สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การย่อยสลายเซลลูโลสในใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. และ *Leifsonia* sp.

The digest *nia* sp.

นางสาวน 844

นายสรุจ 855

นางสาวส 859

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2550

2 ปริญ.
24/1/51
2550

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 85420
วัน,เดือน,ปี 11 พ.ย. 2551

b 12010133
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การย่อยสลายเ *Leifsonia* sp.

The digest *eifsonia* sp.

นางสา 40844

นายสรุ 40855

นางสา เขียน วท.ด 47/040859

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..../...../..... **อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ**

(อาจารย์อ้อพัชชา จินดาประเสริฐ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นันท์นภัส แก้วทิพย์กิจ, สรุจน์ วีรวัฒนโยธิน และ สุพัชชา ใจอ่อน 2550 การย่อยสลายเซลลูโลสในใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. และ *Leifsonia* sp. สาขาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อาจารย์ที่ปรึกษา : อาจารย์อพัชชา จินดาประเสริฐ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม : รศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์

ในการย่อยสลายเซลลูโลสในใบไม้แห้งโดยเชื้อแบคทีเรีย เพื่อทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและผลผลิตที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสในใบไม้แห้ง นำใบไม้แห้งมาทำการหมั sp. strain 43 โดยทำการเ cellulose (CMC) เป็นเวลา ือ 0, 24, 48 และ 72 ชั่ว ูเลสและ ปริมาณกลูโคสที่ sp. *strain* 8 สามารถย่อยส ณกลูโคส 867.311 *μg / ml* *strain* 43 ให้ปริมาณกลูโค *illus* sp. *strain* 17 ให้ปริ ามลำดับ แหล่งอาหารที่ หมาะสม มากกว่าอาหารเ รรมของ เอนไซม์เซลลูเลส แบคทีเรีย

สุพัชชา ใจอ่อน	.....	
.....	(ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา)	
นันท์นภัส แก้วทิพย์กิจ	.....	16 มีค. 2550
(ลายมือชื่อนักศึกษา)	(ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม)	วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณอาจารย์อพัชชา จินดาประเสริฐ และรศ.ดร. อดิศร เสวตวิวัฒน์ ที่ได้กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำและความรู้ต่างๆ ตลอดจนการตรวจทานและแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนสมบูรณ์

ขอขอบคุณ คุณพ่อ คุณแม่ พี่ น้อง สมาชิกในครอบครัวที่ให้การสนับสนุนมาโดยตลอดในทุกด้านโดยเฉพาะทางด้านกำลังทรัพย์และกำลังใจข้อคิดต่างๆ จนทำให้การทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้สามารถสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเพื่อนทุกคนที่ช่วยเป็นทั้งกำลังกายและกำลังใจ และขอขอบคุณทุกความช่วยเหลือในการทำ

ใจ

ธิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ.....ก

กิตติกรรมประกาศ.....ข

สารบัญ.....ค

สารบัญตาราง.....จ

สารบัญภาพ..... .....ฉ

บทที่ 1 บทนำ..... 1

บทที่ 2 ตรวจเอก 2

2.1 บาซิล 2

2.2 การย่อ 4

2.3 วัสดุเ 7

2.4 งานวิ 11

บทที่ 3 อุปกรณ์แ 13

3.1 เชื้อจุล 13

3.2 แหล่ง 13

3.3 อุปกร 13

3.4 อาหา 15

3.5 สารเค 15

3.6 วิธีการทดลอง.....15

3.7 การวิเคราะห์.....17

3.8 สถานที่ทำการทดลอง.....17

3.9 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง.....18

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง.....19

4.1 ผลการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8.....19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2 ผลการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17.....22
4.3 ผลการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Leifsonia* sp. strain 43.....25
4.4 ผลการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยไม่ใส่เชื้อ.....28
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....31
เอกสารอ้างอิง.....32
ประวัติผู้เขียน.....56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 แสดงรายละเอียดพื้นที่ปลูกผลผลิตพืชหลัก และไม้ยางพารา
ปี 2543/2544 และ 2544/254.....9

2.2 ตารางที่ 2.2 แสดงศักยภาพชีวมวลของประเทศไทยปี 2544/2545.....10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ **หน้า**

2.1 บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*)..... 2

2.2 โครงสร้างของเซลลูโลส.....5

2.3 โครงสร้างของผนังเซลพืชทั้งไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็ง.....7

3.1 ใบไม้แห้งก่อนทำการทดลอง.....13

3.2 การย่อยสลาย 17

4.1 ผลปริมาณกลู

Bacillus sp. 20

4.2 ผลค่ากิจกรรม

Bacillus sp. 20

4.3 ผลปริมาณกลู

Bacillus sp. 21

4.4 ผลค่ากิจกรรม

Bacillus sp. 21

4.5 ผลปริมาณกลู

Bacillus sp. 23

4.6 ผลค่ากิจกรรม

Bacillus sp. 23

4.7 ผลปริมาณกลูโคส (μg / ml) จากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ

Bacillus sp. strain 17 ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ CMC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....24

4.8 ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ

Bacillus sp. strain 17 ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ CMC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ **หน้า**

4.9 ผลปริมาณกลูโคส (μg / ml) จากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ
Leifsonia sp. strain 43 ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ NB เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....26
4.10 ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ
Leifsonia sp. strain 43 ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ NB เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.....26
4.11 ผลปริมาณกลูโคส (μg / ml) จากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ
Leifsonia sp. 27
4.12 ผลค่ากิจกร
Leifsonia sp. 27
4.13 ผลปริมาณ
ไม่ใส่เชื้อใน 29
4.14 ผลค่ากิจกร
ไม่ใส่เชื้อใน 29
4.15 ผลปริมาณ
ไม่ใส่เชื้อใน 30
4.16 ผลค่ากิจกร
ไม่ใส่เชื้อใน 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
คำนำ

ประเทศไทยเป็นประเทศเกษตรกรรม และในปัจจุบันได้มีอุตสาหกรรมทางการเกษตรและการแปรรูปเกิดเพิ่มมากขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้มีวัสดุเหลือทิ้งเป็นจำนวนมากด้วยเช่นกัน เช่น ใบไม้ กิ่งไม้ เปลือกผลไม้ เมล็ด รวมไปถึงผลผลิตที่เน่าเสีย ดังนั้นเพื่อเป็นการจัดการวัสดุเหลือทิ้งจึงมีการใช้เอนไซม์หลายชนิดในการย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมต่างๆ โดยวัสดุเหลือ[illegible]ยน้ำตาลกลูโคส และ น้ำตาลไซ[illegible]งจะสามารถเพิ่มมูลค่าของวัสดุเ[illegible]าตาล นำมาเป็นแหล่งพลังงานท

ในปัญหาข[illegible]มารถย่อยสลายเซลลูโลสจากใ[illegible]

วัตถุประสงค์กา

1. ทดสอบ[illegible]p. strain 8 และ 17 และ *Leifsoni*[illegible]

2. เพื่อหาแ[illegible]: 17 และ *Leifsonia* sp. strain 45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

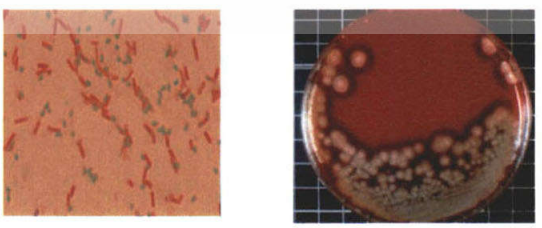
บทที่ 2
ตรวจเอกสาร

2.1 บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*)

(แผนกวิเคราะห์ข้อมูล ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร)

Bacillus cereus and other *Bacillus* spp. *Bacillus cereus* เป็นแบคทีเรียแกรมบวก สามารถสร้างสปอร์ได้ทั้งในที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจนเซลล์ของมันเป็นแท่งขนาดใหญ่ และ sporangium ในระ ษณะสำคัญทางชีวเคมี ซึ่งใช้บอก ักษณะลักษณะพิเศษนี้จะมีอยู่ใ

การแยกค รเคลื่อนไหว (*B. cereus* ส่วนใ การกระตุ้นการแตกของเม็ดเ ม่โมลีติก ส่วน *B. anthracis*ปก ษณะพิเศษของ *B. cereus* var. *m* ตรง ขนาด 0.3-2.2 x 1.2-7.0 ไม ร่งจะขับสารพิษออกมาขณะปนเ งศาเซลเซียส แต่บางสายพันธุ์สาม ันธุ์เติบโตได้ที่อุณหภูมิ 4-5 อ องเชื้อชนิดนี้อยู่ระหว่าง 6-7 และสามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่มีออกซิเจน และจะสร้างสารพิษเมื่ออยู่ภายใต้สภาพที่มีออกซิเจนน้อย (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 บาซิลลัส ซีเรียส (Bacillus Cereus)

(ที่มา : http://www.techno.msu.ac.th/fn/ecenter/pathogens/bacillus_cereus_and_other_bacill.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แหล่งที่มาของเชื้อ บาซิลลัส ซีเรียส (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์,2543)

เชื้อ บาซิลลัส ซีเรียส พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ ในดิน ฝุ่นละออง ผลิตภัณฑ์จากพืช เช่น ข้าว ธัญพืช แป้ง ผลิตภัณฑ์จากแป้ง เครื่องเทศ ผลิตภัณฑ์จากสัตว์ และเครื่องปรุงแต่งรสต่างๆ นอกจากนี้ยังพบในอุจจาระของคนที่มีสุขภาพปกติได้ประมาณ 15% อาหารที่พบว่าทีการปนเปื้อนของเชื้อ บาซิลลัส ซีเรียส จนทำให้เกิดอาการอาเจียนได้แก่ อาหารประเภทข้าว และแป้ง อาทิ มักกะโรนี และข้าวผัด เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์จากวานิลลาที่ทำในลักษณะยัดไส้ครีม ส่วนอาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจนทำให้เกิดอาการท้องร่วง ได้แก่ ผักต่างๆ สลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ซอส ซุป และอาหารที่มีแป้งและครีมเป็นส่วนประกอบ

การวินิจฉัย

มีการยืนยัน ...ต้องมีการตรวจสอบ

(1) การ... รวมถึงอุจจาระและอาเจียนของ...

(2) การ... ...ค foodborne illness จากอาหารข...

(3) การ... ...ity ของเชื้อ โดยการทดสอบทาง... ...อาเจียน) โรคที่มีการอาเจียนจะเ... ...ยครั้งก็พอเพียงที่จะวินิจฉัยโรค...

การเข้าสู่ร่างกาย (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์, 2543)

บาซิลลัส ซีเรียส เป็นแบคทีเรียที่ทำให้อาหารเป็นพิษ และสามารถถ่ายทอดเข้าสู่ร่างกายได้โดยการรับประทานอาหารที่มีเชื้อนี้ปนเปื้อน อาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อ บาซิลลัส ซีเรียส จนทำให้เกิดอาการอาเจียนได้แก่ อาหารประเภทข้าว และแป้ง อาทิ มักกะโรนี และข้าวผัด เนยแข็ง ผลิตภัณฑ์จากวานิลลาที่ทำในลักษณะยัดไส้ครีม ส่วนอาหารที่พบว่ามีการปนเปื้อนของเชื้อจนทำให้เกิดอาการท้องร่วง ได้แก่ ผักต่างๆ สลัด อาหารที่มีเนื้อสัตว์เป็นส่วนประกอบ ซอส ซุป และอาหารที่มีแป้งและครีมเป็นส่วนประกอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อันตรายของเชื้อ บาซิลลัส ซีเรียส (ปิยะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์, 2543)

บาซิลลัส ซีเรียส เป็นแบคทีเรียที่สร้างสารพิษ การเกิดพิษมี 2 ลักษณะอาการคือ ทำให้อาเจียน (Emetic illness) และทำให้ท้องเสีย (Diarrhea illness) อาการอาเจียนมักเกิดจากการได้รับสารพิษชนิดที่มีความคงทน ที่สามารถมีชีวิตรอดได้ในอุณหภูมิสูงและค่าความเป็นกรด-ด่างสูง โดยผู้ป่วยจะเกิดอาการคลื่นไส้และอาเจียน ภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 11-15 ชั่วโมง แต่โดยทั่วไปมักปรากฏอาการภายหลังจากการบริโภคอาหารที่มีสารพิษเข้าไป 30 นาทีถึง 6 ชั่วโมงส่วนอาการท้องเสียมักเกิดจากสารพิษชนิดที่ไม่ทนความร้อนและกรด ตามปกติใช้เวลาฟักตัวประมาณ 6-12 ชั่วโมง หลังจากบริโภคอาหารที่มีการปนเปื้อนสารพิษของเชื้ออาการประกอ ดยทั่วไปอาการจะทรงอยู่ไม่เกิน

วิธีป้องกัน (ปิ

บลาซิลลั าหาร ที่ต้องมีการเตรียมอาหารจ ก่อนนำไปบริโภคเพราะหากใน ณะหรือไม่สะอาดจะทำให้เกิดก ชื้อชนิดนี้อาจเพิ่มจำนวนในอา ก็บรักษา และการขนส่งอาหาร อาหารที่ทำให้สุกแล้ว ไม่ควรเก็

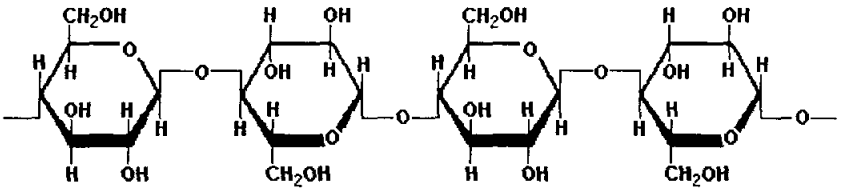
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

2.2 การย่อยสลายเซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นสารประกอบพวกโพลีแซคคาไรด์ชนิดหนึ่งที่มีมากในผนังเซลของพืช โครงสร้างของโมเลกุลเป็นแบบไม่มีกิ่งก้านสาขาประกอบด้วยหน่วยย่อยของน้ำตาลกลูโคสหลายๆ หน่วยมาต่อกันเป็นเส้นยาวด้วยพันธะแบบ β(1-4)-glycosidic bond (ภาพที่ 2.2) เซลลูโลสจะไม่ละลายด้วยน้ำ ตัวทำละลายอินทรีย์ หรือสารละลายด่างอ่อน แต่จะละลายในกรดและด่างแก่ เมื่อย่อยสลายโดยสมบูรณ์ด้วยกรดหรือเอนไซม์จะได้น้ำตาลกลูโคสอย่างเดียว แต่ถ้าการย่อยสลายตัว ไม่สมบูรณ์จะได้เซลโลไบโอส (Cellobiose) ซึ่งเป็นไดแซคคาไรด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Disaccharide) และได้โอลิโกแซคคาไรด์ (Oligosaccharide) อื่นๆ (http://www.sut.ac.th/e-texts/Agri/Ruminant%20Nutrition/unit%205.1.htm)

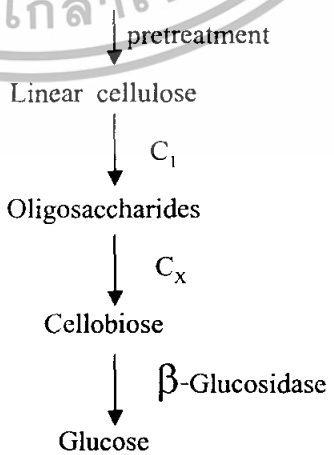


ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของเซลลูโลส

(ที่มา : http://www.elib-online.com/doctors/food_enzyme01.html)

เอนไซม์ูเลสเป็นเอ็นไซม์
เชิงซ้อน (Coเานร่วมกันคือ C_x
[Endoglucanacanases; 1,4-β-D-
glucan cellobes; EC 3.2.1.21)
ขั้นตอนการย่ (http://www.s

- ชลโลไบโอส
- แบบสุ่ม
- ไปเป็น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลส (Cellulose) เป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลใหญ่ ประกอบด้วยโมเลกุลที่ต่อกันเป็นโซ่ยาวของกลูโคส พบมากในพืช เพื่อทำหน้าที่เสริมโครงสร้างของลำต้นและกิ่งก้านของพืช ผักและผลไม้ให้แข็งแรง เป็นส่วนประกอบหลักของผนังเซลล์ พืช และพบว่าสาร organic carbon ในโลกนี้มากกว่าครึ่งหนึ่ง เป็น เซลลูโลส โครงสร้างประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคสหลายโมเลกุล ที่จัดเป็นเส้นยาวตรงเชื่อมต่อกับด้วย beta (1->4) glycosidic bonds ซึ่งสัตว์มีกระดูกสันหลังไม่มีเอนไซม์ที่จะย่อยได้ พวกสัตว์กินพืชกินเซลลูโลสเข้าไปมากแต่ไม่ได้ย่อยได้ด้วยกระบวนการย่อยของตนเองแต่เป็นเพราะมีพวกสิ่งมีชีวิตเล็กๆ พวกจุลชีพ (microbes) อยู่ที่ทางเดินอาหารที่สร้างเซลลูเลส สามารถย่อยสลายเซลลูโลส ได้ ร่างกายคนเราไม่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้แต่จะมีการ[illegible]ระตุ้นให้ลำไส้ใหญ่ทำงานอย่าง[illegible]ะถั่ว ผลไม้ จัดเป็นแหล่งที่ให้[illegible]นเป็นประจำทุกวัน เซลลูโลสเมื่[illegible]รถย่อยเซลลูโลสได้โดยอาศัยแบ[illegible]ลูโคส แต่ถ้าสลายไม่สมบูรณ์ จะ[illegible]พราะมีโมเลกุลใหญ่มาก ประกอ[illegible]ช เป็นส่วนประกอบของผนังเซล[illegible]ขึงแรงให้กับเนื้อเยื่อของพืช มีม[illegible]ข้าไปแล้วร่างกายไม่สามารถย่อย[illegible]นการขับถ่ายได้โดยทำให้เป็นก[illegible]กอาหารที่ไม่ย่อยและป้องกัน[illegible]คสจำนวนมาก เป็นคาร์โบไฮเ[illegible]ร้างซับซ้อน มีสูตร $(C_6H_{10}O_5)n$ ประกอบด้วยโมเลกุลของโมโนแซ็กคาไรด์ จำนวนมากมาย หลายพันโมเลกุล (http://www.sut.ac.th/e-texts/Agri/Ruminant%20Nutrition/unit%205.1.htm)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร

พืชและวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรต่างๆจะมีเฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose), เซลลูโลส (Cellulose) และ Pectic substances เป็นองค์ประกอบอยู่มาก สารประกอบพวกเฮมิเซลลูโลส, เซลลูโลส และ Pectic substances เป็นโพลีแซคคาไรด์ที่พบมากในผนังเซลล์ (Cell wall) ของพืช ขณะที่พืชยังมีชีวิตและอยู่ในสภาพที่สมบูรณ์จะไม่ถูกทำลายโดยจุลินทรีย์ต่างๆเนื่องจากมีสารที่ยับยั้งการทำงานของจุลินทรีย์ แต่หลังจากที่พืชตายหรือมีบาดแผลเกิดขึ้น สารยับยั้งจะถูกทำลาย โครงสร้างของพืชก็จะถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นโดยจุลินทรีย์ โครงสร้างของผนังเซลล์พืชทั้งไม้เนื้ออ่อ น ๆ (ภาพที่ 2.3) ดังนี้คือ

ภาพที่ 2.3 โคร
(ที่มา : เทคโนโ

- ชั้น Primary wall (P) จะหนาประมาณ 0.1–0.2 μm ซึ่งประกอบด้วย Cellulose microfibril ที่มีการจัดเรียงตัวกันแบบสุ่ม (Random) และถูกห่อหุ้มไว้ด้วยร่างแหของ เฮมิเซลลูโลส และ Pectic substances

- ชั้น Secondary wall (S) จะพบเฮมิเซลลูโลสกระจายอยู่ทั่วไป ชั้น S จะแบ่งย่อยออกเป็นชั้น S_1, S_2, และ S_3 ชั้น S_1 หนาประมาณ 0.1– 0.3 μm มีลักษณะเป็น Cellulose microfibril ที่มีการจัดเรียงตัวกันแบบ Cross hatch ในชั้น S_2 จะหนาประมาณ 1–5 μm ชั้นนี้เป็นชั้นที่ใหญ่ที่สุดในผนังเซลของพืชและการเรียงตัวของ Cellulose microfibril จะเป็นระเบียบแบบเส้นขนาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(Parallel) ส่วนชั้น S_3 จะหนาประมาณ 0.1 μm การจัดเรียงตัวของ Cellulose microfibril ในชั้นนี้เป็นแบบ Flat helix และพบลิกนินบ้างเล็กน้อย

- ชั้น Middle lamella (M) จะเป็นชั้นที่เชื่อมต่อกันระหว่างเซลของผนังเซลพืชที่อยู่ติดกัน ชั้นนี้ ส่วนใหญ่จะประกอบด้วยลิกนินและ Pectic substances

2.3.1ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร (http://www.dede.go.th/dede/index.php?id=437)

ประเทศไทยนับเป็นประเทศเกษตรกรรมที่สำคัญแห่งหนึ่งของโลก ประชาชนมากกว่าร้อยละ 50 ประกอบอาชีพเกษตรกรรม ผลพลอยได้ที่สำคัญนอกเหนือจากผลผลิตการเกษตรก็คือ วัสดุเหลือทิ้งทา ม เป็นต้น

ชีวมวล (B เป็นพลังงานได้

ชีวมวลนับรวมถึ ไม้ มูลสัตว์ ของเสียจากโรงงาน

ปริมาณชีว จะแปรผันและขึ้นอยู่กับปริมาณ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 แสดงรายละเอียดพื้นที่ปลูก ผลผลิตพืชหลัก และไม้ยางพารา ปี 2543/2544 และ 2544/2545 (หน่วย: พันไร่ / พันตัน)

	2543/44		2544/45	
ชนิด	พื้นที่เก็บเกี่ยว	ผลผลิต	พื้นที่เก็บเกี่ยว	ผลผลิต
อ้อย	5,421	49,070	6,320	60,013
ข้าว	65,640	25,608	63,283	26,514
				9
				6
				58
				7
				4

ที่มา: สำนักงา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 แสดงศักยภาพชีวมวลของประเทศไทยปี 2544/2545

ชนิด	ผลผลิต (10^6kg)	วัสดุเหลือใช้	ปริมาณวัสดุเหลือใช้ (10^6kg)	ค่าความร้อน (MJ/kg)	พลังงาน (TJ)	เทียบเท่าน้ำมันดิบ (MT)	กำลังไฟฟ้า (MW)
อ้อย	60013.00	ชานอ้อย	3,615.00	14.40	52,056.04	1.23	764.21
		ยอดและใบ	17,870.19	17.39	310,762.62	7.36	4,105.92
ข้าว	26514.00	แกลบ	3,006.42	14.27	42,901.65	1.02	566.83
		ฟางข้าว	8,106.60	10.24	83,011.61	1.97	1,096.78
น้ำมั							241.18
							18.75
							1.81
							382.91
							205.56
มะ							64.48
							20.00
							11.73
							53.72
มันสำ							147.03
ข้า							194.71
กั๋							6.97
ล							22.27
ถั่วเหลือง	292.00	ลำต้นและใบ	590.97	19.44	11,488.51	0.27	151.79
ข้าวฟ่าง	145.00	ใบและต้น	117.64	19.23	2,262.18	0.05	45.14
เศษไม้	10268.00	กิ่งก้าน	2,669.68	14.98	39,991.81	0.95	528.39
รวมวัสดุเหลือใช้			48,293.26				
รวมพลังงานทั้งหมด					721,935.91	17.10	9,630.18

ที่มา : กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน (พพ.)กระทรวงพลังงาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

นางสาวจิตราวดี สมศรี และ นางสาวศุภพร อินทร์พรหม (2550) ได้ทำการศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งธรรมชาติ โดยการนำแบคทีเรีย 6 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์ O_2, B1, B8, B12, B17 และ B43 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่คัดเลือกได้จากแหล่งธรรมชาติและสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสด้ปริมาณสูงมาเลี้ยงในอาหาร production medium เพื่อผลิต crude enzyme ที่ได้ไปทำการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส โดยแหล่งไนโตรเจนที่ใช้คือ Yeasr extract, Peptone และ Ammonium sulfate ซึ่งเชื้อแบคทีเรียทุกสายพันธุ์มีกิจกรรมเอนไซม์สูงในแหล่งไนโตรเจน Ammonium su อนไซม์ 1,250.55 หน่วยต่อมิลลิ กิจกรรมเอนไซม์ 1,206.11 หน่ว ที่มีความสามารถในการผลิตเอน

นางสาวธั จำทำการศึกษาการคัดเลือกจุลินท ไมเลส และเซลลูเลส นำเชื้อแบ เลสไปส่องกล้องจุลทรรศน์พบ 5 isolates คือเชื้อแบคทีเรียหมา ชื้อแบคทีเรียรหัส B17 ให้ค่ากิจก ในการศึกษาการผลิตเอนไซม์เ จากนั้นนำมาวิเคราะห์กิจกร ียรหัส B17 ให้ค่ากิจกรรมเอนไซมสูงทสุดทคาเทากบ 14.58 หนวยตอมลลลตร

นางสาวสุฤทัย ล้ำประเสริฐ (2544) ทำการศึกษาการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลูโลส จากการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส จากกระเพาะส่วนต้นของวัวและมูลวัว สามารถสรุปได้ดังนี้ จากการคัดเลือกแบคทีเรียที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลส พบว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ที่ 45 และ 50 สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง โดยพบว่าเชื้อแบคทีเรียทั้งสองเป็นเชื้อที่ได้จากตัวอย่างมูลวัว และจาสกการใช้วัตถุดิบธรรมชาติเป็นแหล่งคาร์บอน ใน 3 สภาวะ ปรากฏว่าสภาวะที่ทำการ pretreat หญ้าขนและมีสารอาหารเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วยจะผลิตเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase มากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รองลงมาคือ หญ้าขนที่ผ่านการ pretreat แต่ไม่มีสารอาหารอื่นเป็นองค์ประกอบ ส่วนหญ้าขนที่ไม่ผ่านการ pretreat จะผลิตเอนไซม์ที่ให้ค่า CMCase ต่ำที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

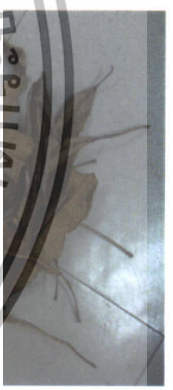
3.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1. เชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. strain 8 และ 17

3.1.2. เชื้อแบคทีเรีย *Leifsonia* sp. strain 43

3.2 แหล่งคาร์บอ

ใบไม้แห้งชนิ ต่างๆร้อยละ 20
แหล่งที่เก็บใบไม้ การลาดกระบัง
ซึ่งเก็บใบไม้ไว้ใน 2



ภาพที่ 3.1 ใบไม้แ

3.3 อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.3.1. ขวดรูปชมพูขนาด 1,000 มิลลิลิตร

3.3.2. ขวดปรับปริมาตร 100 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.3.3. ปิเปตขนาด 1 , 5 และ 10 มิลลิลิตร

3.3.4. บีกเกอร์ขนาด 150 , 250 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.3.5. หลอดทดลองขนาด 16 × 150 มิลลิเมตร

3.3.6. ที่วางหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.7. กระบอกตวงขนาด 100 , 250 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.3.8. ลูปเขี่ยเชื้อ

3.3.9. ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.3.10. หม้อสแตนเลส

3.3.11. ที่คน (Spreader)

3.3.12. เตาแก๊ส

3.3.13. ลูกแก้ว

3.3.14. ขวดสีชา

3.3.15. สำลี

3.3.16. กระ

3.3.17. ช้อน

3.3.18. แท่ง

3.3.19. ดิวเ

3.3.20. เครื่อ Allegra X- I

3.3.21. เครื่

3.3.22. เครื่อ

3.3.23. เครื่อ ech

3.3.24. เครื่อ

3.3.25. เครื่อ y, USA

3.3.26. อ่างควบคุมอุณหภูมของ memmert ประเทศ Germany

3.3.27. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อแบบไอน้ำ (Autoclave) ของ Tomy ประเทศ USA

3.3.28. ตู้แช่เย็นมิราจ รุ่น BC-250 ผลิตโดยบริษัท พรีเมียร์มาร์เก็ตติ้ง ประเทศไทย

3.3.29. ขวดบ่มใบไม้พลาสติกใสขุ่นทนร้อนความจุ 1800 ลูกบาศก์เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 4 นิ้ว สูง 9.5 นิ้ว ผลิตที่ประเทศ อิตาลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.4.1. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA) (ภาคผนวก ก)

3.4.2. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Nutrient broth (NB) (ภาคผนวก ก)

3.3.3. อาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Carboxymethyl cellulose (CMC) (ภาคผนวก ก)

3.5 สารเคมี

3.5.1. Cupper(II)sulfate ($CuSo_4.5H_2O$)

3.5.2. Sodium dihydrogen phosphate (Na_2HPO_2)

3.5.3. Sod

3.5.4. Sod

3.5.5. Sod

3.5.6. Am

3.5.7. Sul

3.5.8. Dis

3.5.9. Tris

3.5.10. An

3.5.11. Pot

3.5.12. di-

3.5.13. Ma

3.5.14. alc

3.5.15. alcohol

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. และ *Leifsonia* sp. โดยเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว Nutrient broth (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.6.2 การเตรียมตัวอย่างใบไม้แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เก็บใบไม้แห้งชนิดต่างๆ ซึ่งประกอบด้วยใบขนุนแห้งร้อยละ80 และ ใบไม้แห้งชนิดต่างๆร้อยละ 20 นำมาฉีกให้ละเอียดเป็นชิ้นเล็กประมาณ 1-3 เซนติเมตร

3.6.3 การศึกษาการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp.

1. นำหัวเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. จากข้อ 3.6.1 มาดูดใส่ลงในอาหารเหลว NB และ CMC ปริมาตร 500 มิลลิลิตร อย่างละ 25 มิลลิลิตร

2. ใส่ลงในขวดบ่มที่มีใบไม้แห้งที่ 20, 40 และ 60 กรัม โดยกดให้ใบไม้จมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วปิดฝาไม่ต้องแน่น

3. นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง คือ ชั่วโ

4. นำตั รอบต่อนาที เป็น
เวลา 10 นาที ท์ ทำการวิเคราะห์
กิจกรรมเอนไซ

3.6.4 การ

1. นำห รเหลว NB และ
CMC ปริมาตร

2. ใส่ล ม้จมลงในอาหาร
เลี้ยงเชื้อ แล้วปิ

3. นำไ งน้ำหมักทุกๆ 12
ชั่วโมง คือ ชั่วโ

4. นำตั รอบต่อนาที เป็น
เวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส แยกส่วนใสออกเป็น crude enzyme ทำการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูโลสและปริมาณกลูโคสโดยใช้วิธี Somogyi-Nelson

3.6.5 การศึกษาการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยไม่มีการใส่เชื้อ

1. เตรียมอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ NB และ CMC ใส่ลงในขวดบ่มที่บรรจุใบไม้แห้งที่ 20, 40 และ 60 กรัม ที่โดยกดให้ใบไม้จมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เทลงไป แล้วปิดฝาไม่ต้องแน่น

2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 72 ชั่วโมง โดยทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง คือ ชั่วโมงที่ 0, 24, 48 และ 72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3. นำตัวอย่างที่เก็บจากข้อ 2 มาปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เก็บส่วนใสซึ่งเป็น crude enzyme ทำการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูโลสและปริมาณกลูโคสโดยใช้วิธี Somogyi-Nelson

ภาพที่ 3.2 การย่อ
ก ด้าน
ข ด้าน
ค ด้าน
ง ด้าน

3.7 การวิเคราะห์

3.7.1 วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์เซลลูโลสตามวิธีของรุจิกาญจน์ (2546) (ภาคผนวก ข)

3.7.2 วิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยวิธี Somogyi-Nelson (Association of Official Chemists)

3.8 สถานที่ดำเนินการทดลอง

ห้องปฏิบัติการภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ห้อง D 318 และ D317 สาขาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
85420

3.9 ระยะเวลาที่ทำการทดลอง

เดือนพฤศจิกายน 2550-มีนาคม 2551

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

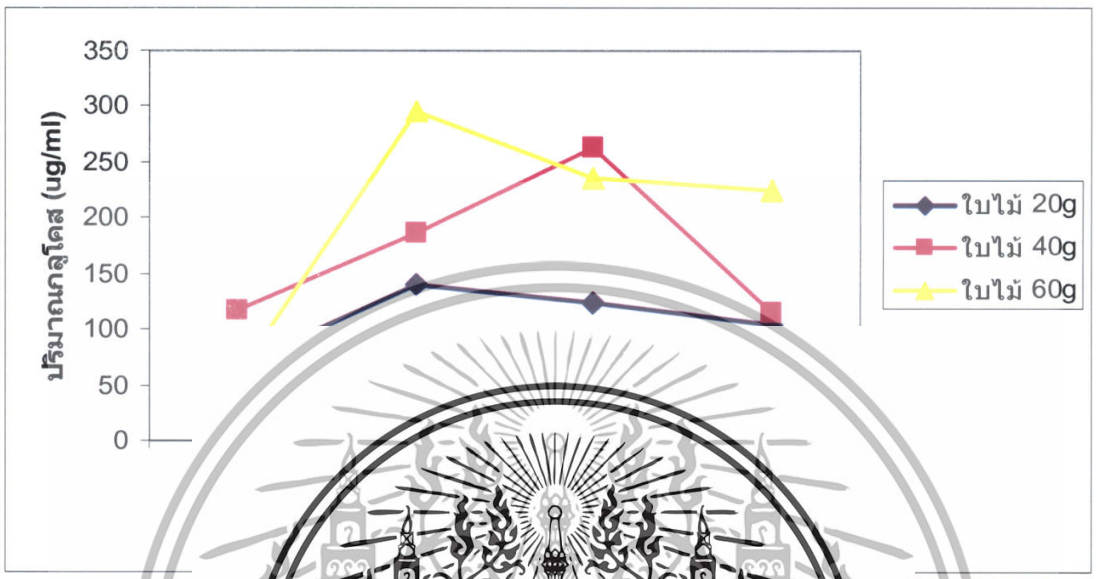
บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 การย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8

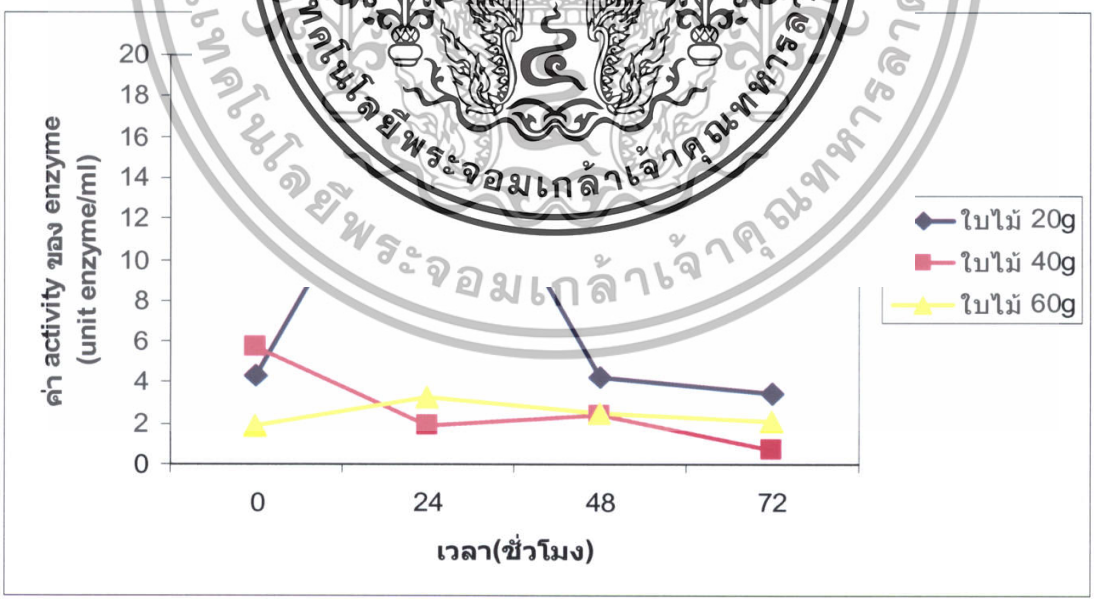
จากการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8 โดยใช้อาหารเหลว NB และ CMC ปริมาณ หภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ดังแสดง อ ที่ 0, 24, 48, และ 72 ชั่วโมง จากนั้นน บต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ ยค่าดูดกลืนแสงความ ยาวคลื่น 520 นา ยสลายเซลลูโลสและ การวิเคราะห์หา CMC พบว่าปริมาณ กลูโคสแปรผันต มาได้สูงปริมาณหนึ่ง แล้วเชื้อจะหยุดห ลดลงด้วย นั้นก็แสดง ว่าเกิดการย่อยส โคสออกมาสูงสุดคือที่ ชั่วโมงที่ 24 ใบไ ว CMC สภาวะที่ผลิต กลูโคสออกมาสู *μg / ml* เพราะฉะนั้น สภาวะที่เหมาะส sp. strain 8 คือชั่วโมง ที่ 24 ใบไม้ 60 กรัม ในอาหารเหลว CMC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผลการ

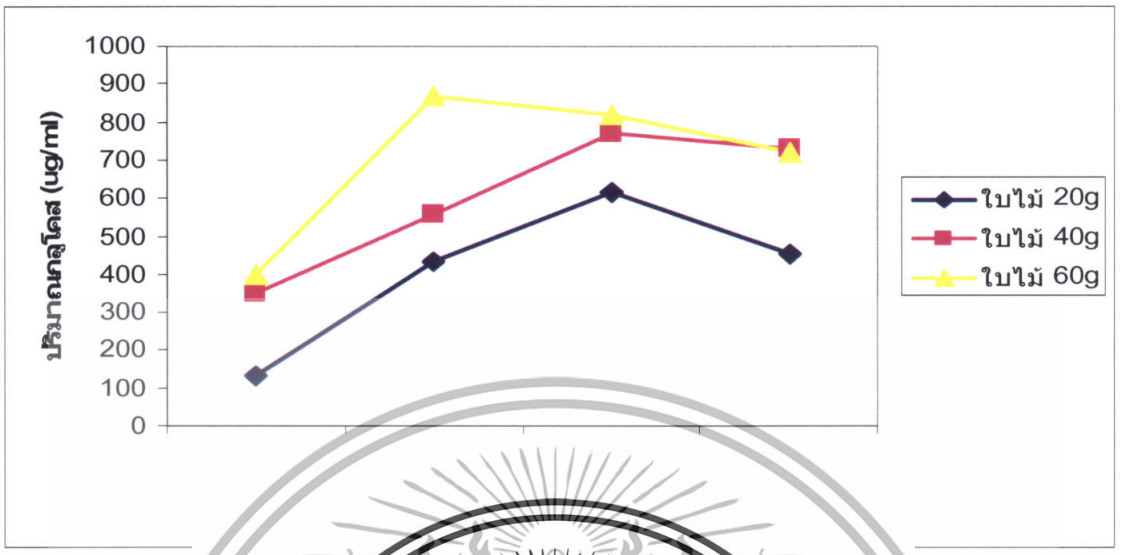


ภาพที่ 4.1 : ผลปริ *illus* sp. strain 8
ในอ



ภาพที่ 4.2 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8 ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ NB เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 : ผลปร[illegible] *illus* sp. strain 8
ในอ[illegible]

ภาพที่ 4.4 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ*Bacillus* sp. strain 8ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ CMC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

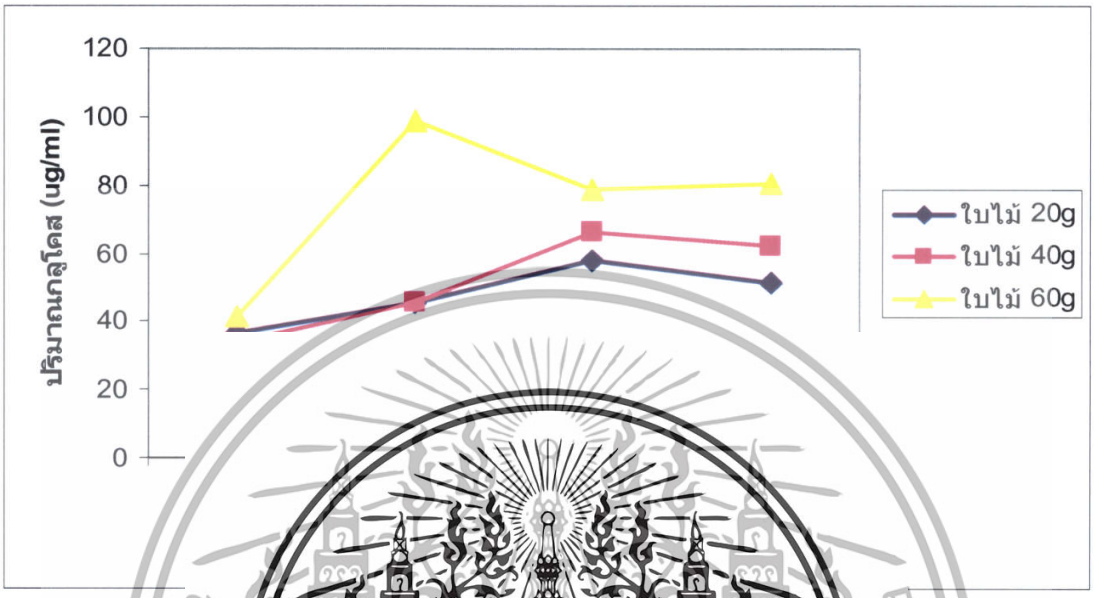
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17

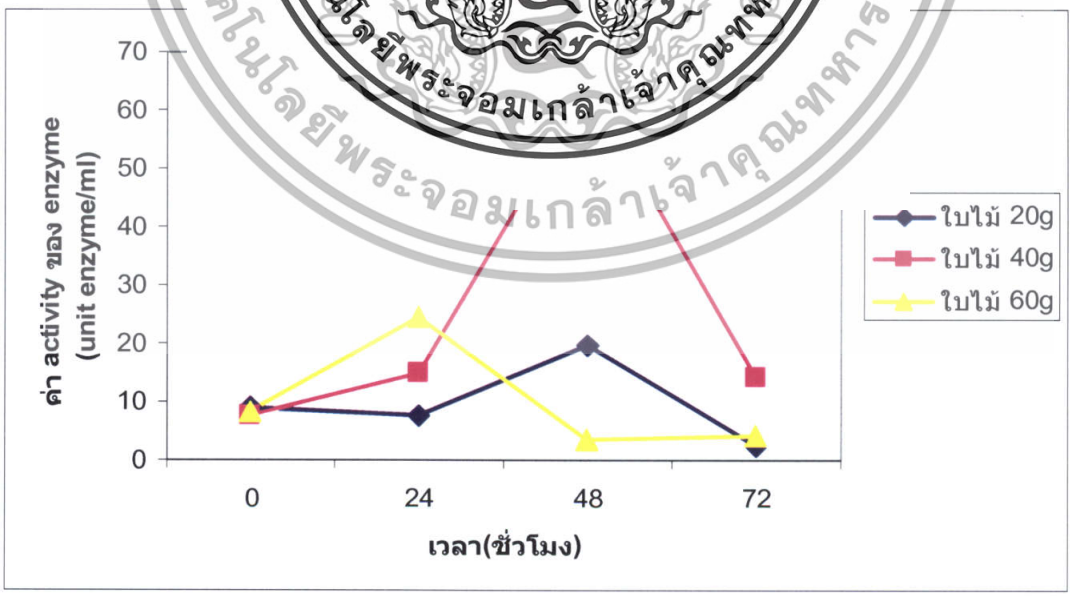
จากการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17 โดยใช้อาหารเหลว NB และ CMC ปริมาณ 500 มิลลิลิตร ใส่ลงในใบไม้แห้ง 20 , 40 และ 60 กรัม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพผลการทดลองและเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง คือ ที่ 0, 24, 48, และ 72 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำส่วนใส่ซึ่งเป็น crude enzyme มาวัดโดยค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร จากกราฟที่ 4.5-4.8 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลจากการย่อยสลายเซลลูโลสและการวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส จากอาหารเหลว NB และ CMC พบว่าปริมาณกลูโคสแปรผันต ามาได้สูงปริมาณหนึ่ง แล้วเชื้อจะหยุดท ลดลงด้วย แต่จากภาพการทดลองที่ 4. ไซม์เซลลูเลสนั้นมีค่า เพิ่มขึ้นเพียงเล็ก ำสามารถผลิตกลูโคส ออกมาได้ในปริ งสุดคือที่ชั่วโมงที่ 24 ใบไม้ 60 กรัม สภาวะที่ผลิตกลูโคส ออกมาสูงสุดคือ เพราะฉะนั้นสภาวะที่ เหมาะสมที่สุดใ in 17 คือชั่วโมงที่ 24 ใบไม้ 60 กรัม ใ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพผลการทดลอง

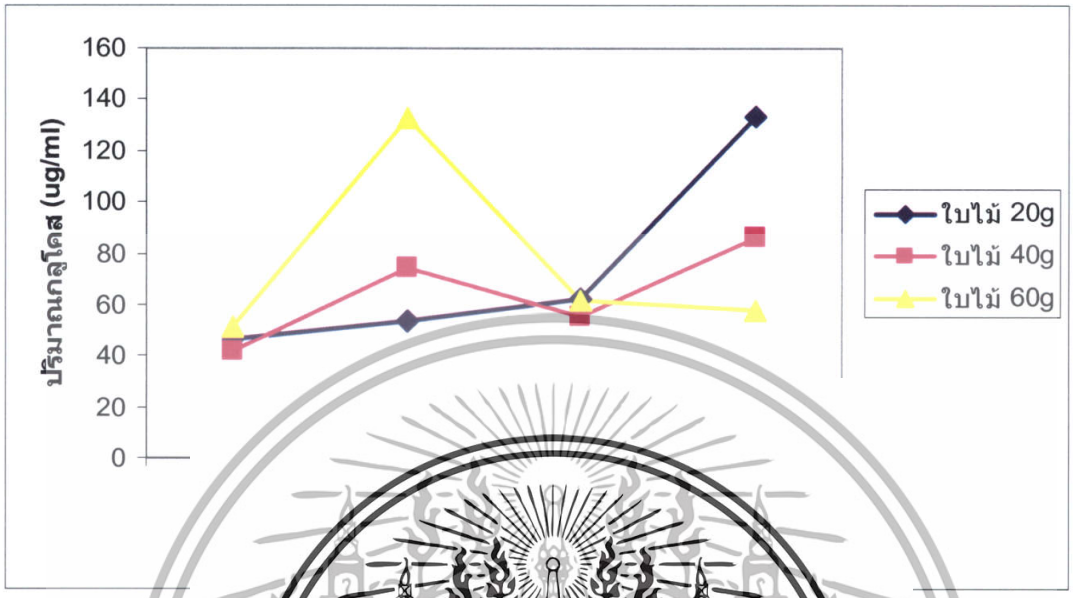


ภาพที่ 4.5 : ผลป[illegible] *cillus* sp. strain 17 ในอ[illegible]

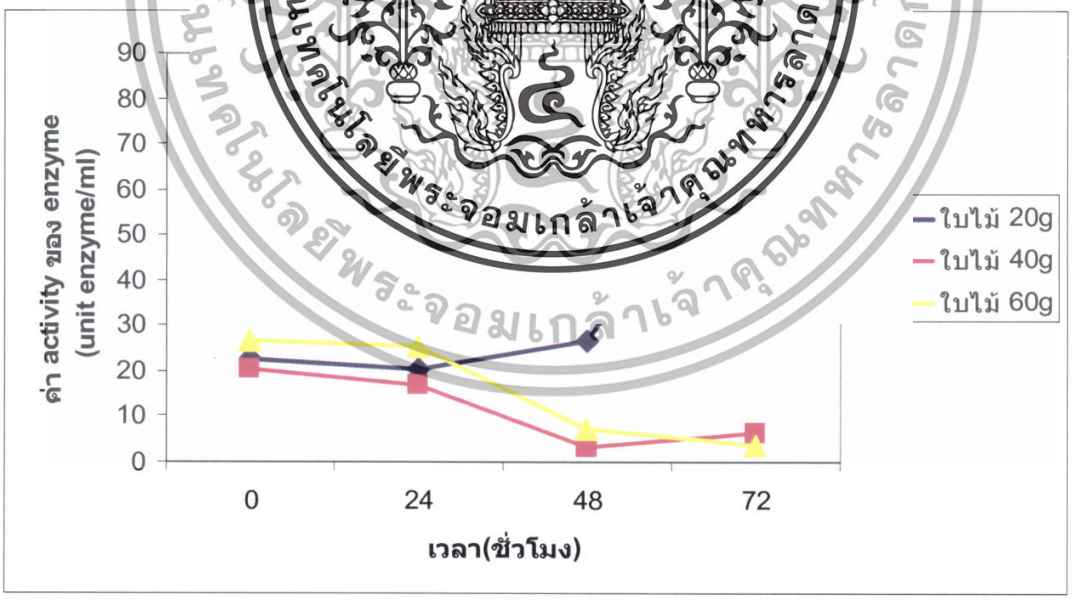


ภาพที่ 4.6 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ*Bacillus* sp. strain 17ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ NB เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.7 : ผลป[illegible] *cillus* sp. stra[illegible]



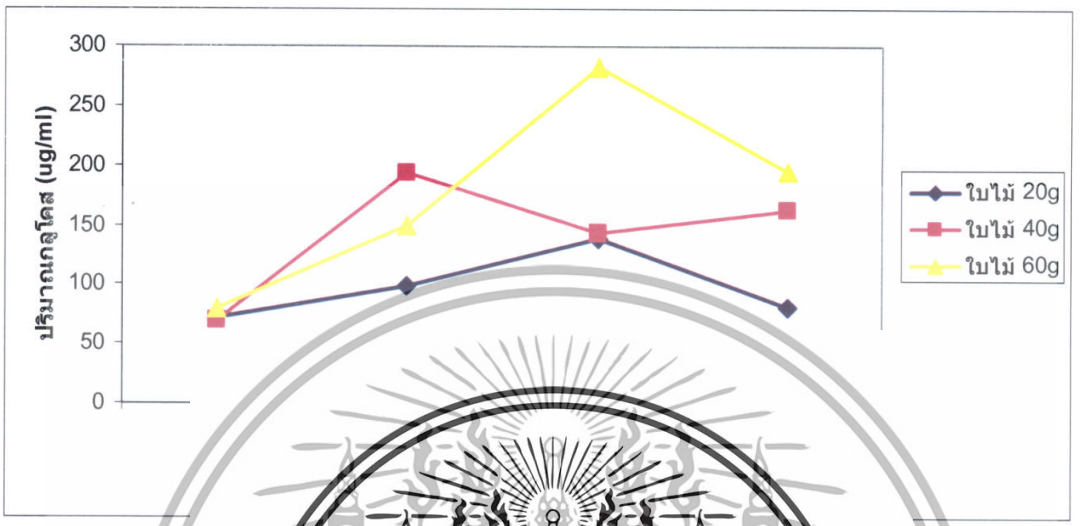
ภาพที่ 4.8 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17ในอาหารเหลวเลี้ยงเชื้อ CMC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

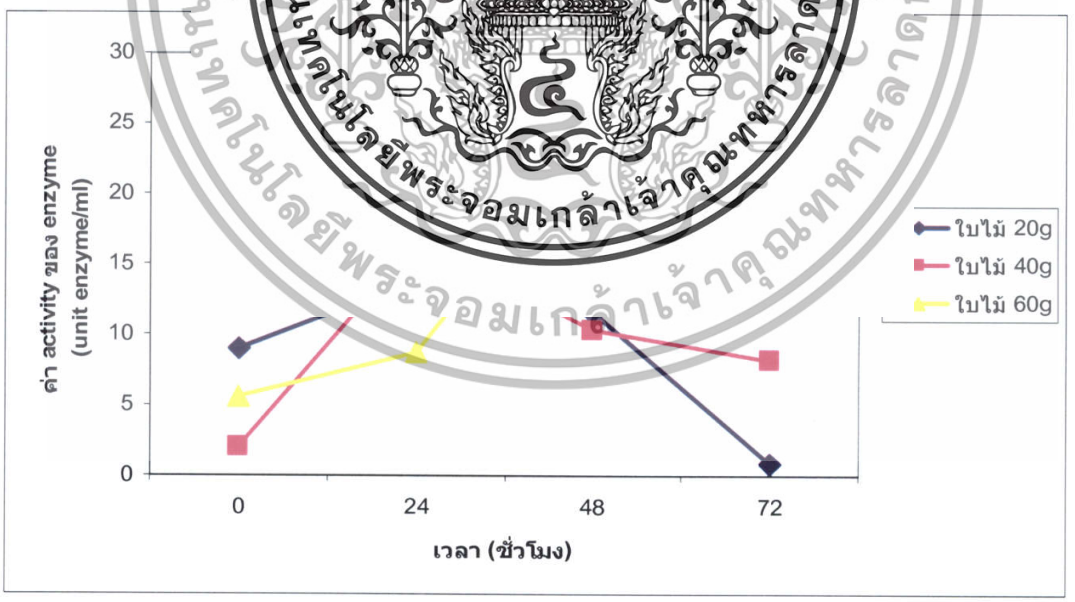
4.3 การย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Leifsonia sp.* strain 43

จากการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Leifsonia sp.* strain 43 โดยใช้อาหารเหลว NB และ CMC ปริมาณ 500 มิลลิลิตร ใส่ลงในใบไม้แห้ง 20 , 40 และ 60 กรัม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ดังแสดงในภาพผลการทดลองและเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง คือ ที่ 0, 24, 48, และ 72 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างน้ำหมักไปปั่นเหวี่ยงแยกตะกอนที่ความเร็ว 5,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และนำส่วนใส่ซึ่งเป็น crude enzyme มาวัดโดยค่าดูดกลืนแสงความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร จากกราฟที่ 4.9-4.12 วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลจากการย่อยสลายเซลลูโลสและการวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส จากอาหารเหลว NB และ CMC พบว่าปริมาณกลูโคสแปรผันเ กมาได้สูงปริมาณหนึ่ง แล้วเชื้อจะหยุดเ ลดลง แสดงว่าการเกิดย่อยสลายเซลลู เกมาสูงสุดคือที่ชั่วโมงที่ 48 ใบไม้ 60 ว CMC สภาวะที่ผลิตกลูโคสออกมาสู *µg / ml* เพราะฉะนั้นสภาวะที่เหมาะ *nia sp.* strain 43 คือชั่วโมงที่ 24 ใบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

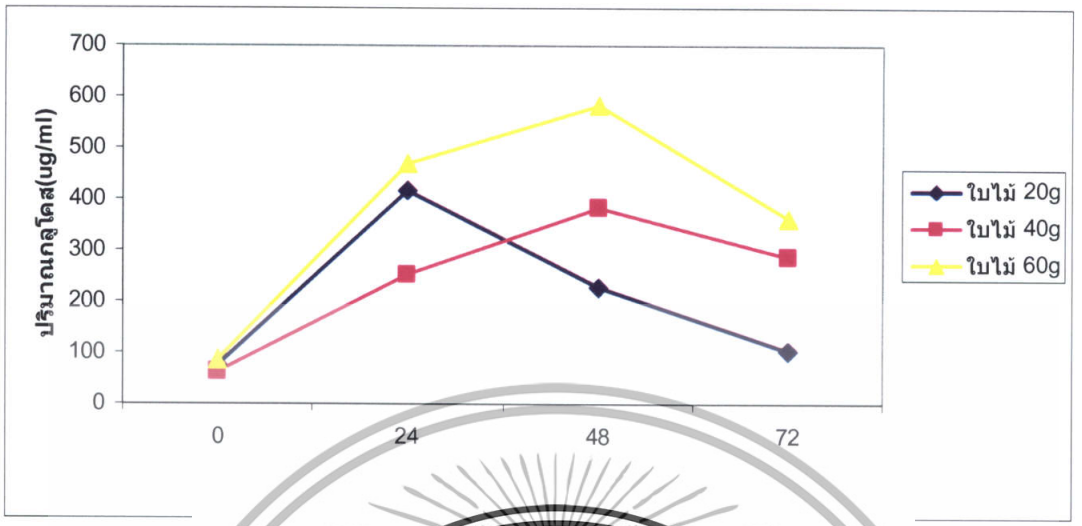


ภาพที่ 4.9 : ผลป[illegible] *ifsonia sp.* stra[illegible]



ภาพที่ 4.10 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Leifsonia sp.* strain 43 ในอาหารเหลว NB เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.11 : ผ

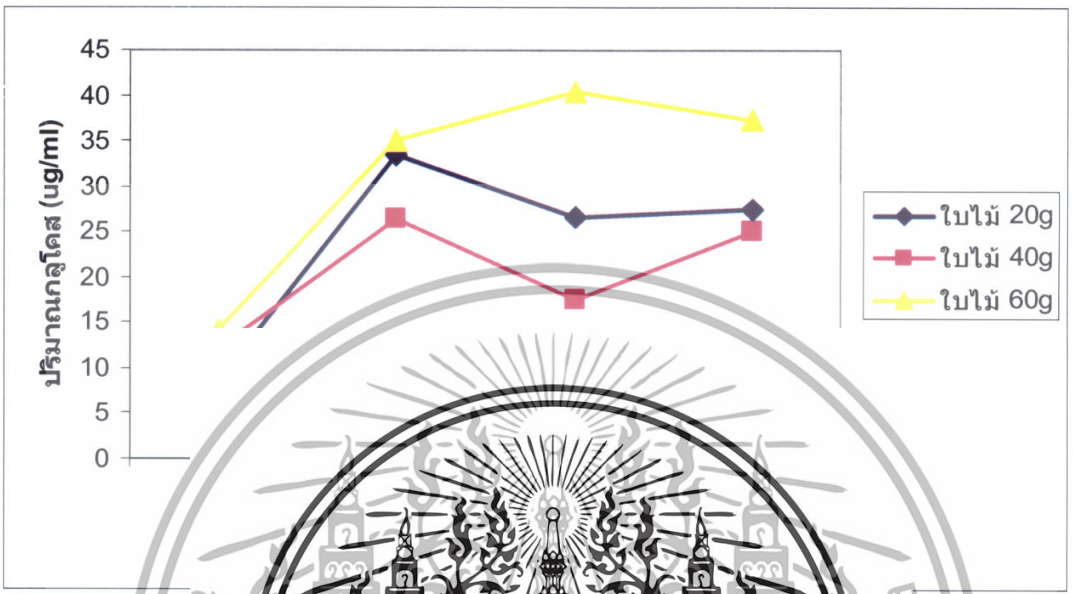
ภาพที่ 4.12 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยเชื้อ *Leifsonia sp.* strain 43 ในอาหารเหลว CMC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

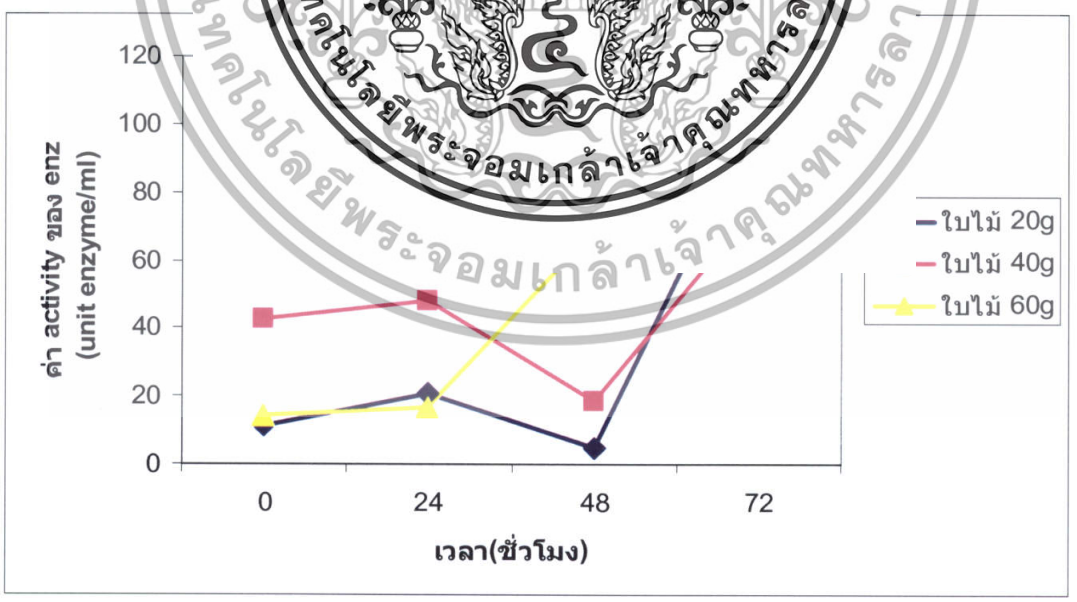
4.4 การย่อยสลายใบไม้แห้งโดยไม่ใส่เชื้อ

จากการทดลองการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยไม่ใส่เชื้อเพิ่ม โดยใช้อาหารเหลว NB และ CMC ที่มีใบไม้แห้งปริมาณ 20 , 40 และ 60 กรัม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และเก็บตัวอย่างน้ำหมักทุกๆ 12 ชั่วโมง คือ ที่ 0, 24, 48, และ 72 ชั่วโมง นำมาวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสจากการย่อยสลายเซลลูโลสและการวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส ดังแสดงดังภาพที่ 4.13-4.16โดยไม่ใส่เชื้อพบว่าปริมาณกลูโคสแปรผันตามค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส คือ เมื่อเชื้อผลิตกลูโคสออกมาได้สูงปริมาณหนึ่งแล้วเชื้อจะหยุดหรือลดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลง ดังนั้นจึงทำให้ปริมาณกลูโคสลดลง แสดงว่าการเกิดย่อยสลายเซลลูโลสในใบไม้แห้งได้ ในกรณีที่ไม่ใส่เชื้อแล้วมีการย่อยสลายเซลลูโลสในใ ่งที่นำมาทำการทดลองในอาหารเหลว ไม้ 60 กรัม ให้ปริมาณกลูโคส 40.267 สูงสุดคือที่ ชั่วโมงที่ 48 ใบไม้ 60 กรัม าะสมที่สุดในการย่อยสลายเซลลูโล อาหารเหลว CMC แต่อย่างไรก็ตามก ารย่อยสลายที่มีการใส่เชื้อแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

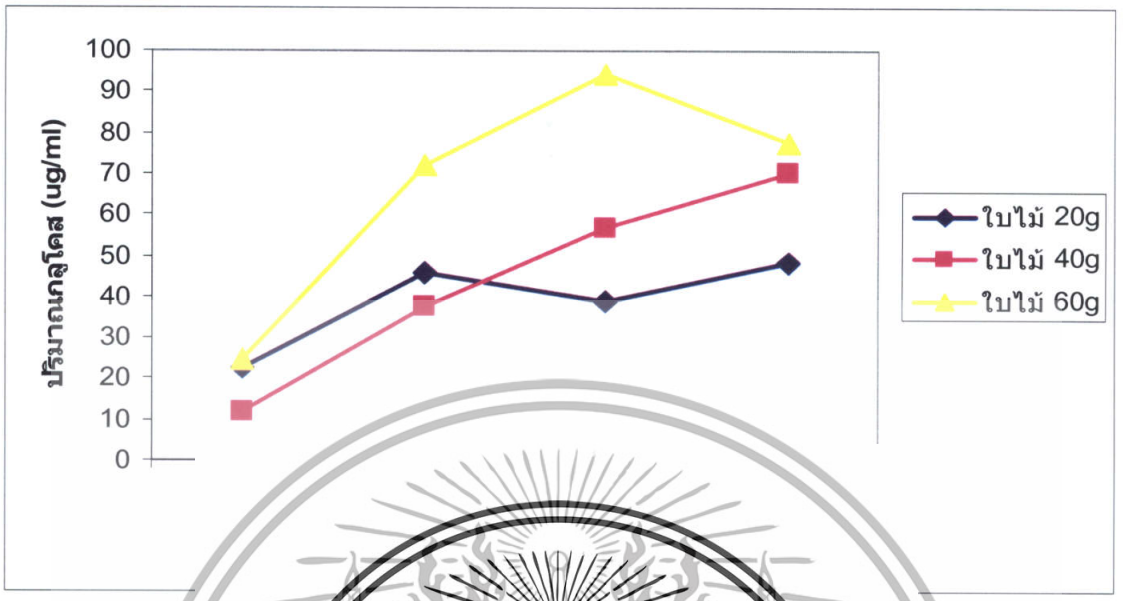


ภาพที่ 4.13 : ผล... ...ชื้อเพิ่มในอาหาร เห...



ภาพที่ 4.14 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยไม่ใส่เชื้อเพิ่มในอาหารเหลว NB เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.15 : ผลป ชื้อเพิ่มในอาหาร
เหว

ภาพที่ 4.16 : ผลค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสจากการย่อยสลายใบไม้แห้งโดยไม่ใส่เชื้อเพิ่มในอาหารเหลว CMC เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากผลการทดลองเพื่อศึกษาหาชนิดและสายพันธุ์เชื้อแบคทีเรีย รวมไปถึงสภาวะ แหล่งอาหารและเวลาของการย่อยสลายเซลลูโลสในใบไม้แห้ง พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. strain 8 และ17 และ *Leifsonia sp.* strain 43 มีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยเซลลูโลสในอาหารเหลว CMC ได้ดีกว่าอาหารเหลว NB โดยเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. strain 8 สามารถย่อยสลายเซลลูโลสร / *ml* ในชั่วโมงที่ 24 ที่ใบไม้ 6 ปริมาณกลูโคส 584.171 *µg / ml* ปริมาณกลูโคส 132.062 *µg / ml* าที่ให้ผลดีที่สุด คือ ชั่วโมงที่ 24 บไม้ที่เหมาะสมที่สุดคือที่ใบไม้ และจากการย่อยสลายใบไม้แห้ง ูเลสในการย่อยสลายเซลลูโลส ทีเรียในการย่อยสลาย ปริมาณก ชั่วโมงที่ 48 ที่ใบไม้ 60 กรัม ที่ 48 ที่ใบไม้ 60 กรัม ซึ่งในอาหา B และการย่อยสลายเซลลูโลสไ

จากการทดลองนได้สอดคล้องกบการทดลองศึกษาหาชนดและปรมาณของแหล่งในโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งธรรมชาติ พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *Bacillus* sp. strain 8 เป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ (จิตราวดี สมศรี และ นางสาวศุภพร อินทร์พรหม ,2550) นอกจากนี้แบคทีเรียนี้เป็นสายพันธุ์ที่มีความสามารถในการผลิตกลูโคสได้ในปริมาณสูงด้วย ดังนั้นจึงสามารถนำสายพันธุ์นี้ไปทำการศึกษาต่อไปเพื่อนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

การวิจัยเพื่อหาแนวทางการผลิตจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมการเกษตร (2547) [online].เข้าถึงได้จาก http://siweb.dss.go.th/article/show_atricle.asp?article_ID=500

http://www.sut.ac.th/e-texts/Agri/Ruminant%20Nutrition/unit%205.1.htm,

จิตราวดี สมศรี, ศุภพร อินทร์พรหม. 2550. **การศึกษาชนิดและปริมาณของแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม ต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของเชื้อแบคทีเรียที่แยกได้จากแหล่งธรรมชาติ,** สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, กรุงเทพฯ.

เซลลูโลส. 2004.

http://61.19

http://www

ธันยธรณ์ ปิยชั **เทรีย์จากแหล่ง**

ธรรมชาติเ าบันเทคโนโลยี

พระจอมเกล้

เทคโนโลยีชีวภา ยุธยา จำกัด

(มหาชน). [y/analysis/march47_03.pdf

บาซิลลัส (Bacil

http://www Ntype=4,

http://www er_bacill.htm,

http://foods

บาซิลลัส ซีเรียส (*Bacillus cereus*) แผนกวิเคราะห์ข้อมูล ฝ่ายบริการข้อมูลและสารสนเทศ สถาบันอาหาร โทร. 02 886 8088, กรุงเทพฯ.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2543. **จุลชีววิทยาทั่วไป** ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ ม.บูรพา,

วราวุฒิ ครูส่ง เทคโนโลยีชีวภาพ ภาค วิชา เทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีการเกษตร ม.พระจอมเกล้าเจ้าคุณลาดกระบัง.

ปราณี อ่านเปรื่อง. 2543. **เอนไซม์ทางอาหาร**. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ประโยชน์จากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร [online].เข้าถึงได้จาก :

http://www.dede.go.th/dede/index.php?id=437

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

ปียะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์. 2543. GMOs ฉบับผู้ประกอบการ. การสัมมนามาตรการและข้อกำหนดเกี่ยวกับ**การควบคุมคุณภาพและความปลอดภัยของอาหารของประเทศในทวีปยุโรป** ระหว่างวันที่ 14-15 มีนาคม 2543 ณ ห้องประชุมใหญ่ สถาบันฝึกอบรมการค้าระหว่างประเทศ กรมส่งเสริมการส่งออก.

ปียะศักดิ์ ชอุ่มพฤกษ์. 2543. **การสร้างสิ่งมีชีวิตดัดแปลงพันธุกรรมและประเด็นปัญหา.** เอกสารประกอบการประชุมสัมมนางานสัปดาห์วิทยาศาสตร์แห่งชาติ 16 สิงหาคม 2543 ณ มหาวิทยาลั

ปียะศักดิ์ ชอุ่มพ **ำนอาหารและ**

การบริโภค. **ลัย.**

รุจิกาญจน์ นาส **นที่เกี่ยวข้องจาก**

แบคทีเรียใน

สุฤทัย ล้ำประเ **เสลายเซลลูโลส,**

สถาบันเทค

AOAC (Associ **างการ) :**

สมาคมซึ่งมี **รฐานของการ**

วิเคราะห์ใน **gyi-Nelson**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อและสารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Nutrient agar (NA)

beef extract	3.0	กรัม
peptone	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

2. อาหารเลี้ยงเ

beef extr	.0	กรัม
peptone	.0	กรัม
Agar	5.0	กรัม
น้ำกลั่น		ลิตร

3. อาหารเหลว

NH_4H_2PC	.0	กรัม
KH_2PO_4	.6	กรัม
K_2HPO_4	.4	กรัม
$MgSO_4.7I$	.5	กรัม
Yeast extr	.0	กรัม
CMC	5.0	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

4. Tris HCl buffer

นำสารละลาย Tris (hydroxymethyl) aminomethane 0.1 M และ HCl 0.1 M ผสมกันจนได้ค่า pH เท่ากับ 7.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์เซลลูโลส

1. เตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคส

1.1 ชั่งกลูโคส 0.010 กรัม

1.2 นำกลูโคสไปอบที่ 200 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง

1.3 นำกลูโคสที่ได้จากข้อ 1.2 มาผสมกับน้ำ 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

1.4 ดูดกลูโคสจากข้อ 1.3 ใส่หลอดทดลองในปริมาณ 0 2.5 5.0 7.5 และ10 มิลลิลิตร ตามลำดับ และ ในหลอดทดลอง ตามลำดับ ดังตา

ความเข้มข้นกลูโคส (ml)					10
น้ำกลั่น (ml)					0

1.5 ปิเปต ลงในหลอดทดลอง เติมน้ำยา Samogyi 1 มิลลิ

1.6 นำมาเติ มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน แล้วนำไปวั ใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

1.7 นำค่าที่ได้ เขียนกราฟมาตราฐานกลูโคส

2. การวิเคราะห์เอนไซม์เซลลูโลส

เติมสารละลายเอนไซม์ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย CMC ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ที่ละลายในบัฟเฟอร์ Tris-HCl pH 7.5 ความเข้มข้น 50 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปบ่มในอ่างที่มีอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที แล้วนำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที เพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำมาหาน้ำตาลรีดิวซ์ในรูปน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นตามวิธีของ Samogyi method (AOAC) และสำหรับหลอดควบคุมใช้สารละลายเอนไซม์

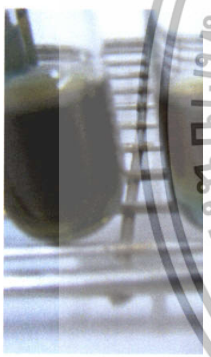
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

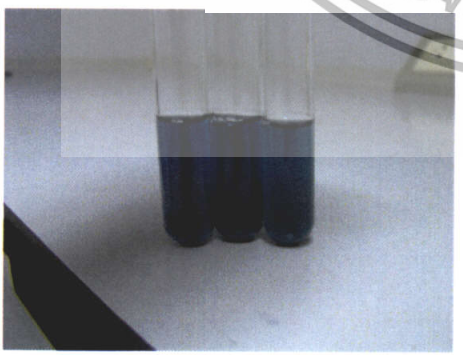
ซึ่งนำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที ในการหากิจกรรมของเอนไซม์นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณเอนไซม์

โดยกำหนดให้ 1 หน่วยของเอนไซม์เท่ากับปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสารตั้งต้นได้เป็นกลูโคส 1 ไมโครโมล ต่อนาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้กลูโคสเป็นสารมาตราฐานในการเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้น

การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส

ปิเปตตัวอย่างน้ำหมักที่เก็บไว้ 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองเติมน้ำยา Samogyi 1 มิลลิลิตร นำไปต้ on 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้ แสงที่ 520 นา โนเมตร โดยเปรีย ของน้ำตาลใน ตัวอย่างจากกราฟ





ค ง

ภาพภาคผนวกที่ 1 ข ขั้นตอนการวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก ตัวอย่างน้ำหมัก 0.5 มิลลิลิตร และน้ำยา Samogyi 1 มิลลิลิตร

ข ต้มในน้ำเดือด 15 นาที

ค เติมน้ำยา Nelson 1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่น 2 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน

ง วัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร

การเตรียม reaget

- <u>การเตรียม Samogyi</u>

1. $CuSo_4.5H_2O$ 10 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร

2. ชั่ง Na_2H ium Tartate 120 กรัม คนให้ละล a_2SO_4 anhydrous 120 กรัม เมื่อละ วัน ถ้ามีตะกอน ให้กรองด้วยกร

3. ผสมข้อ

- <u>การเตรียม</u>

1. ละลาย น 450 มิลลิลิตร เติม H_2SO_4 21 มิ

2. ละลาย มิลลิลิตร ผสม สารละลายข้อ 1 แวลา 2 วัน แล้ว นำมาเก็บไว้ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

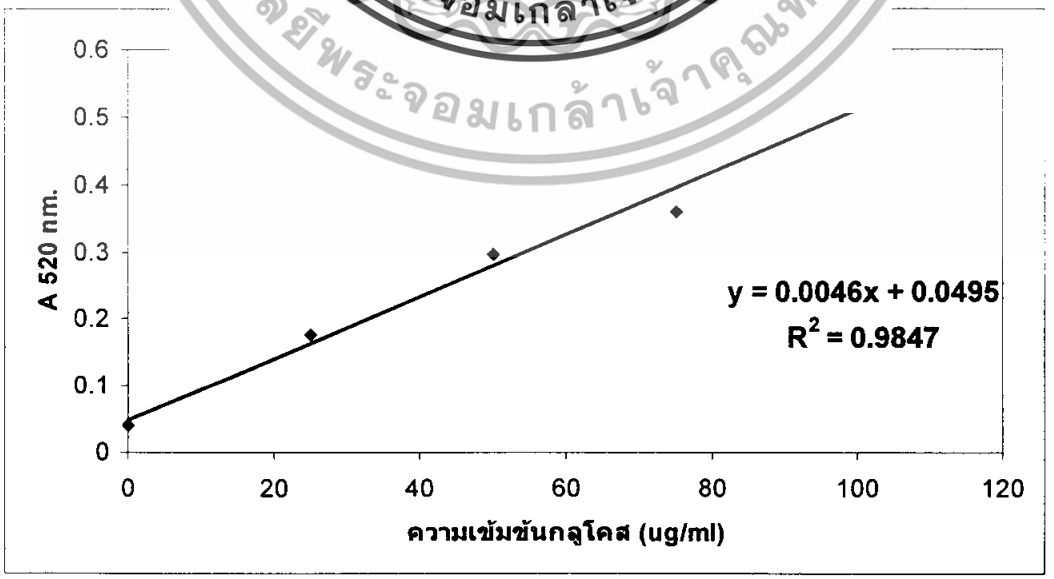
ภาคผนวก ค

กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ตารางภาคผนวกที่ 1ค ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรของสารละลายน้ำตาลกลูโคส

ความเข้มข้นกลูโคส (ไมโครกรัม/มิล	ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นที่ 520 นาโนเมตร			ลี่ย
				065
				96
				96
				91
				335

กราฟ ลิตร)

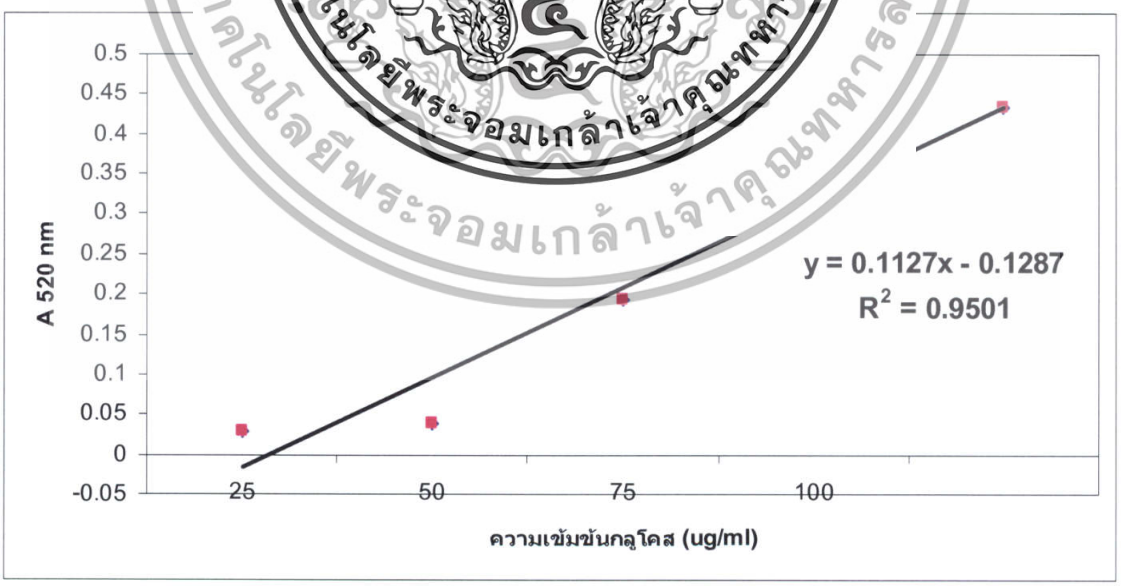


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2ค ค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตรของสารละลายน้ำตาลกลูโคส

ความเข้มข้นกลูโคส (ไมโครกรัม/มิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงความยาวคลื่นที่ 520 นาโนเมตร		
	1	2	เฉลี่ย
0	0.034	0.043	0.0385
			75
			3
			55
1			25

กราฟค [illegible] ตร)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การคำนวณหาปริมาณน้ำตาล

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณกลูโคสเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB(การทดลองครั้งที่ 2)

จากกราฟมาตรฐานกลูโคสได้สมการ คือ Y = 0.0046X + 0.0495

$$X = \frac{Y - 0.00495}{0.0046}$$

$$X = \frac{0.294 - 0.00495}{0.0046}$$

Dilution factor = (

X คือ ปริมาณกลูโ

ดังนั้นปริมาณกลูโ g / *ml*

การคำนวณกิจกร

ตัวอย่างคำนวณ ur

1 unit enzyme =

=

=

ถ้า 0.180 มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกปล่อยออกมาใน 1 นาที = 1 unit enzyme

1.000 มิลลิกรัมกลูโคสที่ถูกปล่อยออกมาใน 30 นาที = $\frac{1 \times 30}{0.180}$ unit enzyme

= 0.185 unit enzyme

ตัวอย่างการคำนวณ หากิจกรรมของเอนไซม์เชื้อ *Bacillus* sp. strain 8 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ NB(การทดลองครั้งที่ 2)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟมาตรฐานกลูโคสได้สมการ คือ Y = 0.1127X - 0.1287

$$X = \frac{Y + 0.1287}{0.1127}$$

$$X = \frac{0.280 + 0.1287}{0.1127}$$

$$X = 3.626$$

Dilution factor = No dilute

X คือ ปริมาณกลูโคสที่ได้ในเวลา 30 นาที

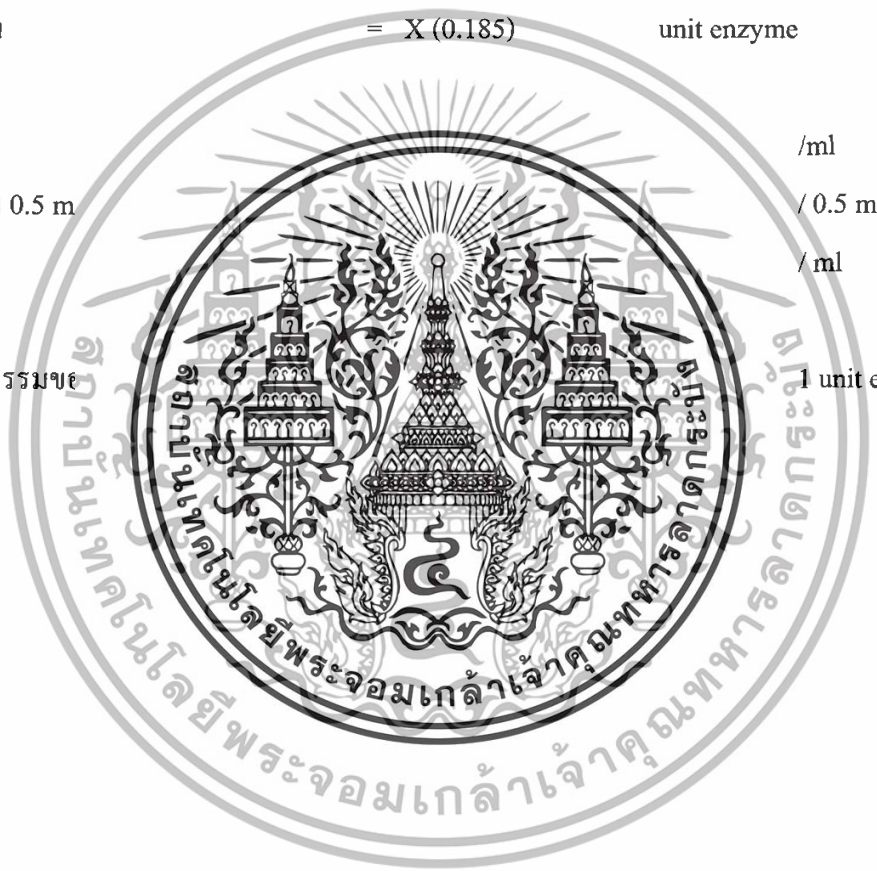
∴ แทนค่า = X (0.185) unit enzyme

/ml

ใช้ตัวอย่าง 0.5 m / 0.5 ml

/ ml

ดังนั้นกิจกรรมข 1 unit enzyme/ ml



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ตารางภาคผนวกที่ 1ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8 จาก แหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB เพื่อศึกษาปริมาณกลูโคส($\mu g / ml$) จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ปริมาณกลูโคสที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
				เฉลี่ย
0	20			66.620
	40			116.049
	60			58.808
24	20			141.007
	40			186.272
	60			295.319
48	20			123.153
	40			263.001
	60			235.536
72	20			103.225
	40	175.000	97.826	114.500
	60	264.285	184.782	224.533

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 2ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB เพื่อ ศึกษาหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	8.491	0.165	4.328
	40	9.481	1.934	5.707
	60			1.853
24	20			19.035
	40			1.834
	60			3.278
48	20			4.2085
	40			2.356
	60			2.495
72	20			3.404
	40			0.650
	60			2.057

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 3ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว CMC เพื่อศึกษาปริมาณกลูโคส($\mu g / ml$) จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ปริมาณกลูโคสที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่1	การทดลองครั้งที่2	เฉลี่ย
0	20	77.589	183.695	130.642
	40	84.910	618.478	351.694
	60			401.368
24	20			435.344
	40			557.608
	60			867.311
48	20			617.231
	40			768.707
	60			819.794
72	20			453.551
	40			730.818
	60			719.522

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 4ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 8 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว CMC ศึกษาหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	4.955	1.364	3.159
	40	1.321	1.787	1.554
	60			3.089
24	20			4.195
	40			16.066
	60			16.417
48	20			9.092
	40			27.760
	60			4.628
72	20			3.384
	40			17.345
	60			4.352

<u>หมายเหตุ</u> ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 5ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17 จาก แหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB เพื่อศึกษาปริมาณกลูโคส($\mu g / ml$) จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ปริมาณกลูโคสที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	68.035	4.766	36.400
	40			33.693
	60			41.345
24	20			45.801
	40			45.677
	60			98.924
48	20			57.751
	40			66.457
	60			78.394
72	20			51.256
	40			62.250
	60			80.102

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 6ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB ศึกษาหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	12.751	5.371	9.061
	40			7.464
	60			8.210
24	20			7.448
	40			14.848
	60			24.424
48	20			19.483
	40			63.889
	60			3.588
72	20			2.306
	40			14.254
	60			4.045

<u>หมายเหตุ</u> ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 7ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว CMC เพื่อศึกษาปริมาณกลูโคส($\mu g / ml$) จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ปริมาณกลูโคสที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	77.678	15.856	46.767
	40	67.500	15.412	41.456
	60			51.614
24	20			53.812
	40			74.054
	60			132.062
48	20			61.906
	40			55.107
	60			61.504
72	20			133.463
	40			85.681
	60			57.886

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 8ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Bacillus* sp. strain 17 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว CMC ศึกษาหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	43.38	1.669	22.524
	40	39.050	1.418	20.234
	60			26.626
24	20			20.301
	40			16.866
	60			25.054
48	20			26.676
	40			3.222
	60			6.881
72	20			80.645
	40			6.393
	60			3.633

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
เทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 9ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Leifsonia* sp. Strain 43 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB เพื่อศึกษาปริมาณกลูโคส($\mu g / ml$) จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ปริมาณกลูโคสที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	124.107	21.460	72.783
	40			69.582
	60			79.192
24	20			98.893
	40			194.317
	60			149.437
48	20			139.517
	40			142.637
	60			282.160
72	20			80.959
	40			162.172
	60			195.015

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 10ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Leifsonia* sp.strain 43 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB เพื่อศึกษาหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	14.860	3.060	8.975
	40			2.054
	60			5.596
24	20			13.923
	40			16.583
	60			8.750
48	20			11.582
	40			10.285
	60			24.572
72	20			0.879
	40			8.168
	60			13.568

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 11ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่520 nm. ของเชื้อ *Leifsonia* sp. strain 43 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว CMCเพื่อศึกษาปริมาณกลูโคส($\mu g / ml$) จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ปริมาณกลูโคสที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	141.964	12.710	77.337
	40			61.325
	60			84.797
24	20			416.093
	40			252.177
	60			468.078
48	20			227.370
	40			381.083
	60			584.171
72	20			102.997
	40			287.589
	60			360.869

หมายเหตุ ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 12ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของเชื้อ *Leifsonia* sp. strain 43 จากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว CMC เพื่อศึกษาหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร		
		การทดลองครั้งที่ 1	การทดลองครั้งที่ 2	เฉลี่ย
0	20	7.930	0.591	4.260
	40			11.943
	60			1.939
24	20			24.432
	40			21.437
	60			8.485
48	20			20.732
	40			20.116
	60			18.958
72	20			7.227
	40			8.746
	60			19.081

<u>หมายเหตุ</u> ใบไม้แห้งที่นำมาทำการทดลองในครั้งที่ 1 และ 2 มีความแตกต่างกันคือ ใบไม้แห้งในการทดลองครั้งที่ 1 มีความสกปรกและมีความชื้นมากกว่าใบไม้แห้งที่ใช้ในการทดลองครั้งที่ 2 ซึ่งมีความสะอาดและแห้งมากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 13ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของน้ำหมักที่ไม่ใส่เชื้อเพิ่มจากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB และ CMC เพื่อศึกษาหาปริมาณกลูโคส ($\mu g / ml$) จากการย่อยสลายเซลลูโลส

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ปริมาณกลูโคสที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร	
		อาหารเหลว NB	อาหารเหลว CMC
0	20	8.750	22.678
			596
			542
24			714
			410
			964
48			017
			507
			107
72			482
			732
			535

หมายเหตุ ใบไม้แห้งมีความชื้นและความสกปรกค่อนข้างมาก ดังนั้นเมื่อไม่มีการใส่เชื้อเพิ่มในการย่อยสลาย ใบไม้แห้งจึงสามารถมีค่ากิจกรรมในการย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ 14ง ผลการวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 520 nm. ของน้ำหมักที่ไม่ใส่เชื้อเพิ่มจากแหล่งใบไม้แห้งในอาหารเหลว NB และ CMC เพื่อศึกษาหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์ เซลลูโลส (หน่วยต่อมิลลิลิตร)

ชั่วโมงที่	ใบไม้ (กรัม)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ที่ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร	
		อาหารเหลว NB	อาหารเหลว CMC
0	20	11.464	5.746
	40	42.312	4.356
			562
24			645
			860
			227
48			935
			080
			712
72			625
			511
			581

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หมายเหตุ ใบไม้แห้งมีความชื้นและความสกปรกค่อนข้างมาก ดังนั้นเมื่อไม่มีการใส่เชื้อเพิ่มในการย่อยสลาย ใบไม้แห้งจึงสามารถมีค่ากิจกรรมในการย่อยสลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นางสาวนันท์นภัส แก้วทิพย์กิจ

- เกิดวันที่ 5 พฤษภาคม พ.ศ. 2529
- สำเร็จการศึกษาชั้นประถมศึกษาจากโรงเรียนอนุสาสน์วิทยา พ.ศ. 2540
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาจากโรงเรียนนวมินทราชินูทิศสวนกุหลาบวิทยาลัย สมุทรปราการ พ.ศ. 2546
- จบการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ) คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเ

นายสรุจน์ วีรวัต

- เกิดวันที่ 5
- สำเร็จการศึ กษาพัฒนาการ พ.ศ. 2540
- สำเร็จการศึ ษาพัฒนาการ พ.ศ. 2546
- จบการศึกษ ทคโนโลยีพระจอมเกล้าเ

นางสาวสุพัชชา

- เกิดวันที่ 2
- สำเร็จการศึ
- สำเร็จการศึกษาชั้นมัธยมศึกษาจากโรงเรียนนวมินทราชินูทิศสวนกุหลาบวิทยาลัย สมุทรปราการ พ.ศ. 2546
- จบการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (วท.บ) คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง พ.ศ.2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้