต่อ 0.015, 0.24 ต่อ 0.015, 0.08 ต่อ 0.03, 0.16 ต่อ 0.03, 0.024 ต่อ 0.003, 0.08 ต่อ 0.06, 0.016 ต่อ 0.06, และ 0.24 ต่อ 0.06 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

4) ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp. ต่อการผลิตมัลติเอนไซม์

4.1) ศึกษาผลของอุณหภูมิ ค่าพีเอช และความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่มีผลต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ โดยใช้ภาวะการเลี้ยงที่แตกต่างกันดังนี้

4.1.1) อุณหภูมิ 30 และ 35°C

4.1.2) ความเร็วรอบของเครื่องเขย่า 100 และ 200 รอบต่อนาที

4.1.3) ค่าพีเอช ได้แก่ 5, 6 และ 7

4.2) อัตราส่วนระหว่าง รำข้าวสาลีต่อปริมาณน้ำ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ได้แก่ 1 ต่อ 10, 1 ต่อ 15, 1 ต่อ 20 และ 1 ต่อ 25

3.3.1.3 การสกัดเอนไซม์

หลังจากบ่มเชื้อเป็นเวลา 7 วันแล้ว ทำการกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกสารละลายเอนไซม์ออกจากกากอาหาร จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 8,000 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 4°C เป็นเวลา 10 นาที เพื่อแยกเซลล์และกากอาหาร แล้วจึงนำมากรองด้วยกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน เพื่อแยกเซลล์เชื้อราหรือสปอร์ราที่มีขนาดเล็กออกจากสารละลายเอนไซม์

3.3.1.4 การเพิ่มความเข้มข้นของเอนไซม์ด้วยวิธีการกรองแบบไหลขวาง (Cross Flow Filtration)

นำสารละลายเอนไซม์ที่ได้มาจากการสกัดมาทำให้เข้มข้นขึ้น 10 เท่าโดยปริมาตร โดยการกรองแบบไหลขวางโดยใช้ชุดกรองแบบ Tangential Flow Filtration (TFF) ที่มีขนาดรูพรุนของแผ่นกรองเท่ากับ 10 กิโลดาลตัน (kDa) (Minimate Tangentail Flow Filtration capsule, USA) โดยใช้ความดันขาเข้าคงที่ที่ 1 บาร์ (bar)

3.3.2 การวัดวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์และการศึกษาภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์

3.3.2.1 การวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์

1) เอนไซม์เพกติเนส

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 25 และ 50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายกลูโคสแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเพกติน 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่ละลายในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.5 ปริมาณ 320 ไมโครลิตร แล้วทำการเติมสารละลาย 3, 5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 680 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วแช่น้ำแข็งให้เย็น ก่อนที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสง

จากนั้นทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนส โดยบ่มสารละลายเพกตินเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.5 ปริมาณ 320 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมมัลติเอนไซม์ลงไป 20 ไมโครลิตร บ่มอีก 10 นาที จากนั้นหยุดแอกทิวิตีของเอนไซม์โดยเติมสารละลาย 3, 5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 680 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาแล้วแช่น้ำแข็งให้เย็น ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการทำงานของเอนไซม์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

2) เอนไซม์ไซแลนเนส

เตรียมสารละลายไซโลสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 25 และ 50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายไซโลสแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายไซแลนเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลาย

โซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.5 ปริมาณ 320 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย 3, 5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 680 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วแช่น้ำแข็งให้เย็น ก่อนที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายไซโลสแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซโลสและค่าการดูดกลืนแสง

ทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์ โดยบ่มสารละลายสารละลายไซโลสเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.5 ปริมาณ 320 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมมัลติเอนไซม์ลงไป 20 ไมโครลิตร บ่มอีก 10 นาที จากนั้นหยุดแอกทิวิตีของเอนไซม์โดยเติมสารละลาย 3, 5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 680 ไมโครลิตร เขย่าผสมให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาแล้วแช่น้ำแข็งให้เย็น ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลไซโลสที่เกิดขึ้นจากการทำงานของเอนไซม์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

3) เอนไซม์เซลลูเลส

เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น 0, 2.5, 5, 10, 25 และ 50 ไมโครโมลต่อมิลลิลิตร ดูดสารละลายกลูโคสแต่ละความเข้มข้นปริมาณ 20 ไมโครลิตร ลงในหลอดขนาด 1.5 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเซลลูโลสเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.5 ปริมาณ 320 ไมโครลิตร แล้วเติมสารละลาย 3, 5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 680 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที แล้วแช่น้ำแข็งให้เย็น ก่อนที่จะวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายกลูโคสแต่ละความเข้มข้นด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำมาเขียนกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสและค่าการดูดกลืนแสง

ทดสอบแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส โดยการบ่มสารละลายสารละลายเซลลูโลสเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.5 ปริมาณ 320 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 10 นาที แล้วเติมมัลติเอนไซม์ลงไป 20 ไมโครลิตร บ่มอีก 10 นาที จากนั้นแอกทิวิตีของเอนไซม์โดยเติมสารละลาย 3, 5 – Dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 680 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยาแล้วแช่น้ำแข็งให้เย็น ก่อนที่จะนำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจากการทำงานของเอนไซม์ โดยวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

3.3.2.2 การศึกษาลักษณะสมบัติของมัลติเอนไซม์

การศึกษาลักษณะสมบัติของมัลติเอนไซม์นั้นจะศึกษาเฉพาะเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส เนื่องจากเป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ในการกำจัดสิ่งสกปรกของเส้นใยสับประรด โดยทำการศึกษาปัจจัยต่างๆ ดังนี้ 1) อุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของมัลติเอนไซม์ 2) อุณหภูมิและพีเอชที่มีผลต่อความเสถียรของมัลติเอนไซม์ในภาวะการใช้งาน และ 3) ผลของสารลดแรงตึงผิวต่อความเสถียรในการทำงานของมัลติเอนไซม์

1) ศึกษาผลของอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของมัลติเอนไซม์

1.1) ผลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์

ทำการทดสอบหาแอกทิวิตีของเอนไซม์ที่อุณหภูมิต่างๆ โดยการบ่มสารละลายไซโลสเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับเอนไซม์ไซแลนเนส และสารละลายเพกตินเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับเอนไซม์เพกติเนสในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 5.5 ที่อุณหภูมิต่างๆกันได้แก่ 30, 40, 50, 60 และ 70°C เป็นเวลา 10 นาที และวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ได้กล่าวไปในข้อ 3.3.2.1

1.2) ผลของค่าพีเอชต่อการทำงานของเอนไซม์

การทดสอบหาแอกทิวิตีของเอนไซม์ที่ค่าพีเอชต่างๆ โดยการบ่มสารละลายไซโลสเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับเอนไซม์ไซแลนเนส และสารละลายเพกตินเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับเอนไซม์เพกติเนสปริมาณ 320 ไมโครลิตร ที่อุณหภูมิ 50°C ในสารละลายบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่มีค่าพีเอชได้แก่ สารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์สำหรับพีเอช 3, 4, 5 และ 6 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์สำหรับพีเอช 6, 7 และ 8 และสารละลายทริสไฮโดร-คลอริกบัฟเฟอร์สำหรับพีเอช 8 และ 9 บ่มเป็นเวลา 10 นาที และวัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ที่ได้กล่าวไปในข้อ 3.3.2.1

2) ศึกษาผลของอุณหภูมิและพีเอชต่อความเสถียรของมัลติเอนไซม์ในภาวะการทำงาน

ในขั้นตอนนี้ทำโดยนำเอนไซม์มาบ่มในช่วงอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานซึ่งได้จากข้อ 1.1) และ 1.2) เป็นเวลาตั้งแต่ 0, 15, 30, 60 และ 120 นาที แล้วนำเอนไซม์มาวัดค่าแอกทิวิตีและวิเคราะห์ผลต่อไป

3) ผลของสารลดแรงตึงผิว (Tween 80) ต่อความเสถียรในการทำงานของมัลติเอนไซม์

ขั้นตอนนี้จะศึกษาผลของการเติม Tween 80 เพื่อเพิ่มความเสถียรของเอนไซม์ โดยศึกษาที่ช่วงอุณหภูมิและพีเอชที่ทำให้เอนไซม์มีความเสถียรมากที่สุด ซึ่งได้จากการศึกษาในขั้นตอนที่ 2) โดยทำการเติม Tween 80 ลงไปในมัลติเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 0.1, 0.5 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการบ่มเอนไซม์เป็นเวลาตั้งแต่ 0, 30, 60 และ 120 นาที แล้วนำ

เอนไซม์มาวัดค่าแอกทิวิตีและวิเคราะห์ผล โดยภาวะที่ทำให้เอนไซม์มีความเสถียรมากที่สุดจะถูกนำไปใช้สำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด

3.3.3 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด

3.3.3.1 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยสารเคมี

การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายด้วยสารเคมี เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยเคมี เริ่มจากนำเส้นด้ายมาทรีตด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นตั้งแต่ 0.05-0.25 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v) ใช้สารช่วยเปียกความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนระหว่างเส้นด้ายต่อสารละลายทั้งหมด 1 ต่อ 25 ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 15–60 นาที แสดงดังตารางที่ 3.4 แล้วนำมาล้างด้วยน้ำร้อนจนกระทั่งเส้นด้ายมีค่าพีเอชเป็นกลาง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 3.4 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้น 0.05-0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 10-60 นาที

สูตร	ความเข้มข้น NaOH (%w/v)	เวลา (นาที)
1	0.05	60
2	0.10	60
3	0.15	60
4	0.20	60
5	0.25	60
6	0.20	10
7	0.20	15
8	0.20	30
9	0.20	45

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.3.2 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์

การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายด้วยมัลติเอนไซม์ เพื่อหาภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก เริ่มจากนำเส้นด้ายมาทรีตด้วยมัลติเอนไซม์ที่ความเข้มข้นตั้งแต่ 10-100 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (%w/v) ใช้สารช่วยเปียกความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนระหว่างเส้นด้ายต่อสารละลายทั้งหมด 1 ต่อ 50 ที่อุณหภูมิ 50°C พีเอช 4 เป็นเวลา 30-120 นาที แสดงดังตารางที่ 3.5 หลังจากนั้นนำเส้นด้ายมาต้มในน้ำด่างพีเอช 12 เพื่อหยุดการทำงานของเอนไซม์ เป็นเวลา 10 นาที ก่อนล้างด้วยน้ำสะอาดจนค่าพีเอชเป็นกลาง ทิ้งให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 3.5 การกำจัดสิ่งสกปรกเส้นด้ายสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 10-100 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30-120 นาที

สูตร	ความเข้มข้นมัลติเอนไซม์ (%w/v)	เวลา (นาที)
1	100	120
2	75	120
3	50	120
4	25	120
5	20	120
6	10	120
7	20	30
8	20	45
9	20	60
10	20	90

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

3.3.3.3 การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วย Blank Treatment

การกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายด้วย blank treatment เพื่อศึกษาความสามารถในการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยสารช่วยเปียก โดยนำเส้นด้ายมาทรีตด้วยสารละลายสารช่วยเปียกความเข้มข้น 4 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนระหว่างเส้นด้ายต่อสารละลายทั้งหมด 1 ต่อ 50 ที่อุณหภูมิ 50°C พีเอช 4 เป็นเวลา 60 นาที

3.3.4 การวิเคราะห์สมบัติของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรก

3.3.4.1 การทดสอบหาน้ำหนักของเส้นด้ายที่หายไป

การทดสอบหาน้ำหนักเส้นด้ายที่หายไปเพื่อดูปริมาณสิ่งสกปรกในเส้นด้ายใยสับปะรดที่ถูกกำจัดออกไปทำตามมาตรฐานการทดสอบ ASTM 3776 โดยนำเส้นด้ายก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกไปชั่งน้ำหนักแบบอบไล่ความความชื้นด้วยเครื่องชั่งระบบอินฟราเรดที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 5 นาที แล้วคำนวณหาร้อยละของน้ำหนักด้ายที่หายไปตามสมการที่ (1) ทำการทดสอบทั้งหมด 3 ซ้ำ

$$\text{น้ำหนักเส้นด้ายที่หายไป (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{(W_1 - W_2)}{W_1} \times 100 \qquad \text{สมการที่ (1)}$$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักเส้นด้ายแห้งก่อนการกำจัดสิ่งสกปรก (กรัม)

W_2 = น้ำหนักเส้นด้ายแห้งหลังการกำจัดสิ่งสกปรก (กรัม)

3.3.4.2 การทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำของเส้นด้าย

เส้นด้ายหลังผ่านการกำจัดสิ่งปรกจะถูกนำมาทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำเพื่อตรวจสอบประสิทธิภาพของการกำจัดสิ่งสกปรกที่ไม่ชอบน้ำออกจากเส้นด้าย ซึ่งการทดสอบดำเนินการตามมาตรฐานการทดสอบ AATCC Test Method 79-2000 โดยหยดน้ำลงบนเส้นด้ายแล้วจับเวลาจนกระทั่งน้ำซึมลงในเส้นด้ายจนหมด ทำการทดสอบทั้งหมด 5 ซ้ำ เส้นด้ายหลังผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกควรดูดซึมน้ำทันทีและสม่ำเสมอทั่วทั้งเส้นด้าย

3.3.4.3 การวัดค่าดัชนีความเหลือง (yellowness index) ของเส้นด้าย

เส้นด้ายก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกจะถูกวัดดัชนีค่าความเหลือง (yellowness index, YI) ดำเนินการตามมาตรฐานการทดสอบ ASTM E313 ซึ่งเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกควรจะสะอาดขึ้นและมีค่าความเหลืองลดลง

3.3.4.4 การทดสอบความสามารถในการย้อมติดสี

เส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยสารเคมีและด้วยมัลติเอนไซม์ จะถูกนำมาย้อมด้วย Benzopurpurine 4B (pure direct dye) ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อน้ำหนักเส้นด้าย ที่อุณหภูมิ 95°C อัตราส่วนระหว่างเส้นด้ายต่อสารละลาย 1 ต่อ 30 เป็นเวลา 45 นาที หลังจากนั้นล้างด้วยน้ำสะอาดและทิ้งให้แห้งในอากาศ ก่อนนำมาทดสอบหาค่าความเข้มสี (color strength, K/S) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร และเฉดสี (L^*, a^*, b^*) ด้วยเครื่อง Macbeth reflectance spectrophotometer

K/S คือ ค่าความเข้มสี ถ้ามีค่าสูงแสดงว่าเส้นด้ายมีสีเข้ม ซึ่งค่าความเข้มสีสามารถคำนวณได้จาก Kubelka Munk equation ดังสมการที่ (2)

ความเข้มของสี $(K/S) = \frac{(1-R)^2}{2R}$ สมการที่ (2)

เมื่อ K = สัมประสิทธิ์การดูดกลืนแสง

S = สัมประสิทธิ์การกระจายตัวของแสง

R = reflectance factor ของเส้นด้าย ณ ความยาวคลื่นที่มีการดูดกลืนสูงที่สุด

L^* หรือ Lightness คือ ค่าแสดงความสว่างของสี ถ้าเส้นด้ายมีค่า L^* สูง แสดงว่าเส้นด้ายมีสีสว่างกว่าเส้นด้ายที่มีค่า L^* ต่ำ

a^* คือ ค่าแสดงเฉดสี โดยถ้า a^* มีค่าเป็นบวกจะมีเฉดสีแดง และถ้า a^* มีค่าเป็นลบจะมีเฉดสีเขียว

b^* คือ ค่าแสดงเฉดสี โดยถ้า b^* มีค่าเป็นบวกจะมีเฉดสีเหลือง และถ้า b^* มีค่าเป็นลบจะมีเฉดสีน้ำเงิน

3.3.4.5 ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนของเส้นด้าย

การวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของสิ่งสกปรกของเส้นด้าย ประกอบด้วย เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน ดำเนินตามวิธีของ Goering and Van Soest [44] เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพของกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก

3.3.4.6 ความต้านทานแรงดึงขาดและระยะยืดตัวก่อนจุดขาด

ความต้านทานแรงดึงขาดและระยะยืดตัวก่อนจุดขาดดำเนินการตามมาตรฐานการทดสอบผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม มอก. 121 เล่ม 8 -2553 โดยเตรียมตัวอย่างเส้นด้ายยาวขนาด 50 มิลลิเมตร ใช้ load cell ขนาด 100 นิวตัน ระยะทดสอบ (gage length) 250 มิลลิเมตร อัตราเร็วของระยะยืด 250 มิลลิเมตรต่อนาที

ความต้านทานต่อแรงดึงขาดของเส้นด้าย จะถูกรายงานโดยค่าความเหนียว (tenacity) ซึ่งคำนวณจากค่าแรงดึงขาดของเส้นด้ายต่อขนาดของเส้นด้าย ดังสมการที่ (3)

$$\text{ความเหนียว (tenacity)} = \frac{\text{แรงดึงขาด } (\text{กรัม})}{\text{ขนาดเส้นด้าย } (\text{เท็กซ์})} \quad \text{สมการที่ (3)}$$

3.3.4.7 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใย

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรก ทดสอบด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (scanning electron microscope, SEM) ที่ศักย์ไฟฟ้า 10 กิโลโวลต์ และกำลังขยายในการทดสอบ 500 เท่า

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

การทดลองในงานวิจัยนี้ประกอบด้วย การศึกษาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp. เพื่อผลิตมัลติเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเพกติเนสและไซแลนเนสสูง และแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสต่ำสำหรับกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้มัลติเอนไซม์ การศึกษาภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกของเส้นด้ายด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์ และการศึกษาสมบัติของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์เทียบกับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ซึ่งผลการศึกษาเป็นดังนี้

4.1 ผลการศึกษาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตมัลติเอนไซม์

4.1.1 ผลการเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp. ในภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation, SSF) และการหมักแบบอาหารเหลว (submerged fermentation, SmF)

ตารางที่ 4.1 แอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ในภาวะการหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation, SSF) และการหมักแบบอาหารเหลว (submerged fermentation, SmF)

เอนไซม์	ภาวะหมัก	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท) ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อรา		
		3วัน	5 วัน	7 วัน
เพกติเนส	SSF	68.42 ± 7.86	87.93 ± 2.29	73.79 ± 23.74
	SmF	97.16 ± 1.83	111.58 ± 3.19	114.66 ± 7.48
เซลลูเลส	SSF	37.14 ± 1.36	39.03 ± 1.63	40.35 ± 4.96
	SmF	22.74 ± 2.25	66.69 ± 8.06	89.45 ± 7.41
ไซแลนเนส	SSF	66.55 ± 0.40	72.00 ± 2.04	60.47 ± 5.9
	SmF	29.19 ± 1.52	81.00 ± 12.00	147.72 ± 14.52

จากค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลสและไซแลนเนส ดังแสดงในตารางที่ 4.1 พบว่าการเลี้ยงเชื้อราในภาวะการหมักแบบอาหารเหลวหรือ SmF จะสามารถผลิตมัลติเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีต่อปริมาณอาหารที่เลี้ยงเชื้อ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท) สูงกว่าภาวะการหมักแบบอาหารแข็งหรือ SSF แสดงให้เห็นว่าหากใช้อาหารเลี้ยงเชื้อในปริมาณเท่ากัน ในภาวะ SmF จะมีประสิทธิภาพในการผลิต

เอนไซม์มากกว่า โดยระยะเวลาการเพาะเลี้ยงเชื้อราที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์ในภาวะ SmF คือ 7 วัน ที่ทำให้สามารถผลิตมัลติเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนสเท่ากับ 114.66, 89.45 และ 147.73 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท (U/g substrate) และเป็นเวลาที่มากเพียงพอเนื่องจากโดยปกติจะเลี้ยงเชื้อราราว 5-7 วัน

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.1.2 ผลของชนิดอาหารเลี้ยงเชื้อจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (SmF)

ตารางที่ 4.2 แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนสในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (submerged fermentation, SmF)

เอนไซม์	อาหารเลี้ยงเชื้อ	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท) ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อรา		
		3 วัน	5 วัน	7 วัน
เพกติเนส	สูตรที่ 1 กากมันสำปะหลังผสม	97.16 ± 1.83	111.58 ± 3.19	114.66 ± 7.48
	สูตรที่ 2 ซังข้าวโพด	29.97 ± 2.88	48.98 ± 5.40	42.08 ± 2.13
	สูตรที่ 3 รำข้าว	154.76 ± 4.32	105.90 ± 0.51	109.02 ± 4.40
	สูตรที่ 4 รำสาลี	181.82 ± 2.93	127.65 ± 0.11	122.26 ± 4.48
	สูตรที่ 5 ซังข้าวโพดผสมถั่วเหลือง	28.34 ± 5.67	119.84 ± 23.96	119.65 ± 23.93
	สูตรที่ 6 รำข้าวผสมถั่วเหลือง	104.19 ± 20.84	102.03 ± 20.41	101.58 ± 20.32
	สูตรที่ 7 รำสาลีผสมถั่วเหลือง	145.07 ± 29.01	126.76 ± 25.35	144.84 ± 28.97
เซลลูเลส	สูตรที่ 1 กากมันสำปะหลังผสม	22.74 ± 2.25	66.69 ± 8.06	119.01 ± 8.60
	สูตรที่ 2 ซังข้าวโพด	48.63 ± 1.63	81.28 ± 5.97	122.45 ± 20.29
	สูตรที่ 3 รำข้าว	50.24 ± 0.39	136.55 ± 5.15	224.45 ± 4.74
	สูตรที่ 4 รำสาลี	69.16 ± 0.27	235.93 ± 9.31	226.15 ± 7.14
	สูตรที่ 5 ซังข้าวโพดผสมถั่วเหลือง	93.72 ± 0.15	249.23 ± 21.35	262.03 ± 22.76
	สูตรที่ 6 รำข้าวผสมถั่วเหลือง	34.54 ± 12.80	120.20 ± 6.26	137.66 ± 3.42
	สูตรที่ 7 รำสาลีผสมถั่วเหลือง	94.01 ± 15.08	290.31 ± 12.73	301.79 ± 17.73
ไซแลนเนส	สูตรที่ 1 กากมันสำปะหลังผสม	29.19 ± 1.52	81.00 ± 12.0	139.68 ± 8.13
	สูตรที่ 2 ซังข้าวโพด	60.65 ± 12.13	128.12 ± 25.62	138.45 ± 27.69
	สูตรที่ 3 รำข้าว	36.22 ± 7.24	92.64 ± 18.53	397.93 ± 79.59
	สูตรที่ 4 รำสาลี	153.51 ± 30.70	477.51 ± 95.5	767.01 ± 153.4
	สูตรที่ 5 ซังข้าวโพดผสมถั่วเหลือง	229.07 ± 45.81	486.44 ± 97.29	819.18 ± 163.8
	สูตรที่ 6 รำข้าวผสมถั่วเหลือง	38.13 ± 7.63	110.99 ± 22.20	156.63 ± 31.33
	สูตรที่ 7 รำสาลีผสมถั่วเหลือง	209.86 ± 41.97	463.42 ± 92.68	660.09 ± 132.0

จากการเพาะเลี้ยงเชื้อราด้วยอาหารสูตรต่างๆ เพื่อเลือกสูตรอาหารสำหรับผลิตมัลติเอนไซม์ พบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่สามารถผลิตเอนไซม์เพกทิเนสที่มีแอกทิวิตีสูงสุดคือ สูตรที่ 4 รำสาลี ในช่วงเวลาการหมัก 3 วัน โดยมีค่าแอกทิวิตี 181.82 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท สูตรอาหารที่ผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสที่มีแอกทิวิตีสูงที่สุดคือ สูตรที่ 5 ซังข้าวโพดผสมถั่วเหลือง และอันดับที่สองคือ สูตรที่ 4 รำสาลี โดยใช้เวลาการหมัก 7 วัน ซึ่งให้ค่าแอกทิวิตี 819.18 และ 767.01 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท ตามลำดับ

โดยในการเลือกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมจะพิจารณาจากสูตรที่ให้เอนไซม์ไซแลนเนสที่มีแอกทิวิตีสูงก่อน เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่ช่วยกำจัดเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นสิ่งสกปรกที่มากที่สุดในเส้นด้ายใยสับปะรด แล้วจึงเลือกสูตรที่ให้แอกทิวิตีของเพกติเนสสูง และเซลลูเลสต่ำ โดยในการศึกษานี้ได้เลือกอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 4 รำสาลีเวลาในการเลี้ยงเชื้อรา 7 วัน ในการผลิตมัลติ-เอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของไซแลนเนส 767.01 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท เพกติเนส 122.26 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท และเซลลูเลส 226.15 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท ถึงแม้ว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรที่ 5 ซังข้าวโพดผสมถั่วเหลืองจะสามารถผลิตเอนไซม์ไซแลนเลสที่ให้แอกทิวิตีได้สูงกว่าสูตรที่ 4 ประมาณ 6.8 เปอร์เซ็นต์ แต่สูตรนี้จะผลิตเอนไซม์เพกติเนสได้น้อยกว่า 2.13 เปอร์เซ็นต์ และผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพิ่มขึ้นถึง 15.87 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเซลลูเลสสูงเกินไปจะทำให้เอนไซม์เซลลูเลสทำลายโครงสร้างหลักของเซลลูโลสในเส้นด้ายใยสับปะรดและทำให้ความแข็งแรงของเส้นด้ายลดลงได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.1.3 ผลของการใช้ธาตุอาหารต่างๆ และสารลดแรงตึงผิวสำหรับการเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตมัลติเอนไซม์

4.1.3.1 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดกลูโคส

ตารางที่ 4.3 ผลของน้ำตาลกลูโคสต่อการผลิตมัลติเอนไซม์

เอนไซม์	ความเข้มข้นกลูโคส (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
เพกติเนส	ไม่มี	7	123.05 ± 0.87
	0.5	7	113.25 ± 8.56
	1.0	7	114.65 ± 1.53
	2.0	7	105.03 ± 7.22
	3.0	7	103.91 ± 9.64
เซลลูเลส	ไม่มี	7	312.57 ± 9.00
	0.5	7	281.04 ± 13.01
	1.0	7	288.07 ± 7.72
	2.0	7	273.66 ± 13.11
	3.0	7	275.88 ± 3.61
ไซแลนเนส	ไม่มี	7	743.39 ± 23.47
	0.5	7	687.46 ± 17.81
	1.0	7	636.79 ± 2.13
	2.0	7	579.88 ± 48.44
	3.0	7	593.20 ± 14.20

เมื่อศึกษาผลของการให้น้ำตาลกลูโคสในการเลี้ยงเชื้อราต่อแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้ ดังตารางที่ 4.3 พบว่าการเติมน้ำตาลกลูโคสลงไปจะส่งผลให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสลดลงอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่จะส่งผลให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสมีแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งในผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส ซึ่งเป็นผลเนื่องมาจากน้ำตาลกลูโคสเข้าไปยับยั้งการผลิตเอนไซม์ของเชื้อราหรือเกิดภาวะที่เรียกว่า catabolite repression process คือการยับยั้งการสร้างเอนไซม์ที่ใช้สำหรับย่อยสลายสารประกอบคาร์บอนที่มีโครงสร้างโมเลกุลที่ซับซ้อน ดังนั้นกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและมีขนาดเล็ก เชื้อราจึงเลือกใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงานเพราะดูดซึมได้ง่าย เมื่อกลูโคสหมดแล้วจึงสร้าง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

เอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับการย่อยแหล่งคาร์บอนที่มีความซับซ้อนมากขึ้นมาเป็นแหล่งพลังงาน [45] ทั้งนี้ไซแลนในเฮมิเซลลูโลสมีองค์ประกอบของธาตุคาร์บอนในกลุ่มของน้ำตาลไซโลสเป็นหลัก จึงเห็นได้ว่าเมื่อเติมกลูโคสในปริมาณมากขึ้นการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส จึงมีแนวโน้มลดลงมากกว่าเอนไซม์เพกติเนสและเซลลูเลส

4.1.3.2 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดแอมโมเนียมซัลเฟตและยูเรีย

ตารางที่ 4.4 ผลของการเติมอาหารที่ให้ธาตุอาหารไนโตรเจนต่อการผลิตมัลติเอนไซม์

เอนไซม์	แหล่งไนโตรเจน	ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาการเลี้ยงที่ให้แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตี (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
เพกติเนส	ไม่มี	0	7	110.16 ± 3.24
	แอมโมเนียมซัลเฟต	0.1	7	104.45 ± 3.90
		0.3	7	112.38 ± 7.03
		0.5	7	97.85 ± 0.60
	ยูเรีย	0.3	5	122.11 ± 2.06
		1.0	5	137.67 ± 12.96
		2.0	7	99.78 ± 2.79
เซลลูเลส	ไม่มี	0	7	435.81 ± 17.80
	แอมโมเนียมซัลเฟต	0.1	7	397.53 ± 2.75
		0.3	7	384.19 ± 9.89
		0.5	7	396.13 ± 3.16
	ยูเรีย	0.3	7	398.47 ± 13.92
		1.0	7	425.46 ± 10.35
		2.0	7	454.85 ± 19.79
ไซแลนเนส	ไม่มี	0	7	816.96 ± 39.96
	แอมโมเนียมซัลเฟต	0.1	7	728.05 ± 15.36
		0.3	7	718.57 ± 22.64
		0.5	7	723.58 ± 4.98
	ยูเรีย	0.3	7	692.27 ± 30.79
		1.0	7	768.34 ± 1.35
		2.0	7	441.12 ± 17.20

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากผลของการให้ธาตุอาหารไนโตรเจนในการเลี้ยงเชื้อราต่อแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้ ดังตารางที่ 4.4 แสดงให้เห็นว่าการให้แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_3)_2SO_4$) จะไม่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะส่งผลให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส และไซแลนเนสลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการให้ยูเรีย (Urea) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 0.1 และ 0.3 เปอร์เซ็นต์ จะส่งให้เอนไซม์เพกติเนสมีแน้วโน้มเพิ่มสูงขึ้นอย่างไม่มีนัยสำคัญ แต่การให้ยูเรียในปริมาณเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้เอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสมีแนวโน้มลดลงมากขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นการเติมสารทั้งสองชนิดนี้จึงไม่ได้ช่วยให้เพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตมัลติเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส

4.1.3.3 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดเพปโตนและยีสต์สกัด

ตารางที่ 4.5 ผลของการเติมเพปโตนและยีสต์สกัดต่อการผลิตมัลติเอนไซม์

ความเข้มข้นธาตุอาหาร (กรัมต่อลิตร)		ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)		
เพปโตน	ยีสต์สกัด	(วัน)	เพกติเนส	เซลลูเลส	ไซแลนเนส
5	5	7	143.34 ± 5.88	471.54 ± 13.67	718.43 ± 21.53
2.5	5	7	149.21 ± 3.59	429.58 ± 4.53	713.85 ± 31.39
2.5	2.5	7	142.43 ± 3.59	433.93 ± 22.06	669.36 ± 56.85
2.5	1	7	141.32 ± 8.77	429.59 ± 10.07	683.81 ± 52.72
1	5	7	144.99 ± 7.73	427.11 ± 6.51	685.02 ± 7.09
1	2.5	7	135.44 ± 2.95	433.79 ± 11.30	668.87 ± 33.08
1	1	7	137.64 ± 0.49	429.04 ± 5.05	656.37 ± 13.08
ไม่มี	ไม่มี	7	133.33 ± 3.38	401.75 ± 7.94	619.08 ± 1.50

ผลของการให้เพปโตนและยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อราต่อแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้แสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าการเติมเพปโตนและยีสต์สกัดในปริมาณที่ต่างกัน จะส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์เพกติเนสและเซลลูเลสเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าแอกทิวิตีอยู่ในช่วง 133.33-149.21 และ 401.75-471.54 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท ตามลำดับ แต่การเติมเพปโตนต่อยีสต์สกัดที่สัดส่วน 2.5 ต่อ 5 และ 5 ต่อ 5 กรัม/ลิตร จะสามารถผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสที่มีแอกทิวิตีสูงที่สุด ซึ่งมีค่าประมาณ 713.85 และ 718.43 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท ตามลำดับ และจากการวิเคราะห์ค่าแอกทิวิตี

ของเอนไซม์ทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าการเติมยีสต์สกัดที่ปริมาณ 5 กรัม จะส่งผลให้แอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ แต่การเติมเพปโตนที่ปริมาณต่างๆ จะไม่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นสูตรอาหารที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์คือ สูตรที่เติมเพปโตน 2.5 กรัม และยีสต์สกัด 5 กรัม ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเพกติเนสและไซแลนเนสได้สูง ซึ่งใช้เพปโตนน้อยกว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมเพปโตนต่อยีสต์สกัดที่สัดส่วน 5 ต่อ 5 และสูตรนี้ยังให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสต่ำกว่าด้วย

การเปรียบเทียบกับสูตรอาหารที่มีการเติมเพปโตนต่อยีสต์สกัดที่สัดส่วน 2.5 ต่อ 5 และสูตรอาหารที่ไม่เติมเพปโตนและยีสต์สกัด จะสังเกตเห็นว่าการเติมเพปโตนและยีสต์สกัดจะส่งผลให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนสเพิ่มขึ้น 11.91, 6.93 และ 15.31 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ เนื่องจากเพปโตนและยีสต์สกัดประกอบด้วยกรดแอมิโนที่เชื้อราสามารถดูดซึมไปใช้ได้โดยตรงทำให้เชื้อราเจริญได้ดีและผลิตเอนไซม์ออกมาได้มากขึ้น [46]

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.1.3.4 ผลของการใช้สารลดแรงตึงผิวชนิด Tween 80

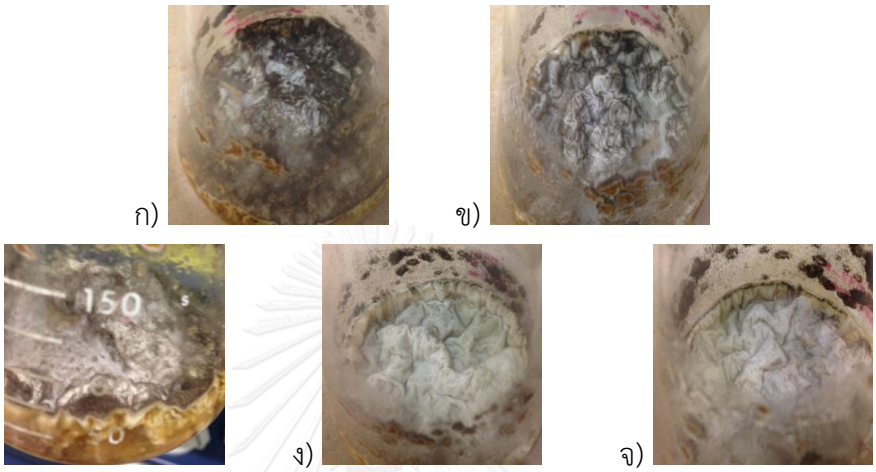
ตารางที่ 4.6 ผลของ Tween 80 ต่อการผลิตมัลติเอนไซม์

เอนไซม์	ความเข้มข้น (เปอร์เซ็นต์)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
เพกติเนส	ไม่เติม	7	137.34 ± 3.66
	0.05	7	137.21 ± 12.40
	0.1	7	138.72 ± 1.47
	0.5	7	142.80 ± 2.65
	1.0	7	144.81 ± 10.13
เซลลูเลส	ไม่เติม	7	449.43 ± 11.09
	0.05	9	458.27 ± 4.96
	0.1	9	486.98 ± 14.02
	0.5	9	318.24 ± 1.21
	1.0	9	321.15 ± 5.43
ไซแลนเนส	ไม่เติม	7	597.38 ± 5.97
	0.05	9	611.93 ± 13.07
	0.1	9	619.69 ± 37.01
	0.5	9	631.75 ± 7.61
	1.0	9	636.75 ± 31.38

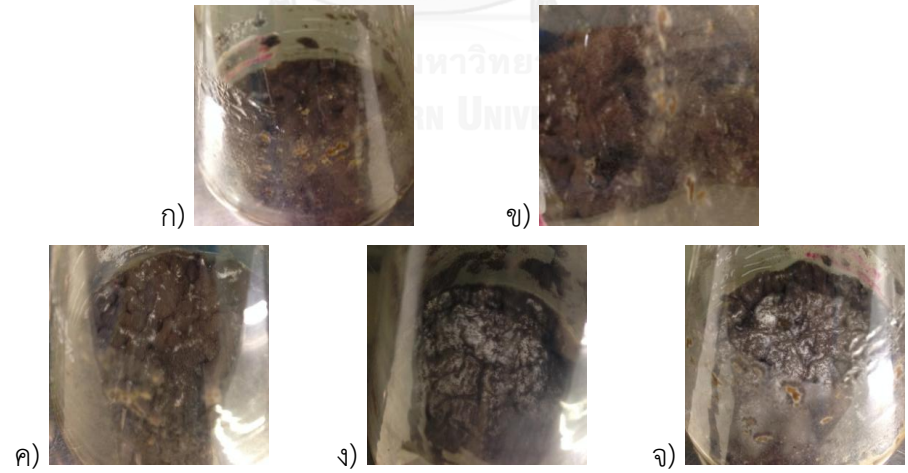
ผลของการเติม Tween 80 ต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ที่แสดงในตารางที่ 4.6 พบว่าการเติม Tween 80 ในปริมาณมากขึ้น จะส่งผลให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่ได้เพิ่มสูงขึ้นมากนัก นอกจากนี้ การเติม Tween 80 จะทำให้การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสต้องใช้ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อรานานขึ้นคือ หากไม่เติม Tween 80 จะใช้เวลาเพาะเลี้ยงเชื้อราเพียง 7 วัน แต่หากมีการเติม Tween 80 ลงไป จะต้องเพาะเลี้ยงเชื้อรานานถึง 9 วัน จึงจะได้เอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีสูงขึ้น โดยหากเปรียบเทียบค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์แต่ละสูตรในวันที่มีค่าแอกทิวิตีสูงที่สุดพบว่า เมื่อเติม Tween 80 จะทำให้แอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ แต่แอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจะแนวโน้มลดลงอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ หากเติม

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

Tween 80 ในปริมาณที่มากขึ้น ทั้งนี้เป็นผลเนื่องมาจากการเติม Tween 80 ซึ่งเป็นสารลดแรงตึงผิว ลงไปจะส่งผลให้เชื้อราจับกับซับสเตรทได้ยากขึ้นทำให้อัตราการเติบโตและการสร้างสปอร์ของเชื้อรา ลดลง สังเกตดังรูปที่ 4.1 และรูปที่ 4.2 ดังนั้นการเติม Tween 80 จึงไม่เหมาะสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตมัลติเอนไซม์ เนื่องจากต้องเสียเวลาและค่าใช้จ่ายในการเพาะเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์ที่สูงขึ้น



รูปที่ 4.1 ลักษณะการเติบโตของเชื้อราในวันที่ 5 ก) ไม่เติม Tween 80 ข) Tween 80 ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ค) Tween 80 ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ง) Tween 80 ความเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ จ) Tween 80 ความเข้มข้น 1.00 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.2 ลักษณะการเติบโตของเชื้อราในวันที่ 7 ก) ไม่เติม Tween 80 ข) Tween 80 ความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ ค) Tween 80 ความเข้มข้น 0.10 เปอร์เซ็นต์ ง) Tween 80 ความเข้มข้น 0.50 เปอร์เซ็นต์ จ) Tween 80 ความเข้มข้น 1.00 เปอร์เซ็นต์

4.1.3.5 ผลของการใช้ธาตุอาหารชนิดโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตและโพแทสเซียมคลอไรด์

จากค่าแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่แสดงในตารางที่ 4.7-4.9 พบว่าการเติมธาตุอาหารจำพวกเกลือได้แก่ โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟส (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ในปริมาณต่างๆ ไม่ได้ส่งผลต่อการผลิตมัลติเอนไซม์ทั้งสามชนิดอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแต่ละสูตรจะผลิตเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลสและไซแลนเนส ที่มีค่าแอกทิวิตีใกล้เคียงกันอยู่ในช่วงระหว่าง 136.86-146.37, 459.29-487.26 และ 586.50-649.37 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท

ตารางที่ 4.7 ผลของธาตุอาหารจำพวกเกลือโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ต่อการผลิตเอนไซม์เพกติเนส

เอนไซม์	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)		ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
	KH_2PO_4	KCl		
เพกติเนส	0.08	0.015	7	138.81 ± 3.67
	0.16	0.015	7	140.92 ± 2.02
	0.24	0.015	7	144.49 ± 9.94
	0.08	0.03	7	143.81 ± 0.10
	0.16	0.03	7	141.13 ± 1.87
	0.24	0.03	7	139.21 ± 3.23
	0.08	0.06	7	146.37 ± 0.88
	0.16	0.06	7	144.02 ± 3.89
	0.24	0.06	7	136.86 ± 1.45

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.8 ผลของธาตุอาหารจำพวกเกลือโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)		ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
	KH_2PO_4	KCl		
เซลลูเลส	0.08	0.015	9	465.96 ± 0.31
	0.16	0.015	9	478.96 ± 12.49
	0.24	0.015	9	464.08 ± 5.51
	0.08	0.03	9	469.29 ± 29.12
	0.16	0.03	9	459.29 ± 8.64
	0.24	0.03	7	487.26 ± 44.25
	0.08	0.06	7	467.44 ± 11.73
	0.16	0.06	9	485.67 ± 44.20
	0.24	0.06	9	469.73 ± 8.84

ตารางที่ 4.9 ผลของธาตุอาหารจำพวกเกลือโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) และโพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl) ต่อการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส

เอนไซม์	ปริมาณ (เปอร์เซ็นต์)		ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
	KH_2PO_4	KCl		
ไซแลนเนส	0.08	0.015	9	648.82 ± 26.73
	0.16	0.015	7	597.27 ± 21.67
	0.24	0.015	7	596.48 ± 27.26
	0.08	0.03	7	587.21 ± 7.00
	0.16	0.03	7	586.50 ± 12.01
	0.24	0.03	7	639.88 ± 27.37
	0.08	0.06	7	649.37 ± 24.29
	0.16	0.06	7	607.92 ± 28.68
	0.24	0.06	7	635.25 ± 23.55

4.1.4 ผลของภาวะของการเพาะเลี้ยงเชื้อราประกอบด้วยอุณหภูมิ พีเอช และความเร็วรอบของเครื่องเขย่าต่อการผลิตมัลติเอนไซม์

ตารางที่ 4.10 ผลของอุณหภูมิ พีเอช และความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เพกติเนส

เอนไซม์	ภาวะ			ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
	อุณหภูมิ (°C)	ความเร็วรอบเครื่องเขย่า (รอบต่อนาที)	พีเอช		
เพกติเนส	30	100	5	7	144.91 ± 10.48
			6	7	144.14 ± 3.44
			7	7	136.15 ± 0.27
		200	5	7	97.42 ± 1.44
			6	7	79.94 ± 19.71
			7	7	75.42 ± 17.89
	35	100	5	7	137.68 ± 0.75
			6	7	130.14 ± 1.79
			7	7	131.50 ± 26.86
		200	5	7	86.18 ± 1.82
			6	7	83.40 ± 3.50
			7	7	87.19 ± 0.88

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

จากตารางที่ 4.10 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เพกติเนสคือ การบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 30°C และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน สามารถผลิตเอนไซม์เพกติเนสที่มีแอกทิวิตีประมาณ 136.15-144.91 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท โดยที่ค่าพีเอชของสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ส่งผลมากนักต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสที่ผลิตได้

ตารางที่ 4.11 ผลของอุณหภูมิ พีเอชและความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่มีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์	ภาวะ			ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
	อุณหภูมิ (°C)	ความเร็วรอบเครื่องเขย่า (รอบต่อนาที)	พีเอช		
เซลลูเลส	30	100	5	7	471.54 ± 13.67
			6	7	429.59 ± 4.53
			7	7	433.94 ± 22.06
		200	5	7	74.72 ± 9.38
			6	7	62.70 ± 7.36
			7	7	58.77 ± 0.92
	35	100	5	7	129.78 ± 6.53
			6	7	134.49 ± 1.66
			7	7	129.16 ± 14.99
		200	5	7	76.06 ± 21.35
			6	7	69.29 ± 14.73
			7	7	70.24 ± 0.86

จากตารางที่ 4.11 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสคือ การบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 30°C และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่มีแอกทิวิตีประมาณ 429.59-471.54 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท โดยที่ค่าพีเอชของสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ส่งผลมากนักต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลส

ตารางที่ 4.12 ผลของอุณหภูมิ พีเอชและความเร็วรอบของเครื่องเขย่าที่มีต่อการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส

เอนไซม์	ภาวะ			ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)
	อุณหภูมิ (°C)	ความเร็วรอบเครื่องเขย่า (รอบต่อนาที)	พีเอช		
ไซแลนเนส	30	100	5	7	743.52 ± 35.36
			6	7	732.59 ± 98.08
			7	7	741.96 ± 13.05
		200	5	7	67.11 ± 6.30
			6	7	92.34 ± 63.50
			7	7	54.62 ± 14.13
	35	100	5	7	392.93 ± 54.75
			6	7	437.77 ± 67.59
			7	7	404.35 ± 48.70
		200	5	7	408.37 ± 92.46
			6	7	356.89 ± 65.25
			7	7	448.45 ± 56.31

จากตารางที่ 4.12 พบว่าภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสคือ การบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 30°C และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน สามารถผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสที่มีแอกทิวิตีประมาณ 732.59-743.52 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท โดยที่ค่าพีเอชของสารละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อไม่ส่งผลมากนักต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนส

ดังนั้นจากผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp. ต่อการผลิตเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนส ดังตารางที่ 4.10-4.12 พบว่ามีภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อราสำหรับการผลิตเอนไซม์ทั้งสามชนิดที่มีแอกทิวิตีสูงสุดคือ การบ่มเชื้อราที่อุณหภูมิ 30°C และเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งภาวะดังกล่าวจะนำไปใช้สำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์ เพื่อใช้ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดในขั้นตอนต่อไป

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

4.1.5 ผลของอัตราส่วนระหว่างอาหารแข็งและน้ำสำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อราเพื่อผลิตมัลติเอนไซม์

ตารางที่ 4.13 ผลของอัตราส่วนระหว่างอาหารแข็ง (substrate) กับน้ำในการเพาะเลี้ยงเชื้อราต่อการผลิตมัลติเอนไซม์

เอนไซม์	อาหารแข็ง:น้ำ (กรัม/มิลลิลิตร)	ระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อราที่ให้เอนไซม์แอกทิวิตีสูงสุด (วัน)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท)	แอกทิวิตีของเอนไซม์ (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)
เพกติเนส	1:10	7	129.09 ± 2.41	18.44 ± 0.34
	1:15	9	175.62 ± 4.99	15.41 ± 0.44
	1:20	9	221.13 ± 4.13	13.48 ± 0.25
	1:25	9	240.39 ± 1.79	11.67 ± 0.07
เซลลูเลส	1:10	7	448.34 ± 13.85	64.05 ± 1.98
	1:15	9	745.95 ± 34.88	65.43 ± 3.06
	1:20	9	1105.51 ± 36.70	67.41 ± 2.24
	1:25	9	253.59 ± 1.91	12.31 ± 0.08
ไซแลนเนส	1:10	7	610.32 ± 3.85	87.19 ± 0.55
	1:15	9	689.03 ± 28.37	60.44 ± 2.49
	1:20	9	702.48 ± 0.02	42.83 ± 0.61
	1:25	9	536.27 ± 0.34	26.03 ± 0.37

ผลของอัตราส่วนระหว่างอาหารแข็งและน้ำต่อแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้ แสดงในตารางที่ 4.13 หากพิจารณาแอกทิวิตีของเอนไซม์ในหน่วยยูนิตต่อปริมาณอาหารแข็ง (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรท) พบว่าอาหารแข็ง:ปริมาณน้ำ (กรัมต่อมิลลิลิตร) ที่ให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลส และไซแลนเนสสูงสุดที่ 1:25, 1:20 และ 1:20 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มปริมาตรน้ำที่ผสมกับอาหารแข็งจะสามารถผลิตมัลติเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีมากขึ้น เนื่องจากน้ำที่เพิ่มขึ้นจะไปเพิ่มปริมาตรของสารละลายเอนไซม์ แต่ที่อัตราส่วน 1:25 เอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสจะมีแอกทิวิตีที่มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง อัตราการผลิตเอนไซม์จึงต่ำลง อย่างไรก็ตามหากพิจารณาค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์ในหน่วยยูนิตต่อเอนไซม์ 1 มิลลิลิตร (ยูนิตต่อมิลลิลิตร) พบว่า การเติมน้ำในอัตราส่วนที่มากขึ้นจะส่งให้แอกทิวิตีของเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิด มีแนวโน้มลดลง เนื่องจากธาตุอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงเชื้อราปริมาณเท่าเดิม เชื้อราจึงมีการสร้างเอนไซม์เพื่อมาย่อยธาตุอาหารในปริมาณเท่าเดิม ซึ่งการเติมน้ำลงไปในอัตราส่วน

ที่มากขึ้นจะส่งผลให้ความเข้มข้นของเอนไซม์ที่สกัดได้ลดลง ค่าแอกทิวิตีของเอนไซม์แต่ละชนิดจึงลดต่ำลง

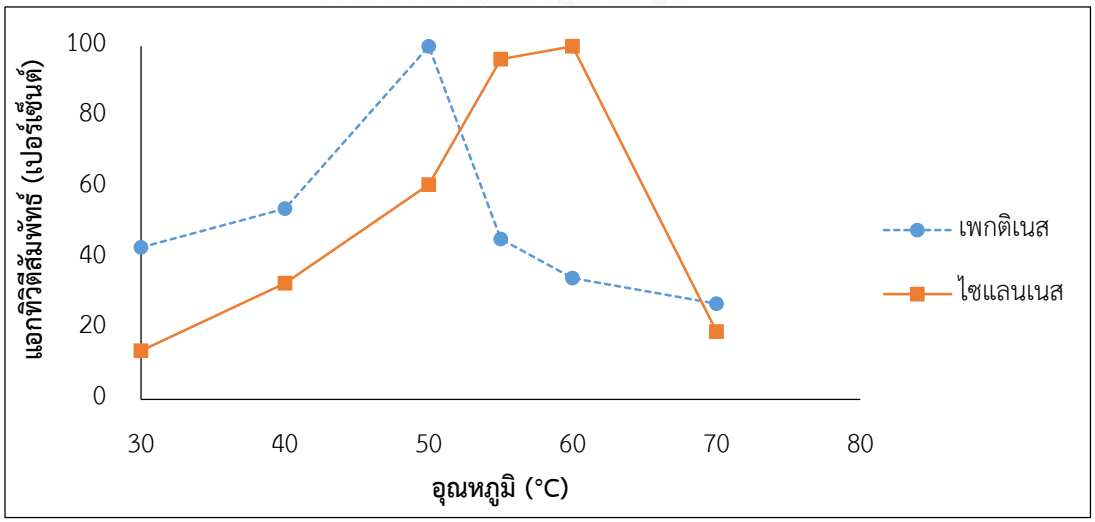
ดังนั้นสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์จะเลือกสูตรอาหารที่มีอัตราส่วนระหว่างปริมาณอาหารแข็งกับปริมาตรน้ำที่ 1:10 เนื่องจากสามารถผลิตเอนไซม์ที่มีความเข้มข้นสูง สะดวกต่อการใช้งาน กล่าวคือ ไม่ต้องใช้เอนไซม์ในปริมาณมากสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด และไม่สิ้นเปลืองเวลาและค่าใช้จ่ายในการทำให้มัลติเอนไซม์เข้มข้นขึ้น

4.2 ผลการศึกษาลักษณะสมบัติของมัลติเอนไซม์ที่ผลิตได้

ในการศึกษาภาวะที่เหมาะสมของการทำงานของเอนไซม์ งานวิจัยนี้จะศึกษาเฉพาะการทำงานของเอนไซม์เพกติเนสและเอนไซม์ไซแลนเนส เนื่องจากเป็นเอนไซม์หลักที่ทำหน้าที่ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด ผลของปัจจัยที่ส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ประกอบด้วย อุณหภูมิ พีเอช และความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์ ดังนี้

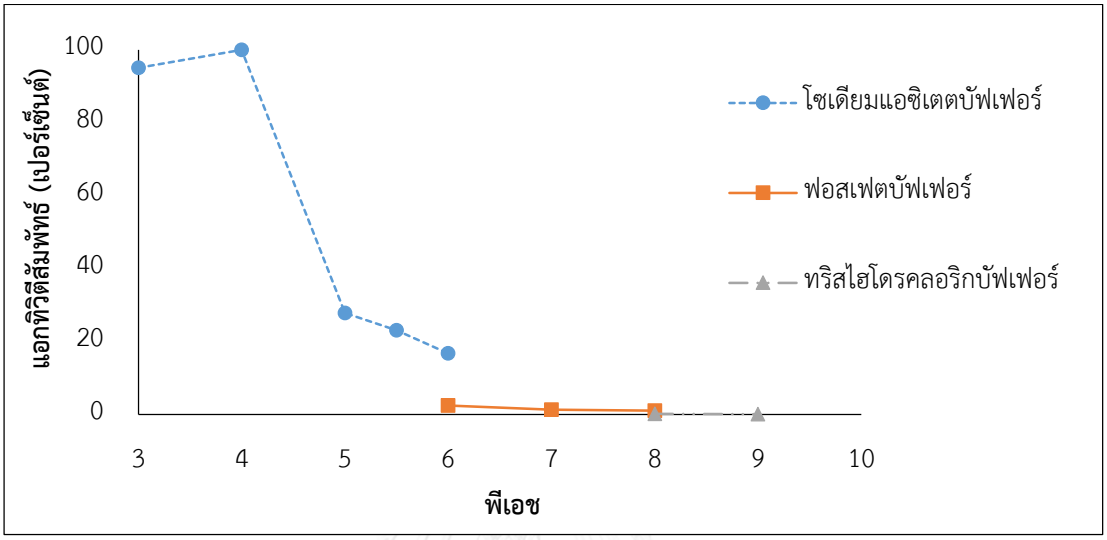
4.2.1 ผลของอุณหภูมิและพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส

จากผลการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อแอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสและเอนไซม์ไซแลนเนส ที่พีเอช 5.5 ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 30-70°C ที่แสดงดังรูปที่ 4.3 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการใช้เอนไซม์เพกติเนสคือ 50°C และเอนไซม์ไซแลนเนสคือ 60°C ซึ่งที่อุณหภูมิดังกล่าวจะใช้ในการศึกษาค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการใช้เอนไซม์แต่ละชนิดต่อไป

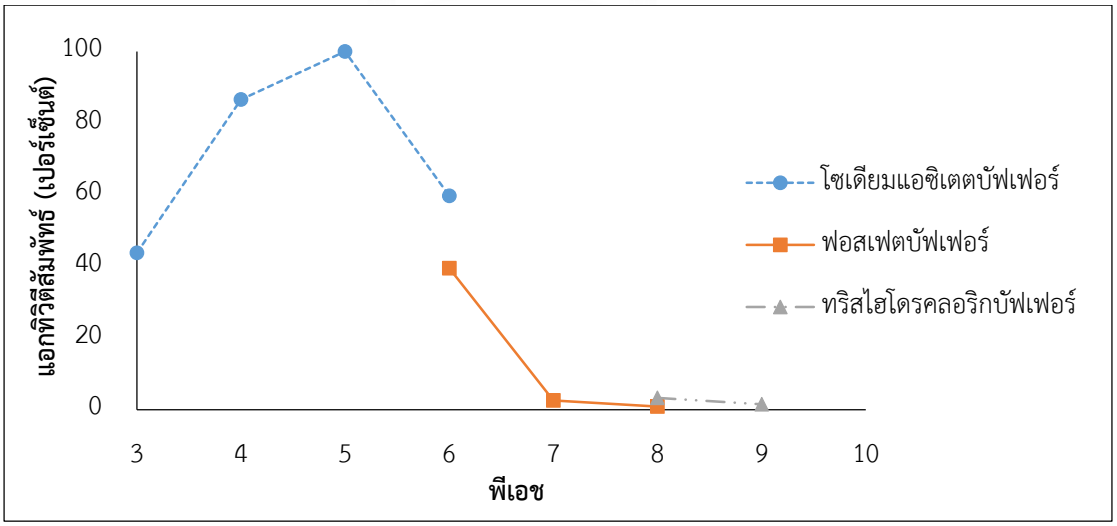


รูปที่ 4.3 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสที่ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C พีเอช 5.5

ในการศึกษาหาค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ โดยทำการศึกษาที่อุณหภูมิที่ให้แอกทิวิตีสูงสุดของเอนไซม์นั้นๆ พบว่าเอนไซม์เพกติเนสที่อุณหภูมิ 50°C จะมีค่าแอกทิวิตีสูงที่สุดที่พีเอช 4 ในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์ แสดงดังรูปที่ 4.4 และเอนไซม์ไซแลนเนสที่อุณหภูมิ 60°C จะมีค่าแอกทิวิตีสูงที่สุดที่พีเอช 5 ในสารละลายโซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์แสดงดังรูปที่ 4.5



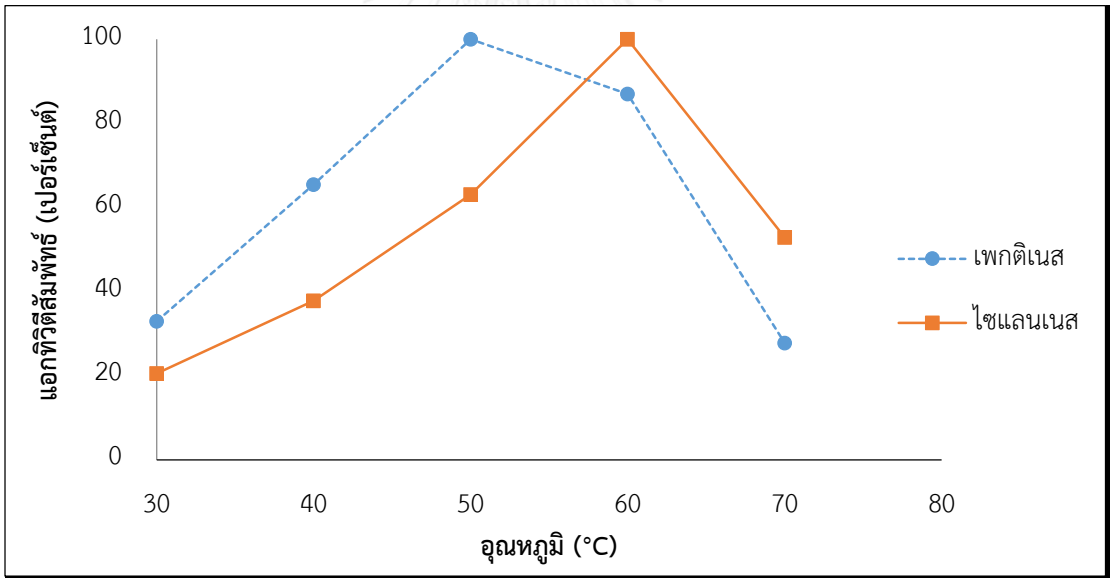
รูปที่ 4.4 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสที่ช่วงพีเอช 3–9 ในสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ชนิด คือ โซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์ (พีเอช 3-6) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 6-8) และทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (พีเอช 8-9) ที่อุณหภูมิ 50°C



รูปที่ 4.5 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ไซแลนเนสที่ช่วงพีเอช 3–9 ในสารละลายบัฟเฟอร์ 3 ชนิด คือ โซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์ (พีเอช 3-6) ฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (พีเอช 6-8) และทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์ (พีเอช 8-9) ที่อุณหภูมิ 60°C

นอกจากนี้ พบว่าการใช้ไซแลนเนสที่ 60°C พีเอช 4 ทำให้ค่าแอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ไซแลนเนสลดลงเพียงเล็กน้อย โดยมีค่าประมาณ 87 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 4.5 แสดงให้เห็นว่าพีเอช 4 เป็นค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานของมัลติเอนไซม์ เนื่องจากเป็นค่าพีเอชที่ทำให้แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสมีค่าสูงสุด ดังนั้นภาวะนี้จึงเหมาะสำหรับใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดและมีความสะดวกต่อกระบวนการใช้งานจริงในอุตสาหกรรมที่ไม่จำเป็นต้องปรับค่าจากพีเอช 4 เป็นพีเอช 5 ซึ่งทำให้เสียเวลาและค่าใช้จ่ายในกระบวนการมากขึ้น

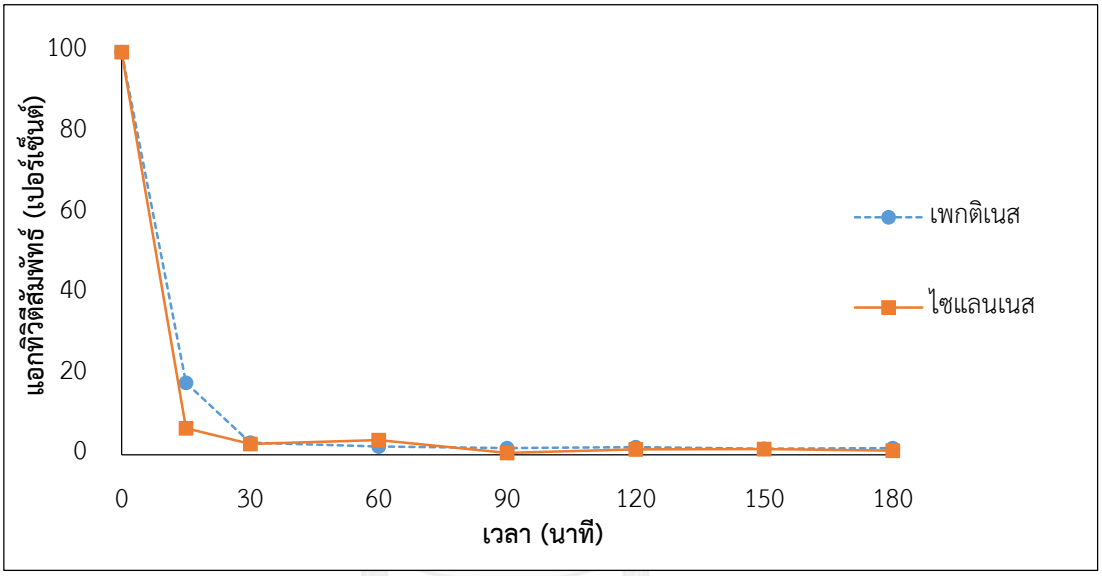
หลังจากพบว่ามัลติเอนไซม์มีค่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการทำงานที่พีเอช 4 จึงศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เพกติเนสและเอนไซม์ไซแลนเนสต่อไป โดยผลของแอกทิวิตีสัมพัทธ์ของการทำงานของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสที่พีเอช 4 ดังรูปที่ 4.6 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดมีค่าประมาณ 60°C ดังนั้นในการศึกษาเสถียรภาพทางความร้อนของเอนไซม์จึงได้ศึกษาที่อุณหภูมิ 60°C และพีเอช 4 เพื่อศึกษาความสามารถในการใช้งานมัลติเอนไซม์ก่อนที่จะเกิดการเสียสภาพ (denaturation) เนื่องจากความเป็นกรด-ด่างและความร้อน ก่อนที่จะนำไปปรับใช้จริงในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายด้วยมัลติเอนไซม์



รูปที่ 4.6 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสที่พีเอช 4 ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C

4.2.2 ผลของอุณหภูมิต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส

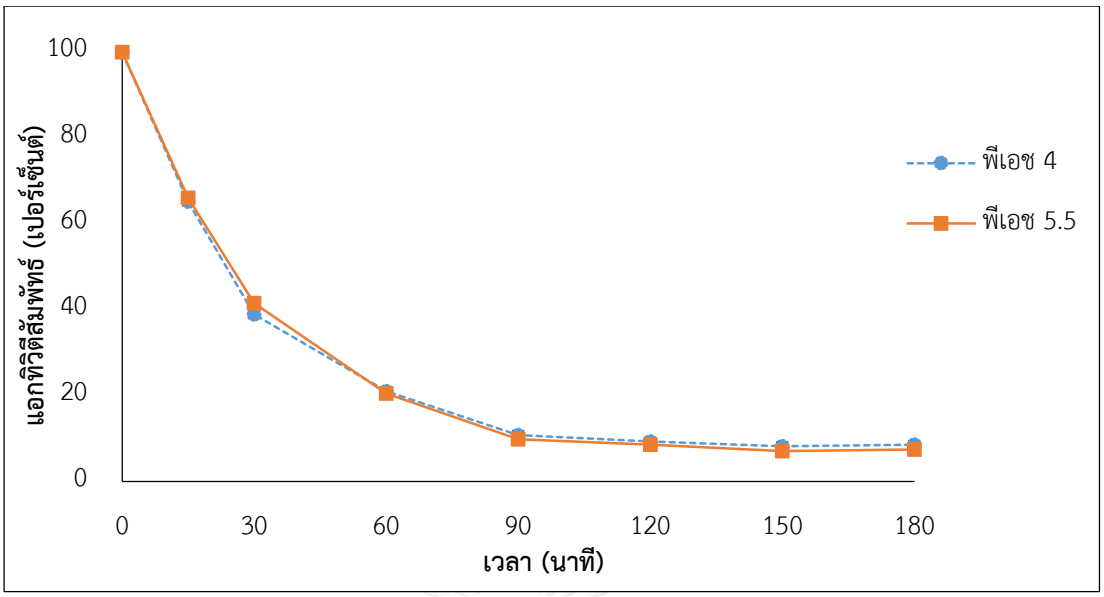
จากการศึกษาความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์เพกติเนสและเอนไซม์ไซแลนเนสที่อุณหภูมิ 60°C และพีเอช 4 โดยทำการบ่มเอนไซม์ในช่วงเวลาตั้งแต่ 15-180 นาที พบว่าเมื่อบ่มเอนไซม์เป็นเวลาเพียง 15 นาที ค่าแอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสจะลดลงมาที่ 19 เปอร์เซ็นต์ และเอนไซม์ไซแลนเนสจะลดลงมาที่ 8 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 4.7 ดังนั้นที่อุณหภูมิ 60°C จึงเป็นภาวะไม่เหมาะสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรก เนื่องจากเอนไซม์จะเกิดการเสียสภาพทางความร้อนอย่างรวดเร็วทำให้ไม่สามารถถูกใช้กำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยสับปะรดได้อีก



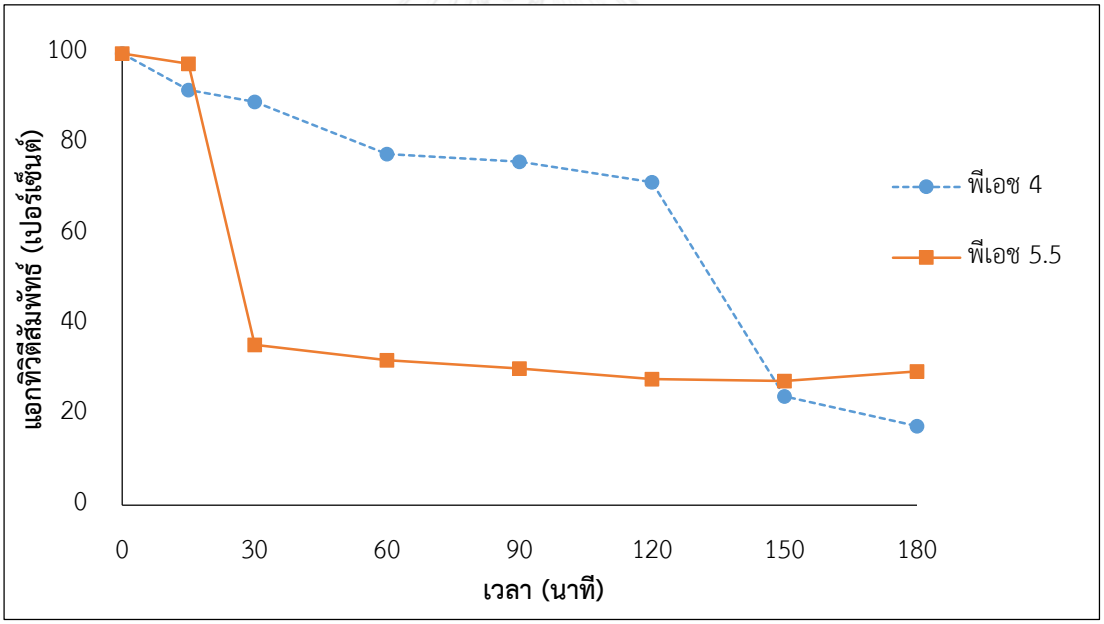
รูปที่ 4.7 ความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส ที่อุณหภูมิ 60°C และพีเอช 4

จากการศึกษาความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์ไซแลนเนสที่อุณหภูมิ 50°C ที่พีเอช 4 และพีเอช 5.5 พบว่าเอนไซม์ไซแลนเนสจะมีความเสถียรทางความร้อนที่ใกล้เคียงกัน โดยหลังจากบ่มเอนไซม์เป็นเวลา 30 นาที แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ไซแลนเนสจะลดลงมาที่ประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ ที่เวลา 60 นาที ลดลงมาที่ประมาณ 20 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.8 แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ไซแลนเนสสามารถรักษาความเสถียรของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50°C ได้มากกว่าที่อุณหภูมิ 60°C (ดูรูปที่ 4.7 และ 4.8)

สำหรับเอนไซม์เพกติเนส พบว่าจะมีความเสถียรที่อุณหภูมิ 50°C ที่พีเอช 4 มากกว่าที่พีเอช 5.5 โดยเมื่อบ่มเอนไซม์เป็นระยะเวลา 120 นาที จะพบว่าแอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสที่พีเอช 4 ยังมีค่าสูงถึง 70 เปอร์เซ็นต์ แต่ที่พีเอช 5.5 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสจะมีค่าประมาณ 28 เปอร์เซ็นต์ แสดงดังรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.8 ความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์ไซแลนเนสที่พีเอช 4 และพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 50°C



รูปที่ 4.9 ความเสถียรทางความร้อนของเอนไซม์เพกติเนสที่พีเอช 4 และพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 50°C

จากการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสและเอนไซม์ไซแลนเนส แสดงให้เห็นว่าเอนไซม์ทั้งสองนี้มีความเสถียรที่เหมาะสมที่สุดที่อุณหภูมิ 50°C และพีเอช 4 ดังตาราง 4.14 แต่อย่างไรก็ตามเอนไซม์ไซแลนเนสยังถือมีความเสถียรต่ำ ซึ่งจำเป็นต้องปรับความเสถียรให้เพิ่มขึ้นเพื่อให้สามารถนำไปใช้ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกได้อย่างมีประสิทธิภาพ โดยการใช้ Tween 80 แสดงผลในหัวข้อ 4.2.3

ตารางที่ 4.14 ผลของอุณหภูมิและพีเอชต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส

อุณหภูมิ (^{o}C)	พีเอช	เวลา (นาที)	แอกทิวิตีสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)	
			เพกติเนส	ไซแลนเนส
50	4	0	97.44	74.50
		15	89.60	48.56
		30	87.02	29.00
		60	75.78	15.63
		90	74.07	8.05
		120	69.70	6.93
		150	23.47	6.09
		180	17.07	6.35
	5.5	0	18.10	73.26
		15	17.68	48.38
		30	6.43	30.42
		60	5.81	15.01
		90	5.48	7.21
		120	5.06	6.25
		150	4.98	5.18
		180	5.37	5.45
60	4	0	100.00	100.00
		15	17.83	6.55
		30	3.00	2.72
		60	2.06	3.61
		90	1.66	0.45
		120	1.89	1.36
		150	1.49	1.44
		180	1.65	0.99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.2.3 ผลของการเติม Tween 80 ต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนส

การศึกษาการเพิ่มความเสถียรของมัลติเอนไซม์ที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50°C พบว่าการเติม Tween 80 สามารถเพิ่มความเสถียรของเอนไซม์ไซแลนเนส [47] และเพกติเนสได้ โดยการเติม Tween 80 ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยให้เอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสมีความเสถียรเพิ่มขึ้นมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการเติม Tween 80 ที่ความเข้มข้นอื่นๆ ซึ่งทำให้ค่าแอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสที่เวลา 60 นาที และ 120 นาที เพิ่มขึ้นจาก 77.78 และ 71.53 เปอร์เซ็นต์ เป็น 83.49 และ 79.08 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.15 และแอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ไซแลนเนสที่เวลา 30 นาที 60 นาที และ 120 นาที มีค่าเพิ่มจาก 38.93, 20.98 และ 9.30 เปอร์เซ็นต์ เป็น 54.80, 27.13 และ 13.86 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.16

ตารางที่ 4.15 ผลของ Tween 80 ต่อความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50°C

เวลา	**แอกทิวิตีสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)**			
(นาที)	**ไม่มี**	**0.1% Tween 80**	**0.5% Tween 80**	**1.0% Tween 80**
0	100.00 ± 2.88	100.00 ± 0.70	100.00 ± 0.02	100.00 ± 0.29
30	89.31 ± 2.76	90.47 ± 0.26	91.43 ± 1.25	81.59 ± 0.20
60	77.78 ± 5.02	83.49 ± 0.37	79.26 ± 0.75	77.44 ± 1.19
120	71.53 ± 4.56	79.08 ± 0.29	73.60 ± 0.77	75.38 ± 0.72

ตารางที่ 4.16 ผลของ Tween 80 ต่อความเสถียรของเอนไซม์ไซแลนเนสที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50°C

เวลา	**แอกทิวิตีสัมพัทธ์ (เปอร์เซ็นต์)**			
(นาที)	**ไม่มี**	**0.1% Tween 80**	**0.5% Tween 80**	**1.0% Tween 80**
0	100.00 ± 3.38	100.00 ± 0.17	100.00 ± 3.79	100.00 ± 0.93
30	38.93 ± 1.13	54.80 ± 0.05	54.87 ± 0.23	44.45 ± 1.75
60	20.98 ± 1.32	27.13 ± 0.44	22.80 ± 0.24	20.73 ± 0.92
120	9.30 ± 0.84	13.86 ± 0.76	13.86 ± 0.28	10.96 ± 0.17

ดังนั้น จากการศึกษาค่าพีเอชและอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ และความเสถียรของเอนไซม์จากข้างต้น พบว่าภาวะที่เหมาะสมคืออุณหภูมิ 50°C ที่พีเอช 4 และเอนไซม์ที่สกัดได้จะทำการเติม Tween 80 เข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ เพื่อเพิ่มความเสถียรทางความร้อน ซึ่งภาวะดังกล่าวจะนำไปใช้ในจริงกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์ในขั้นต่อไป

4.3 ผลการศึกษาภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรด

4.3.1 ผลการศึกษาภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยสารเคมี

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยสารเคมี โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.05-0.25 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเส้นด้ายต่อสารละลาย 1 ต่อ 25 ที่อุณหภูมิ 100°C สารช่วยเปียก 4 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 10-60 นาที สมบัติในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกดังตารางที่ 4.17 แสดงให้เห็นว่าเส้นด้ายสามารถดูดซึมน้ำได้ทันทีเมื่อผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.20 และ 0.25 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 60 นาที ดังนั้นการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้น 0.20 เปอร์เซ็นต์ จึงมีความเหมาะสมสำหรับกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรก เนื่องจากใช้ความเข้มข้นน้อยกว่าแต่ให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรกเทียบเคียงกัน ทั้งนี้ ที่ภาวะดังกล่าวสามารถทำให้เส้นด้ายดูดซึมน้ำได้ทันทีแสดงให้เห็นว่าสิ่งสกปรกที่ไม่ชอบน้ำเช่น ลิกนิน เพกติน เฮมิเซลลูโลส และสิ่งเจือปนอื่นๆ บนเส้นด้ายถูกกำจัดออกไปในปริมาณมากผ่านปฏิกิริยาไฮโดรไลซิส

เมื่อเปรียบเทียบเวลาที่ใช้ในการกำจัดสิ่งปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.20 เปอร์เซ็นต์ พบว่า หากกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกใช้เวลาน้อยกว่า 60 นาที จะทำให้ความสามารถในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายมีแนวโน้มลดลงตามเวลาของกระบวนการที่ลดลง เนื่องจากเวลาของกระบวนการไม่เพียงพอที่จะทำให้การกำจัดสิ่งสกปรกเกิดได้อย่างสมบูรณ์

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ 4.17 เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายใยสับปะรดหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ

สูตร	ความเข้มข้นของ NaOH (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (นาที)	เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำของเส้นด้าย (วินาที)
1	0.05	60	4.98
2	0.10	60	2.97
3	0.15	60	0.60
4	0.20	60	ซึมทันที
5	0.25	60	ซึมทันที
6	0.20	10	3.89
7	0.20	15	3.05
8	0.20	30	1.71
9	0.20	45	1.55

หมายเหตุ เส้นด้ายก่อนการกำจัดสิ่งสกปรกไม่สามารถดูดซึมน้ำได้ภายใน 60 วินาที

4.3.2 ผลการศึกษาภาวะและวิธีการที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์

จากการศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติ-เอนไซม์ โดยใช้มัลติเอนไซม์ความเข้มข้น 10-100 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเส้นด้ายต่อสารละลาย 1 ต่อ 50 ที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50°C สารช่วยเปียก 4 กรัมต่อลิตร เป็นเวลา 30-120 นาที ซึ่งสมบัติในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกดังตารางที่ 4.18

เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นต่างๆ ของมัลติเอนไซม์ ที่ใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรกเป็นเวลา 120 นาที พบว่าความเข้มข้นของมัลติเอนไซม์ที่ต่ำที่สุดที่จำเป็นต้องใช้และทำให้เส้นด้ายดูดซึมน้ำได้ทันที คือ ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ ผ่านการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายให้สลายตัวออกมาโดยใช้มัลติเอนไซม์

เมื่อเปรียบเทียบเวลาในการกำจัดสิ่งปรกด้วยมัลติเอนไซม์ที่ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ พบว่าหากกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกใช้เวลาน้อยกว่า 60 นาที จะทำให้ความสามารถในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายมีแนวโน้มลดลงตามเวลาของกระบวนการที่ลดลง เนื่องจากเวลาของกระบวนการไม่เพียงพอต่อการทำงานของเอนไซม์ในการกำจัดสิ่งปรกออกจากเส้นด้าย

ตารางที่ 4.18 เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายใยสับปะรดหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติ-เอนไซม์ที่ความเข้มข้นและเวลาต่างๆ

สูตร	ความเข้มข้นของมัลติเอนไซม์ (เปอร์เซ็นต์)	เวลา (นาที)	เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำของเส้นด้าย (วินาที)
1	100	120	ซึมทันที
2	75	120	ซึมทันที
3	50	120	ซึมทันที
4	25	120	ซึมทันที
5	20	120	ซึมทันที
6	15	120	1.55
7	10	120	1.66
7	20	30	1.39
8	20	45	1.14
9	20	60	ซึมทันที
10	20	90	ซึมทันที

หมายเหตุ เส้นด้ายก่อนการกำจัดสิ่งสกปรกไม่สามารถดูดซึมน้ำได้ภายใน 60 วินาที

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

4.4 ผลการศึกษาสมบัติของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยภาวะและวิธีที่เหมาะสม

การศึกษาสมบัติของเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์เปรียบเทียบกับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อดูประสิทธิภาพของการกำจัดสิ่งสกปรกของทั้งสองกระบวนการ เส้นด้ายจะถูกกำจัดสิ่งสกปรกด้วยภาวะที่เหมาะสมคือ

การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์: ใช้มัลติเอนไซม์เข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) สารช่วยเปียก 4 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเส้นด้ายและปริมาตรสารละลาย 1 ต่อ 50 ที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 60 นาที

การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์: ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) สารช่วยเปียก 4 กรัมต่อลิตร อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเส้นด้ายและปริมาตรสารละลาย 1 ต่อ 25 ที่อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 60 นาที

4.4.1 ความสามารถในการดูดซึมน้ำ น้ำหนักของเส้นด้ายที่หายไป และค่าดัชนีความเหลืองของเส้นด้าย

จากผลการทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำ ร้อยละของน้ำหนักเส้นด้ายที่หายไป และค่าดัชนีความเหลืองดังตารางที่ 4.19 พบว่าความสามารถในการดูดซึมน้ำของเส้นด้ายก่อนกำจัดสิ่งสกปรกจะใช้เวลาในการดูดซึมน้ำมากกว่า 60 วินาที เนื่องจากองค์ประกอบที่ไม่ชอบน้ำของเส้นด้ายใยสับปะรด (เช่น ลิกนิน เพกติน และเฮมิเซลลูโลส เป็นต้น) และสิ่งสกปรกที่อยู่บนพื้นผิวของเส้นด้าย สำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย Blank treatment โดยใช้สารช่วยเปียก พบว่าเส้นด้ายจะไม่ดูดซึมน้ำทันที คือใช้เวลาในการดูดซึมน้ำ 6 วินาที และมีการสูญเสียน้ำหนักที่น้อยกว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ แสดงให้เห็นว่าสารช่วยเปียกกำจัดสิ่งสกปรกออกไปได้บ้างแต่ไม่ได้ช่วยกำจัดสารหลักที่ทำให้เส้นด้ายดูดซึมน้ำได้ทันที

เมื่อเปรียบเทียบเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์กับด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ตามวิธีและภาวะที่เหมาะสมจะพบว่า เส้นด้ายทั้งสองจะสามารถดูดซึมน้ำได้ทันที เนื่องจากสิ่งสกปรกที่สะท้อนน้ำได้ถูกกำจัดออกไปมาก ทั้งนี้เส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์จะมีการสูญเสียน้ำหนักมากกว่าที่ผ่านโซเดียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์ แสดงให้เห็นว่าการใช้มัลติเอนไซม์มีประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรกมากกว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์และมีความจำเพาะเจาะจงในการเลือกชนิดของสิ่งสกปรกที่จะกำจัดออกไป (ดูตารางที่ 4.20)

พิจารณาค่าดัชนีความเหลืองของเส้นด้าย พบว่าเส้นด้ายก่อนการกำจัดสิ่งสกปรกมีค่าดัชนีความเหลืองเท่ากับ 40 และหลังจากการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์จะทำให้ความเหลืองของเส้นด้ายลดลงหรือมีความขาวมากขึ้น โดยมีค่าดัชนีความเหลืองเท่ากับ 36 เป็นผลมาจากมัลติเอนไซม์สามารถ

กำจัดสิ่งสกปรกซึ่งอาจเป็นสารให้สีในเส้นใยธรรมชาติออกไป [7, 48] สำหรับเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์พบว่าเส้นด้ายมีความเหลืองมากขึ้น โดยมีค่าดัชนีความเหลืองเท่ากับ 45 อาจเป็นเพราะว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะทำภายใต้ภาวะที่รุนแรงที่ 100°C เป็นเวลา 60 นาที ส่งผลให้เส้นด้ายเกิดการสลายตัว (degradation) และทำให้มีความเหลืองเพิ่มขึ้น ดังลักษณะของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกที่แสดงในรูปที่ 4.10

ตารางที่ 4.19 เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำ ร้อยละของน้ำหนักเส้นด้ายที่หายไป และค่าดัชนีความเหลืองของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติ-เอนไซม์

เส้นด้าย	**เวลาที่ใช้ในการดูดซึมน้ำของเส้นด้าย (วินาที)**	**ร้อยละของน้ำหนักเส้นด้ายที่หายไป**	**ดัชนีความเหลือง**
ก่อนกำจัดสิ่งสกปรก	> 60	0	40
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	ซึมทันที	12.14	45
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์	ซึมทันที	13.59	36
กำจัดสิ่งสกปรกด้วย Blank treatment	6	10.65	38

ก) ข) ค)

รูปที่ 4.10 ลักษณะเส้นด้ายใยสับปะรด ก) ก่อนกำจัดสิ่งสกปรก ข) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์ ค) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์

4.4.2 ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนของเส้นด้าย

ผลการวิเคราะห์ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนในเส้นด้ายใยสับปะรดดังตารางที่ 4.20 พบว่าเส้นด้ายก่อนการกำจัดสิ่งสกปรกจะประกอบด้วยเฮมิเซลลูโลสประมาณ 21.01 เปอร์เซ็นต์ และลิกนินประมาณ 2.32 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสิ่งเจือปนเหล่านี้มีสมบัติที่ไม่ชอบน้ำ (hydrophobic) ทำให้เส้นด้ายใยสับปะรดไม่ดูดซึมน้ำ หลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินบนเส้นด้ายลดลงเหลือ 16.34 และ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ปริมาณของ เฮมิเซลลูโลสและลิกนินลดลงเหลือ 18.71 และ 1.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ แสดงให้เห็นการกำจัดสิ่งสกปรกจากทั้งสองกระบวนการสามารถกำจัดสิ่งสกปรกออกได้จริง โดยที่กระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย มัลติเอนไซม์จะมีประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรกออกได้มากกว่ากระบวนการที่ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ เนื่องจากมัลติเอนไซม์ประกอบด้วยเอนไซม์ไซแลนเนสที่จำเพาะเจาะจงในการเร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสไซแลนในเฮมิเซลลูโลสทำให้สามารถกำจัดเฮมิเซลลูโลสออกได้มากกว่า นอกจากนี้มัลติเอนไซม์ยังประกอบด้วยเพกติเนสช่วยเร่งการไฮโดรไลซ์เพกติน แต่เนื่องจากการทดสอบหาชนิดของสิ่งสกปรกที่ใช้นี้ ไม่สามารถระบุปริมาณเพกตินบนเส้นด้ายได้ ส่วนการกำจัดลิกนินอาจเป็นผลจากการที่สิ่งสกปรกต่างๆ ในเส้นด้ายจะเกาะติดกันเป็นกลุ่มก้อน (building block) การกำจัดสิ่งสกปรกชนิดหนึ่งออก สิ่งสกปรกที่ติดกันก็จะถูกกำจัดออกไปด้วย

ตารางที่ 4.20 ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนบนเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์

เส้นด้าย	ปริมาณสิ่งเจือปน (เปอร์เซ็นต์)	
	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ก่อนกำจัดสิ่งสกปรก	21.01 ± 0.96	2.32 ± 1.14
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	18.71 ± 1.24	1.26 ± 1.50
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์	16.34 ± 2.87	0.85 ± 0.96

4.4.3 ความสามารถในการย้อมติดสีของเส้นด้าย

หลังการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายด้วยมัลติเอนไซม์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วยภาวะและวิธีที่เหมาะสม เส้นด้ายจะถูกย้อมสีด้วยสี Benzopurpurine 4B ซึ่งเป็นสีไดเร็กซ์บริสุทธิ์ ที่มีเฉดสีแดง เพื่อศึกษาประสิทธิภาพในการย้อมติดสีของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรก จากค่าความเข้มสีและเฉดสีของเส้นด้ายหลังการย้อมสีดังตารางที่ 4.21 พบว่าเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และโซเดียมไฮดรอกไซด์จะให้ค่าเฉดสีและความเข้มของสี (color strength, K/S)

ใกล้เคียงกันมาก ดังนั้นเส้นด้ายจากทั้งสองกระบวนการจึงมีประสิทธิภาพในการย้อมติดสีเทียบเคียงกัน สังเกตได้จากลักษณะของเส้นด้ายหลังการย้อมสีที่แสดงดังรูปที่ 4.11

ตารางที่ 4.21 ความเข้มสีและเฉดสีของเส้นด้ายใยสับปะรดที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์หลังการย้อมสี

เส้นด้าย	L^*	a^*	b*	K/S
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	41.8	43.9	18.8	10.2
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์	41.3	43.7	18.4	10.6

ก) ข)

รูปที่ 4.11 ลักษณะเส้นด้ายหลังการย้อมสี ก) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ข) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์หลังการย้อมสี

4.4.4 ความสามารถในการทนแรงดึงของเส้นด้าย

จากผลการศึกษาความเหนียวและระยะยืดตัว ณ จุดขาดของเส้นด้ายใยสับปะรดหลังการกำจัดสิ่งสกปรก ที่แสดงในตารางที่ 4.22 พบว่าเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์จะมีค่าความเหนียวและร้อยละการยืดตัว ณ จุดขาด มากกว่าเส้นด้ายก่อนการกำจัดสิ่งสกปรก เนื่องจากการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์จะสามารถกำจัดสิ่งเจือปนและสิ่งสกปรกออกจากใยสับปะรดและยังช่วยจัดเรียงเส้นใยให้อยู่ในทิศทางเดียวกับการรับแรงดึง

สำหรับความสามารถในการทนแรงดึงของเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียม-ไฮดรอกไซด์พบว่า จะมีค่าความเหนียวและมีค่าการยืดตัวที่จุดขาดใกล้เคียงกับเส้นด้ายก่อนการกำจัดสิ่งสกปรก แสดงให้เห็นว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วยภาวะที่เหมาะสมในงานวิจัยนี้ ไม่ได้ส่งผลให้ความแข็งแรงของเส้นด้ายลดลง แต่ไม่ได้ปรับปรุงให้ความสามารถในการรับแรงดึงของเส้นด้ายเพิ่มขึ้นเหมือนกับการกำจัดสิ่งปรกด้วยมัลติเอนไซม์

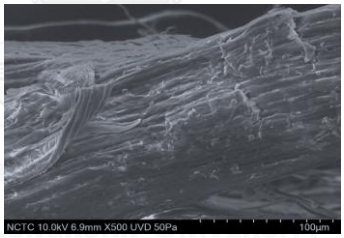
ตารางที่ 4.22 ความเหนียว (tenacity) และการยืดตัว ณ จุดขาดของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์

เส้นด้าย	ความเหนียว (กรัมต่อเท็กซ์)	ร้อยละการยืดตัว ณ จุดขาด
ก่อนกำจัดสิ่งสกปรก	280.56 ± 117.22	61.53 ± 23.367
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	303.59 ± 69.39	60.49 ± 22.250
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์	450.11 ± 118.13	74.09 ± 15.66

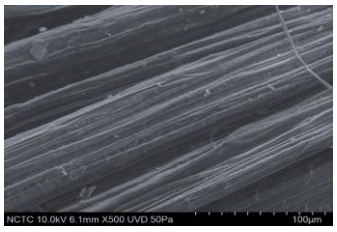
4.4.5 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใย

ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกแสดงดังรูปที่ 4.12 สังเกตพบว่าเส้นใยก่อนการกำจัดสิ่งสกปรกจะมีพื้นผิวที่ขรุขระ เนื่องจากสิ่งสกปรกที่ปกคลุมอยู่บนเส้นใยเซลลูโลส โดยหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะเห็นว่าพื้นผิวของเส้นใยจะมีลักษณะเรียบขึ้น เนื่องจากสิ่งสกปรกบนพื้นผิวได้ถูกกำจัดออกไป อย่างไรก็ตาม พื้นผิวของเส้นใยที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะมีลักษณะเป็นล่องลึกมากกว่าการใช้เอนไซม์อาจเนื่องจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำลายโครงสร้างเซลลูโลสบางส่วนในเส้นใย

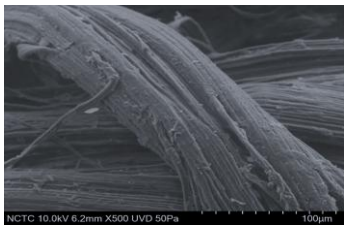
ก)



ข)



ค)



รูปที่ 4.12 ลักษณะสัณฐานวิทยาของเส้นใยที่กำลังขยาย 500 เท่า ก) ก่อนกำจัดสิ่งสกปรก ข) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ ค) กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์

บทที่ 5
สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้ศึกษาสูตรอาหารและภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตมัลติเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์เพกติเนส เซลลูเลสและไซแลนเนส จากเชื้อรากลุ่ม *Aspergillus* sp. แล้วทำการศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้เอนไซม์ได้แก่ อุณหภูมิ พีเอช และความเสถียรของเอนไซม์ เพื่อใช้สำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดที่ได้จากบริษัท ไทยนำโชคเท็กซ์ไทล์ จำกัด ในขั้นตอนการกำจัดสิ่งสกปรกนั้น ได้ศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยปัจจัยที่ศึกษาได้แก่ ความเข้มข้นของมัลติเอนไซม์และโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรก และเวลาที่ใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรก รวมทั้งศึกษาสมบัติของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์เปรียบเทียบกับเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรกของทั้งสองกระบวนการ ซึ่งสมบัติของเส้นด้ายที่ศึกษาประกอบด้วย น้ำหนักด้ายที่หายไป ความสามารถในการดูดซึมน้ำ ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปน ความเหลืองของด้าย ความสามารถในการย้อมติดสี ความทนต่อแรงดึงขาดและลักษณะสัณฐานวิทยาของด้าย โดยผลการศึกษาจากตัวอย่างเส้นด้ายเอนไซม์และสารเคมีทั้งหมดในงานวิจัยนี้ สามารถสรุปได้ดังนี้

1. การเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp. พบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อและภาวะที่เหมาะสมที่สุดที่สามารถผลิตมัลติเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีสูงสุดในวิจัยนี้ คือ เพาะเลี้ยงเชื้อราด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีองค์ประกอบหลักของรำข้าวสาลี 5 กรัม เพปโตน 2.5 กรัม และยีสต์สกัด 5 กรัม ต่อปริมาตรสารละลาย 50 มิลลิลิตร ในภาวะการหมักแบบอาหารเหลว (submerge fermentation, SmF) ที่อุณหภูมิ 30°C เขย่าด้วยเครื่องเขย่าด้วยความเร็วรอบ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน สามารถผลิตมัลติเอนไซม์ที่มีแอกทิวิตีของเพกติเนสเท่ากับ 504.18 ยูนิตต่อมิลลิลิตร เซลลูเลสเท่ากับ 182.82 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และไซแลนเนสเท่ากับ 281.59 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

2. การศึกษาภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้เอนไซม์เพกติเนสและไซแลนเนสพบว่า ภาวะที่เหมาะสมสำหรับการใช้เอนไซม์ทั้งสองชนิดในงานวิจัยนี้คือ ที่อุณหภูมิ 50°C และพีเอช 4 และเป็นภาวะที่ทำให้เอนไซม์ทั้งสองมีความเสถียรมากที่สุดด้วย นอกจากนี้การเติม tween 80 ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) จะช่วยให้ความเสถียรของมัลติเอนไซม์เพิ่มขึ้นคือ เมื่อบ่มเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50°C และพีเอช 4 เป็นเวลา 30, 60 และ 120 นาที แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของ

เพกติเนสจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อยประมาณ 1.30, 7.43 และ 10.55 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และแอกทวิตีสัมพัทธ์ของไซแลนเนสจะเพิ่มขึ้นมากประมาณ 40.77, 29.31 และ 49.0 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

3. การศึกษาการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์ พบว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์ในงานวิจัยนี้คือ ใช้มัลติเอนไซม์ความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) สารช่วยเปียก 4 กรัมต่อลิตร ที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 50°C เป็นเวลา 60 นาที และน้ำหนักเส้นด้ายต่อปริมาตรสารละลาย 1 ต่อ 50 ซึ่งทำให้เส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกดูดซึมน้ำได้ทันที

4. การศึกษาการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่าภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ในงานวิจัยนี้คือ ใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) สารช่วยเปียก 4 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 100°C เป็นเวลา 60 นาที และน้ำหนักเส้นด้ายต่อปริมาตรสารละลาย 1 ต่อ 25 ซึ่งทำให้เส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกดูดซึมน้ำได้ทันที

5. การศึกษาสมบัติของเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์เปรียบเทียบกับการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ในการศึกษาวิจัยนี้ พบว่า

- การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และการกำจัดสิ่งปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ สามารถทำให้สิ่งเจือปนบนเส้นด้ายถูกกำจัดออกไปมากพอที่ทำให้เส้นด้ายดูดซึมน้ำได้ทันทีอย่างสม่ำเสมอ โดยน้ำหนักของเส้นด้ายที่หายไปหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์จะมากกว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ประมาณ 1.5 เปอร์เซ็นต์

- การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์สามารถลดความเหลืองของเส้นด้ายลง (ขาวมากขึ้น) เนื่องจากสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายถูกกำจัดออกไป โดยเส้นด้ายก่อนกำจัดสิ่งสกปรกจะมีค่าดัชนีความเหลืองเท่ากับ 40 และเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์มีค่าดัชนีความเหลืองเท่ากับ 36 ในขณะที่เส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะทำให้เส้นด้ายมีความเหลืองมากขึ้นและมีค่าดัชนีความเหลืองเท่ากับ 45 เนื่องจากเส้นด้ายเกิดการสลายตัว (degradation)

- การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์สามารถกำจัดสิ่งสกปรกได้มากกว่าการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์คือ การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์ทำให้ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินลดลงเหลือ 16.34 และ 0.85 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ทำให้ปริมาณของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินลดลงเหลือ 18.71 และ 1.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

- เมื่อนำเส้นด้ายหลังการกำจัดสิ่งสกปรกจากทั้งสองกระบวนการไปย้อมสีพบว่าเส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกทั้งสองวิธีมีจะมีเฉดสีและสีเข้มหรือมีค่าความเข้มสีใกล้เคียงกัน

- การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์จะทำให้เส้นด้ายมีความแข็งแรงมากขึ้น โดยที่เส้นด้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์แข็งแรงมากกว่าที่ผ่านโซเดียมไฮดรอกไซด์หรือมีค่าความเหนียว (tenacity) มากกว่าประมาณ 33 เปอร์เซ็นต์ และมีระยะยืดตัว ณ จุดขาดมากกว่าประมาณ 18 เปอร์เซ็นต์

5.2 ข้อเสนอแนะ

1. ในการผลิตมัลติเอนไซม์จากเชื้อรา *Aspergillus* sp. อาจเพิ่มขั้นตอนการศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของมัลติเอนไซม์ด้วยการเติมสารเคมีต่างๆลงไป เช่น สารที่ทำหน้าที่เป็นแอคติเวเตอร์ (Activators) ของเพกติเนสและไซแลนเนส ตัวยับยั้งการทำงาน (inhibiter) ของเอนไซม์เซลลูเลสหหรือเอนไซม์ การเติมสารเพิ่มความเสถียรของเอนไซม์ (stabilizer) เพื่อเพิ่มค่าแอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์ ซึ่งจะช่วยลดปริมาณใช้มัลติเอนไซม์ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกและลดเวลาในการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดลงได้

2. ต้นทุนการผลิตเอนไซม์ค่อนข้างสูงเนื่องจากต้องใช้แหล่งอาหารที่ให้ธาตุไนโตรเจนจากยีสต์สกัดและเพปโตนที่มีราคาแพงในการเลี้ยงเชื้อ การศึกษาต่อไปอาจหาแหล่งอาหารชนิดอื่นที่มีราคาต่ำกว่ามาใช้แทนหรืออาจเลือกใช้ของเสียจากกระบวนการลอกกาวไหมมาเป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อแทน

3. ในการศึกษากระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์ อาจมีการศึกษาปัจจัยอื่นเพิ่มเติมได้แก่ อัตราส่วนระหว่างน้ำหนักเส้นด้ายต่อปริมาตรสารละลาย และความเร็วรอบของเครื่องย้อมสีที่ใช้ในการกำจัดสิ่งสกปรก ซึ่งหากสามารถปรับลดการใช้ปริมาตรสารละลายลงหรือลดความเร็วรอบของเครื่องย้อมได้จะทำได้กระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกใหม่ที่ประหยัดน้ำและพลังงานมากขึ้น

4. สำหรับการกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นด้ายใยสับปะรดด้วยมัลติเอนไซม์ อาจนำไปประยุกต์กับการกำจัดสิ่งสกปรกบนเส้นใยสับปะรดก่อนนำมาปั่นด้าย ซึ่งอาจช่วยให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งสกปรกเพิ่มขึ้น เนื่องจากพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยามากขึ้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

รายการอ้างอิง

[1] ทวีชัย อมรศักดิ์ชัย และนันทยา เก่งเขตร์กิจ. ใบสับปะรด: แหล่งเส้นใยธรรมชาติที่ไม่ควรมองข้าม. วารสารวิทยาศาสตร์ มศว 30 (2557): 1-9.

[2] สำนักงานเศรษฐกิจอุตสาหกรรม. ผลิตภัณฑ์สับปะรดรายอุตสาหกรรม อุตสาหกรรมสิ่งทอ Available from: http://www.nfi.or.th/vc-pineapple/index.php/pineapple-industry/st09/92-singtho/82-singtho01 [7 มกราคม 2016]

[3] Reddy, N. and Yang, Y. Innovative Pineapple Fibers. Innovative Biofibers from Renewable Resources 2015 (2015): 35-39.

[4] Industrial Application-Textiles 2001. Available from: http://www.enzymetechnicalassoc.org/benefits_paper.pdf [2016, January 6]

[5] Simoes, M.L.G. and Tauk-Tornisielo, S.M. Optimization of xylanase biosynthesis by *Aspergillus japonicus* isolated from a" Caatinga" area in the Brazilian state of Bahia. African Journal of Biotechnology 5(11) (2006): 1135-1141.

[6] Kumar, S., Sharma, H., and Sarkar, B. Effect of substrate and fermentation conditions on pectinase and cellulase production by *Aspergillus niger NCIM 548* in submerged (SmF) and solid state fermentation (SSF). Food Science and Biotechnology 20(5) (2011): 1289-1298.

[7] Garg, G., Dhiman, S.S., Gautam, R., Mahajan, R., Patra, A.K., and Sharma, J. Bioscouring of jute fabric by cellulase-free alkalo-thermostable xylanase from *Bacillus pumilus ASH.* Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic 85 (2013): 43-48.

[8] 4444. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. Silpakorn University International Journal 3(1-2) (2003): 206-228.

[9] Asim, M., et al. A review on pineapple leaves fibre and its composites. International Journal of Polymer Science 2015 (2015): 1-16.

[10] Reddy, N. and Yang, Y. Biofibers from agricultural byproducts for industrial applications. TRENDS in Biotechnology 23(1) (2005): 22-27.

[11] Leao, A.L., Cherian, B.M., Narine, S., S.F., S., Sain, M., and Thomas, S. The Use of Pineappple Leaf Fibers (PALFS) Reinforcements in Composite. Biofiber

Reinforcements in Composite Materials, ed. Omar Faruk, O. and Sain, M. United Kingdom: Elsevier, 2015.

[12] Karthik, T., Rathinamoorthy, R., and Ganesan, P. Sustainable Luxury Natureral Fibers-Production, Properties and process. Handbook of Sustainable Luxury Textiles and Fashion: Volume 1, ed. Gardetti, M.A. and Muthu, S.S. Singapore: Springer Singapore, 2015.

[13] Das, P., Nag, D., Debnath, S., and Nayak, L. Machinery for extraction and traditional spinning of plant fibres. Indian Journal of Traditional Knowledge 9(2) (2010): 386-393.

[14] Doraiswamy, I. and Chellamani, P. Pineapple leaf fabrics. Textile progress 24(1) (1993): 1-37.

[15] Thakur, V.K., Thakur, M.K., and Gupta, R.K. Review: raw natural fiber–based polymer composites. International Journal of Polymer Analysis and Characterization 19(3) (2014): 256-271.

[16] Ghanbarzadeh, B. and Almasi, H. Biodegradable Polymers 2013. Available from: https://www.intechopen.com/books/biodegradation-life-of-science/biodegradable-polymers [2016, December 25]

[17] Hansen, N.M. and Plackett, D. Sustainable films and coatings from hemicelluloses: a review. Biomacromolecules 9(6) (2008): 1493-1505.

[18] Marisol, O.V., Emmanuel, A.H., Irasema, V.A., and Miguel, A.M. Plant Cell Wall Polymers: Function, Structure and Biological Activity of Their Derivatives 2012. Available from: https://www.intechopen.com/books/polymerization/plant-cell-wall-polymers-function-structure-and-biological-activity-of-their-derivatives [2016, December 25]

[19] Saha, B.C. Hemicellulose bioconversion. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology 30(5) (2003): 279-291.

[20] Hatfield, R. and Vermerris, W. Lignin formation in plants. The dilemma of linkage specificity. Plant Physiology 126(4) (2001): 1351-1357.

[21] Yao, B. and Ji, Y. Lignin biodegradation with laccase-mediator systems. Frontiers in Energy Research 2 (2014): 1-13.

[22] พิมเพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. Pectin: เพกติน 2010. Available from: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/430/pectin-เพคติน [20 เมษายน 2560]

[23] Sriamornsak, P. Chemistry of pectin and its pharmaceutical uses: A review. Silpakorn University International Journal 3(1-2) (2003): 206-228.

[24] เพคติน (Pectin) ประโยชน์ และสรรพคุณเพคติน Available from: http://www.Siamchemi.com/เพกติเนส/ [25เมษายน 2560]

[25] เปี่ยมสุข พงษ์สวัสดิ์. เอนไซม์ดัดแปรคาร์โบไฮเดรตในอุตสาหกรรม. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2551.

[26] การจำแนกชนิดของเอนไซม์ Available from: http://coursewares.mju.ac.th:81/elearning50/FT320/053.htm [25เมษายน 2560]

[27] Shmoop Editorial Team. Biology Enzymes in Detail - Shmoop Biology 2011. Available from: http://www.shmoop.com/energy-flow-enzymes/enzymes.html [2017, April 10]

[28] J111. Microbial pectinolytic enzymes: a review. Process Biochemistry 40(9) (2005): 2931-2944.

[29] 1111. Microbial pectinolytic enzymes: a review. Process Biochemistry 40(9) (2005): 2931-2944.

[30] Russell, P.J., Wolf, S.L., Starr, C., and McMillan, B. Enzyme, and Biological Reactions. Biology: The Dynamic Science, ed. Julet, M. United States of America: Thomson, 2008.

[31] คณาจารย์ประจำภาควิชาชีวเคมี. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล. ชีวเคมี. กรุงเทพ: ภาควิชาชีวเคมี. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล. , 2542.

[32] ดาวัลย์ ฉิมภู่. ชีวเคมี. กรุงเทพมหานคร: สำนักพิมพ์แห่งจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2555.

[33] อุษณีย์ วินิจเขตคำนวณ. คู่มือเรียนชีวเคมีโดย e-learning. เชียงใหม่: ภาควิชาชีวเคมี. คณะแพทยศาสตร์. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, 2548.

[34] Choudhury, R.A.K. Pre-treatment and preparation of textile materials prior to dyeing. Handbook of Textile and Industrial Dyeing Volume 1: Principles, process and types of dyes, ed. Ciark, M. United Kingdom: Woodhead Publishing, 2011.

[35] วิมลรัตน์ ศรีจรัสสิน. เทคโนโลยีสิ่งทอเบื้องต้น. กรุงเทพมหานคร: บริษัท คราฟแมนเพรส, 2550.

[36] Konczewicz, W. and Kozlowski, R. Enzymatic treatment of natural fibres. Handbook of Natural Fibres: Processing and Applications. United Kingdom: Woodhead Publishing, 2012.

[37] Jayani, R.S., Saxena, S., and Gupta, R. Microbial pectinolytic enzymes: a review. Process Biochemistry 40(9) (2005): 2931-2944.

[38] Kobayashi, H., Kaiki, H., Shrotri, A., Techikawara, K., and Fukuoka, A. Hydrolysis of woody biomass by a biomass-derived reusable heterogeneous catalyst. Chemical science 7(1) (2016): 692-696.

[39] Saha, S., Das, B., Ray, P., Pandey, S., and Goswami, K. SEM studies of the surface and fracture morphology of pineapple leaf fibers. Textile Research Journal 60(12) (1990): 726-731.

[40] Sricharussin, W., Ree-iam, P., Phanomchoeng, W., and Poolperm, S. Effect of enzymatic treatment on the dyeing of pineapple leaf fibres with natural dyes. Science Asia 35(1) (2009): 31-36.

[41] Nerurkar, M., Joshi, M., and Adivarekar, R. Bioscouring of cotton using lipase from marine bacteria *Bacillus sonorensis.* Applied biochemistry and biotechnology 175(1) (2015): 253-265.

[42] Lichawska-Olczyk, J., Ledakowicz, S., and Michniewicz, A. Bio-scouring of Linen Fabrics with Laccase Complex from *Cerrena unicolor.* Fibres & Textiles in Eastern Europe 4(63) (2007): 86--89.

[43] Wang, Q., Fan, X., Hua, Z., Gao, W., and Chen, J. Influence of combined enzymatic treatment on one-bath scouring of cotton knitted fabrics. Biocatalysis and Biotransformation 25(1) (2007): 9-15.

[44] Goering, H.K. and Van Soest, P.J. Forage fiber analysis. Agricultural Handbook No. 379. United States: U.S. Agricultural Research Service, 1970.

[45] Biswas, S., Jana, S., Mishra, A., and Nanda, G. Production, purification, and characterization of xylanase from a hyperxylanolytic mutant of *Aspergillus ochraceus.* Biotechnology and Bioengineering 35(3) (1990): 244-251.

[46] Qinnghe, C., Xiaoyu, Y., Tiangui, N., Cheng, J., and Qiugang, M. The screening of culture condition and properties of xylanase by white-rot fungus *Pleurotus ostreatus.* Process Biochemistry 39(11) (2004): 1561-1566.

[47] Hmida-Sayari, A., Taktek, S., Elgharbi, F., and Bejar, S. Biochemical characterization, cloning and molecular modeling of a detergent and organic solvent-stable family 11 xylanase from the newly isolated *Aspergillus niger US368* strain. Process Biochemistry 47(12) (2012): 1839-1847.

[48] Nair, S.G. and Shashidhar, S. Fungal xylanase production under solid state and submerged fermentation conditions. African Journal of Microbiology Research 2(4) (2008): 82-86.

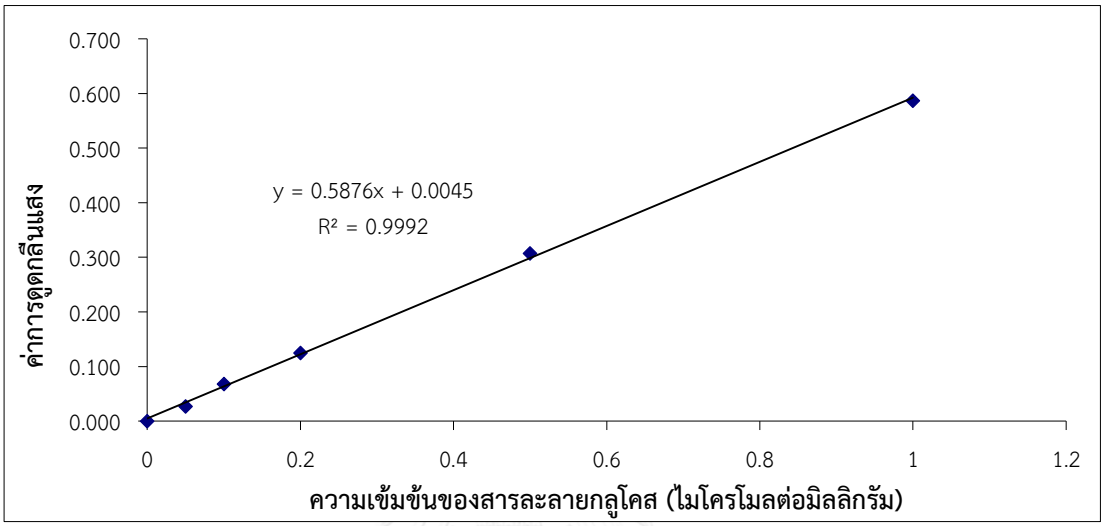
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก

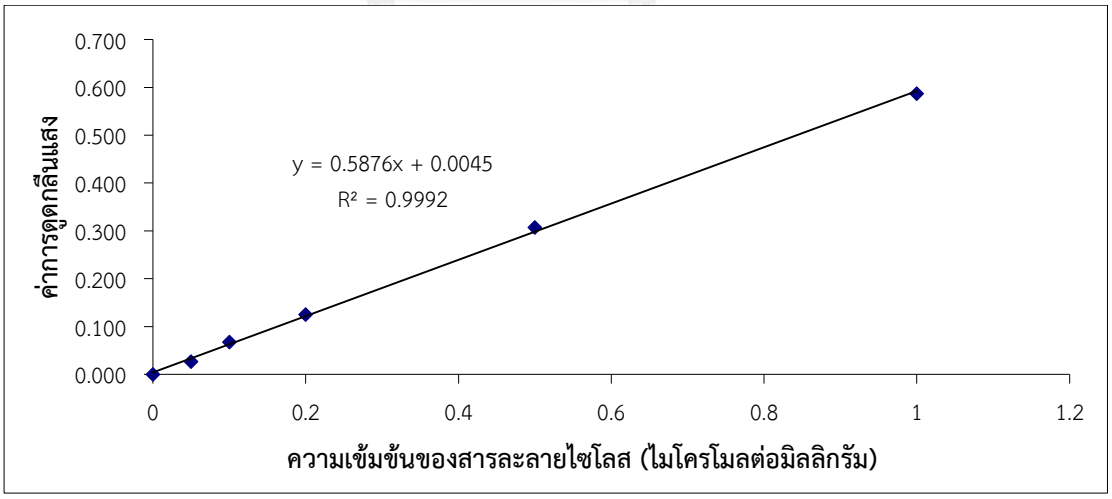
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ก

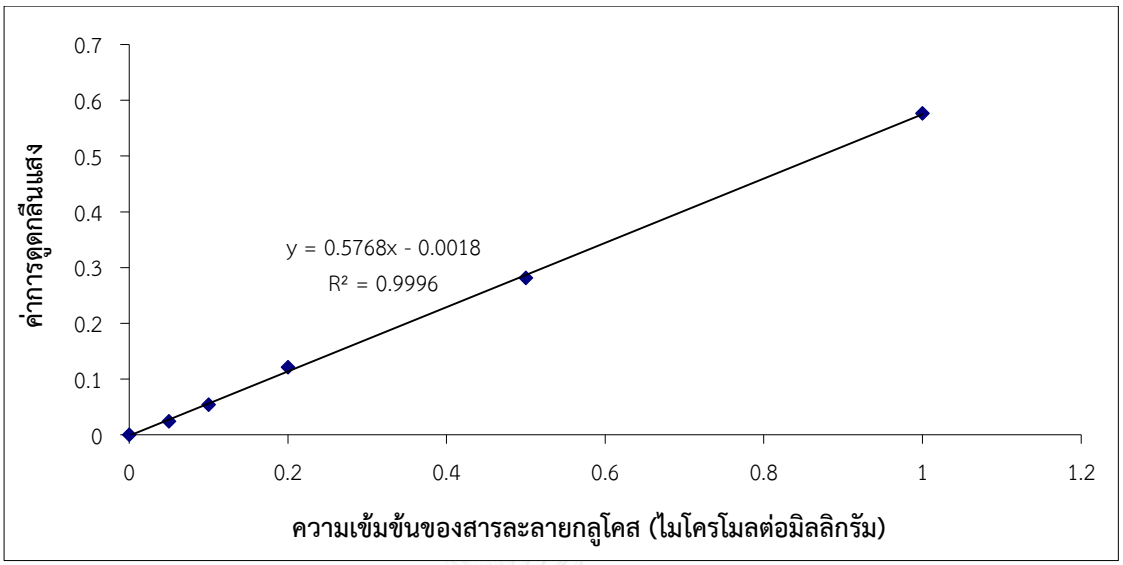
กราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสารละลายน้ำตาลมาตรฐานและค่าการดูดกลืนคลื่นแสง



รูปที่ ก.1 กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐานและค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร สำหรับเอนไซม์เพกติเนส



รูปที่ ก.2 กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายไซโลสมาตรฐานและค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร สำหรับเอนไซม์ไซแลนเนส



รูปที่ ก.3 กราฟมาตรฐาน (calibration curve) ระหว่างความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน และค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร สำหรับเอนไซม์เซลลูเลส

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ข
แอกทิวิตีของมัลติเอนไซม์

ตารางที่ ข.1 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสที่ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C พีเอช 5.5

อุณหภูมิ (°C)	แอกทิวิทีของเพกติเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของเพกติเนส
30	63.65 ± 2.09	43.06
40	79.82 ± 0.92	54.00
50	147.82 ± 6.17	100.00
55	67.04 ± 2.57	45.35
60	50.74 ± 2.86	34.33
70	39.96 ± 6.02	27.03

ตารางที่ ข.2 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ไซแลนเนสที่ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C พีเอช 5.5

อุณหภูมิ (°C)	แอกทิวิทีของไซแลนเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของไซแลนเนส
30	52.45 ± 0.85	13.71
40	125.86 ± 3.85	32.89
50	232.78 ± 0.04	60.83
55	368.51 ± 16.33	96.30
60	382.66 ± 1.49	100.00
70	52.45 ± 0.85	19.19

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข.3 แอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสที่ช่วงพีเอช 3–9 ในสารละลายบัพเฟอร์ชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 50°C

บัฟเฟอร์	พีเอช	แอกทิวิทีของเพกติเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของเพกติเนส
โซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์	3	689.72 ± 7.02	95.13
	4	725.02 ± 10.93	100.00
	5	201.68 ± 0.23	27.82
	5.5	167.42 ± 5.13	23.09
	6	121.49 ± 6.46	16.76
ฟอสเฟสบัฟเฟอร์	6	11.85 ± 0.42	2.48
	7	6.53 ± 1.29	1.37
	8	5.36 ± 0.62	1.12
ทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์	8	0.97 ± 0.29	0.2
	9	0.55 ± 0.18	0.11

ตารางที่ ข.4 แอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสที่ช่วงพีเอช 3–9 ในสารละลายบัพเฟอร์ชนิดต่างๆ ที่อุณหภูมิ 60°C

บัฟเฟอร์	พีเอช	แอกทิวิทีของไซแลนเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของไซแลนเนส
โซเดียมแอซิเตตบัฟเฟอร์	3	210 ± 8.39	43.75
	4	415.85 ± 1.58	86.64
	5	479.99 ± 3.85	100
	6	286.4 ± 6.88	59.67
ฟอสเฟสบัฟเฟอร์	6	189.49 ± 4.1	39.48
	7	12.46 ± 0.58	2.6
	8	4.01 ± 0.4	0.84
ทริสไฮโดรคลอริกบัฟเฟอร์	8	15.72 ± 1.6	3.28
	9	7.06 ± 0.49	1.47

ตารางที่ ข.5 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์เพกติเนสที่ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C พีเอช 5.5

อุณหภูมิ (^{o}C)	**แอกทิวิทีของเพกติเนส (U/ml)**	**ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของเพกติเนส**
30	242.93 ± 2.37	32.96
40	482.30 ± 8.58	65.45
50	736.93 ± 11.41	100.00
55	641.15 ± 1.90	87.00
60	204.91 ± 0.22	27.81
70	242.93 ± 2.37	32.96

ตารางที่ ข.6 แอกทิวิตีสัมพัทธ์ของเอนไซม์ไซแลนเนสที่ช่วงอุณหภูมิ 30-70°C พีเอช 5.5

อุณหภูมิ (^{o}C)	**แอกทิวิทีของไซแลนเนส (U/ml)**	**ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของไซแลนเนส**
30	76.60 ± 3.67	20.52
40	141.15 ± 4.12	37.82
50	235.59 ± 1.53	63.12
55	373.24 ± 4.15	100.00
60	197.54 ± 0.84	52.92
70	76.60 ± 3.67	20.52

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข.7 ความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสที่พีเอช 4 และพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 50°C

พีเอช	เวลา (นาที)	แอกทิวิทีของเพกติเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของเพกติเนส
4	0	731.50 ± 21.10	100.00
	15	672.64 ± 2.59	91.95
	30	653.29 ± 20.20	89.31
	60	568.93 ± 36.75	77.78
	90	556.05 ± 14.33	76.02
	120	523.23 ± 33.37	71.53
	150	176.23 ± 7.48	24.09
	180	128.15 ± 4.12	17.52
5.5	0	135.85 ± 17.66	100.00
	15	132.75 ± 0.08	97.72
	30	48.29 ± 0.45	35.55
	60	43.65 ± 2.02	32.13
	90	41.11 ± 0.56	30.26
	120	37.97 ± 1.20	27.95
	150	37.35 ± 0.33	27.50
	180	40.28 ± 0.44	29.65

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข.8 ความเสถียรของเอนไซม์ไซแลนเนสที่พีเอช 4 และพีเอช 5.5 อุณหภูมิ 50°C

พีเอช	เวลา (นาที)	แอกทิวิทีของไซแลนเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของไซแลนเนส
4	0	255.66 ± 8.65	100.00
	15	166.63 ± 6.43	65.18
	30	99.53 ± 2.88	38.93
	60	53.64 ± 3.36	20.98
	90	27.63 ± 0.06	10.81
	120	23.78 ± 2.15	9.30
	150	20.89 ± 3.63	8.17
	180	21.80 ± 0.54	8.53
5.5	0	251.41 ± 2.79	100.00
	15	166.02 ± 2.52	66.04
	30	104.38 ± 2.64	41.52
	60	51.50 ± 1.86	20.48
	90	24.74 ± 1.14	9.84
	120	21.45 ± 0.36	8.53
	150	17.77 ± 1.35	7.07
	180	18.71 ± 0.55	7.44

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ข.9 ความเสถียรของเอนไซม์เพกติเนสที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 60°C

พีเอช	เวลา (นาที)	แอกทิวิทีของเพกติเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของเพกติเนส
4	0	750.72 ± 42.78	100.00
	15	133.83 ± 2.25	17.83
	30	22.51 ± 3.19	3.00
	60	15.47 ± 5.10	2.06
	90	12.48 ± 1.79	1.66
	120	14.20 ± 0.61	1.89
	150	11.20 ± 0.93	1.49
	180	12.42 ± 0.96	1.65

ตารางที่ ข.10 ความเสถียรของเอนไซม์ไซแลนเนสที่พีเอช 4 อุณหภูมิ 60°C

พีเอช	เวลา (นาที)	แอกทิวิทีของไซแลนเนส (U/ml)	ร้อยละแอกทิวิทีสัมพัทธ์ของไซแลนเนส
4	0	343.17 ± 0.27	100.00
	15	22.49 ± 0.13	6.55
	30	9.32 ± 0.48	2.72
	60	12.38 ± 0.20	3.61
	90	1.54 ± 0.10	0.45
	120	4.65 ± 0.21	1.35
	150	4.93 ± 0.08	1.44
	180	3.41 ± 0.04	0.99

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ค
ความต้านทานต่อแรงดึงขาดของเส้นด้ายใยสับปะรด

ตารางที่ ค.1 แรงดึงขาด ความเหนียวและร้อยละของการยืดตัว ณ จุดขาดของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนกำจัดสิ่งสกปรก

ตัวอย่าง	แรงดึงขาด (นิวตัน)	ความเหนียว (กรัมต่อเท็กซ์)	ร้อยละของการยืดตัว ณ จุดขาด
1	6.49	107.79	47.92
2	8.58	142.50	87.88
3	11.33	188.17	59.20
4	14.50	240.82	54.48
5	18.48	306.92	23.96
6	20.60	342.12	56.32
7	20.83	345.94	106.04
8	25.05	416.03	58.60
9	26.18	434.80	59.36
ค่าเฉลี่ย	16.89	280.56	61.53
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	7.06	117.22	23.37

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ค.2 แรงดึงขาด ความเหนียวและร้อยละของการยืดตัว ณ จุดขาดของเส้นด้ายใยสับปะรดที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์

ตัวอย่าง	แรงดึงขาด (นิวตัน)	ความเหนียว (กรัมต่อเท็กซ์)	ร้อยละของการยืดตัว ณ จุดขาด
1	11.70	194.31	58.44
2	18.01	299.11	29.76
3	18.81	312.40	52.48
4	19.68	326.84	72.64
5	23.20	385.30	89.12
ค่าเฉลี่ย	18.28	303.59	60.49
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	4.18	69.39	22.25

ตารางที่ ค.3 แรงดึงขาด ความเหนียวและร้อยละของการยืดตัว ณ จุดขาดของเส้นด้ายใยสับปะรดที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์

ตัวอย่าง	แรงดึงขาด (นิวตัน)	ความเหนียว (กรัมต่อเท็กซ์)	ร้อยละของการยืดตัว ณ จุดขาด
1	18.82	312.56	83.32
2	18.85	313.06	76.00
3	26.50	440.11	96.60
4	30.40	504.88	75.24
5	32.41	538.26	53.24
6	35.87	595.73	60.12
ค่าเฉลี่ย	27.14	450.77	74.09
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	6.49	118.13	15.66

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ง
ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนของเส้นด้ายใยสับปะรด

ตารางที่ ง.1 ปริมาณและชนิดของสิ่งเจือปนของเส้นด้ายใยสับปะรดก่อนและหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และด้วยมัลติเอนไซม์

เส้นด้าย	เฮมิเซลลูโลส (%)	ลิกนิน (%)
ก่อนกำจัดสิ่งสกปรก	22.06	2.32
	20.79	3.46
	20.17	1.18
ค่าเฉลี่ย	21.01	2.32
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.96	1.14
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	19.17	0.00
	16.97	3.2
	18.81	0.15
	19.88	1.69
ค่าเฉลี่ย	18.71	1.26
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	1.24	1.50
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์	19.67	2.00
	12.72	0.13
	16.02	1.29
	16.96	0.00
ค่าเฉลี่ย	16.34	0.85
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	2.87	0.96

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก จ
น้ำหนักของเส้นด้ายที่หายไป

ตารางที่ จ.1 น้ำหนักของเส้นด้ายใยสับปะรดที่หายไปหลังการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ การกำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์และการกำจัดสิ่งสกปรกด้วย Blank treatment

เส้นด้าย	น้ำหนักเส้นด้ายก่อนกำจัดสิ่งสกปรก (กรัม)	น้ำหนักเส้นด้ายหลังกำจัดสิ่งสกปรก (กรัม)	น้ำหนักของเส้นด้ายที่หายไป (กรัม)	ร้อยละของน้ำหนักเส้นด้ายที่หายไป
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์	2.754	2.406	0.348	12.64
	2.757	2.411	0.346	12.55
	2.736	2.386	0.350	12.79
ค่าเฉลี่ย	2.75	2.40	0.35	12.66
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.01	0.01	0.00	0.12
กำจัดสิ่งสกปรกด้วยมัลติเอนไซม์	2.745	2.364	0.381	13.88
	2.760	2.368	0.392	14.20
	2.750	2.377	0.373	13.56
ค่าเฉลี่ย	2.75	2.37	0.38	13.88
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.01	0.01	0.01	0.32
กำจัดสิ่งสกปรกด้วย Blank treatment	2.744	2.448	0.296	10.79
	2.744	2.451	0.293	10.68
	2.739	2.451	0.288	10.51479
ค่าเฉลี่ย	2.74	2.45	0.29	10.66
ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	0.00	0.00	0.00	0.14

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ภาคผนวก ฉ
การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติ

ผลการวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป Minitab 18 Statistical Software เพื่อใช้ในการคัดเลือกสูตรอาหารสำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Aspergillus* sp.

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติของการเติมกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ ฉ.1 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสจากการเติมกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
glucose	4	489.5	122.36	2.57	0.164
Error	5	237.9	47.58		
Total	9	727.4			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.2 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของกลูโคสที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Glucose (%)	N	Mean	Grouping
0.0	2	123.051	A
1.0	2	114.65	A
0.5	2	113.25	A
2.0	2	105.24	A
3.0	2	103.73	A

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.3 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากการเติมกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
glucose	4	1978.0	494.49	5.00	0.054
Error	5	494.8	98.96		
Total	9	2472.8			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.4 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของกลูโคสที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Glucose (%)	N	Mean	Grouping
0.0	2	312.57	A
1.0	2	288.07	A
0.5	2	281.04	A
3.0	2	275.88	A
2.0	2	273.66	A

Means that do not share a letter are significantly different.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ฉ.5 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการเติมกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
glucose	4	36849	9212.3	13.46	0.007
Error	5	3421	684.2		
Total	9	40270			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.6 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของกลูโคสที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Glucose (%)	N	Mean	Grouping		
0.0	2	743.4	A		
0.5	2	687.5	A	B	
1.0	2	636.79		B	C
3.0	2	593.2		B	C
2.0	2	579.9			C

Means that do not share a letter are significantly different.

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติของการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ ฉ.7 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสจากการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Ammonium sulfate	3	213.8	71.28	2.53	0.196
Error	4	112.7	28.19		
Total	7	326.6			

หมายเหตุ $P \leq 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

$P > 0.05$ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.8 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัตเฟตที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Ammonium sulfate (%)	N	Mean	Grouping
0.3	2	112.38	A
0.0	2	106.10	A
0.1	2	104.45	A
0.5	2	97.850	A

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.9 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Ammonium sulfate	3	3012.8	1004.3	9.30	0.028
Error	4	432.2	108.0		
Total	7	3444.9			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.10 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัตเฟตที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Ammonium sulfate (%)	N	Mean	Grouping	
0.0	2	435.8	A	
0.1	2	397.53	A	B
0.5	2	396.13	A	B
0.3	2	384.19		B

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.11 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Ammonium sulfate	3	13221	4406.9	7.44	0.041
Error	4	2370	592.6		
Total	7	15591			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.12 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัตเฟตที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Ammonium sulfate (%)	N	Mean	Grouping
0.0	2	817.0	A
0.1	2	728.0	A
0.5	2	723.58	A
0.3	2	718.6	A

Means that do not share a letter are significantly different.

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติของการเติมยูเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ ฉ.13 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสจากการเติมยูเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Urea	3	1517.4	505.80	10.68	0.022
Error	4	189.4	47.36		
Total	7	1706.8			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.14 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของยูเรียที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Urea (%)	N	Mean	Grouping	
1.0	2	137.67	A	
0.3	2	122.11	A	B
0.0	2	113.22	A	B
2.0	2	99.78		B

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.15 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสสจากการเติมยูเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Urea	3	3316.4	1105.5	4.47	0.091
Error	4	988.5	247.1		
Total	7	4304.9			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.16 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของยูเรียที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Urea (%)	N	Mean	Grouping
2.0	2	454.8	A
0.0	2	435.8	A
1.0	2	425.46	A
0.3	2	398.47	A

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.17 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการเติมยูเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Urea	3	167549	55849.5	87.73	0.000
Error	4	2547	636.6		
Total	7	170095			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ตารางที่ ฉ.18 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของยูเรียที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Urea (%)	N	Mean	Grouping		
0.0	2	817.0	A		
1.0	2	768.339	A	B	
0.3	2	692.3		B	
2.0	2	441.1			C

Means that do not share a letter are significantly different.

การวิเคราะห์ทางสถิติผลของการเติม Tween 80 ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ ฉ.19 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสจากการเติม Tween 80 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tween 80	4	224.7	56.18	1.16	0.426
Error	5	241.5	48.29		
Total	9	466.2			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.20 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของ Tween 80 ที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Tween 80 (%)	N	Mean	Grouping
0.10	2	144.86	A
0.50	2	142.80	A
1.00	2	138.72	A
0.05	2	137.21	A
0.00	2	131.239	A

Means that do not share a letter are significantly different

ตารางที่ ฉ.21 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากการเติม Tween 80 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tween 80	4	52147.4	13036.9	173.68	0.000
Error	5	375.3	75.1		
Total	9	52522.7			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.22 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของ Tween 80 ที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Tween 80 (%)	N	Mean	Grouping		
0.10	2	486.98	A		
0.05	2	458.27	A	B	
0.00	2	449.43		B	
1.00	2	321.15			C
0.50	2	318.243			C

Means that do not share a letter are significantly different

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ ฉ.23 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการเติม Tween 80 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
Tween 80	4	1988	497.1	0.95	0.506
Error	5	2619	523.7		
Total	9	4607			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.24 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของ Tween 80 ที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Tween 80 (%)	N	Mean	Grouping
1.00	2	636.8	A
0.50	2	631.75	A
0.10	2	619.7	A
0.05	2	611.93	A
0.00	2	597.38	A

Means that do not share a letter are significantly different.

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติของการเติมเพปโตนในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ ฉ.25 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสจากการเติมเพปโตนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
peptone	3	210.9	70.29	2.00	0.168
Error	12	422.3	35.19		
Total	15	633.2			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.26 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของเพปโตนที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Peptone (%)	N	Mean	Grouping
2.5	6	144.32	A
5.0	2	143.34	A
1.0	6	139.36	A
0.0	2	133.34	A

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.27 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากการเติมเพปโตนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
peptone	3	4987	1662.32	17.71	0.000
Error	12	1127	93.88		
Total	15	6114			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.28 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของเพปโตนที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Peptone (%)	N	Mean	Grouping		
5.0	2	471.54	A		
2.5	6	431.04		B	
1.0	6	429.98		B	
0.0	2	401.75			C

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.29 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการเติมเพปโตนในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
peptone	3	11295	3765	3.39	0.054
Error	12	13319	1110		
Total	15	24614			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.30 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของเพปโตนที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Peptone (%)	N	Mean	Grouping	
5.0	2	718.4	A	
2.5	6	689.0	A	B
1.0	6	670.09	A	B
0.0	2	619.08		B

Means that do not share a letter are significantly different.

การวิเคราะห์ทางสถิติผลของการเติมยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ ฉ.31 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสจากการเติมยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
yeast extract	2	243.1	121.53	4.05	0.043
Error	13	390.1	30.01		
Total	15	633.2			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.32 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของยีสต์สกัดที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Yeast extract (%)	N	Mean	Grouping	
5.0	6	145.85	A	
1.0	4	139.48		B
2.5	6	137.07		B

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.33 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากการเติมยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
yeast extract	2	1190	595.1	1.57	0.245
Error	13	4923	378.7		
Total	15	6114			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.34 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของยีสต์สกัดที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Yeast extract (%)	N	Mean	Grouping
5.0	6	442.75	A
1.0	4	429.32	A
2.5	6	423.16	A

Means that do not share a letter are significantly different.

ตารางที่ ฉ.35 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการเติมยีสต์สกัดในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
yeast extract	2	8776	4388	3.60	0.050
Error	13	15838	1218		
Total	15	24614			

หมายเหตุ ถ้า P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
ถ้า P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.36 การจัดกลุ่มความเข้มข้นของยีสต์สกัดที่ส่งผลต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนด้วยวิธี Tukey ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

Yeast extract (%)	N	Mean	Grouping	
5.0	6	705.8	A	
1.0	4	670.1		B
2.5	6	652.4		B

Means that do not share a letter are significantly different.

การวิเคราะห์ผลการทดลองทางสถิติของการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟสและโพแทสเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อแอกทิวิตีของเอนไซม์

ตารางที่ ฉ.37 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เพกติเนสจากการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟสและโพแทสเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
potassium dihydrogen phosphate	2	24.431	12.216	0.57	0.577
potassium chloride	2	4.166	2.083	0.10	0.907
Error	13	276.584	21.276		
Lack-of-Fit	4	128.188	32.047	1.94	0.187
Pure Error	9	148.397	16.489		
Total	17	305.182			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.38 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟสและโพแทสเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
potassium dihydrogen phosphate	2	269.89	134.95	0.23	0.796
potassium chloride	2	21.85	10.93	0.02	0.981
Error	13	7569.78	582.29		
Lack-of-Fit	4	1085.76	271.44	0.38	0.820
Pure Error	9	6484.02	720.45		
Total	17	7861.52			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ตารางที่ ฉ.39 วิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยแอกทิวิตีของเอนไซม์ไซแลนเนสจากการเติมโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟสและโพแทสเซียมคลอไรด์ในอาหารเลี้ยงเชื้อ

Source	DF	Adj SS	Adj MS	F-Value	P-Value
potassium dihydrogen phosphate	2	3168	1584.2	2.08	0.164
potassium chloride	2	7711	3855.7	5.07	0.024
Error	13	9884	760.3		
Lack-of-Fit	4	5713	1428.2	3.08	0.074
Pure Error	9	4171	463.4		
Total	17	20763			

หมายเหตุ P ≤ 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

P > 0.05 แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

ภาคผนวก ช
การเตรียมสารเคมีที่ใช้ในงานวิจัย

การเตรียมสารละลาย 3, 5 – Dinitrosalicylic acid (DNS)

สารเคมี

- กรด 3, 5-ไดไนโตรซาลิไซลิก (3, 5 – dinitrosalicylic acid)	10.6	กรัม
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Soduim hydroxide)	19.8	กรัม
- โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (sodium-potassium tartrate)	306.0	กรัม
- ฟีนอล (Phenol)	7.6	กรัม
- โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ (Sodium-metabisul)	8.3	กรัม
- น้ำ	1,416	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

1) ละลายกรด 3,5-ไดไนโตรซาลิไซลิก ในน้ำอุ่นปริมาตาร 1,416 มิลลิลิตร ให้ละลายจนหมด
2) เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต และโซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ ลงไปตามลำดับ ละลายสารจนหมด
3) เติมฟีนอลลงไปเป็นลำดับสุดท้าย โดยทำในตู้ดูดควัน แล้วเก็บใส่ขวดสีชา

การเตรียมสารละลายสารละลายเกลือ (Salt solution)

สารเคมี

- โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	40	กรัม
- โซเดียมฟอสเฟต (Na_2HPO_4)	90	กรัม
- โพแทสเซียมคลอไรด์ (KCl)	6	กรัม
- น้ำ	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลายโพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต โซเดียมฟอสเฟต และโพแทสเซียมคลอไรด์ ในน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

การเตรียม Trace element

สารเคมี

- ซิงค์ (II) ซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($ZnSO_4 \cdot H_2O$)	14.3	กรัม
- นิกเกิล (II) คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต ($NiCl_2 \cdot 6H_2O$)	0.5	กรัม
- คอปเปอร์ (II) ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)	2.5	กรัม
- ไอออน (II) ซัลเฟตโมโนไฮเดรต ($FeSO_4 \cdot H_2O$)	13.8	กรัม
- น้ำ	1,000	มิลลิลิตร

วิธีการเตรียม

ละลายซิงค์ (II) ซัลเฟตโมโนไฮเดรต, นิกเกิล (II) คลอไรด์เฮกซะไฮเดรต, คอปเปอร์ (II) ซัลเฟตเพนตะไฮเดรต และไอออน (II) ซัลเฟตโมโนไฮเดรต ในน้ำปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
Chulalongkorn University

ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์

นางสาวพิชญาภา นิรมล เกิดเมื่อวันที่ 30 เมษายน พ.ศ. 2535 สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาตรี วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาปิโตรเคมีและวัสดุพอลิเมอร์ ภาควิชาวิทยาการและวิศวกรรมวัสดุ คณะวิศวกรรมศาสตร์และเทคโนโลยีอุตสาหกรรม มหาวิทยาลัยศิลปากร ในปีการศึกษา 2556 หลังจากนั้นได้เข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์พอลิเมอร์ประยุกต์และเทคโนโลยีสิ่งทอ ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย และสำเร็จการศึกษาในภาคปลาย ปีการศึกษา 2559

ทุนการศึกษา

ทุนอุดหนุนงานวิจัยจากสำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) และบริษัท ไทยนำโชคเท็กซ์ไทล์ จำกัด ภายใต้โครงการพัฒนานักวิจัยและงานวิจัยเพื่ออุตสาหกรรม (พวอ.) ระดับปริญญาโท ปีการศึกษา 2558

ประสบการณ์ทำงาน

ปี พ.ศ. 2555 ฝึกงานที่บริษัท แล็บเทคเอนจิเนียริ่ง จำกัด

ผลงานที่ได้ตีพิมพ์เผยแพร่

1 . Hemsri, S., Thongpin, C., Moradokpermpoon, N., Niramon, P., and Suppaso, M. Mechanical Properties and Thermal Stability of Poly (butylene succinate)/Acrylonitrile Butadiene Rubber Blend. in Macromolecular Symposia, pp. 145-154: Wiley Online Library, 2015.

2 . Niramon, P., Nimchua, T., Suwanprateep, J., Thongkred, P., and Sangwatanaroj, U. Multi-enzyme from Aspergillus sp. for scouring of pineapple yarn. in The Pure and Applied Chemistry International Conference 2017 (PACCON2017), pp. 571-576, 2017.