การผลิตเอนโด-เอนริชเซลลูเลสจากเชื้อราและการนำไปประยุกต์ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย

นายขรรค์ชัย ดั้นเมฆ

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
ปีการศึกษา 2546

ISBN 974-17-5062-5

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

PRODUCTION OF ENDO-ENRICHED CELLULASES FROM FUNGI AND THEIR APPLICATION IN FABRIC SCOURING

Mr. Khanchai Danmek

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Biotechnology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2003

ISBN 974-17-5062-5

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตเอนโด-เอนริชเซลลูเลสจากเชื้อราและการนำไปประยุกต์ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย
โดย	นายขรรค์ชัย ดั้นเมฆ
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษา แสงวัฒนาโรจน์

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้นับวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญามหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

(ศาสตราจารย์ ดร. เปี่ยมศักดิ์ เมนะเศวต)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษา แสงวัฒนาโรจน์)

..... กรรมการ

(รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ)

..... กรรมการ

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกทิพย์ ภักดีบำรุง)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขรรค์ชัย ดั้นเมฆ: การผลิตเอนโด-เอนริชเซลลูเลสจากเชื้อราและการนำไปประยุกต์ในการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย (PRODUCTION OF ENDO-ENRICHED CELLULASES FROM FUNGI AND THEIR APPLICATION IN FABRIC SCOURING)
อ.ที่ปรึกษา : ผศ.ดร.หรรษา ปุณณะพยัคฆ์, อ.ที่ปรึกษาร่วม : ผศ.ดร. อุษา แสงวัฒนาโรจน์ ; 160 หน้า. ISBN 974-17-5062-5

การผลิตเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อรา *Acrophialophora* sp. *Trichoderma reesei* *Penicillium* sp. *Aspergillus flavus* และ *Aspergillus terreus* โดยใช้ก้านใบกล้วยเป็นแหล่งคาร์บอน ทำการผลิตเอนไซม์ในภาวะต่างๆ ได้แก่ การปรับสภาพแหล่งเซลลูโลส แหล่งไนโตรเจน แหล่งอาหารเสริม และอุณหภูมิที่ใช้เลี้ยงเพื่อหาภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต ผลพบว่าเชื้อราทุกชนิดสามารถผลิตเอนไซม์ได้ดีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์มีดังนี้ 1) *Acrophialophora* sp. สามารถผลิตเอนโดกลูคาเนสได้ 1.357 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในสูตรอาหารที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วย NaOH 5 เปอร์เซ็นต์ แหล่งไนโตรเจนเป็น $NH_4H_2PO_4$ หรือเปปโตน และ ถั่วเหลืองบด 0.05 เปอร์เซ็นต์ 2) *T. reesei* สามารถผลิตเอนโดกลูคาเนสได้ 3.482 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในสูตรอาหารที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วย NaOH 0 เปอร์เซ็นต์ แหล่งไนโตรเจนเป็น NH_4NO_3 และถั่วเหลืองบด 1.00 เปอร์เซ็นต์ 3) *Penicillium* sp. สามารถผลิตเอนโดกลูคาเนสได้ 0.615 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในสูตรอาหารที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วย NaOH 0 เปอร์เซ็นต์ แหล่งไนโตรเจนเป็น NH_4NO_3 และไม่มีการเติมถั่วเหลืองบด 4) *A. flavus* สามารถผลิตเอนโดกลูคาเนสได้ 1.252 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในสูตรอาหารที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วย NaOH 5 เปอร์เซ็นต์ แหล่งไนโตรเจนเป็น NH_4NO_3 หรือ $NH_4H_2PO_4$ และไม่มีการเติมถั่วเหลืองบด 5) *A. terreus* สามารถผลิตเอนโดกลูคาเนสได้ 1.674 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ในสูตรอาหารที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วย NaOH 5 เปอร์เซ็นต์ แหล่งไนโตรเจนเป็น $NH_4H_2PO_4$ และถั่วเหลืองบด 0.05 เปอร์เซ็นต์ เอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ทำงานได้ดีและมีความเสถียรที่ค่าความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 มีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำปฏิกิริยาเท่ากับ 60 องศาเซลเซียส เมื่อบ่มเอนไซม์ที่ค่าความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 นาที สามารถคงค่าความเสถียรได้ ดังนี้ คือ *Acrophialophora* sp. 39.65 เปอร์เซ็นต์ *T. reesei* 79.55 เปอร์เซ็นต์ *Penicillium* sp. 38.31 เปอร์เซ็นต์ *A. flavus* 25.05 เปอร์เซ็นต์ และ *A. terreus* 74.73 เปอร์เซ็นต์ เมื่อนำเอนโดกลูคาเนสที่ผลิตได้ไปใช้ในกระบวนการกำจัดสิ่งสกปรกบนผ้าฝ้าย โดยใช้ไลเปสหรือโปรตีเอสทางการค้าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที และตามด้วยเอนโดกลูคาเนสที่ผลิตได้ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 30 นาที พบว่าผ้าดูดซึมน้ำได้ดีและสม่ำเสมอ มีค่าความขาวเพิ่มขึ้น

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ ลายมือชื่อนิสิต .....
ปีการศึกษา 2546 ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา .....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม .....

4372220023 : MAJOR BIOTECHNOLOGY

KEY WORDS: CELLULASE/ ENDOGLUCANASE / FUNGI / FABRIC SCOURING /

KHANCHAI DANMEK : PRODUCTION OF ENDO-ENRICHED CELLULASES FROM FUNGI AND THEIR APPLICATION IN FABRIC SCOURING. THESIS ADVISOR : ASST. PROF. HUNSA PUNNAPAYAK, Ph.D. THESIS CO-ADVISOR : ASST. PROF. USA SANGWATANAROJ, Ph.D. ; 160 pp. ISBN 974-17-5062-5.

Endoglucanases from fungi including *Acrophialophora* sp. *Trichoderma reesei*, *Penicillium* sp., *Aspergillus flavus*, and *Aspergillus terreus* were producing using media containing banana-leaf stalk as the sole carbon source. The enzymes were produced under various conditions involving the pretreatment of cellulose sources, different nitrogen sources, supplementary nutrients and incubation temperature in order to optimize the production. *Acrophialophora* sp. was produced endoglucanase 1.357 U/mg in media containing banana leaf stalk was pretreated with NaOH 5 %, NH_4NO_3 or peptone, and soybean 1.00 %. *T. reesei* was produced endoglucanase 3.482 U/mg in media containing banana leaf stalk was pretreated with NaOH 0 %, NH_4NO_3, and soybean 0.05 %. *Penicillium* sp. was produced endoglucanase 0.615 U/mg in media containing banana leaf stalk was pretreated with NaOH 5 %, NH_4NO_3, and soybean 0.00 %. *A. flavus* was produced endoglucanase 1.252 U/mg in media containing banana leaf stalk was pretreated with NaOH 5 %, NH_4NO_3 or $NH_4H_2PO_4$, and soybean 0.00 %. *A. terreus* was produced endoglucanase 1.674 U/mg in media containing banana leaf stalk was pretreated with NaOH 5 %, $NH_4H_2PO_4$, and soybean 0.05 %. Endoglucanases from all five fungi showed the optimum activities and stability at pH 5.0. The optimum temperature was found to be thermostable at 60 ^{o} C. After incubating at 60 ^{o} C for 120 minutes, the remaining activities were found to be 79.55 %(*T. reesei*), 74.73 %(*A. terreus*), 39.65 %(*Acrophialophora* sp.), 25.05 %(*A. flavus*) and 38.31 % (*Penicillium* sp.) respectively. When the enzymes were used for fabric scouring, beginning with treatment of the commercial lipase or protease to clean the surface of the cotton fabric at 37 ^{o} C for 30 minutes, followed by each endoglucanase at 60 ^{o} C for 30 minutes The treated fabrics absorbed water instantaneously and evenly. This enzymatic scouring process also enhanced the fabric whiteness index.

Field of study Biotechnology Student's signature .....

Academic year 2003 Advisor's signature .....

Co-advisor's signature .....

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี จากความช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากหลายๆ ท่าน ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. หรรษา ปุณณะพยัคฆ์ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่กรุณาเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา ให้คำแนะนำ แนะแนวทางในการทำวิจัย และสนับสนุนด้านต่างๆ ตลอดจนตรวจทานแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้เสร็จสมบูรณ์อย่างดียิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อุษา แสงวัฒนาโรจน์ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ที่คอยให้คำแนะนำ แนะแนวทางในการทำวิจัย ตลอดจนแก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้เสร็จสมบูรณ์อย่างดียิ่ง

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. พงศ์ธาริน โล่ห์ตระกูล ที่กรุณามาเป็นประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยตรวจทาน แก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้เสร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ มุกดา คูหิรัญ ที่กรุณามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยตรวจทาน แก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้เสร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี

ขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. กนกทิพย์ ภักดีบำรุง ที่กรุณามาเป็นกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ และช่วยตรวจทาน แก้ไขวิทยานิพนธ์นี้ให้เสร็จสมบูรณ์ไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณทุนพัฒนาอาจารย์มหาวิทยาลัยนเรศวร ที่ให้ทุนการศึกษา และค่าเล่าเรียนในปีการศึกษา 2543 ถึง 2544 ทุนบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2546 ที่ให้ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยบางส่วน ทุนผู้ช่วยสอนบัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ปีการศึกษา 2545 และ 2546 ที่ให้ทุนสนับสนุนค่าใช้จ่ายส่วนตัวในแต่ละเดือน ทุนสนับสนุนในการทำวิจัยจากหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ทุนสนับสนุนในการเสนอผลงานบางส่วนของงานวิจัยจากสมาคมเทคโนโลยีชีวภาพแห่งประเทศไทย และ หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ฝ่ายกองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์ทุกท่าน ที่ช่วยสอนและให้คำแนะนำในการวิเคราะห์หาเยื่อใยจากอาหารสัตว์

ขอขอบคุณสุนันท์ ลิ้มเทียนเจริญ เจ้าหน้าที่หลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ที่คอยช่วยเหลือ ประสานงาน ให้ข้อมูลที่ดียิ่งแก่ข้าพเจ้าด้วยดีเสมอมา

ขอขอบคุณน้องจิตติมา ฐิติธนนันท์ และน้องชญาณี เนื่องไชยลี ภาควิชาวิศวกรรมเคมีสิ่งทอ คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล วิทยาเขตเทคนิคกรุงเทพ ที่ได้ช่วยเหลือและให้คำแนะนำในงานวิจัยเกี่ยวกับการนำเอนไซม์ไปใช้ในกระบวนการเตรียมผ้าฝ้าย

ขอขอบคุณคณาจารย์ และบุคลากร ภาควิชาพฤกษศาสตร์ และหลักสูตรเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย รวมถึง พี่ๆ น้องๆ และเพื่อนๆ ห้องปฏิบัติการการใช้ประโยชน์จากชีวมวลของพืชทุกท่าน ที่ให้ความช่วยเหลือ พร้อมทั้งแนะนำสิ่งต่างๆ ที่มีประโยชน์ และให้กำลังใจข้าพเจ้าด้วยดีเสมอมา

และท้ายสุดนี้ ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ บิดา มารดา และน้องสาวข้าพเจ้าที่ช่วยสนับสนุนในด้านต่างๆ และเป็นกำลังใจด้วยดีตลอดมา

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ..... ง
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ..... จ
กิตติกรรมประกาศ ..... ฉ
สารบัญ ..... ช
สารบัญตาราง ..... ซ
สารบัญรูป ..... ฎ
บทที่
1. บทนำ 1
2. การตรวจเอกสาร 4
3. วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีดำเนินการทดลอง 29
4. ผลการทดลอง 45
5. วิจารณ์ผลการทดลอง 111
6. สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ 122
รายการอ้างอิง 125
ภาคผนวก
ภาคผนวก ก 140
ภาคผนวก ข 143
ภาคผนวก ค 154
ประวัติผู้เขียนวิทยานิพนธ์ 160

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

บทที่ 2

2.1 เชื้อราบางชนิดที่สามารถผลิตเซลลูเลสได้ 8,9

2.2 ปริมาณการเพาะปลูกอ้อยในประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ. 2535 ถึง 2545 10

2.3 ปริมาณการเพาะปลูกข้าวโพดในประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ. 2535 ถึง 2545 11

2.4 ปริมาณการเพาะปลูกกล้วยหอมในประเทศไทยในช่วงปี พ.ศ. 2540 ถึง 2544 11

2.5 ปริมาณเซลลูเลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้าของวัสดุการเกษตรและขยะจากอุตสาหกรรมบางชนิด 16

2.6 ชนิดและปริมาณแร่ธาตุบางชนิด ที่พบเป็น องค์ประกอบในส่วนต่างๆ ของต้นกล้วย 16

2.7 ตัวอย่างการปรับสภาพวัสดุทางการเกษตรบางชนิดด้วยวิธีทางกายภาพแบบต่างๆ 17

2.8 การปรับสภาพวัสดุทางการเกษตรบางชนิดด้วยวิธีทางเคมี 18

2.9 การปรับสภาพวัสดุทางการเกษตรบางชนิดด้วยวิธีผสม 18

2.10 การแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ ในการผลิตเซลลูเลสจากเชื้อราบางสายพันธุ์ 19

2.11 ค่าความเป็นกรดและด่างและอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานของเซลลูเลสทนร้อนจากจุลินทรีย์บางชนิด 21

บทที่ 4

4.1 อัตราส่วนของวงใสต่อการเจริญและลักษณะทางสัณฐานวิทยาของเชื้อราชนิดต่างๆ ที่คัดแยกจากข้อ 2.1 บนอาหาร CMC agar 46

4.2 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสที่ผลิตจากเชื้อราชนิดต่างๆ ที่คัดแยกได้จากก้านเครือกล้วย 47

4.3 แสดงปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ของวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร 53

4.4 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสจากการใช้แหล่งเซลลูโลสชนิดต่างๆ ในการผลิตเอนไซม์ด้วย *T. reesei* 54

4.5 น้ำหนักคงเหลือของก้านกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ 56

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.6 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 5 10 และ 15 เปอร์เซ็นต์ 58
4.7 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงใน อาหาร Production ที่มีการแปรผันแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ 63
4.8 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยง ในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม 67
4.9 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบด (soy bean) ความเข้มข้นต่างๆ 71
4.10 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส 77
4.11 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสของเชื้อราเมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการที่มีการแปรผันขนาดส่วนของการผลิตเป็นระยะเวลา 7 วัน 80
4.12 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) จากเชื้อรา ทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ 85
4.13 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) จากเชื้อรา ทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ช่วงเวลาต่างๆ กัน ก่อนนำ ไปวัดค่าแอคติวิตี 88
4.14 ค่าจลนศาสตร์ของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด 91
4.15 แสดงค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด หลังจาก ตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นต่างๆ 97
4.16 สีและค่า R_f ของน้ำตาลชนิดต่างๆ 100
4.17 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และ เซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. 101

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.18 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *T. reesei* 102
4.19 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp. 103
4.20 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. flavus* 104
4.21 การดูดซึมน้ำของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. terreus* 105
4.22 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *Acrohialophora* sp. 106
4.23 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *T. reesei* 107
4.24 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp. 108
4.25 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. flavus* 109
4.26 ค่าความขาว ความเหลือง และความสว่างของผ้าฝ้ายที่ผ่านการกำจัดสิ่งสกปรกด้วยไลเปส โปรตีเอส และเซลลูเลสจาก *A. terreus* 110

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

สารบัญรูป

ตารางที่ หน้า

บทที่ 2

2.1 การย่อยสลายเซลลูโลสด้วย C1และ Cx 4

2.2 การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยเซลลูเลส 6

2.3 การปรับปรุงสายพันธุ์เชื้อรา *T. reesei* ในการผลิตเซลลูเลส 7

2.4 โครงสร้างของเนื้อไม้ 12

2.5 การเชื่อมต่อของกลูโคสแบบ β-(1,4) glycosidic linkage 13

2.6 โมเลกุลของสายเซลลูโลส 13

2.7 แบบจำลองโมเลกุลลิกนินของไม้เนื้ออ่อน 15

2.8 โครงสร้างของน้ำตาลบางชนิดที่มีผลต่อการชักนำการผลิตเซลลูเลส 22

2.9 ไดอะแกรมแสดงขั้นตอนการกระตุ้นให้มีการผลิตเซลลูเลสจาก *Hypocrea jecorina* 23

2.10 ไดอะแกรมแสดงขั้นตอนการกระตุ้นให้มีการผลิตเซลลูเลสจาก *Penicillium. purpurogenum* 23

2.11 โครงสร้างและองค์ประกอบของเส้นใยฝ้าย 26

บทที่ 4

4.1 ลักษณะการเจริญของ *Acrophialophora* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 48

4.2 ลักษณะการเจริญของ *T. reesei* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็น ระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 49

4.3 ลักษณะการเจริญของ *Penicillium* sp. ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็น ระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 50

4.4 ลักษณะการเจริญของ *A. flavus* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 51

4.5 ลักษณะการเจริญของ *A. terreus* ที่เจริญบนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 52

4.6 ปริมาณเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า ของวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร 53

สารบัญรูป (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.7 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเซลลูเลสและไซแลนเนสจาก *T. reesei* ที่มีการใช้วัสดุการเกษตรชนิดต่างๆ เป็นแหล่งเซลลูโลส 55
4.8 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ 59
4.9 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ 59
4.10 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ 60
4.11 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีก้านใบกล้วยที่ถูกปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียม ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆ 60
4.12 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อ เลี้ยงในอาหาร Production ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ 64
4.13 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ 64
4.14 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส ((ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ 65
4.15 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production medium ที่มีแหล่งไนโตรเจนชนิดต่างๆ 65
4.16 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production medium ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม 68

สารบัญรูป (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.17 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม 68
4.18 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม 69
4.19 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมแหล่งอาหารเสริม 69
4.20 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ 72
4.21 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ 72
4.22 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production medium ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ 73
4.23 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 3 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการเติมถั่งลิสงบดความเข้มข้นต่างๆ 73
4.24 การเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส 74
4.25 การเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่ อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส 75
4.26 การเจริญของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด บนอาหาร PDA เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส 75
4.27 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส 78

สารบัญรูป (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.28 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส 78
4.29 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส 79
4.30 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันอุณหภูมิ 3 ระดับ คือ 30 40 และ 45 องศาเซลเซียส 79
4.31 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอกโซกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต 81
4.32 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต 81
4.33 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเบตา-กลูโคซิเดส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต 82
4.34 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของไซแลนเนส (ยูนิต/มก.) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อเลี้ยงในอาหาร Production ที่มีการแปรผันขนาดของการผลิต 82
4.35 ค่าแอคติวิตีจำเพาะ (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) และความเสถียรของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ในช่วงค่าความเป็นกรดและด่าง 4 ถึง 8 เมื่อนำไปเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง 83
4.36 ค่าแอคติวิตีสัมพัทธ์(เปอร์เซ็นต์) ของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด ในช่วงค่าความเป็นกรดและด่าง 4 ถึง 8 เมื่อเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 และ 24 ชั่วโมง 84

สารบัญรูป (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.37 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาที่ค่าความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 และมีการแปรผันอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส 86

4.38 ค่าแอคติวิตีสัมพัทธ์ของเอนโดกลูคาเนส (เปอร์เซ็นต์) ของเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำไปทำปฏิกิริยาที่ค่าความเป็นกรดและด่างเท่ากับ 5.0 และมีการแปรผันอุณหภูมิ 5 ระดับ คือ 40 50 60 70 และ 80 องศาเซลเซียส 87

4.39 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนส (ยูนิตต่อมิลลิกรัมโปรตีน) จากเชื้อราทั้ง 5ชนิด เมื่อนำเอนไซม์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 15 30 45 60 75 90 105 และ 120 นาที ก่อนนำไปวัดค่าแอคติวิตี 89

4.40 ค่าแอคติวิตีสัมพัทธ์ของเอนโดกลูคาเนส (เปอร์เซ็นต์) จากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด เมื่อนำเอนไซม์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0 15 30 45 60 75 90 105 และ 120 นาที ก่อนนำไปวัดค่าแอคติวิตี 90

4.41 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *Acrophialophora* sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 92

4.42 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก Acrophialophora sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 92

4.43 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *T. reesei* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 93

4.44 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *T. reesei* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 93

4.45 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 94

4.46 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *Penicillium* sp. และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 94

สารบัญรูป (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.47 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. flavus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 95

4.48 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. flavus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 95

4.49 ปริมาณกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ที่เกิดขึ้นจากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. terreus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 96

4.50 Lineweaver-Burk Plot ของกลูโคสที่ได้จากการบ่มเซลลูเลสจาก *A. terreus* และ CMC ความเข้มข้นต่างๆ ที่เวลาต่างๆ 96

4.51 ค่าแอคติวิตีจำเพาะของเอนโดกลูคาเนสจากเชื้อราทั้ง 5 ชนิด หลังจากตกตะกอนด้วยแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นต่างๆ 98

4.52 สีและระยะทางการเคลื่อนที่ของน้ำตาลที่ได้จากการย่อยก้านใบกล้วยเทียบกับน้ำตาลมาตรฐาน 12 ชนิดบน TLC plate 99

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย