บทที่ 4

วิจารณ์ผลการทดลอง

การศึกษาข้อมูลพื้นฐานของเยื่อกระดาษ และการฟอกเยื่อกระดาษโดยใช้สารเคมี เนื่องจากนักวิจัยส่วนมากจะวัดการย่อยสลายลิกนินในเยื่อโดยวัดในรูปของการลดลงของค่า Kappa number ซึ่งค่า Kappa number เป็นดัชนีบ่งชี้ปริมาณลิกนินในเยื่อ (Kira A. Onysko, 1993) ถ้าปริมาณลิกนินมีอยู่ในเยื่อมากค่า Kappa number จะสูง ถ้าปริมาณลิกนินมีอยู่ในเยื่อน้อยค่า Kappa number จะต่ำ ส่วนค่า Brightness ปัจจุบันนี้โดยทั่วไปจะใช้เป็นตัวชี้ประสิทธิภาพในการฟอกเยื่อ โดยค่า Brightness เพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนที่สัมพันธ์กับค่า Kappa number ที่ลดลงในเยื่อที่ผ่านขบวนการฟอก (Kirkpatrick et al., 1989) ดังนั้นจึงได้ทำการวัดค่า Kappa number และค่า Brightness ของเยื่อก่อนการฟอกเยื่อ โดยพบว่าเยื่อชานอ้อยมีค่า Kappa number (10.64) สูงกว่าเยื่อยูค่าลิปตัส(6.34) แสดงว่าเยื่อชานอ้อย มีปริมาณลิกนินอยู่ในเยื่อสูงกว่าเยื่อยูคาลิปตัส ส่วนค่า Brightness ของเยื่อชานอ้อย (41.18 %) ซึ่งสูงกว่าเยื่อยูคาลิปตัสเล็กน้อย (37.17 %) ไม่ได้มีผลชี้ปริมาณลิกนินในเยื่อที่ผ่านขบวนการต้มเยื่อ ดังนั้นเยื่อชานอ้อยที่จะใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการทดลองการฟอกเยื่อจะมีค่า Kappa number หรือปริมาณลิกนินในเยื่อสูงกว่าเยื่อยูคาลิปตัสที่จะใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการทดลองการฟอกเยื่อทั้งการทดลอง โดยใช้เชื้อรา P. chrysosporium และการทดลองโดยใช้สารเคมีในขบวนการฟอกเยื่อต่อไป

ส่วนการศึกษาระบบการฟอกเยื่อโดยใช้สารเคมี พบว่าการฟอกเยื่อด้วยขบวนการ CE/PHH (CEHH) เป็นขบวนการฟอกเยื่อที่ใช้คลอรีนและสารประกอบคลอรีน อยู่ถึง 3 ขั้นตอน คือ ขบวนการขั้นตอน (เป็นการใช้คลอรีน และขั้นตอน H เป็นการใช้ไฮโปรคลอไรต์อีก 2 ขั้นตอน หลังจากที่เยื่อผ่านขบวนการฟอกในแต่ละขั้นตอนค่า Brightness ของเยื่อจะเพิ่มขึ้นตามลำดับ ดังนั้นเมื่อเราทำการทดลองฟอกเยื่อโดยใช้เชื้อรา P. chrysosporium แล้วทำการวัดค่า Brightness รวมทั้งค่า K. number ที่ผ่านจากการฟอกโดยใช้

เชื้อราแล้ว จะทำให้เราทราบว่าประสิทธิภาพของการฟอกโดยเชื้อราหรือขบวนการฟอกโดยใช้เชื้อราจะสามารถทดแทนการฟอกเยื่อ โดยใช้สารเคมีหรือลดการใช้สารเคมีในการฟอกเยื่อได้ในขั้นตอนไหน และจะนำวิธีการฟอกเยื่อโดยใช้เชื้อรา ไปประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีการฟอกเยื่อโดยใช้สารเคมีอย่างไรในขั้นตอนใดจึงจะได้ค่า Brightness ของเยื่อกระดาษตามเป้าหมายที่ตลาดต้องการ

การศึกษาการเจริญของเชื้อรา P. chrysosporium เมื่อเลี้ยงเส้นใยเชื้อรา P. chrysosporium ในอาหาร Potato Dextrose Broth (PDB) เก็บผลผลิตของเชื้อราเป็นน้ำหนักแห้งเฉลี่ยของเส้นใยทุกวัน แล้วนำข้อมูลที่ได้มาทำ growth curve โดยจากการทดลองพบว่าเส้นใยเชื้อรา P. chrysosporium มีน้ำหนักแห้งเฉลี่ย เพิ่มขึ้นตามลำดับในวันที่ 1 กับวันที่ 6 และเริ่มคงที่ในวันที่ 7 และคงที่ไปเรื่อย ๆ จนถึงวันที่ 15 (ตามตารางที่ 5 ;กราฟที่ 2) ดังนั้นวันที่ 7 จึงเป็นวันที่เชื้อรา P. chrysosporium เข้าสู่ stationary phase ซึ่งช่วง stationary phase เป็นช่วงที่เกิดเมแทบอลิซัมทุติยภูมิ โดยเมแทบอลิซึมของการย่อยสลายลิกนิน เกิดขึ้นเพียงในช่วงเมแทบอลิซัมทุติยภูมิ (Keyser et al., 1978, Kirk et al., 1978 a,b) ซึ่งการสร้าง extracellular peroxidases ซึ่งเป็นกลุ่มเอ็นไซม์ ย่อยสลายลิกนินของ P. chrysosporium จะพบในช่วงเมแทบอลิซัมทุติยภูมิเท่านั้น (Boominathan and Reddy, 1992) ดังนั้นการย่อยสลายลิกนินเป็นขบวนการเมแทบอลิซัมทุติยภูมิ ช่วงการเจริญเติบโตของเชื้อราเข้าสู่ Stationary phase แล้ว จึงเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมของเชื้อเริ่มต้นที่จะสร้าง Extracellular peroxidase เพื่อย่อยสลายลิกนินออกจากเยื่อกระดาษในขบวนการฟอกเยื่อต่อไป

จากการศึกษาความเป็นกรดเป็นด่าง (pH) ที่เหมาะสมต่อการฟอกเยื่อยูคาลิปตัสและเยื่อชานอ้อย ในสารละลายเยื่อที่มีการแปรผัน pH ตั้งแต่ 3.0-7.0 พบว่าเชื้อรา P. chrysosporium มีความสามารถในการฟอกเยื่อยูคาลิปตัส และเยื่อชานอ้อย ได้ดีที่ pH เท่ากับ 4.5 และที่ pH ช่วง 3.5-5.0 ก็ยังสามารถย่อยสลายลิกนินออกจากเยื่อได้ดี (จากตารางที่ 6-7 ; กราฟที่ 3-4) ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Pellinen J., Abuhasen J., Joyce T.W. and Chang H-m (1989) รายงานว่า pH 4.0 - 4.5 เหมาะสมกับการย่อยสลายลิกนินของเชื้อรา P. chrysosporium และ

ใกล้เคียงกับรายงานการทดลองของ Tran and Chambers (1987) ซึ่งรายงานว่า pH ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายลิกนินของเชื้อรา P. chrysosporium คือ 3.5 นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดลองของ Kirk T.K., Schultz E.,Connors W.J., Lorenz L.F. และ Zeikus J.G. (1978 a) ว่า pH ที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายลิกนินสำหรับเชื้อราP. chrysosporium คือ 4.0-4.5 และยังได้รายงานอีกว่า pH ที่ต่ำกว่า 3.5 และสูงกว่า 5.5 จะยับยั้งการย่อยสลายลิกนินของเชื้อรา P. chrysosporium เมื่อได้ทำการศึกษาผลของอุณหภูมิต่อการฟอกเยื่อยูคาลิปตัส และเยื่อชานอ้อย โดยเชื้อรา P. chrysosporium โดยศึกษาที่อุณหภูมิ 4 ระดับ คือ 25 30 38 และ 42 องศาเซลเซียส โดยมีความแตกต่างของแต่ละอุณหภูมิไม่เกิน $\pm$ 2 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการฟอกเยื่อกระดาษคือ 30-38 องศาเซลเซียส และได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส แต่ก็ให้ผลของค่าBrightness (Brightness) ไม่สูงแตกต่างจากอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมากนัก (ตารางที่ 10 ;กราฟที่ 7) แสดงว่าเชื้อรา P. chrysosporium สามารถย่อยสลายลิกนินหรือฟอกเยื่อกระดาษได้ดีในช่วงอุณหภูมิค่อนข้างกว้าง สอดคล้องกับการทดลองของ Tran and Chambers (1987) ซึ่งรายงานว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการย่อยสลายลิกนินของเชื้อรา P. chrysosporium คือ 38 องศาเซลเซียส และใกล้เคียงกับการทดลองของ Pellinen J. et. al., (1989) ซึ่งใช้ P. chrysosporium Burds สายพันธุ์ BKM F-1767 ในการทดลองฟอกเยื่อคราฟท์ (Kraft pulp) อุณหภูมิที่เหมาะสมในการทดลองฟอกเยื่อคือ 39 องศาเซลเซียส และ Dawson-Andoh B.E., Morrell J.J., Biermann C.J., and Hull J.L.(1991) รายงานว่าเชื้อรา P. chrysosporium สามารถย่อยสลายลิกนินออกจากเยื่อกระดาษได้ดีที่อุณหภูมิ 28 และ 35 องศาเซลเซียส ดังนั้นการทดลองนี้สามารถใช้เชื้อรา P. chrysosporium ฟอกเยื่อกระดาษได้ดีที่อุณหภูมิ 30-38 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังมีรายงานการทดลองของ Khanna P.K., Dev Mittar , Marwaha S.S. and Kenedy J.F. (1990) รายงานว่าได้ใช้เชื้อรา P. chrysosporium BKM F.1767 สามารถย่อยสลายลิกนินออกจากเยื่อกระดาษได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และเชื้อรา P. chrysosporium จัดอยู่ใน

พวก Thermotolerantเพราะทนอุณหภูมิในระดับค่อนข้างสูง สำหรับการเจริญเติบโตและการย่อยสลายลิกนินได้ดีที่อุณหภูมิถึง 39 องศาเซลเซียส (Eriksson K-E, Blanchette R.A., and Ander P., 1990)

จากการศึกษาหาปริมาณเชื้อรา ที่เหมาะสมในการฟอกเยื่อยูคาลิปตัสและเยื่อชานอ้อยโดยเชื้อรา P. chrysosporium พบว่าความสามารถในการฟอกเยื่อยูคาลิปตัสสูงสุดเท่ากับ 68.46 % Brightness เมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1.0 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร และค่าBrightness Brightness จะไม่สูงขึ้นกว่านี้ ไม่ว่าจะเพิ่มปริมาณเชื้อขึ้นอีกเท่าไหร่ก็ตาม สำหรับการฟอกเยื่อชานอ้อย ก็ให้ผลคล้ายกับการฟอกเยื่อยูคาลิปตัสคือ เมื่อปริมาณเชื้อเริ่มต้นเท่ากับ 1.0 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร จะให้ค่าBrightnessสูงสุดเท่ากับ 53.88 % และค่าBrightnessจะไม่สูงขึ้นกว่านี้ ไม่ว่าจะเพิ่มปริมาณเชื้อขึ้นอีกเท่าไหร่ก็ตาม (ตารางที่ 8-9 ;กราฟที่ 11-12) สำหรับในกรณีที่ปริมาณเชื้อเพิ่มขึ้นกว่า 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร แล้วค่าBrightnessเพิ่มขึ้นไม่ดีเท่ากับหรือเพิ่มขึ้นน้อยกว่าที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่ 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร อาจเนื่องจากเมื่อปริมาณเชื้อมากเกินกว่าสมดุลของปริมาณออกซิเจนซึ่งมีอยู่ใน flask ทดลอง ขนาด 1 ลิตร ซึ่งไม่เพียงพอ กับปริมาณเชื้อที่จะใช้ออกซิเจนได้อย่างเหมาะสม Bar-Lev and Kirk (1981) พบว่าออกซิเจนเป็นทั้งตัวชักนำให้เกิดลิกนิโนไลติกแอคทิวิตี้ และเพิ่มลิกนิโนไลติกแอคทิวิตี้ด้วย นอกจากนี้ตามรายงานของ Shimado et. al., (1981) กล่าวว่า ความเข้มข้นของออกซิเจน มีอิทธิพลมากต่อการย่อยสลายลิกนินของเชื้อรา P. chrysosporium

เมื่อศึกษาผลของสภาพการฟอกเยื่อกระดาษ โดยใช้เชื้อรา P. chrysosporium ในสภาพแบบนิ่ง (stationary) กับแบบเขย่า (shaken) ในสภาวะที่มี pH 4.5 บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 1 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร เป็นเวลา 7 วัน พบว่า ในสภาพการฟอกเยื่อยูคาลิปตัสและเยื่อชานอ้อยแบบเขย่าให้ค่าBrightnessของเยื่อกระดาษ สูงกว่าสภาพการฟอกเยื่อแบบนิ่ง (ตารางที่ 13 ;กราฟที่ 10) แสดงว่าสภาพการฟอกเยื่อแบบเขย่าเหมาะสมต่อการฟอกเยื่อกระดาษ โดยเชื้อรา P. chrysosporium เนื่องจากสภาพการฟอกเยื่อแบบนี้ ช่วยทำให้เชื้อราได้รับออกซิเจนเพิ่มขึ้น ซึ่ง P. chrysosporium สร้างเบซิดิโอสปอร์

(Basidiospore) (Johnsrud and Eriksson, 1985) จึงอยู่ในชั้นเบซิดิโอไมซิส (Basidiomycetes) และจัดอยู่ในจำพวกเห็ด โดยเห็ดเป็นราที่ต้องการอ๊อกซิเจน (Przybylowiez and Doughe, 1988) สาเหตุที่สภาพการฟอกเยื่อกระดาษ โดยเชื้อราแบบเขย่าเหมาะสมต่อการฟอกเยื่อกระดาษโดยเชื้อรา P. chrysosporium เนื่องมาจากช่วยทำให้โมเลกุลอ๊อกซิเจนสัมผัสกับเชื้อราได้ดี ซึ่งอิทธิพลของอ๊อกซิเจนต่อการย่อยสลายลิกนินของเชื้อรา P. chrysosporium ได้กล่าวไปแล้ว

การศึกษาถึงปัจจัยต่าง ๆ ดังที่ได้กล่าวมาแล้วทำให้ได้ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการฟอกเยื่อยูคาลิปตัสและเยื่อชานอ้อย โดยเชื้อรา P. chrysosporium จากการศึกษาคุณภาพของเยื่อที่ได้หลังจากการฟอก โดยใช้เชื้อรา P. chrysosporium ฟอกเยื่อในสภาวะที่เหมาะสมเพื่อจะได้นำมาเป็นข้อมูล เพื่อศึกษาถึงศักยภาพของการฟอกเยื่อกระดาษ โดยใช้เชื้อรา P. chrysosporium จะได้นำไปประยุกต์ใช้ทดแทนวิธีการฟอกเยื่อกระดาษทางเคมี หรือนำไปใช้ร่วมกับวิธีทางเคมี เพื่อลดการใช้สารเคมีที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์และสิ่งแวดล้อมพบว่าหลังจากวิเคราะห์คุณภาพของเยื่อที่ได้หลังจากการฟอกสำหรับเยื่อยูคาลิปตัส พบว่าค่า % yield มีค่าเท่ากับ 99.10 ค่า Permanganate number (K. number) เท่ากับ 1.84 และค่าBrightnessเท่ากับ 68.60 % โดยค่าBrightness ก่อนเริ่มต้นการฟอกเท่ากับ 37.18 % และค่า Kappa number ก่อนเริ่มต้นการฟอกเท่ากับ 6.34 (ตารางที่ 14 ;กราฟที่ 11) สำหรับเยื่อชานอ้อยพบว่าค่า % yield มีค่าเท่ากับ 99.6 ค่า K. number เท่ากับ 4.60 และค่าความขาวสว่างเท่ากับ 54.61 % โดยค่า Brightness ก่อนเริ่มต้นการฟอกเท่ากับ 41.18 % ค่า Kappa number ก่อนเริ่มต้นการฟอกเท่ากับ 10.64 (ตารางที่ 15 ;กราฟที่ 12) ซึ่งจะพบว่า เยื่อยูคาลิปตัสสามารถเพิ่มค่าBrightness หลังจากการฟอกได้สูงกว่าเยื่อชานอ้อย ทั้ง ๆ ที่เยื่อชานอ้อยมีค่าBrightness ก่อนการฟอกโดยเชื้อรามากกว่าเยื่อยูคาลิปตัสเล็กน้อย สาเหตุเนื่องมาจากเยื่อชานอ้อยมีค่า Kappa numberเริ่มต้นก่อนการฟอก (10.64) สูงกว่าค่า Kappa number ของเยื่อยูคาลิปตัส (6.34) ซึ่งค่า Kappa number เป็นดัชนีบ่งชี้ปริมาณลิกนินในเยื่อ(Kira A. Onysko, 1993) หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งก็คือเยื่อชานอ้อยมีปริมาณลิกนินเริ่มต้น ก่อนการฟอกสูงกว่าปริมาณลิกนินในเยื่อยูคาลิปตัส

ซึ่งรายละเอียดของปัจจัยการวัดค่า Kappa number และค่า Brightness รวมทั้งการจะนำไปใช้เป็นตัวชี้ประสิทธิภาพการฟอกเยื่อได้กล่าวไว้แล้ว ดังนั้น อัตราการฟอกเยื่อกระดาษโดยเชื้อรา P. chrysosporium สำหรับเยื่อยูคาลิปตัส และเยื่อชานอ้อยประสิทธิภาพน่าจะใกล้เคียงทั้ง 2 ชนิด

การฟอกเยื่อกระดาษโดยใช้เยื่อกระดาษซึ่งผ่านกระบวนการทำเยื่อด้วยการใช้โซดาไฟ แล้วนำมาฟอกด้วยเชื้อรา P. chrysosporium ในสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวข้างต้น จะพบว่าสำหรับเยื่อยูคาลิปตัสให้ค่า %brightness เพิ่มขึ้นถึง 31.44 สำหรับเยื่อชานอ้อยให้ค่า % brightness เพิ่มขึ้นเท่ากับ 13.43 ซึ่งสำหรับเยื่อยูคาลิตัสให้ค่า %brightness ที่สูงกว่าเยื่อคราฟท์ที่ผ่านการฟอกด้วยเชื้อราสายพันธุ์ต่างๆเกือบทุกชนิด ยกเว้นสายพันธุ์ IZU154 ซึ่งเกือบจะได้ค่าใกล้เคียงกัน(Kira A. Onysko, 1993)ตามตารางที่ 23

เมื่อได้ทำการศึกษาการฟอกเยื่อ โดยวิธีทางเคมีโดยฟอกเยื่อตามขั้นตอน CEHH ในเยื่อชานอ้อยและในเยื่อยูคาลิปตัส หลังจากนั้นทำการวิเคราะห์คุณภาพของเยื่อที่ได้หลังจากการฟอกในแต่ละขั้นตอน สำหรับเยื่อยูคาลิปตัสพบว่าหลังจากผ่านขั้นตอน C(Cl_2) จะได้Brightnessเท่ากับ 53.98 % หลังจากผ่านขั้นตอน E จะได้ค่าBrightnessเท่ากับ 70.14 % และค่า K. number เท่ากับ 1.80 หลังผ่านขั้นตอน H_1 ได้ค่าBrightnessเท่ากับ 84.31 % หลังผ่านขั้นตอน H_2 ได้ค่าBrightnessเท่ากับ 85.35% (ตารางที่ 3 ;กราฟที่ 1) ซึ่งจะเห็นว่าค่าBrightnessและค่า K. number ของเยื่อยูคาลิปตัสที่ได้หลังจากการฟอกโดยใช้เชื้อรา P. chrysosporium มีค่าใกล้เคียงกับค่าBrightnessและค่า K. number ของเยื่อยูคาลิปตัสที่ผ่านการฟอกด้วยขั้นตอน C และ E แล้ว ดังนั้นการฟอกเยื่อยูคาลิปตัสโดยเชื้อรา P. chrysosporium สามารถทดแทนการฟอกเยื่อกระดาษโดยการใช้สารเคมีได้ในขั้นตอน CE หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือสามารถใช้ขบวนการ FHH แทนขบวนการ CEHH การฟอกเยื่อยูคาลิปตัส ก็จะสามารถลดการใช้สารเคมีหรือคลอรีนที่เป็นอันตรายลงไปได้ สำหรับเยื่อชานอ้อยพบว่า หลังผ่านขั้นตอน C(Cl_2) จะได้ค่าBrightness เท่ากับ 53.19 % หลังผ่านขั้นตอน E จะได้ค่าBrightnessเท่ากับ 68.75 % และค่า K. number เท่ากับ 1.92 หลังผ่านขั้นตอน H_1 จะได้ค่าความขาวสว่างเท่ากับ 83.75 % และหลังผ่านขั้นตอน H_2 ได้ค่าBrightnessเท่า

ตารางที่ 23 แสดง การเปลี่ยนแปลง brightness ใน hardwood kraft pulp หลังจากฟอกด้วย white-rot fungi

	Brightness (°ISO) เพิ่มขึ้น	Brightness (°ISO) สุดท้าย	เวลาในการฟอก (วัน)
Phanerochaete chrysosporium	11	39	13
	0	37.7	14
	2.2	35.7	5
P. chrysospvium (cellulose-free mutant # 431)	2.0	35.5	5
P. chrysospvium (cellulose-free mutant # 432)	1.9	35.4	5
Coriolus versicolor	8-25	50-67	10
	7.1-17.8	35.8-50.3	5
	14.3	48.0	5
	13.6	50.4	5
	13.4*	50.2	5
	6	34	15
IZU-154	35	63	11
	23.7	52	5
Coriolus hirsutus	12	40	11
Phellinus pini	2.3	35.8	5
Pleurotus eryngie	1.0	34.4	5
Pleurotus sajor-caju	2.3	35.8	5
Lentinus edodes	2.4	35.9	5
Aureobaridium pullulans	2.5	36.0	5

* Fungus was immobilized

กับ 85.06 % (ตารางที่ 4 ;กราฟที่ 1) ซึ่งจะเห็นว่าค่าBrightness และค่า K. number ของเยื่อชานอ้อยที่ได้หลังจากการฟอกโดยใช้เชื้อรา P. chrysosporium มีค่าใกล้เคียงกับค่าBrightnessและค่า K. number ของเยื่อชานอ้อยที่ผ่านการฟอกด้วยขั้นตอน C แล้ว ดังนั้นการฟอกเยื่อชานอ้อยโดยเชื้อรา P. chrysosporium สามารถทดแทนการฟอกเยื่อกระดาษโดยการใช้สารเคมีได้ในขั้นตอน C หรือกล่าวอีกนัยหนึ่งคือสามารถใช้ขบวนการ FEHH แทนขบวนการ CEHH ในการฟอกเยื่อชานอ้อยก็จะสามารถลดการใช้คลอรีนซึ่งเป็นอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมได้

การศึกษาแนวทางการฟอกเยื่อ โดยใช้เชื้อรามาประยุกต์ใช้ร่วมกับวิธีทางเคมีโดยไม่ใช้คลอรีน หรือสารประกอบคลอรีนในขบวนการฟอกเยื่อทั้งหมด ซึ่งจะเรียกขบวนการฟอกเยื่อแบบนี้ว่าเป็น TCF (Total Chlorine Free Bleaching) เนื่องจากสารประกอบคลอรีนต่าง ๆ ที่ใช้ในกระบวนการฟอกเยื่อกระดาษก่อให้เกิดพิษและการแปรผันทางพันธุกรรมของสิ่งมีชีวิต (Ander et al., 1977, Eriksson et al., 1979) จากการนำเยื่อยูคาลิปตัสที่ผ่านการฟอกด้วยเชื้อราในสภาวะที่เหมาะสมมาฟอกต่อด้วยสารเคมีโดยผ่านขั้นตอน E ซึ่งใช้ NaOH 2 % ที่ความข้นเยื่อ 10% อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 40 นาที พบว่าได้ค่าBrightnessหลังผ่านขั้นตอน E แล้วเท่ากับ 73.91 % หลังจากนั้นนำเยื่อที่ผ่านขั้นตอน FE แล้วมาต่อด้วยขั้นตอน P ซึ่งมีการแปรผันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (P) ที่ 1% 2% 3% 4% ตามลำดับเรียกว่า FEP ซึ่งผลการวิเคราะห์ของคุณภาพเยื่อที่ได้พบว่าที่ FEP 1 % จะได้ค่าความขาวสว่างหลังการฟอกเท่ากับ 84.76 % ที่ FEP 2 % จะได้ค่า Brightnessหลังการฟอกเท่ากับ 87.37 % ที่ FEP 3 % จะได้ค่า Brightnessหลังการฟอกเท่ากับ 87.44 % และที่ FEP 4 % จะได้ค่า Brightness หลังจากการฟอกเท่ากับ 87.65 % โดยค่าBrightnessเริ่มต้นของเยื่อยูคาลิปตัสหลังจากผ่านการฟอกโดยเชื้อรา (F) มีค่าเท่ากับ 68.53 % และผลผลิตที่ได้หลังจากผ่านการฟอกด้วยขั้นตอน FEP เท่ากับ 99.2 % (ตารางที่ 20 ;กราฟที่ 13) และจากการนำเยื่อชานอ้อย ที่ผ่านการฟอกด้วยเชื้อราในสภาวะที่เหมาะสมมาฟอกต่อด้วยสารเคมีโดยผ่านขั้นตอน E ซึ่งใช้ NaOH 2 % ที่ความข้นเยื่อ 10 % อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที พบว่าได้ค่าBrightnessหลัง

ผ่านขั้นตอน E แล้วเท่ากับ 69.73 % หลังจากนั้นนำเยื่อที่ผ่านขั้นตอน FE แล้วมาต่อด้วยขั้นตอน P ซึ่งมีการแปรผันไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (P) ที่ 1 % 2 % 3 % 4 % ตามลำดับเรียกว่า FEP ซึ่งผลการวิเคราะห์ของคุณภาพเยื่อที่ได้พบว่าที่ FEP 1 % จะได้ค่าBrightnessเท่ากับ 80.76 % ที่ FEP 2 % จะได้ค่า Brightness หลังจากการฟอกเท่ากับ 82.17 % ที่ FEP 3 % จะได้ค่า Brightness หลังจากการฟอกเท่ากับ 83.64 % และที่ FEP 4 % จะได้ค่า Brightness หลังจากการฟอกเท่ากับ 85.46 % โดยค่าBrightnessเริ่มต้นของเยื่อชานอ้อย หลังจากผ่านการฟอกโดยเชื้อรา (F) ก่อนเข้าสู่ EP มีค่าเท่ากับ 54.32 % และผลผลิตที่หลังได้จากการฟอกด้วยขั้นตอน FEP เท่ากับ 98.2 % (ตารางที่ 21 ;กราฟที่ 14) ซึ่งจะเห็นได้ว่าสำหรับเยื่อยูคาลิปตัสเมื่อใช้ FEP 1-2 % ก็จะได้ค่าBrightnessของเยื่อที่สูงเป็นที่น่าพอใจสำหรับการผลิตเยื่อฟอกในปัจจุบัน สำหรับเยื่อชานอ้อยเมื่อใช้ FEP 4 % ก็จะได้ค่าBrightnessของเยื่อที่สูงเป็นที่น่าพอใจ สำหรับการผลิตเยื่อฟอกในปัจจุบันเช่นกัน ซึ่งในขณะนี้รัฐบาลในแถบสแกนดิเนเวียและอเมริกาเหนือได้มีการบังคับให้มีการจำกัดการใช้คลอรีน และสารประกอบคลอรีนในการฟอกเยื่อกระดาษ (Reeve and Earl,1989)เพื่อหลีกเลี่ยงการเกิดสารประกอบอินทรีย์คลอรีน วิธีการฟอกเยื่อกระดาษโดยไม่ใช้คลอรีนจึงเป็นที่ต้องการมาก (Liebergott et al., 1984)

การวิเคราะห์น้ำเสีย ที่ได้หลังจากการฟอกเยื่อโดยใช้ขั้นตอน FEP และหลังจากการฟอกโดยใช้ขั้นตอน CE/PHH จากการวิเคราะห์ค่า COD, BOD, สีและ pH ของน้ำเสียที่เกิดจากขบวนการฟอกเยื่อยูคาลิปตัส และเยื่อชานอ้อยโดยวิธีทางเคมี (CEHH) และโดยการใช้เชื้อราฟอกร่วมกับการใช้โซดาไฟ และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (FEP) พบว่าน้ำเสียที่เกิดจากขบวนการฟอกเยื่อยูคาลิปโดยวิธี FEP จะได้ค่า COD เท่ากับ 371 ค่า BOD เท่ากับ 43 ค่าความเข้มของสีเท่ากับ 41 ค่า pH เท่ากับ 6.3 และน้ำเสียที่เกิดจากขบวนการฟอกเยื่อยูคาลิปตัส โดยวิธี CEHH จะได้ค่า COD เท่ากับ 504 ค่า BOD เท่ากับ 66 ค่าความเข้มของสีเท่ากับ 217 และค่า pH เท่ากับ 4.7 สำหรับน้ำเสียที่เกิดจากขบสนการฟอกเยื่อชานอ้อย โดยวิธี FEP จะได้ค่า COD เท่ากับ 492 ค่า BOD เท่ากับ 52 ค่าความเข้มของสีเท่ากับ 44 ค่า pH เท่ากับ 6.4

และน้ำเสียที่เกิดจากขบวนการฟอกเยื่อชานอ้อยโดยวิธี CEHH จะได้ค่า COD เท่ากับ 780 ค่า BOD เท่ากับ 85 ค่าความเข้มของสีเท่ากับ 221 และค่า pH เท่ากับ 3.4 ซึ่งจะเห็นว่า น้ำเสียที่ได้จาก FEP จะได้ค่า COD BOD และโดยเฉพาะค่าความเข้มสีต่ำกว่าน้ำเสียที่ได้จาก CEHH ทั้งในเยื่อยูคาลิปตัสและเยื่อชานอ้อย ส่วนค่า pH ของ FEP จะได้สูงกว่า CEHH ในอุตสาหกรรมการผลิตเยื่อและกระดาษนั้น จะก่อให้เกิดน้ำเสียที่ประกอบไปด้วยสารพิษ และสีปีละไม่ต่ำกว่า 700 พันล้านแกลลอนต่อปี (Huynh, V.-B.,Chang, H.M., Joyce, T.W., and Kirk, T.K,1985 ; Sundmann, G., Kirk, T.K. , and Chang,H.M.,1981) ซึ่งระบบบำบัดน้ำเสียที่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตเยื่อและกระดาษในปัจจุบันนี้สามารถลดได้เพียงค่า COD และ BOD เท่านั้น แต่สีของน้ำเสีย ยังไม่สามารถบำบัดได้ การบำบัดสีของน้ำเสียของโรงงานผลิตเยื่อฟอกทั้งยากและค่าใช้จ่ายสูง(Boominathan and Reddy,1991)จะเห็นได้ว่าการฟอกเยื่อกระดาษ ด้วยวิธีทางชีวภาพโดยเชื้อรา P. chrysosporium ร่วมกับวิธีทางเคมีจะช่วยทำให้ลดการใช้สารคลอรีน และลดค่า BOD CDO โดยเฉพาะสีของน้ำเสียที่เกิดจากขบวนการผลิตเยื่อฟอกจากวิธี CEHH ลงมาก ซึ่งจะทำให้ลดค่าใช้จ่ายในการบำบัดน้ำเสีย โดยเฉพาะสีและสารพิษซึ่งกำจัดได้ยากและค่าใช้จ่ายในการบำบัดสูงมาก