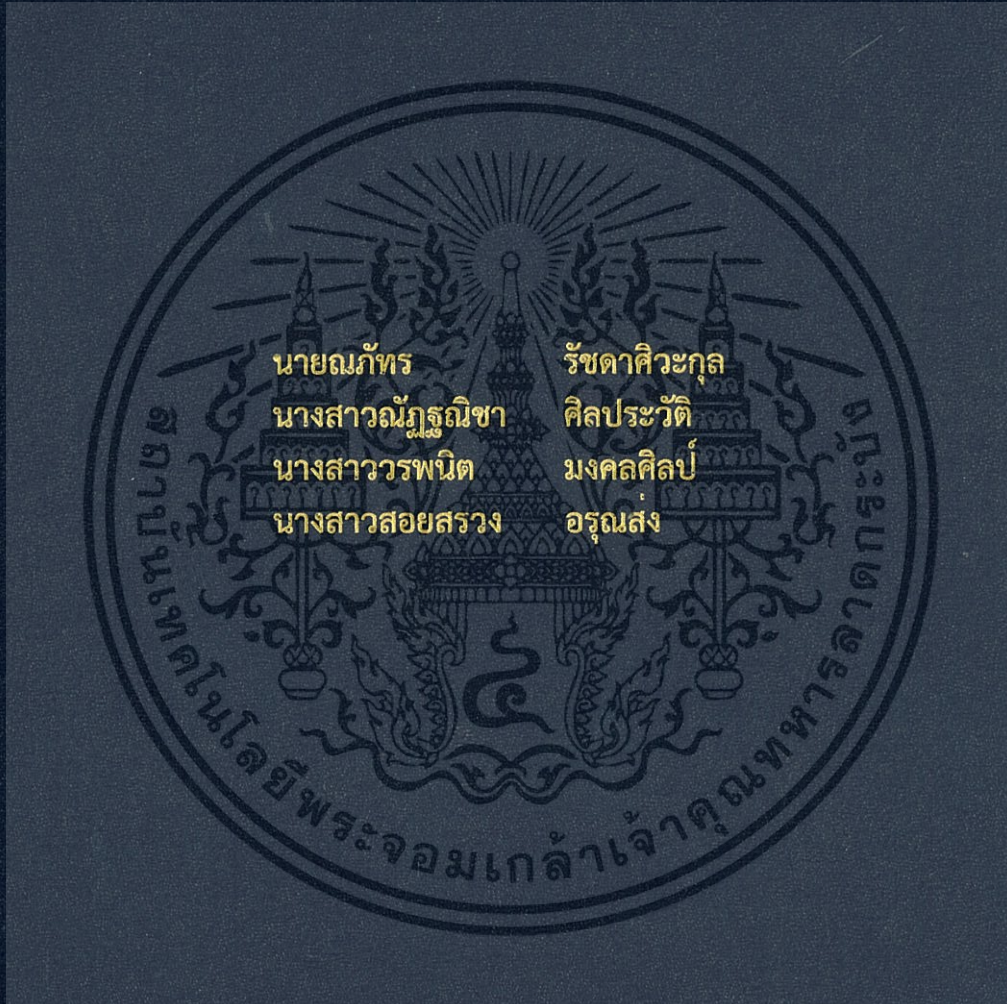


ผลของการเติมรำข้าวสาลีและการเติมอากาศต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเชื้อ  
*Trichoderma reesei* จากกากมะพร้าวในถังหมักแบบหมุน

Effects of wheat bran supplementary and aeration on cellulase production  
of *Trichoderma reesei* on copra waste in rotary fermentor



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต  
สาขาวิศวกรรมอาหาร  
คณะวิศวกรรมศาสตร์  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
ปีการศึกษา 2560

ผลของการเติมรำข้าวสาลีและการเติมอากาศต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเชื้อ  
*Trichoderma reesei* จากกากมะพร้าวในถังหมักแบบหมุน

Effects of wheat bran supplementary and aeration on cellulase production  
of *Trichoderma reesei* on copra waste in rotary fermentor



ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต

สาขาวิศวกรรมอาหาร

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECTS OF WHEAT BRAN SUPPLEMENTARY AND AERATION ON  
CELLULASE PRODUCTION OF *TRICHODERMA REESEI* ON COPRA WASTE  
IN ROTARY FERMENTOR



THIS THESIS IS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT  
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF  
BACHELOR OF ENGINEERING IN FOOD ENGINEERING  
FACULTY OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญาโทปีการศึกษา 2560

สาขาวิศวกรรมอาหาร

คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เรื่อง ผลของการเติมรำข้าวสาลีและการเติมอากาศต่อการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ

*Trichoderma reesei* จากกากมะพร้าวในถังหมักแบบหมุน

Effects of wheat bran supplementary and aeration on cellulase production of *Trichoderma reesei* on copra waste in rotary fermentor

ผู้จัดทำ

- |                    |              |          |
|--------------------|--------------|----------|
| 1. นายณภัทร        | รัชดาศิวะกุล | 57010372 |
| 2. นางสาวณัฐธินิชา | ศิลาประวัตี  | 57010399 |
| 3. นางสาวรพินิต    | มงคลศิลป์    | 57011103 |
| 4. นางสาวสอยสรวง   | อรุณสง       | 57011331 |



(ผศ.ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ)

อาจารย์ที่ปรึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์เรื่อง	ผลของการเติมรำข้าวสาลีและการเติมอากาศต่อการผลิตเซลลูเลสโดยเชื้อ <i>Trichoderma reesei</i> จากกากมะพร้าวในถังหมักแบบหมุน		
โดย	1. นายณภัทร	รัชดาศิวะกุล	57010372
	2. นางสาวณัฐธนิชา	ศิลประวัตติ	57010399
	3. นางสาวรพนิต	มงคลศิลป์	57011103
	4. นางสาวสอยสรวง	อรุณสง	57011331
ปริญญานิพนธ์	วิศวกรรมศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมอาหาร ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง		
ปีการศึกษา	2560		
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ		

### บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาผลของการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* โดยใช้กากมะพร้าวเป็นซับสเตรทในถังหมักแบบหมุนขนาด 30 ลิตร ซึ่งทำการศึกษาการเติมรำข้าวสาลีในกากมะพร้าวที่อัตราส่วน (กากมะพร้าว:รำข้าวสาลี) 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 (โดยปริมาตร) และอัตราการเติมอากาศที่ 0.5 1.0 และ 1.5 ลิตรต่อลิตรของซับสเตรทต่อนาที (vvm) การหมักแบบอาหารแข็ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และความชื้นสัมพัทธ์ภายในถังที่ร้อยละ 90 พบว่า อัตราการผลิตสูงสุดของเอนไซม์ FPase CMCase และ  $\beta$ -glucosidase เท่ากับ 3.39 4.98 และ 65.72 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ตามลำดับ และมีอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อราสูงสุด 0.95 ต่อวัน นอกจากนี้ยังศึกษาความสัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสกับไซแลนเนส พบว่า สภาวะที่อัตราการผลิตเอนไซม์ FPase สูงที่สุด จะส่งผลให้อัตราการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสสูงที่สุดด้วยเช่นกัน และการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase และไซแลนเนสมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทิศทางเดียวกัน การวิเคราะห์ทางสถิติแสดงให้เห็นว่าการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศมีอิทธิพลร่วมกันต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส และอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ )

คำสำคัญ: *Trichoderma reesei*, การหมักแบบอาหารแข็ง, ถังหมักแบบหมุน, เอนไซม์เซลลูเลส, กากมะพร้าว

<b>Thesis Title</b>	Effects of wheat bran supplementary and aeration on cellulase production of <i>Trichoderma reesei</i> on copra waste in rotary fermentor		
<b>Students</b>	Mr. Napat	Ratchadasiwaguen	57010372
	Miss Nattanicha	Sinprawat	57010399
	Miss Worrapanit	Mongkonsin	57011103
	Miss Soysruang	Aroonsong	57011331
<b>Thesis for</b>	Bachelor's Degree of Food Engineering Department of Food Engineering Faculty of Engineering King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang		
<b>Academic Year</b>	2017		
<b>Advisor</b>	Asst.Prof.Dr.Teerin Chysirichote		

### Abstract

This research aims to study the effects of wheat bran (WB) supplementary and aeration rate on cellulase production of *Trichoderma reesei* using copra waste (CW) as substrate. The solid state fermentation (SSF) of copra waste supplemented with wheat bran at the ratio (CW: WB) of 3:0, 3:1, 3:2 and 3:3 were conducted in 30-L rotary fermentor. The aeration was applied to the fermentor at 0.5, 1.0 and 1.5 vvm. During the SSF, the incubation temperature and humidity were controlled at 30°C and 90 %, respectively. The highest specific growth rate was 0.95 /d. The highest production rates of FPase, CMCase and  $\beta$ -glucosidase were 3.39, 4.98 and 65.72 U/gds/d, respectively. In addition, the relationship of cellulase and xylanase production was investigated and found that the condition enhancing the FPase production also enhanced the production of xylanase; however, the tend of xylanase production was similar to that of  $\beta$ -glucosidase. The statistical analysis showed that the production of FPase, CMCase and  $\beta$ -glucosidase were affected by CW:WB ratio x aeration rate ( $P < 0.05$ ).

**Keywords:** *Trichoderma reesei*, Solid state fermentation, Rotary fermentor, Cellulase, Copra waste

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

ปริญญาานิพนธ์เล่มนี้สามารถลุล่วงไปด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณา ดูแลเอาใจใส่จาก ผศ.ดร.ธีรินทร์ ฉายศิริโชติ อาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาานิพนธ์ ที่ได้สละเวลาที่มีค่าในการให้คำปรึกษา ตรวจสอบแก้ไขความเรียบร้อย ติดตามความก้าวหน้าในการดำเนินการรวมทั้งคำแนะนำทางวิชาการที่ดีเสมอมา ตลอดจนประสบการณ์อันมีค่าของท่านเพื่อนำมาใช้เป็นแนวทางในการเขียนปริญญาานิพนธ์เล่มนี้ จนกระทั่งโครงการวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณอาจารย์ประจำภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ทุกท่านสำหรับคำชี้แนะแนวทางความคิดต่างๆ ตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบคุณ คุณอำนาจ คุณตะคุ (พี่แมน) คุณบุญนำ ผลโพธิ์ (พี่บุญนำ) คุณวรภรณ์ มาไพศาลทรัพย์ (พี่นุ้ย) และคุณสุธัญญา ถาดนาค (พี่โอ) เจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการและธุรการภาควิชาวิศวกรรมอาหารทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในการยืมอุปกรณ์และห้องปฏิบัติการ

ขอบคุณเพื่อนพ้องน้องพี่ นักศึกษาวิศวกรรมอาหารทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือรวมถึงคอยให้กำลังใจในการทำปริญญาานิพนธ์เล่มนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบพระคุณบิดา มารดา ที่สนับสนุนด้านการเรียน คอยให้ความช่วยเหลือและคอยให้กำลังใจผู้วิจัยเสมอมาจนสำเร็จการศึกษา

คณะผู้วิจัย

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	i
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ii
กิตติกรรมประกาศ	iii
สารบัญ	iv
สารบัญตาราง	viii
สารบัญรูปภาพ	x
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ	1
1.2 จุดประสงค์โครงการ	2
1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ	2
1.4 ขอบเขตงานวิจัย	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	4
2.1 การใช้วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นชั้นสเตรทสำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง	4
2.1.1 เซลลูโลส	5
2.1.2 เฮมิเซลลูโลส	6
2.1.3 ลิกนิน	7
2.1.4 การปรับสภาพของเส้นทางการเกษตร	7
2.2 กากมะพร้าว	8
2.3 รำข้าวสาลี	9
2.4 เซลลูเลส	9
2.5 ไซแลนเนส	10
2.6 การหมักแบบอาหารแข็ง	10
2.6.1 เปรียบเทียบระหว่างการหมักแบบอาหารแข็งและการหมักแบบอาหารเหลว	11
2.6.2 ถังหมักสำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง	11
2.6.2.1 ถังหมักแบบถาด	11
2.6.2.2 ถังหมักแบบหมุน	12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.6.2.3 ถังหมักแบบแพคเบต	13
2.6.2.4 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบต	14
2.6.2.5 ถังหมักแบบกวน	15
2.6.3 จุลินทรีย์และปัจจัยที่มีผลต่อการหมักแบบอาหารแข็ง	15
2.6.3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง	15
2.6.3.2 ความชื้นและน้ำอิสระ	16
2.6.3.3 อุณหภูมิ	16
2.6.3.4 pH	16
2.6.3.5 ชั้สเตรท	16
2.6.3.6 ขนาดอนุภาค	16
2.6.3.7 การเติมอากาศและการกวน	17
2.6.3.8 สารอาหาร	17
2.7 เชื้อรา <i>Trichoderma reesei</i>	17
2.7.1 การเจริญของเชื้อรา	18
2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
<b>บทที่ 3 วัสดุและวิธีการ</b>	<b>22</b>
3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ	22
3.1.1 อุปกรณ์สำหรับการปรับปรุงถังหมัก	22
3.1.2 อุปกรณ์สำหรับเตรียมชั้สเตรท	22
3.1.3 อุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา	22
3.1.4 อุปกรณ์สำหรับการหมัก	23
3.1.5 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ผลกระทดลอง	23
3.1.6 วัสดุสำหรับการหมัก	24
3.2 สารเคมี	24
3.2.1 สารเคมีสำหรับการเตรียมชั้สเตรท	24
3.2.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา	25
3.3 จุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ	25
3.3.1 เชื้อรา	25
3.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	25
3.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย	25
3.4.1 การปรับปรุงถังหมักแบบหมุน	25
3.4.2 การเตรียมเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ	25
3.4.3 การเตรียมชั้นสเตรทสำหรับการหมัก	28
3.4.4 การทดลองการหมักกากมะพร้าวและรำข้าวสาลีแบบ อาหารแข็งในถังหมักแบบหมุน	28
3.4.5 การวิเคราะห์	28
3.4.5.1 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์	28
3.4.5.1.1 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Filter paper cellulase	28
3.4.5.1.2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Carboxymethyl Cellulase	29
3.4.5.1.3 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase	29
3.4.5.1.4 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไฮเลนเนส	30
3.4.5.2 การเจริญของเชื้อรา	30
3.4.5.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ	31
บทที่ 4 ผลและวิจารณ์การทดลอง	32
4.1 การปรับปรุงถังหมักแบบหมุน	32
4.2 ผลของการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศต่อการเจริญ ของเชื้อรา <i>T. reesei</i>	32
4.2.1 อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อรา	35
4.3 ผลของการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศต่อการผลิต เอนไซม์เซลลูเลส	38
4.3.1 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Filter paper cellulase	38
4.3.2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Caboxymethyl cellulase	40
4.3.3 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase	43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
4.3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสกับ เอนไซม์ไซแลนเนส	45
4.4 การเปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสกับงานวิจัยอื่น	51
4.5 ผลของอิทธิพลร่วมของอัตราการเติมอากาศและอัตราส่วนกากมะพร้าว ต่อรำข้าวสาลีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส	51
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	53
5.1 สรุปผลการทดลอง	53
5.2 ข้อเสนอแนะ	53
บรรณานุกรม	54
ภาคผนวก	65



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1	8
2.2	9
2.3	18
3.1	27
4.1	36
4.2	37
4.3	50
4.4	52
4.5	52
ก.2.1	73
ก.2.2	74
ก.2.3	75
ก.2.4	76
ก.2.5	77
ข.3.1	85
ข.3.2	86
ข.3.3	87
ข.3.4	88
ข.3.5	89
ข.3.6	90
ข.3.7	91
ข.3.8	92

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่พิมพ์โดยศูนย์วิจัยและพัฒนาชีวเคมีและชีวเภสัชศาสตร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าพระนครเหนือ

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
ข.3.9	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm	93
ข.3.10	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm	94
ข.3.11	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm	95
ข.3.12	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm	96
ข.3.13	ปริมาณกลูโคซามีน ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm	97
ข.3.14	ปริมาณกลูโคซามีน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm	98
ข.3.15	ปริมาณกลูโคซามีน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm	99
ข.4.1	องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี	101
ค.3.1	ข้อสเตรทตัวอย่างที่ทำการหมักในแต่ละวัน ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm	110
ค.3.2	ข้อสเตรทตัวอย่างที่ทำการหมักในแต่ละวัน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm	111
ค.3.3	ข้อสเตรทตัวอย่างที่ทำการหมักในแต่ละวัน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm	112

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูปร่างภาพ

รูปที่		หน้า
2.1	ลิกโนเซลลูโลส	4
2.2	โครงสร้างของเซลลูโลส	5
2.3	โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส	6
2.4	โครงสร้างของลิกนิน	7
2.5	การทำงานของไซแลนเนส	10
2.6	ถังหมักแบบถาด	12
2.7	ถังหมักแบบหมุน	13
2.8	ถังหมักแบบแพคเบด	14
2.9	ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด	14
2.10	ถังหมักแบบกวน	15
2.11	วงจรการเจริญของเชื้อรา	19
3.1	ชุดถังหมักแบบหมุน (ก) ถังหมักของกฤตนันท์และคณะ (2559) (ข) ถังหมักหลังทำการปรับปรุง	26
3.2	การทำฝาปิดถังหมักด้านในโดยมีช่องสำหรับเติมอากาศ	27
4.1	ผลของอัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm และ อัตราการเติมรำข้าวสาลี ต่อการเจริญของ เชื้อรา <i>T. reesei</i>	33
4.2	ผลของอัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm และ อัตราการเติมรำข้าวสาลี ต่อการเจริญของเชื้อรา <i>T. reesei</i>	34
4.3	ผลของอัตราการเติม 1.5 vvm และอัตราการเติมรำข้าวสาลีต่อ การเจริญของเชื้อรา <i>T. reesei</i>	35
4.4	อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมักที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm	38
4.5	ผลของอัตราการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศ (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vmm และ (ค) 1.5 vvm ต่อการผลิตเอนไซม์ FPase	46
4.6	ผลของอัตราการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศ (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vmm และ (ค) 1.5 vvm ต่อการผลิตเอนไซม์ CMCase	47
4.7	ผลของอัตราการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศ (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vmm และ (ค) 1.5 vvm ต่อการผลิตเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase	48
4.8	ผลของอัตราการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศ (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vmm และ (ค) 1.5 vvm ต่อการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส	49
ก.2.1	สารมาตรฐาน D-glucosamine hydrochloride	73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
ก.2.2 สารมาตรฐาน D-glucose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร)	74
ก.2.3 สารมาตรฐาน D-glucose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร)	75
ก.2.4 สารมาตรฐาน D-xylose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร)	76
ก.2.5 สารมาตรฐาน D-xylose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร)	77
ข.1.1 อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมักที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm	79
ข.1.2 อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมักที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm	79
ข.1.3 อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมักที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm	80
ข.2.1 ความชื้นของซบสเตรระหว่างการผลิตที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm	82
ข.2.2 ความชื้นของซบสเตรระหว่างการผลิตที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm	82
ข.2.3 ความชื้นของซบสเตรระหว่างการผลิตที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm	83
ค.1.1 ถังหมักชั้นนอก	103
ค.1.2 (ก) ถังหมักชั้นใน (ข) ช่องเก็บตัวอย่าง	103
ค.1.3 (ก) ฝาถังชั้นนอก (ข) ช่องเก็บตัวอย่าง	104
ค.1.4 (ก) มอเตอร์ (ข) ตัวปรับความเร็วรอบ	104
ค.1.5 (ก) ถังใส่น้ำ (ข) เครื่องสร้างหมอก	105
ค.1.6 (ก) ชุดควบคุมความชื้น (ข) เซนเซอร์วัดความชื้น	105
ค.1.7 (ก) บีมลัม (ข) ตาข่ายไฟเบอร์	106
ค.1.8 ชุดถังหมักแบบหมุนหลังการปรับปรุง	106
ค.2.1 เชื้อรา <i>Trichoderma reesei</i>	108
ค.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ	108

# บทที่ 1

## บทนำ

### 1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการ

กากมะพร้าว (Copra waste) ที่สกัดน้ำมันและคั้นน้ำกะทิออกแล้ว เป็นส่วนเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมน้ำมันมะพร้าวและอุตสาหกรรมกะทิ ตามลำดับ (Austin และคณะ, 2001) ซึ่งโดยทั่วไปกากมะพร้าวมีประโยชน์อยู่อย่างจำกัดแค่เพียงใช้เป็นปุ๋ยหรืออาหารสัตว์ (สิริมา, 2558) และมีส่วนถูกทิ้งให้เน่าเสียเป็นจำนวนมาก เนื่องจากกากมะพร้าวยังมีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลัก จึงเหมาะสำหรับนำมาใช้เป็นซับสเตรทสำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง (solid state fermentation; SSF) ซึ่งเป็นการหมักที่ใช้ต้นทุนต่ำ (Sindhu และคณะ, 2015) ทำให้สามารถช่วยลดปริมาณขยะและสร้างมูลค่าเพิ่มให้แก่วัสดุเหลือใช้ การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสามารถผลิตได้โดยจุลินทรีย์ต่าง ๆ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย (Liu และคณะ, 2012) โดยพบว่ามีเชื้อราหลายชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ เช่น *Aspergillus flavus* (Utharalakshmi และคณะ, 2015) *Aspergillus niger* (Salihu และคณะ, 2015) และ *Trichoderma reesei* (Ahamed และคณะ, 2008) เป็นต้น

เชื้อรา *Trichoderma reesei* เป็นหนึ่งในเชื้อราที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเซลลูเลสเจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophile) 25-35 องศาเซลเซียส มีลักษณะเป็นเส้นใย ต้องการอากาศในการหายใจ (aerobic) สามารถปรับตัวกับสภาพแวดล้อมที่อาหารไม่อำนวยได้ (de Oliveira และคณะ, 2016) *T. reesei* มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในปริมาณมาก จะถูกนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในเชิงพาณิชย์ อุตสาหกรรม และในด้านการเกษตรนำเชื้อรามานำมาใช้ในกระบวนการย่อยสลายซากพืช เนื่องจากวัสดุหมักส่วนใหญ่มีเซลลูโลส (cellulose) และไซแลน (xylan) เป็นองค์ประกอบหลักที่พบมากในพืช ส่วนใหญ่สะสมอยู่ที่ผนังเซลล์ในพืชชั้นสูงทุกชนิด (พิมพ์ชนา และคณะ, 2559)

เอนไซม์เซลลูเลส จัดเป็นประเภท complex enzyme ประกอบไปด้วย Filter paper cellulase (FPase) Carboxymethyl Cellulase (CMCase) และ  $\beta$ -glucosidase เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อราเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสให้ได้ผลผลิตเป็นน้ำตาลกลูโคส และถูกนำมาใช้ประโยชน์อย่างแพร่หลาย โดยเฉพาะทางด้านอุตสาหกรรม ไม่ว่าจะเป็น อุตสาหกรรมผงซักฟอกอุตสาหกรรมผลิตแป้ง สิ่งทอ การผลิตกระดาษ เส้นใย อาหารสัตว์ รวมไปถึงการผลิตไบโอเอทานอล (Shuhei และคณะ, 2010) เอนไซม์เซลลูเลสถือว่ามีความสำคัญและมีส่วนช่วยในการลดปริมาณของเสียทางการเกษตร เป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรให้เกิดประโยชน์ทางด้านพลังงานทดแทนที่กำลังเป็นที่สนใจในปัจจุบัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักแบบอาหารแข็ง เป็นกระบวนการหมักรูปแบบหนึ่งที่อาศัยการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะเป็นของแข็งต้องการน้ำเพียงปริมาณเล็กน้อย และน้ำจะอยู่ในรูปแบบของความชื้นที่ถูกดูดซับไว้ในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Prescott และคณะ, 2004) การหมักแบบนี้เป็นการหมักที่มีประสิทธิภาพสูง สามารถทำได้ง่ายไม่ซับซ้อน ประหยัดพลังงานเชื้อจุลินทรีย์มีการเจริญอย่างรวดเร็วและได้ผลผลิตสูง (จันทร์จิรา และคณะ , 2554) วัสดุที่ใช้หมักแบบแข็งนั้นส่วนใหญ่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางเกษตร ซึ่งหาง่ายและราคาถูก เช่น ชังข้าวโพด กากมันสำปะหลัง และรำข้าว เป็นต้น (Sreenath และคณะ , 2001)

จากงานวิจัยของกฤตนันท์และคณะ (2559) พบว่าการเติมรำข้าวสาลีซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราและการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยงานวิจัยดังกล่าวนำอัตราส่วน 3:2 ซึ่งเป็นสภาวะเหมาะสมต่อการผลิตด้วย Filter paper cellulose (FPase) Carboxymethyl Cellulase (CMCase) และ  $\beta$ -glucosidase ในขวดรูปชมพู่ มาทำการทดลองหมักในถังหมักแบบหมุนเพื่อหาอัตราการเพิ่มอากาศที่เหมาะสม พบว่าที่อัตราการเพิ่มอากาศ 1 ลิตรต่อลิตรของซบสเตรทต่อนาที (vvm) เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและการเจริญของเชื้อรา ซึ่งผลของค่ากิจกรรมของเอนไซม์มีค่าน้อย เมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่น ๆ ดังนั้นผู้วิจัยจึงสนใจที่จะเพิ่มความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากงานวิจัยของกฤตนันท์และคณะ (2559) ซึ่งคาดว่าน่าจะเกิดจาก 1) กากมะพร้าวมีปริมาณน้ำมันมาก ทำให้ยับยั้งการผลิตเอนไซม์ เพราะความสามารถในการดูดซึมผ่านเซลล์ลดลง (Suha และคณะ, 1989) 2) ความชื้นของซบสเตรทระหว่างหมักลดต่ำลงมาก (ร้อยละ 24.65 ฐานเปียก) และ 3) พบเศษกากมะพร้าวหล่นจากตะแกรงถึงค่อนข้างมากอาจทำให้อุดตันทางเข้าของอากาศ นอกจากนี้ยังทำการศึกษาผลของปัจจัยร่วมระหว่างการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเพิ่มอากาศต่อการเจริญของเชื้อราและการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

## 1.2 จุดประสงค์ของโครงการ

ศึกษาผลของปัจจัยร่วมระหว่างการเพิ่มอากาศและการเพิ่มอัตราส่วนรำข้าวสาลี (แหล่งไนโตรเจน) ในกากมะพร้าวที่สกัดน้ำมันออกต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วยเชื้อ *T. reesei* และการเจริญของเชื้อราในถังหมักแบบหมุน ซึ่งสามารถควบคุมความชื้นในอากาศภายในถังได้

## 1.3 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 ทราบกระบวนการและสภาวะการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

1.3.2 ทราบเอนไซม์เซลลูเลสจากกากมะพร้าวโดยเชื้อ *T. reesei*

1.3.3 ทราบความสัมพันธ์ระหว่างอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลีและอัตราการเพิ่มอากาศต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3.4 สามารถนำข้อมูลที่ได้ไปใช้ในการออกแบบถังหมักและกระบวนการหมักที่มีขนาดใหญ่ขึ้น

## 1.4 ขอบเขตงานวิจัย

1.4.1 ปรับปรุงถังหมักแบบหมุนจากงานวิจัยของกฤตนันท์และคณะ (2559) ให้สามารถป้องกันกามะพร้าวร่วงหล่นระหว่างการผลิต กระจายอากาศได้ทั่วถึงและควบคุมความชื้นของอากาศภายในถังหมักได้

1.4.2 ขอบเขตตัวแปรที่ศึกษาเป็นดังนี้

1.4.2.1 ตัวแปรต้น

- อัตราส่วนกามะพร้าวต่อรำข้าวสาลีที่อัตราส่วน 3:0, 3:1, 3:2 และ 3:3
- อัตราการเติมอากาศ 0.5, 1.0, 1.5 vvm (vvm คือ ลิตรต่อลิตรของวัสดุหมักต่อนาที)

1.4.2.2 ตัวแปรตาม

- ค่ากิจกรรมเอนไซม์เซลลูเลส ประกอบด้วย FPase CMCase และ  $\beta$ -glucosidase
- การเจริญของเชื้อรา

1.4.2.3 ตัวแปรควบคุม

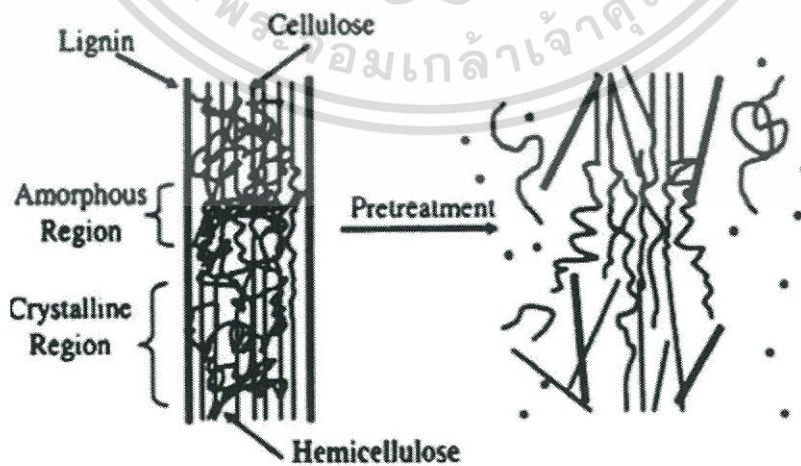
- ชนิดของเชื้อคือ *T. reesei* TISTR3080
- ปริมาณเชื้อ *T. reesei* เริ่มต้น ( $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)
- ความชื้นเริ่มต้นของซับสเตรทร้อยละ 60 (ฐานเปียก)
- ความเร็วรอบในการหมุนของถังหมัก (6 รอบต่อนาที)
- อุณหภูมิอากาศขาเข้าของถังหมัก (30 องศาเซลเซียส)
- ปริมาตรซับสเตรทแห้ง 1 ใน 3 ของปริมาตรถังทั้งหมด
- ความชื้นสัมพัทธ์ภายในถังหมักร้อยละ 90

## บทที่ 2

# ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

### 2.1 การใช้วัสดุประเภทลิกโนเซลลูโลสเป็นซับสเตรตสำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง

ลิกโนเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบของโครงสร้างที่สำคัญของพืชและเป็นแหล่งสำคัญของสารอินทรีย์ ลิกโนเซลลูโลส ประกอบด้วย ลิกนินประมาณร้อยละ 25-30 เฮมิเซลลูโลสประมาณร้อยละ 25-30 และเซลลูโลสประมาณร้อยละ 35-50 (Anwar และคณะ, 2014) จากส่วนประกอบทั้งสามส่วนลิกนินสามารถย่อยสลายได้ยากที่สุด ขณะที่เซลลูโลสย่อยสลายยากกว่าเฮมิเซลลูโลส (Zainuddin และคณะ, 2014) สมบัติทางเคมีของส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลส ทำให้สามารถใช้เป็นซับสเตรตที่มีคุณค่าทางชีวภาพได้ (Malherbe และคณะ, 2003) ลิกโนเซลลูโลสผลิตโดยสังเคราะห์แสงจากพืชโดยตรงจาก  $CO_2$  มีปริมาณรวมกันประมาณ 2 แสนล้านเมตริกตันทั่วโลก หนึ่งในอุปสรรคของการย่อยสลายลิกโนเซลลูโลสคือ อินทรินซิกที่ย่อยสลายได้ยากในอินทรีย์วัตถุ (Himmel และคณะ, 2007) เศษเหลือทิ้งของลิกโนเซลลูโลส จำนวนมากมาจากการผลิตกระดาษเยื่อ ไม้ อุตสาหกรรมไม้ และอุตสาหกรรมเกษตรหลายแห่งก่อให้เกิดปัญหามลพิษทางสิ่งแวดล้อม เศษเหลือทิ้งจากลิกโนเซลลูโลส มักถูกทิ้งโดยการเผา (Levine, 1996) อย่างไรก็ตาม เศษเหลือทิ้งของลิกโนเซลลูโลส อาจเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าเช่นแหล่งพลังงานราคาถูกสำหรับการหมัก อาหารสัตว์ เอนไซม์ ลิกโนเซลลูโลสยังมีการใช้งานที่มีนัยสำคัญในอุตสาหกรรมต่าง ๆ ทั้งอุตสาหกรรมสารเคมี เชื้อเพลิง อาหาร เบียร์ ไวน์ สิ่งทอ เยื่อกระดาษ และการเกษตร (Howard และคณะ, 2003)



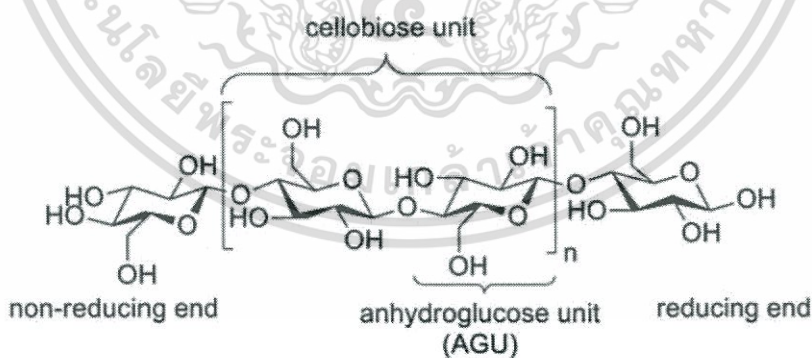
รูปที่ 2.1 ลิกโนเซลลูโลส

ที่มา : Balat (2011)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.1 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็น โพลิเมอร์เชิงเส้นประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสมาต่อกันด้วยพันธะไกลโคไซด์ิก (glycosidic bond) ที่ตำแหน่ง  $\beta$ -1,4 ส่วนใหญ่ประกอบด้วยคาร์บอนร้อยละ 44.44 ไฮโดรเจนร้อยละ 6.17 และออกซิเจนร้อยละ 49.39 สูตรทางเคมีของเซลลูโลสคือ  $(C_6H_{10}O_5)_n$ ; n คือจำนวนโดยประมาณของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่อยู่ในสายพอลิเมอร์ เซลลูโลสประกอบไปด้วยหน่วยย่อยของ D-glucose และเรียกหน่วยซ้ำของเซลลูโลสว่า cellobiose (Chen, 2014) เซลลูโลสผลิตโดยสิ่งมีชีวิตจำนวนมาก รวมทั้งแบคทีเรีย สาหร่าย พืชและสัตว์ทะเลบางชนิด แต่แหล่งที่ใหญ่ที่สุดคือผนังเซลล์ของพืชซึ่งมีเซลลูโลสประมาณ 0.12-1.4 ล้านล้านตันต่อปี (Wang และคณะ, 2016) เซลลูโลสมีความสามารถในการดูดซับ โดยกลุ่มไฮดรอกไซด์ของเซลลูโลสสามารถดึงดูดตัวทำละลายและสารละลายหลายชนิด เช่น น้ำ แต่ดูดซับได้เฉพาะส่วนที่เป็นอสัณฐานเท่านั้น ส่วนที่เป็นผลึกไม่สามารถดูดซับได้ ในกระบวนการดูดซับพันธะไฮโดรเจนของบริเวณอสัณฐานในเซลลูโลสส่วนที่แห้งจะถูกทำลาย พันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลในเซลลูโลสจะถูกแทนที่ด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลในเซลลูโลสและโมเลกุลของเหลว พันธะไฮโดรเจนระหว่างโมเลกุลเซลลูโลสและโมเลกุลของเหลวไม่สามารถทำลายได้อย่างสมบูรณ์ ของเหลวบางส่วนถูกดูดซึมไปในบริเวณอสัณฐานของเซลลูโลสและเกิดเป็นน้ำเกาะติด (bound water) ซึ่งเป็นน้ำที่จับเกาะหรือยึดอยู่กับโครงสร้างของเซลลูโลสซึ่งแยกออกได้ยาก โมเลกุลของน้ำถูกไว้ที่ไฮดรอกซิสของเซลลูโลสโดยจัดเรียงในทิศทางใดทิศทางหนึ่งมีความหนาแน่นสูงทำให้เซลลูโลสบวมและเกิดความร้อน การสลายตัวด้วยความร้อนของเซลลูโลสอยู่ในช่วงอุณหภูมิประมาณ 300-375 องศาเซลเซียส (Chen, 2014)



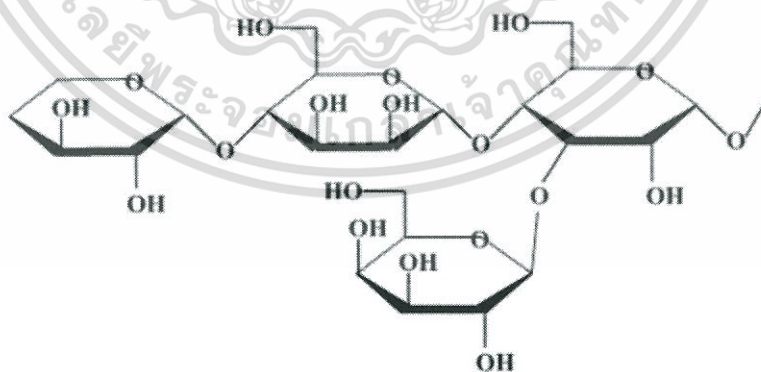
รูปที่ 2.2 โครงสร้างของเซลลูโลส

ที่มา : Olsson และคณะ (2013)

## 2.1.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose)

เฮมิเซลลูโลส เป็นโพลีแซคคาไรด์ของพืชรวมกับห่วงโซ่พื้นฐานที่มีสารตกค้างของ D-xylose, D-mannose, D-glucose หรือ D-galactose และ glycosyls อื่น ๆ โมเลกุลของเฮมิเซลลูโลสมักเป็นโพลีเมอร์ของ pentoses (xylose และ arabinose), hexoses (ส่วนใหญ่เป็น mannose) (Howard และคณะ, 2003) พบว่าเฮมิเซลลูโลส คือ กุณฺณในเมทริกซ์ของเซลล์มีส่วนประกอบหลัก คือ ไซแลน ไซลิโกลกานี กลูโคแมนแนน แมนแนน กาแล็กโทแมนแนน แคลโลส และอื่น ๆ เฮมิเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลักในเส้นใยพืช Schulz (1891) ได้ระบุว่าโพลีแซคคาไรด์ ที่มาโมเลกุลตั้งต้นของเซลลูโลสจึงตั้งชื่อส่วนประกอบนี้ว่าเฮมิเซลลูโลส นอกจากนี้เขายังพบว่าส่วนประกอบนี้ง่ายต่อการถูกไฮโดรไลซ์ไปเป็นโมโนแซคคาไรด์ในกรดอินทรีย์ร้อนหรือในสารละลาย NaOH เย็น ความเข้มข้นร้อยละ 5

- ไซแลนเฮมิเซลลูโลสในไม้ เป็นโมเลกุลของเฮมิเซลลูโลส สายโซ่ตรงเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta$ -1,4-glucosidic ในไม้เนื้ออ่อนประกอบด้วยไซแลนเฮมิเซลลูโลสที่สำคัญคือคือ 4-O-methyl-glucuronic acid arabinose-xylan โดยแทบจะไม่มี acetyl ในขณะที่ไม้เนื้อแข็งประกอบด้วยไซแลนเฮมิเซลลูโลสที่สำคัญคือ O-acetyl-L-4-O-methyl-glucuronic acid xylan
- แมนแนนเฮมิเซลลูโลส มีปริมาณมากในไม้เนื้ออ่อน พบได้บ้างในไม้เนื้อแข็งบางชนิด แต่พบได้น้อยในหญ้า โซ่หลักของ แมนแนนเฮมิเซลลูโลส ประกอบด้วยแมนโนสและกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะ  $\beta(1\rightarrow4)$  (Chen, 2014)



รูปที่ 2.3 โครงสร้างของเฮมิเซลลูโลส

ที่มา : Sajith และคณะ (2016)

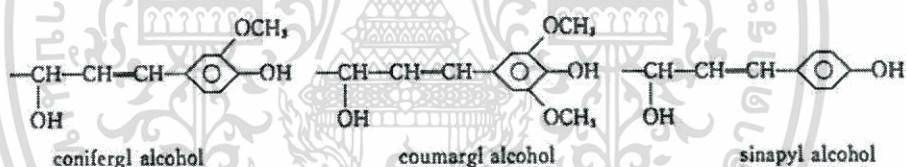
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.1.3 ลิกนิน (Lignin)

ลิกนิน เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ 3 มิติ (three-dimensional biopolymer) ประกอบด้วยหน่วยย่อยออกซิเจนเตตเฟนิลโพรเพน (oxygenated phenylpropane) เชื่อมต่อกันด้วยพันธะหลายชนิดสานต่อกันอย่างไม่มีระเบียบทำให้มีโครงสร้างที่ซับซ้อน พันธะที่พบมากที่สุดคือ  $\beta$ -O-4 นอกจากนี้ยังมีพันธะอื่น ๆ ได้แก่  $\beta$ -5 (phenylcoumaran), 5,5 (biphenyl),  $\alpha$ -O-4 (a-arylether) และ  $\beta$ -1 (diarylpropane) (Schoemaker และคณะ, 1991) ลิกนินแบ่งออกเป็น 3 ชนิดสังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาพอลิเมอร์ไรเซชัน (polymerization) ได้แก่

- 1) syringyl lignin สังเคราะห์โดย syringyl propane
- 2) guaiacyl Lignin สังเคราะห์โดย guaiacyl propane
- 3) hydroxy-phenyl lignin สังเคราะห์โดย hydroxy-phenyl propane

ลิกนินเป็นสารที่ประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจนรวมกันเป็นหน่วยย่อยหลายชนิดซึ่งเป็นสารอะโรมาติก ลิกนินไม่ละลายน้ำ ไม่มีสมบัติทางการยืดหยุ่น ในไม้และหญ้ามีส่วนประกอบของลิกนินประมาณร้อยละ 20-40 และ 15-20 ตามลำดับ (Chen, 2014) เชื้อรา *Phanerochaete chrysosporium* นิยมนำมาใช้ในกระบวนการย่อยสลายลิกนิน (Tien และคณะ, 1983)



รูปที่ 2.4 โครงสร้างของลิกนิน

ที่มา : Chen (2014)

### 2.1.4 การปรับสภาพของเหลือทางการเกษตร

การปรับสภาพของเหลือทางการเกษตรมีวัตถุประสงค์เพื่อกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลสทำให้จุลินทรีย์เข้าไปย่อยสลายเซลลูโลสได้ง่ายขึ้น

#### 1) วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)

- การใช้แรงทางกล เช่น การหั่น สับ บด เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการทำปฏิกิริยา
- การไพโรไลซิส วิธีการอบที่ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูง ให้วัตถุดิบกลายเป็นแก๊สหรือของแข็ง
- การใช้ความร้อน เป็นการปรับสภาพของวัตถุดิบเพื่อทำลายเนื้อเยื่อของเซลลูโลส (รัชพล, 2558)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2) วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment)

ทำได้โดยการใช้จุลินทรีย์ย่อยสลายลิกนิน เช่น ราผุขาว ราผุอ่อนขาว ราผุน้ำตาล ราผุอ่อนน้ำตาล โดยราผุขาวเป็นจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพมากที่สุดสำหรับลิกโน เซลลูโลส โดยจุลินทรีย์จะหลั่งเอนไซม์มาย่อยลิกนิน (Madadi และคณะ, 2017) ข้อดีของวิธีนี้คือเป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อมและประหยัดพลังงานเนื่องจากใช้อุณหภูมิต่ำและไม่จำเป็นต้องใช้สารเคมี (Panneerselvam, 2013)

## 3) วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment)

- การทำปฏิกิริยากับโอโซน (Ozonolysis) เป็นการใช้ออกซิเจนเพื่อสลายลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส ซึ่งเป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพสูง (Taherzadeh และคณะ, 2008)
- การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (Alkali pretreatment) การใช้เบส เช่น การใช้แอมโมเนียไฮดรอกไซด์เจือจางเตรียมลิกโนเซลลูโลส จะทำให้เส้นใยพองตัว เพิ่มพื้นที่ผิว ลดความเป็นผลึก สลายการเป็นโพลีเมอร์สลายโครงสร้างลิกนิน
- การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (Acid pretreatment) เป็นการใช้กรด เช่น กรดซัลฟิวริกและกรดไฮโดรคลอริก ในการเตรียมลิกโนเซลลูโลส (รัชพล, 2558)

## 2.2 กากมะพร้าว (Copra waste)

กากมะพร้าวเป็นผลพลอยได้จากการคั้นกะทิหรือสกัดน้ำมันซึ่งมีปริมาณมากและมูลค่าต่ำ โดยมะพร้าวจัดเป็นพืชเศรษฐกิจอีกชนิดหนึ่งที่มีการปลูกทั่วไปในประเทศไทย และมีการนำมาใช้ประโยชน์ทั้งในระดับอุตสาหกรรมและในระดับครัวเรือน เช่น การนำมาสกัดน้ำมันมะพร้าว คั้นกะทิ และเป็นส่วนประกอบในอาหารทั้งคาวและหวาน ส่วนของกากมะพร้าวที่เหลือจากการคั้นกะทิหรือสกัดน้ำมันมีการใช้ประโยชน์อยู่อย่างจำกัดแค่เพียงใช้เป็นปุ๋ยหรืออาหารสัตว์ (สิริมา และคณะ, 2557)

### ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าว

องค์ประกอบทางเคมี (%)	โปรตีน	ไขมัน	เซลลูโลส
กากมะพร้าว	4.2	42.6	39.36

ที่มา : Yalegama และคณะ (2013)

## 2.3 รำข้าวสาลี (Wheat Bran)

รำข้าวสาลีเป็นผลพลอยได้จากการขัดสีข้าวสาลี ปัจจุบันรำข้าวสาลีส่วนใหญ่ใช้เป็น ส่วนประกอบที่มีสารอาหารต่ำในอาหารสัตว์ รำข้าวสาลีส่วนใหญ่ประกอบด้วยแป้งอะราบินโนไซแลน เซลลูโลส เบต้า - กลูแคน โปรตีนและลิกนินและยังเป็นแหล่งที่ดีของสารอาหารและสารต้านอนุมูล อิศระที่หลากหลาย เช่น โทโคฟีรอล คาโรทีนอยด์ ฟีนอลและสารพฤกษเคมีที่มีมูลค่าเพิ่มสูงใน อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องสำอาง ดังนั้น รำข้าวสาลีจึงมีศักยภาพในการเป็นวัตถุดิบในโรงกลั่น ชีวภาพที่มีการใช้ประโยชน์จากเศษอาหารที่ไม่สามารถรับประทานได้ (ลิกนิน เซลลูโลสและ เฮมิเซลลูโลส) (Alonso, 2018)

ตารางที่ 2.2 องค์ประกอบทางเคมีของรำข้าวสาลี

องค์ประกอบทางเคมี (%)	โปรตีน	ไขมัน	เซลลูโลส
รำข้าวสาลี	18.01	5.27	9.53

ที่มา : โสภณ และคณะ (2556)

## 2.4 เซลลูเลส (Cellulase)

เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส เซลลูเลสเป็น complex enzyme ซึ่งการจะย่อยเซลลูโลสได้นั้น จำเป็นต้องใช้เอนไซม์ 3 ชนิด ทำงานร่วมกัน ได้แก่ Filter paper cellulase (FPase) Carboxymethyl cellulase (CMCase) และ  $\beta$ -glucosidase (Nascimento และคณะ, 2009)

กลไกการทำงานของเซลลูเลส ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด ได้แก่

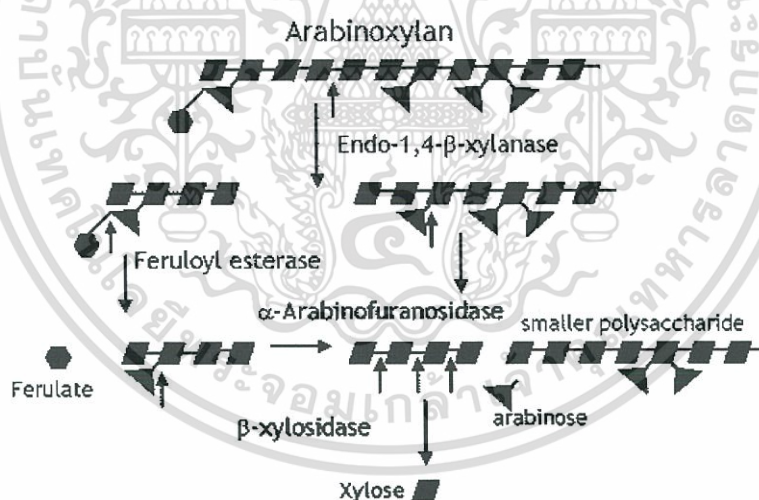
1) FPase ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะของเซลลูโลสในส่วนที่เป็นระเบียบได้ทั้งปลายด้าน น้ำตาลรีดิวซ์ และปลายด้านที่ไม่มีน้ำตาลรีดิวซ์ ผลิตภัณฑ์ที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นเซลโลไบโอสและ น้ำตาลกลูโคส

2) CMCase ทำหน้าที่ย่อยสลายพันธะในเซลลูโลส หรืออนุพันธ์ของเซลลูโลส หรือ อนุพันธ์ ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ สลายพันธะ  $\beta$ -1,4-ไกลโคซิดิกของซัสเตรทในส่วนที่เป็นอสัณฐานและ สังเคราะห์ได้ เช่น คาร์บอกซิเมทิลเซลลูโลส (CMC) โดยทำปฏิกิริยาภายในโมเลกุลเซลลูโลสแบบสุ่ม ทำให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลง ได้ผลิตภัณฑ์เป็นโอลิโกเมอร์และน้ำตาลกลูโคสบางส่วน

3)  $\beta$ -glucosidase ทำหน้าที่เสริมการทำงานของ FPase และ CMCase โดยช่วยเร่ง ปฏิกิริยาย่อยสลายพันธะของเซลโลไบโอสได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส (Liu และคณะ, 2012)

## 2.5 ไซแลนเนส (Xylanase)

เป็นเอนไซม์ที่ผลิตได้จากแบคทีเรียหรือเชื้อราที่นำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารหรืออุตสาหกรรมเยื่อกระดาษ อีกทั้งเอนไซม์ไซแลนเนสยังใช้เพื่อย่อยสลายของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรมเพื่อลดปัญหาทางสิ่งแวดล้อมหรือของเสียในกลุ่มโอลิโกแซคคาไรด์เพื่อนำมาใช้เป็นอาหารฟังก์ชันหรือการนำมาผลิตเป็นสารให้ความหวาน เช่น ไซลิตอล (Motta และคณะ, 2013) สำหรับการใช้เอนไซม์ไซแลนเนสในทางอาหารสัตว์ ส่วนใหญ่ใช้เพื่อย่อยเยื่อใยในวัตถุดิบอาหารสัตว์ ทำให้สัตว์สามารถดูดซึมสารอาหารได้มากขึ้น (Bedford และคณะ, 1992) เอนไซม์ไซแลนเนสเป็นเอนไซม์ที่จัดอยู่ในกลุ่มที่ย่อยสลายเยื่อใยจำพวกเฮมิเซลลูโลสในส่วนของพันธะ  $\beta$ -1,4 D xylosidic linkages ของไซแลนให้กลายเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวชนิดต่าง ๆ หรือคาร์โบไฮเดรตสายสั้น ๆ ที่มีน้ำตาลหลาย ๆ ชนิดปนอยู่ เช่น น้ำตาลไซโลส น้ำตาลอะราบินอส กลไกการทำงานของเอนไซม์ไซแลนเนส แสดงในรูปที่ 2.5 โดยเอนไซม์ไซแลนเนสเป็นเอนไซม์ที่เข้าไปทำปฏิกิริยาโดยการสลายพันธะ  $\beta$ -1,4 ของไซแลนตามตำแหน่งต่าง ๆ ของไซแลนที่พบในเฮมิเซลลูโลส (Biely และคณะ, 1992 ; Coughlan และคณะ, 1993) เพื่อเป็นการปลดปล่อยไซโลโอลิโกแซคคาไรด์สายสั้น (Short xylooligosaccharides) และโพลีแซคคาไรด์สายสั้น (Smaller polysaccharide) ออกมา (ธงชาติ, 2556)



รูปที่ 2.5 การทำงานของไซแลนเนส

ที่มา : ธงชาติ (2556)

## 2.6 การหมักแบบอาหารแข็ง (Solid state fermentation)

เป็นการหมักเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญด้วยการอาศัยน้ำซึ่งอยู่ในรูปของความชื้นในวัสดุหมักที่เป็นของแข็ง ดังนั้น การหมักวิธีนี้จึงเหมาะสมกับการหมักจุลินทรีย์ประเภทรา ซึ่งเจริญได้ในวัสดุหมักที่มีปริมาณน้ำน้อย การหมักแบบอาหารแข็งได้รับความสนใจเพิ่มขึ้นเนื่องจากมีข้อดีมากกว่าการหมักแบบอาหารเหลว ได้แก่ ลดต้นทุนและใช้พื้นที่น้อย จัดหา เติรียมอุปกรณ์ และวิเคราะห์ได้ง่ายและลดเอกสารเป็นเอกสารที่ส่งวนเวียนสำหรับการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นอญูาดเห็นไปไซประโยชน์ดานการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปล่อยน้ำเสีย แม้วิธีนี้จะมีศักยภาพแต่สำหรับการผลิตผลิตภัณฑ์ในปัจจุบันยังมีอุปสรรคสำคัญในการใช้งานเชิงพาณิชย์ คือ ยังไม่สามารถออกแบบและดำเนินการหมักในถังหมักขนาดใหญ่ได้ ปัญหาในการควบคุมพารามิเตอร์ของเชื้อที่สำคัญ เช่น การถ่ายโอนมวลและการกำจัดความร้อนยังไม่สามารถทำได้อย่างสมบูรณ์ (Kalogeris และคณะ, 2003)

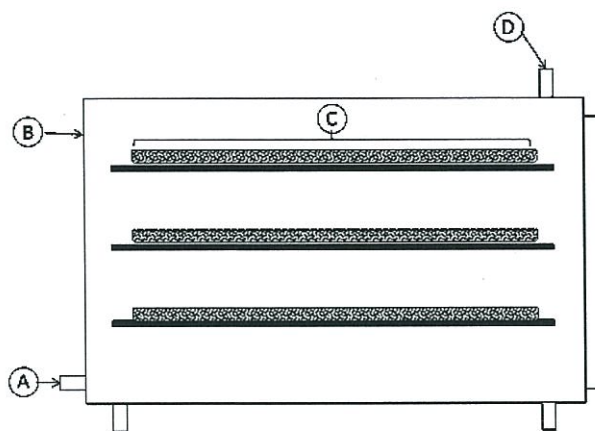
### 2.6.1 เปรียบเทียบระหว่างการหมักแบบอาหารแข็งและการหมักแบบอาหารเหลว

- เอนไซม์เซลลูเลสส่วนใหญ่ผลิตด้วยกระบวนการหมักแบบอาหารแข็ง แต่ร้อยละ 90 ของเอนไซม์ทั้งหมดในอุตสาหกรรมผลิตโดยการหมักแบบอาหารเหลวโดยนิยมใช้แบคทีเรียหรือจุลินทรีย์ที่ถูกดัดแปลงพันธุกรรมจากกระบวนการทางพันธุวิศวกรรม (GMOs)
- การหมักแบบอาหารแข็งเหมาะสำหรับเชื้อราที่มีลักษณะของเซลล์เป็นแบบเส้นใย (filamentous fungus) เช่น *T. reesei* เพราะกระบวนการหมักมีความคล้ายกับธรรมชาติของเชื้อราดังกล่าวมากกว่าการหมักแบบอาหารเหลว
- ในกระบวนการหมักแบบอาหารแข็งของเหลือทางการเกษตรถูกใช้เป็นซับสเตรททำหน้าที่เป็นทั้งแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานมากกว่าการหมักแบบอาหารเหลว
- การหมักแบบอาหารแข็งเป็นแนวทางที่เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมมากกว่าการหมักแบบอาหารเหลวโดยมีข้อดีหลายประการเช่น ไม่เป็นมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม ลดการสะสมของของเหลือทางการเกษตร (Ray และคณะ, 2017)

### 2.6.2 ถังหมักสำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง (Solid-State Fermentation Fermentors)

#### 2.6.2.1 ถังหมักแบบถาด (Tray Fermentor)

ถังหมักแบบถาดแพร่หลายมากที่สุดในห้องปฏิบัติการต้นแบบและกระทั่งในระดับอุตสาหกรรม ถังหมักแบบถาดประกอบด้วยถาดสำหรับใส่ซับสเตรทหนาประมาณ 1.5 หรือ 2 เซนติเมตร (Figueroa-Montero และคณะ, 2011) โดยถาดอาจจะถูกบ่มในห้องควบคุมอุณหภูมิด้วยการเติมอากาศแบบแพสซีฟ การประยุกต์ใช้ถังหมักแบบถาดในอุตสาหกรรมมีข้อดีดังคือ ใช้พลังงานน้อยเนื่องจากไม่จำเป็นต้องทำการผสมระหว่างการหมักและใช้งานง่ายไม่จำเป็นต้องใช้เทคโนโลยีที่ซับซ้อนในระดับอุตสาหกรรม แต่มีข้อเสียคือการใช้พื้นที่ต่อปริมาณวัสดุหมักสูง เนื่องจากแต่ละถาดสามารถบรรจุวัสดุหมักให้มีความสูงได้ไม่เกิน 5 เซนติเมตร และหากเพิ่มความสูงของวัสดุหมักภายในถาดก็จะเกิดปัญหาการถ่ายเทความร้อนและการถ่ายเทออกซิเจน (Singhanian และคณะ, 2010)



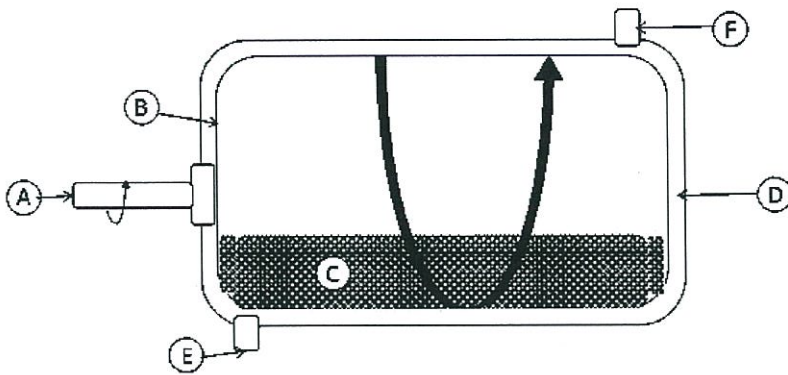
Tray bioreactor: (A) air-flow inlet, (B) cuirass, (C) packed tray, and (D) air-flow outlet.

### รูปที่ 2.6 ถังหมักแบบถาด

ที่มา : Méndez-González และคณะ (2018)

#### 2.6.2.2 ถังหมักแบบหมุน (Rotating Drum Fermentor)

ถังหมักแบบหมุน หากออกแบบถังหมักให้อยู่ในแนวนอน รูปทรงกระบอก หมุนรอบแกนกลางของถัง จะช่วยให้ปลอดเชื้อ เกิดการผสม และสามารถทำงานได้อย่างอัตโนมัติ (Han, 1975) และในถังอาจมีแผ่นกั้น (Baffle) เพื่อทำหน้าที่แยกชั้นสเตรทออกจากกันโดยการหมุนตัวถังอย่างช้า (สราวุฒิ และคณะ, 2547) ถังหมักแบบหมุนมีการเคลื่อนที่ค่อนข้างช้าและมีการผสมกันอย่างมีแบบแผน โดยทั่วไปแล้วถังหมักแบบหมุนจะมีลักษณะเป็นถังทรงกระบอก ภายในบรรจุชั้นสเตรทที่ด้านล่างของถัง การหมุนเป็นไปอย่างช้า ๆ (Brahmachari, 2017) เนื่องจากแรงเฉือนที่เกิดจากการหมุนจะทำให้เส้นใยไมซีเลียมของเชื้อราเกิดความเสียหายและความพรุนของชั้นสเตรทลดลง (Brahmachari, 2016) โดยปกติความเร็วรอบที่ใช้ในการหมักคือ 1-15 รอบต่อนาที ควรใช้ชั้นสเตรทประมาณร้อยละ 10-40 ของปริมาตรถังหมัก โดยควรประกอบด้วยชั้นสเตรทที่มีขนาดอนุภาคเล็กจำนวนมาก ความชื้นในถังหมักขึ้นอยู่กับจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการหมัก ถังหมักแบบหมุนมีลักษณะสำคัญ 2 อย่าง คือ ชั้นสเตรทถูกบรรจุในแนวนอนหรือแนวเอียงและมีการผสมกันระหว่างการหมุน อากาศที่เป่าเข้าไปในพื้นที่ด้านบนเหนือชั้นสเตรททำให้เกิดการแลกเปลี่ยนความร้อนระหว่างชั้นสเตรทกับพื้นที่ด้านบน โดยอาจจะมีการปรับปรุงโดยการติดตั้งฟิล์วด้านในถังบริเวณผนังของถังเพื่อการผสมที่ดีขึ้น โดยถังหมักแบบหมุนมีข้อดี คือ มีการถ่ายเทออกซิเจนดี ผสมได้ดี ข้อเสียคือ เพิ่มขนาดสเกลได้ยากและชั้นสเตรทมีโอกาสเกิดการรวมกลุ่ม (substrate agglomeration) ขณะหมัก (Krishna, 2005 ; Hardin และคณะ, 2000)



Rotary drum bioreactors: (A) rotor, (B) drum, (C) substrate, (D) jacked, (E) water-flow inlet, and (F) water-flow outlet.

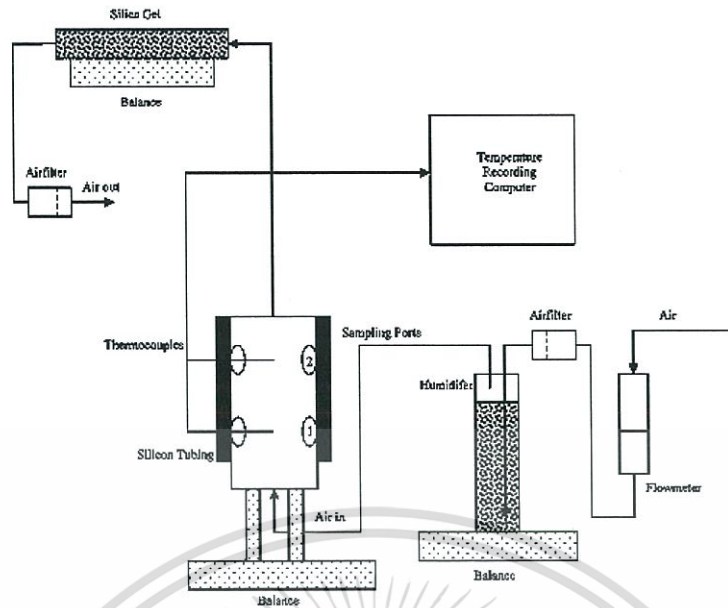
### รูปที่ 2.7 ถังหมักแบบหมุน

ที่มา : Méndez-González และคณะ (2018)

#### 2.6.2.3 ถังหมักแบบแพคเบด (Packed Bed Fermentor)

ถังหมักแบบแพคเบด ลักษณะโดยทั่วไปของถังหมักแบบนี้จะเป็นทรงกระบอกขนาดของถังขึ้นอยู่กับความเหมาะสมในการใช้งาน ถังทำด้วยแก้วหรือพลาสติก นิยมใช้ในระดับห้องปฏิบัติการ ส่วนในระดับอุตสาหกรรมนิยมทำด้วยสแตนเลสเพื่อเพิ่มความแข็งแรงและเหมาะสมกับอุตสาหกรรมอาหาร รักษาความสะอาดง่าย ภายในถังหมักจะมีชั้นวัสดุเจาะรูใช้เป็นที่วางวัสดุหมัก ส่วนด้านข้างหรือด้านล่างของถังจะมีท่อสำหรับอัดอากาศขึ้นเข้าภายในถังหมักเพื่อรักษาความชื้นสัมพัทธ์และรักษาอุณหภูมิ วิธีการควบคุมความร้อนภายในถังหมักแบบแพคเบดสามารถดำเนินการได้หลายวิธี แต่วิธีที่นิยมใช้เนื่องจากมีประสิทธิภาพและใช้งานง่ายมีอยู่ 2 วิธี คือการควบคุมความร้อนด้วยการนำความร้อน เช่น การควบคุมความร้อนด้วยน้ำหล่อเย็น ไหลผ่านแจ็คเก็ตหรือผ่านท่อขด และการควบคุมความร้อนด้วยการพาความร้อน เช่นการใช้พัดลมดูดอากาศ หรือการอาศัยการระเหยของน้ำในการเปลี่ยนสถานะ สำหรับกระบวนการผลิตที่ใช้กับถังหมักแบบแพคเบดนี้ เช่น กระบวนการผลิตเอทิลแอลกอฮอล์และการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ในการออกแบบถังหมักแบบแพคเบดแต่ละชั้นไม่ควรสูงมาก เพื่อป้องกันการเกิดอุณหภูมิสูงที่ท่ออากาศขาออก เนื่องจากอุณหภูมิอากาศขาเข้าจะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อไหลผ่านท่อโดยรูปแบบการไหลของอากาศภายในแพคเบดจะเป็นแบบไหลไปทางเดียวตลอด (plug flow) ระหว่างการหมักความดันตกคร่อม (pressure drop) จะเพิ่มมากขึ้นเมื่อช่องว่างระหว่างอนุภาคของซึบสเตรทลดลงซึ่งเกิดจากการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ และความดันตกคร่อมระหว่างชั้นสามารถลดลงได้เมื่อนำชั้นออกจากถังหมักทำให้ช่องว่างในการผ่านของอากาศเพิ่มมากขึ้น ถังหมักแบบแพคเบดมีข้อดีคือ ควบคุมระบบได้ง่ายและราคาถูก แต่มีข้อเสียคือมีการสะสมความร้อนภายในชั้น (สรารุณี และคณะ, 2547 ; Mitchell และคณะ, 2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

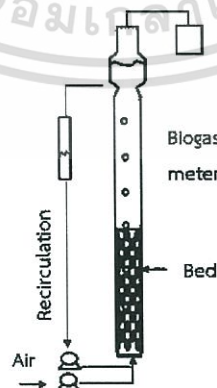


รูปที่ 2.8 ถังหมักแบบแพคเบด

ที่มา : Melikoglu และคณะ (2015)

#### 2.6.2.4 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด (Fluidized bed Fermentor)

ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด เป็นถังหมักที่สามารถใช้เพื่อทำปฏิกิริยาทางเคมีหลายเฟสได้ ในถังหมักประเภทนี้ก๊าซหรือของเหลวจะถูกส่งผ่านวัสดุเม็ดเล็ก ๆ ที่เป็นของแข็งซึ่งใช้เป็นขั้วสเตรทสำหรับการหมักที่ความเร็วสูงพอที่จะทำให้ของแข็งลอยได้ ทำให้ของแข็งเกิดการแขวนลอยอยู่ในก๊าซหรือของเหลว โดยมีข้อดีคืออุณหภูมิสม่ำเสมอในทุกบริเวณของถังหมัก จุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการหายใจ (aerobic) สามารถเจริญได้ดี ไม่เกิดความร้อนสะสม สามารถดำเนินงานในกระบวนการต่อเนื่องได้ (Brahmachari, 2016)



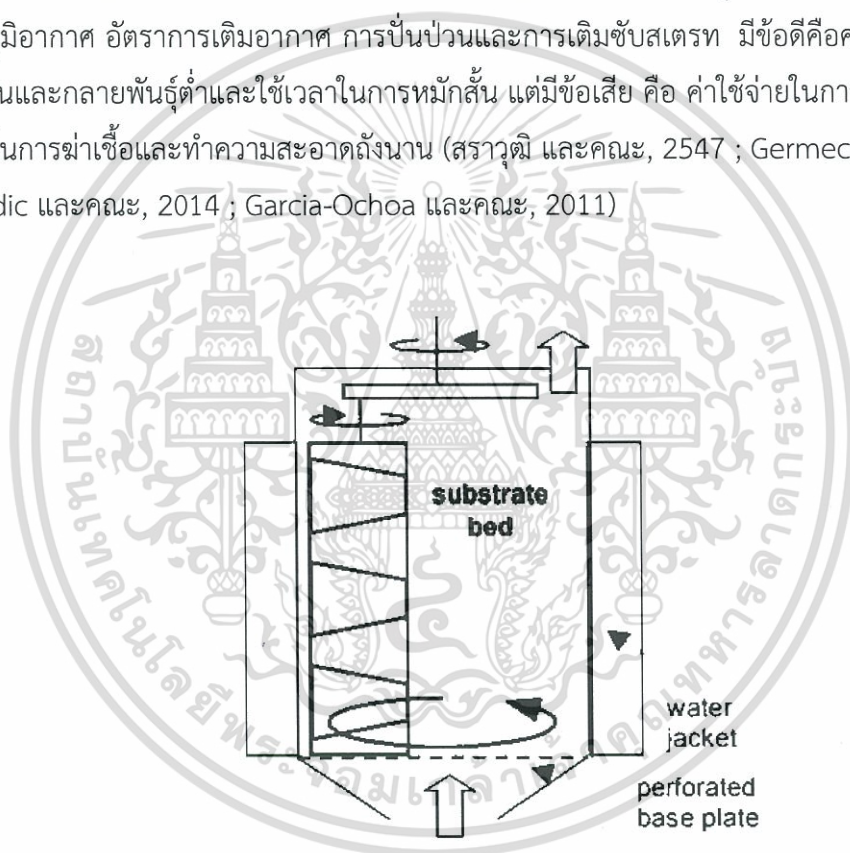
รูปที่ 2.9 ถังหมักแบบฟลูอิดไดซ์เบด

ที่มา : Muñoz-Páeza และคณะ (2013)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 2.6.2.5 ถังหมักแบบกวน (Stirred-tank Fermentor)

ถังหมักแบบกวน เป็นถังหมักที่มีลักษณะคล้ายกับถังหมักแบบหมุนแต่ภายในถังหมักจะมีใบกวน (Paddle) หรือ ใบขูด (Scraper) ในการผสมซบสเตรทแทนการหมุนตัวถังหมัก โดยใบกวนนอกจากช่วยกวนสารทำปฏิกิริยาให้มีอุณหภูมิและความเข้มข้นเท่ากันยังช่วยเพิ่มการถ่ายเทความร้อน ทำให้มีการกระจายอากาศได้อย่างทั่วถึง ป้องกันการอุดตันภายในถัง ถังหมักแบบมีใบกวนสามารถบรรจุวัสดุหมักได้มากกว่าถังหมักแบบหมุนที่ปริมาตรถังหมักเดียวกัน นอกจากนี้การกวนซบสเตรทร่วมกับการพ่นน้ำลงถังหมักนี้จะช่วยเพิ่มการถ่ายเทความร้อนจากซบสเตรท ถังหมักแบบกวนเป็นถังหมักที่ใช้งานกันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมการหมักและมีการยอมรับกันอย่างกว้างขวางในกระบวนการทางชีววิทยา เหมาะสำหรับการหมักที่ต้องการควบคุมหลายสภาวะ เช่น ค่า pH อุณหภูมิอากาศ อัตราการเติมอากาศ การปั่นป่วนและการเติมซบสเตรท มีข้อดีคือความเสี่ยงในการปนเปื้อนและกลายพันธุ์ต่ำและใช้เวลาในการหมักสั้น แต่มีข้อเสีย คือ ค่าใช้จ่ายในการดำเนินงานสูง ใช้เวลาในการฆ่าเชื้อและทำความสะอาดถังนาน (สรารุฒิ และคณะ, 2547 ; Germeca และคณะ, 2018 ; Kadic และคณะ, 2014 ; Garcia-Ochoa และคณะ, 2011)



รูปที่ 2.10 ถังหมักแบบกวน  
ที่มา : Mitchell และคณะ (2006)

## 2.6.3 จุลินทรีย์และปัจจัยที่มีผลต่อการหมักแบบอาหารแข็ง

### 2.6.3.1 จุลินทรีย์ที่ใช้สำหรับการหมักแบบอาหารแข็ง

กลุ่มจุลินทรีย์สำคัญที่ใช้ในการหมักคือเชื้อราและแบคทีเรีย โดยเชื้อราที่มีลักษณะของเซลล์เป็นแบบเส้นใย เหมาะสมที่สุดสำหรับ SSF เนื่องจากเจริญเติบโตได้ง่าย ทนต่อสภาวะที่มีน้ำอิสระต่ำและแรงดันออสโมติกสูงได้ดีทำให้เชื้อรามีข้อดีมากกว่าสิ่งมีชีวิตเซลล์เดียว เช่น แบคทีเรีย เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์ นอกจากนี้เชื้อราดังกล่าวยังสามารถผลิตเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Gowthaman และคณะ, 2001 ; Larroche, 1996 ; Krishna และคณะ, 2001)

#### 2.6.3.2 ความชื้นและน้ำอิสระ (moisture and water activity)

การเจริญของเชื้อราต้องมีระดับความชื้นที่เหมาะสมเนื่องจากความชื้นที่ลดลงส่งผลให้การแพร่ของสารอาหาร, การเจริญเติบโตของเชื้อรา, ความเสถียรของเอนไซม์และความบวมของซีสเตรทมีแนวโน้มลดลงด้วย สำหรับแบคทีเรียความชื้นของซีสเตรทต้องสูงกว่าร้อยละ 70 สำหรับของเชื้อราที่มีลักษณะของเซลล์เป็นแบบเส้นใยอยู่ในช่วงกว้างระหว่าง ร้อยละ 80-100 (Pardo และคณะ, 2005)

#### 2.6.3.3 อุณหภูมิ

อุณหภูมิเป็นตัวแปรทางกายภาพที่สำคัญที่สุดส่งผลต่อประสิทธิภาพของการหมักแบบอาหารแข็ง เนื่องจากการเจริญของจุลินทรีย์ การผลิตเอนไซม์หรือเมทาบอลิท์ก็มีความไวต่ออุณหภูมิ เชื้อราสามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิที่ 20-55 องศาเซลเซียส โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมจะแตกต่างกันตามผลิตภัณฑ์ที่ต้องการการผลิต (Yadav, 1988) แต่ในสำหรับการหมักแบบ อาหารแข็งเพื่อผลิตเซลล์แล้วอุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส (Li และคณะ, 2014)

#### 2.6.3.4 pH

เชื้อราสามารถเจริญได้ดีในช่วง pH 2.0-9.0 โดยช่วงที่เหมาะสมคือ 3.8-6.0 สำหรับยีสต์มีการเจริญเติบโตที่ดีในช่วงของ pH 2.5 ถึง 8.5 โดยช่วงที่เหมาะสมที่สุดคือ 4-5 สามารถลดการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในเชื้อราได้โดยการใช้ pH ต่ำ (Gowthaman และคณะ, 2001) โดยทั่วไปแล้วจะนิยมกำหนดค่า pH เริ่มต้นของการหมักเพื่อผลิตเซลล์อยู่ที่ประมาณ 5 (Li และคณะ, 2014)

#### 2.6.3.5 ซีสเตรท

ซีสเตรทสำหรับการหมักแบบอาหารแข็งควรมีโครงสร้างโมเลกุลพื้นฐานเป็นแป้ง เซลลูโลส ลิกโนเซลลูโลส เพคตินและโพลีแซคคาไรด์อื่น ๆ ซีสเตรทสำหรับการหมักแบบอาหารแข็งส่วนมากเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้จากอุตสาหกรรมเกษตร โครงสร้างโมเลกุลพื้นฐานนี้จะให้ความแข็งแรงให้กับของแข็งที่นำมาใช้เป็นซีสเตรท การปรับสภาพซีสเตรทเป็นขั้นตอนที่สำคัญเพราะเป็นการปรับปรุงซีสเตรทให้มีความเหมาะสมต่อการหมัก อาจเป็นการลดขนาดหรือการไฮโดรไลซิส การเลือกซีสเตรทสำหรับการหมักแบบอาหารแข็งขึ้นอยู่กับหลายปัจจัยส่วนใหญ่พิจารณาจากค่าใช้จ่ายและความพร้อมใช้งาน สามารถแยกการใช้ซีสเตรทสำหรับการหมักแบบอาหารแข็งแบ่งได้สองแบบ คือการใช้วัสดุทางการเกษตรและการใช้กากหรือของเหลือทางการเกษตร (Raimbault, 1998)

#### 2.6.3.6 ขนาดอนุภาค

ขนาดอนุภาคของซีสเตรทมีความสำคัญ เนื่องจากเกี่ยวข้องกับลักษณะและความสามารถในการทำให้จุลินทรีย์เจริญและการแลกเปลี่ยนมวลสารและความร้อน ซีสเตรทควรมีเอกสารเป็นเอกสารที่ส่งมอบไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น เมื่อผู้ใดเห็นหน้าไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาดอนุภาคที่เหมาะสมเพื่อเพิ่มการถ่ายโอนมวล และขนาดของอนุภาคเล็กจะเป็นการเพิ่มพื้นที่สำหรับทำปฏิกิริยาของจุลินทรีย์ แต่อนุภาคขนาดเล็กเกินไปอาจทำให้เกิดการรวมกลุ่มของซัสเตรท ทำให้รบกวนการหายใจของจุลินทรีย์และการเติมอากาศ ทำให้เกิดผลเสียต่อการเจริญ (Krishna, 1999 ; Mitchell และคณะ, 1992 ; Pandey และคณะ, 2000)

#### 2.6.3.7 การเติมอากาศและการกวน (Aeration and Agitation)

การเติมอากาศและการกวนมีอิทธิพลอย่างมีนัยสำคัญต่อการหมักแบบอาหารแข็ง เนื่องจากความต้องการออกซิเจนในกระบวนการแอโรบิกและการถ่ายโอนมวลสาร (Pandey และคณะ, 2001) การเติมอากาศเป็นการเพิ่มออกซิเจน ขจัดคาร์บอนไดออกไซด์ สารระเหยอื่น ๆ และความร้อน อัตราการเติมอากาศพิจารณาจากปัจจัยอื่น ๆ เช่น ความต้องการอากาศในการเติบโตของจุลินทรีย์ นอกจากนี้ยังมีสิ่งอื่นที่ต้องนำมาพิจารณาคือคุณภาพอากาศที่ทางเข้าถังหมัก การไหลของอากาศ (Ramesh และคณะ, 1990) และควรคำนึงถึงซัสเตรทที่ใช้ในการหมักระหว่างการหมัก ซัสเตรทไม่ควรเกิดการรวมกลุ่ม เนื่องจากการเติมอากาศและการผสมซัสเตรทที่ใช้ในการหมักควรมีโครงสร้างที่สามารถทนต่อแรงเฉือนที่เกิดจากการหมุนหรือกวน

#### 2.6.3.8 สารอาหาร

สารอาหารจำนวนมากสามารถควบคุมการสร้างสปอร์ผ่านผลของเมแทบอลิซึม สารอาหารเหล่านี้ประกอบด้วยคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน แร่ธาตุและวิตามิน คาร์บอนเป็นแหล่งพลังงานที่สำคัญสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ อาจเป็นสารประกอบโมโนแซ็กคาไรด์บริสุทธิ์เช่น กลูโคส หรือโมเลกุลที่ซับซ้อนเช่นเซลลูโลสหรือแป้ง แหล่งคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาลซูโครสแลคโตส แรฟไฟโนส มอลโตส เซลลูโลส สารสกัดจากมอลต์ กลีเซอรอล เอทานอล โปแทสเซียมอะซิเตต แหล่งไนโตรเจนที่กระตุ้นการเจริญของเชื้อรา ได้แก่ แอมโมเนียมตาเตรท ออกซาเลต ซัลเฟต ไนเตรต คลอไรด์ โซเดียมไนเตรต ยูเรีย เพปไทด์และกรดอะมิโน แร่ธาตุที่ช่วยในการเจริญของเชื้อราประกอบด้วย Na Ca Ni Cu Fe Mn K Zn Mg Mo และ B สารอินทรีย์บางชนิดเช่น วิตามินบีไบโอติน กรดโฟลิก ไบโอตินและสเตียรอยด์ (Larroche, 1996)

## 2.7 เชื้อรา *Trichoderma reesei*

*Trichoderma reesei* เป็นเชื้อราที่มีความสามารถในการหลั่งเอนไซม์เซลลูเลสในปริมาณมาก มีลักษณะของเซลล์เป็นแบบเส้นใย ต้องการอากาศในการหายใจ (aerobic) (Mari และคณะ, 2014) เจริญได้ดีที่อุณหภูมิปานกลาง (mesophilic) ระหว่างอุณหภูมิ 25-35 องศาเซลเซียส และค่า pH ระหว่าง 2.7-4.5 (Brown, 1990) แต่ที่ค่า pH สูงกว่า 6.5 ไม่เหมาะกับทั้งการเจริญและการผลิตเอนไซม์ การแสดงออกของยีนเซลลูเลส ใน *T. reesei* ถูกกระตุ้นในเซลลูโลสและน้ำตาลโมเลกุลคู่หลายชนิด เช่น เซลโลไบโอส แลคโตส และโซไฟโรส *T. reesei* สำคัญต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในเชิงพาณิชย์ และสามารถนำไปใช้ได้ดีสำหรับการหมัก (Lilian และคณะ, 2014)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ตารางที่ 2.3 การจำแนกทางวิทยาศาสตร์ของเชื้อรา *Trichoderma reesei*

การจำแนกทางวิทยาศาสตร์	
อาณาจักร	Fungi
หมวด	Ascomycota
แขนง	Pezizomycotina
ชั้น	Sordariomycetes
อันดับ	Hypocreales
วงศ์	Hypocreaceae
สกุล	<i>Trichoderma</i>
สายพันธุ์	<i>T. reesei</i>
ชื่อทวินาม	<i>Trichoderma reesei</i>

ที่มา : [https://en.wikipedia.org/wiki/Trichoderma\\_reesei](https://en.wikipedia.org/wiki/Trichoderma_reesei)

### 2.7.1 การเจริญของเชื้อรา

เชื้อราที่เป็นเส้นใยจะมีการเจริญออกไปได้สองทิศทาง คือ ทางขวางจะเจริญไปจนเต็มที่แล้วจึงหยุด ส่วนการเจริญทางด้านยาวนั้น เส้นใยของราจะงอกยาวออกไปและแตกแขนงอย่างไม่จำกัด トラบเท่าที่สภาพแวดล้อมยังเหมาะสม สายใยเหล่านี้เรียกว่า ไมซีเลียม (mycelium) ทำให้รามีขนาดใหญ่จนมองเห็นด้วยตาเปล่า ไมซีเลียม มีสองชนิด คือ ชนิดเวจเจเททีฟ (vegetative) ทำหน้าที่นำอาหารไปสู่ส่วนต่าง ๆ ของทลัสส์ อีกชนิดหนึ่งคือ ชนิดแอเรียล (aerial) ทำหน้าที่สร้างสปอร์เพื่อการสืบพันธุ์ ในบางระยะของการเจริญอาจพบไมซีเลียมมาเรียงอัดตัวประสานกันเป็นลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อ เรียกว่า plectenchyma มี 2 ชนิด คือ

- 1) prosenchyma ประกอบด้วย ไมซีเลียมอัดตัวกันอย่างหลวม ๆ และขนานกันตามความยาว (Hale, 1963)
- 2) pseudoparenchyma ประกอบด้วย ไมซีเลียมเรียงอัดตัวกันอย่างหนาแน่น มีลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อ parenchyma ในพืชชั้นสูง

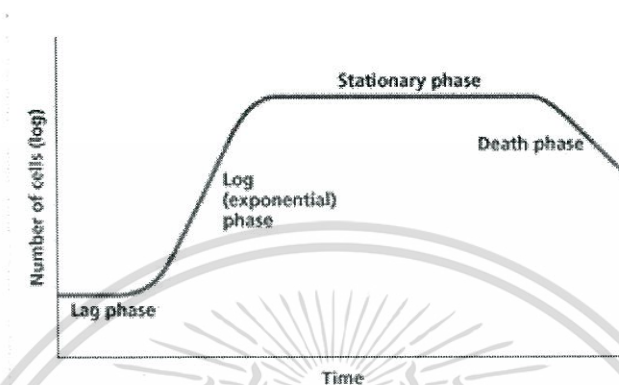
ในราชั้นสูงบางชนิด จะสร้างเส้นใยเรียงอัดตัวหนาแน่นมาก จนเส้นใยแต่ละเส้นกลมกลืนเป็นเนื้อเยื่อเดียวกันทำให้นั่งเส้นใยมีความแข็งแรง ทนต่อสภาพแวดล้อมได้ดีเรียกว่า Rhizomorph การวัดการเจริญของเชื้อทำได้โดยการวัดขนาดของโคโลนี ซึ่งน้ำหนักของชีวมวล หรือวัดปริมาณกลูโคซามีน (Aidoo และคณะ, 1981)

การเจริญเติบโตของเชื้อราแบ่งได้ 4 ระยะ แบ่งจากอัตราการเจริญเติบโต คือ

- 1) Lag phase เป็นระยะที่ยังไม่มีการแบ่งเซลล์ อยู่ในช่วงปรับตัว ทำให้ปริมาณเชื้อราไม่เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- 2) Log phase หรือ Exponential phase เป็นระยะที่มีการแบ่งเซลล์ปริมาณมาก ทำให้ปริมาณเชื้อราเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว
- 3) Stationary phase เป็นระยะที่ไม่มีการแบ่งเซลล์แล้ว ปริมาณเชื้อราจึงคงที่
- 4) Death phase เป็นระยะที่เชื้อราตายและย่อยสลายอย่างรวดเร็ว ปริมาณเชื้อราจะลดลงอย่างรวดเร็ว (Jackson, 2018)



รูปที่ 2.11 วงจรการเจริญของเชื้อรา

ที่มา : <https://sites.google.com/site/cytogenetics222/bthna/sell>

## 2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Alam และคณะ (2009) ได้ทำการศึกษาเรื่องการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากทลายปาล์มโดยใช้เชื้อรา *T. harzianum* การหมักเป็นแบบอาหารแข็งในถังหมักแบบหมุน ทลายปาล์มเป็นหนึ่งในเศษวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมปาล์มน้ำมันซึ่งถูกทิ้งเป็นจำนวนมาก เมื่อนำมาวิเคราะห์องค์ประกอบแล้วพบว่า ทลายปาล์มประกอบไปด้วยเซลลูโลสร้อยละ 50 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 25 และลิกนินร้อยละ 25 จึงเหมาะแก่การเป็นวัตถุดิบสำหรับการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าเพราะหาได้ง่ายและมีลิกโนเซลลูโลสปริมาณมาก พบว่าค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุดเท่ากับ  $10.1 \pm 1.5$  หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้งและปริมาณกลูโคซามีน้ำตาลได้สูงที่สุดเท่ากับ  $2.2 \pm 0.3$  กรัมต่อลิตร จากการศึกษาสรุปได้ว่า จากการหมักทลายปาล์มสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของ *T. harzianum* ในถังหมักแบบหมุนได้ และพบว่าอัตราการผลิตเอนไซม์ของ FPase เท่ากับ 5.1 หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้งต่อวัน และพบว่าค่ากิจกรรมเอนไซม์จะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มขึ้นของชีวมวลและการเสื่อมลงของซบสเตรท

Li และคณะ (2014) ได้ทำการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยเชื้อราและวิธีการต่าง ๆ โดยใช้ซบสเตรทเป็นรำข้าวสาลีเป็นซบสเตรทและใช้เชื้อรา *Fomitopsis sp.* ซึ่งเป็นเชื้อราประเภทราผุน้ำตาล ได้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase เท่ากับ 71.699 หน่วยต่อกรัมซบสเตรท ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase เท่ากับ 3.492 หน่วยต่อกรัมซบสเตรท และค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase เท่ากับ 53.679 หน่วยต่อกรัมซบสเตรท สรุปได้ว่า การหมักแบบอาหารแข็งด้วยรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้อย่างมีประสิทธิภาพเพื่อนำไปใช้งานต่อในการย่อยซับสเตรทประเภท Lignocellulosic

Ahamed และคณะ (2008) ได้ทำการศึกษาเรื่องการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Trichoderma reesei* RUT-C30 และลดค่าใช้จ่ายในการผลิตโดยใช้วัสดุอื่นกับเซลลูโลสเป็นซับสเตรท ได้แก่ 1) เซลลูโลสผสมกับยีสต์สกัด 2) ข้าวโพดผสมกับกลูโคส 3) เซลลูโลสยีสต์ผสมกับเพปโทนสกัด 4) เซลลูโลสยีสต์และไนโตรเจน CMC เซลลูโลสผสมกับยีสต์สกัดเป็นซับสเตรทที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูเลส ได้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase เท่ากับ  $5.0 \pm 1.5$  ยูนิตต่อมิลลิลิตร และค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase เท่ากับ  $4.2 \pm 0.6$  ยูนิตต่อมิลลิลิตร

Awafo และคณะ (2000) ได้ทำการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วยการปรับสภาพซับสเตรทร่วมกันระหว่างการเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์และการระเบิดด้วยไอน้ำโดยใช้เชื้อรา *T. reesei* 2 สายพันธุ์ ได้แก่ QMY-1 และ MCG 80 ใช้ฟางข้าวสาเล่เป็นซับสเตรท ได้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ FPase,  $\beta$ -glucosidase เท่ากับ 209 (QMY-1), 247 (MCG 80) และ 138 (QMY-1), 159 (MCG 80) IU ต่อกรัม ตามลำดับ และค่ากิจกรรมของเอนไซม์จากการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์และการระเบิดด้วยไอน้ำ FPase,  $\beta$ -glucosidase เท่ากับ 195 (QMY-1), 171 (MCG 80) และ 56 (QMY-1), 97 (MCG 80) IU ต่อกรัม ตามลำดับ สรุปได้ว่า การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยการปรับสภาพที่เหมาะสม คือ การปรับสภาพซับสเตรทที่เป็นฟางข้าวสาเล่ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เท่านั้น

Ang และคณะ (2013) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากทลายปาล์มน้ำมันโดยใช้เชื้อรา *A. fumigatus* SK1 ด้วยวิธีการหมักแบบอาหารแข็ง พบว่า ได้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCCase, FPase,  $\beta$ -Glucosidase และโซแลนเนสเท่ากับ 54.274 3.356 4.514 และ 418.704 ยูนิตต่อกรัม ตามลำดับ ซึ่งมีค่าสูงกว่าเมื่อเทียบกับงานวิจัยอื่น ๆ สรุปได้ว่า เชื้อรา *A. fumigatus* SK1 สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยใช้ทลายปาล์มน้ำมันที่ไม่ได้ผ่านการปรับสภาพซึ่งมีราคาถูกอย่างมีประสิทธิภาพ

Pandey และคณะ (2015) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันและสปีชีส์ที่แตกต่างกันของเชื้อ *Trichoderma* ในขบวนการหมักแบบอาหารแข็ง แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการศึกษา ได้แก่ มอลโตส ซังข้าวโพด รำข้าวสาเล่ ซูโครส และกระดาษกรอง และสปีชีส์ที่แตกต่างกันของเชื้อ *Trichoderma* ได้แก่ *T. harzianum* *T. reesei* *T. viride* *T. koningii* *T. atroviride* *T. Longibrachiatum* *T. virens* และ *T. Asperellum* สามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ได้สูงสุด 3 อันดับคือ ใช้ซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *T. harzianum*, ใช้ซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *T. reesei* และใช้ซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *T. viride* ซึ่งวัดค่าได้ 1.21 1.10 และ 1.04 ยูนิตต่อมิลลิลิตรต่อนาที่ ตามลำดับ และสามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCCase ได้สูงสุด 3 อันดับคือ ใช้ซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *T. harzianum*, ใช้ซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *T. viride* และใช้ซัง

ข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนโดยเชื้อ *T. reesei* ซึ่งวัดค่าได้ 1.15 1.04 และ 1.00 ยูนิต์ต่อมิลลิเมตรต่อนาที่ จากการศึกษารูปได้ว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยเชื้อ *Trichoderma* แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดคือซังข้าวโพด

Rajesh และคณะ (2012) ได้ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากรำข้าวและรำข้าวโพด โดยเชื้อ *Trichoderma reesei* MTCC 164 ในขบวนการหมักแบบอาหารแข็ง ศึกษาโดยการใช้อัตราส่วนระหว่างรำข้าวต่อรำข้าวโพดที่แตกต่างกัน ได้แก่ 2:8 4:6 5:5 6:4 และ 8:2 ที่อุณหภูมิและค่า pH ต่าง ๆ อุณหภูมิและค่า pH ที่ใช้ในการศึกษาคือ 25-40 องศาเซลเซียส และ 4-9 ตามลำดับ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสคือ อัตราส่วน 5:5 อุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส และค่า pH เท่ากับ 5 ซึ่งวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ที่ได้ 18.5 ยูนิต์ต่อมิลลิเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วัสดุและวิธีการ

#### 3.1 วัสดุอุปกรณ์และเครื่องมือ

##### 3.1.1 อุปกรณ์สำหรับการปรับปรุงถังหมัก

- 1) เครื่องตัดเหล็ก
- 2) สว่านไฟฟ้า
- 3) โฮลซอร์
- 4) เครื่องเชื่อม
- 5) คีมยี่ริเวท
- 6) ตะไบเหล็ก
- 7) เครื่องตัดแผ่นเหล็ก
- 8) กรรไกรตัดเหล็ก

##### 3.1.2 อุปกรณ์สำหรับเตรียมซัสเตรท

- 1) เครื่องอบแห้งแบบถาด (Tray dryer)
- 2) ตะแกรงมุ้งลวด
- 3) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่ง
- 4) ชุดสกัด Soxhlet extractor
- 5) ปีกเกอร์
- 6) กะละมังสแตนเลส
- 7) ทัพพี
- 8) หม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave)
- 9) ผ้าขาวบาง
- 10) อะลูมิเนียมฟอยล์

##### 3.1.3 อุปกรณ์สำหรับการเพาะเลี้ยงเชื้อรา

- 1) เข็มเขี่ยเชื้อ
- 2) แuantงแก้วสามเหลี่ยม
- 3) ไมโครปิเปต
- 4) ตะเกียงแอลกอฮอล์
- 5) ตู้อบเชื้อ
- 6) จานเพาะเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7) หม้อนึ่งไอน้ำความดันสูง (Autoclave)

8) ขวดอาหารเลี้ยงเชื้อ

### 3.1.4 อุปกรณ์สำหรับการหมัก

1) ถังหมักแบบหมุน

2) เพลลา

3) มอเตอร์

4) ตัวปรับความเร็ว

5) ป้อนลม

6) โรตารีเตอร์ที่สามารถปรับได้

7) ตัวกรองอากาศ

8) สายยางพีวีซี

9) ท่อพักลม

10) ขาดังสแตนเลส

11) เครื่องพ่นหมอกแบบอัลตราโซนิก

12) เครื่องควบคุมความชื้น

13) ถังน้ำ

14) สายยางซิลิโคน

15) เซนเซอร์วัดความชื้น

16) ตาข่ายแบบไฟเบอร์

17) ท่อสแตนเลสสตีล

18) แผ่นยางซิลิโคน

### 3.1.5 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์ผลการทดลอง

#### 3.1.5.1 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

1) ซ้อนตักสาร

2) เครื่องชั่งน้ำหนักทศนิยม 2 ตำแหน่งและ 4 ตำแหน่ง

3) ป้อนน้ำสุญญากาศ

4) กระจกตวง

5) ปีกเกอร์

6) หลอดทดลอง

7) เครื่องวัดการดูดกลืนแสงของสาร

8) คิวเวตต์

9) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ

10) ไมโครปิเปต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11) เครื่องผสมสารละลาย

### 3.1.5.2 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา

- 1) เครื่องวัดความเป็นกรดต่าง
- 2) ซ้อนตักสาร
- 3) เครื่องกวนสาร
- 4) ปีกเกอร์
- 5) หลอดทดลอง
- 6) ไมโครปิเปต
- 7) อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ
- 8) เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสงของสาร
- 9) คิวเวตต์
- 10) เครื่องผสมสารละลาย
- 11) เครื่องชั่งน้ำหนักคนนิยม 4 ตำแหน่ง

### 3.1.6 วัสดุสำหรับการหมัก

3.1.6.1 กากมะพร้าวหลังการคั่นกะทิ

3.1.6.2 รำข้าวสาลี

## 3.2 สารเคมี

### 3.2.1 สารเคมีสำหรับการเตรียมซัพสเตรท

- 1) น้ำกลั่น
- 2) เฮกเซน

### 3.2.2 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์

- 1) Sodium acetate anhydrous ( $\text{CH}_3\text{COONa}$ )
- 2) 3, 5-Dinitrosalicylic acid (DNS)
- 3) Potassium sodium tartrate tetrahydrate ( $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$ )
- 4) Sodium hydroxide (NaOH)
- 5) Carboxymethylcellulose (CMC)
- 6) Cellobiose
- 7) Xylan
- 8) กระดาษกรอง Whatman No. 1
- 9) น้ำกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.2.3 สารเคมีสำหรับการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อรา

- 1) Sulfuric acid ( $H_2SO_4$ )
- 2) Sodium hydroxide (NaOH)
- 3) น้ำกลั่น
- 4) Potassium bisulfate ( $KHSO_4$ )
- 5) Sodium nitrite ( $NaNO_2$ )
- 6) Ammonium sulfamate ( $H_6N_2SO_3$ )
- 7) methyl -2- benzothiazolone hydrazine hydrochloride (MBTH)
- 8) Iron(III) chloride hexahydrate ( $FeCl_3 \cdot 6H_2O$ )
- 7) D-(+)-Glucosamine hydrochloride

### 3.3 จุลินทรีย์และอาหารเลี้ยงเชื้อ

#### 3.3.1 เชื้อรา *Trichoderma reesei* TISTR3080

#### 3.3.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- 1) Potato dextrose broth (Difco)
- 2) Agar (Difco)

### 3.4 วิธีการดำเนินงานวิจัย

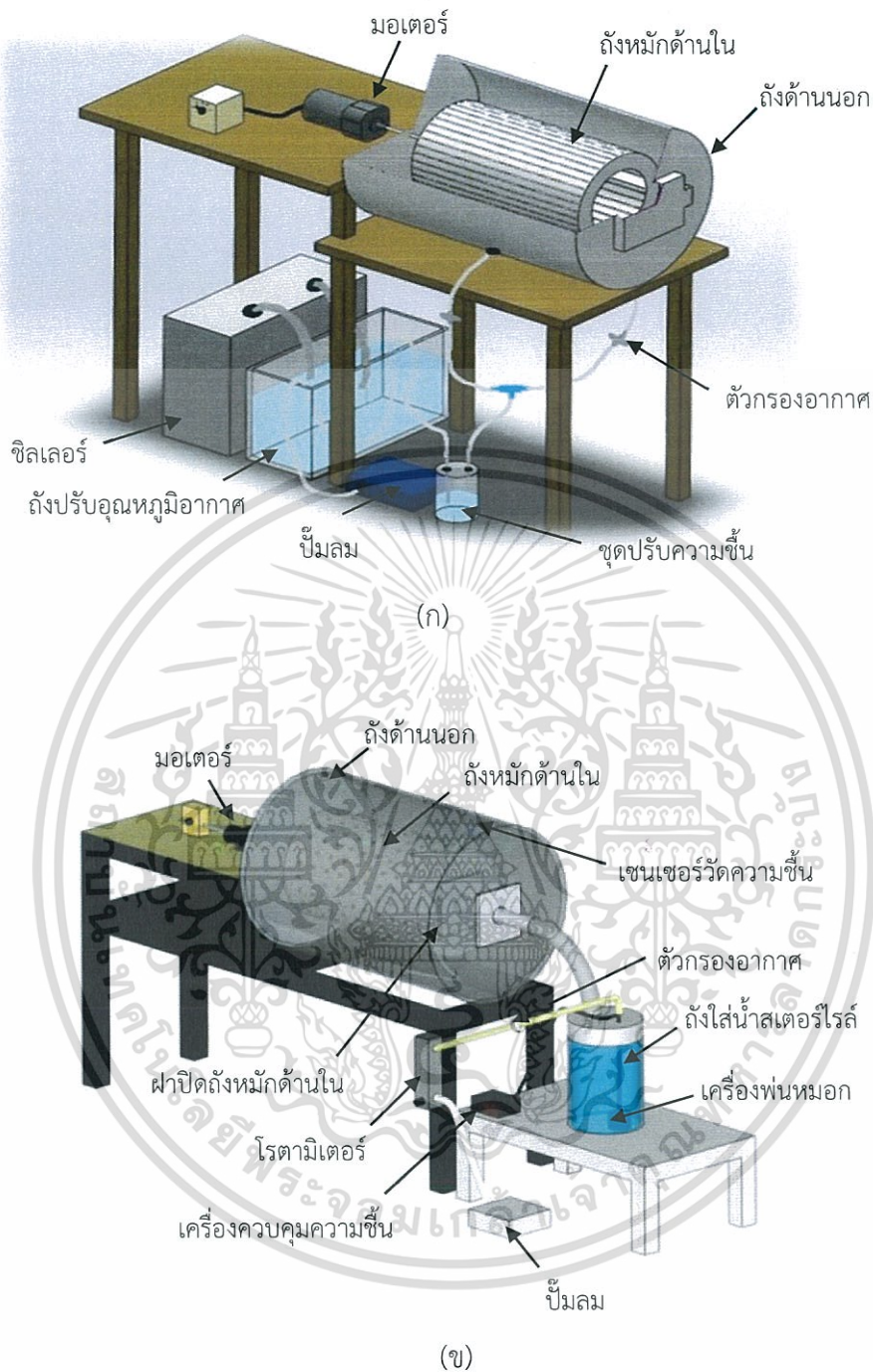
#### 3.4.1 การปรับปรุงถั๊กหมักแบบหมุน

ทำการปรับปรุงถั๊กหมักแบบหมุนโดยการติดตั้ง 1) ชุดควบคุมความชื้น ซึ่งประกอบไปด้วยเครื่องควบคุมความชื้น เซนเซอร์วัดความชื้น และชุดพ่นหมอก 2) ท่อเติมอากาศจากด้านหน้าของถั๊กใส่เข้าไปในถังชั้นในโดยตรง และ 3) ทำฝาปิดและตาข่ายแบบไฟเบอร์ไหม้ถังชั้นในดังรูปที่ 3.1 ซึ่งเปรียบเทียบคุณสมบัติของถั๊กก่อนและหลังการปรับปรุงดังตารางที่ 3.1 จากนั้นทำการทดสอบความสามารถโดยใช้รำข้าวสาลีเป็นซับสเตรทความชื้นร้อยละ 60 (ฐานเปียก) ดำเนินการในถังหมักแบบหมุน อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm ความเร็วรอบในการหมุน 6 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 ชั่วโมง

#### 3.4.2 การเตรียมเชื้อและอาหารเลี้ยงเชื้อ

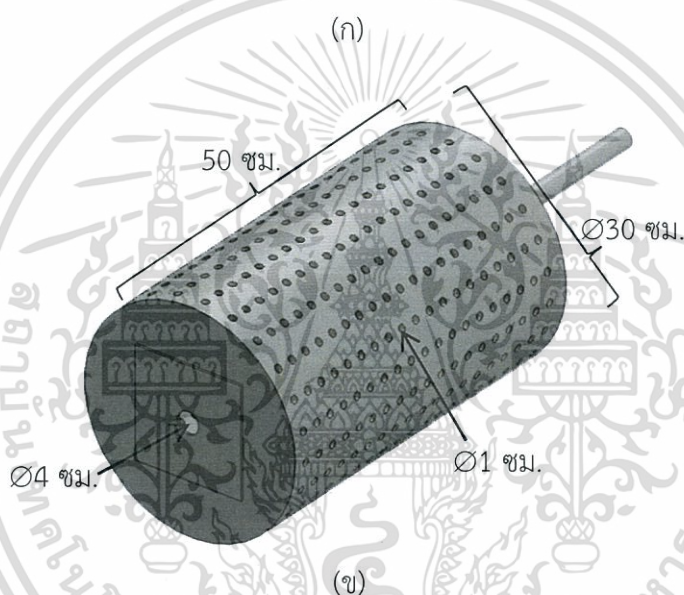
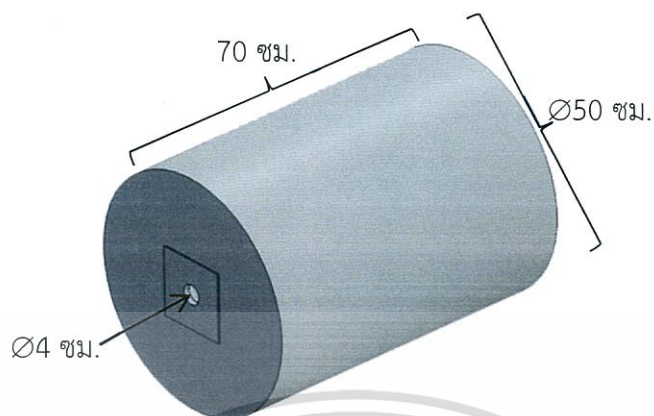
นำเชื้อรา *T. reesei* TISTR3080 มาเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA เตรียมโดยใช้ Potato dextrose broth 24 กรัม Agar 15 กรัม และเติมน้ำกลั่นจนปริมาตร 1000 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เทอาหารลงในจานเพาะเชื้อเมื่ออาหารแข็งตัว จึงเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหาร จากนั้นป่มในตู้ป่มควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-7 วัน ทำการเก็บสปอร์โดยน้ำกลั่นที่ทำการฆ่าเชื้อแล้ว และปรับความเข้มข้นเป็น  $5 \times 10^7$  สปอร์ต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.1 ชุดถังหมักแบบหมุน (ก) ถังหมักของกฤตนันท์และคณะ (2559)  
(ข) ถังหมักหลังทำการปรับปรุง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.2 (ก) ถังชั้นนอก (ข) ถังหมักชั้นใน

ตารางที่ 3.1 คุณสมบัติของถังหมักแบบหมุนก่อนและหลังการปรับปรุงถังหมัก

คุณสมบัติ	ฤดูร้อนปีและคณะ (2559)	งานวิจัยนี้
การเติมอากาศ	ด้านล่างถังชั้นนอก	ด้านหน้าเข้าไปในถังชั้นใน โดยตรง
การป้องกันการรบกวนของ ชั้นสเตรท	หุ้มถังชั้นในด้วยมุ้งลวด	หุ้มถังชั้นในด้วยตาข่ายไฟเบอร์ และทำฝาปิดถังชั้นใน
การควบคุมความชื้นสัมพัทธ์	ไม่มี	มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.4.3 การเตรียมซบสเตรทสำหรับการหมัก

ซบสเตรทที่ใช้สำหรับการหมักได้แก่ กากมะพร้าวหลังจากการคั่นกะทิ (เซลลูโลสร้อยละ 39.36 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 9.87 โปรตีนร้อยละ 6.47 และไขมันร้อยละ 30.94) มีขนาด 0.60-2.36 มิลลิเมตร และรำข้าวสาลี (เซลลูโลสร้อยละ 9.71 เฮมิเซลลูโลสร้อยละ 31.98 โปรตีนร้อยละ 18.28 และไขมันร้อยละ 4.65) มีขนาด 0.20-2.00 มิลลิเมตร นำกากมะพร้าวที่ได้จากการคั่นกะทิมาอบแห้งในเครื่องอบแห้งแบบถาด ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำไปกำจัดน้ำมันด้วยวิธีการ Soxhlet extraction โดยใช้ตัวทำละลายเฮกเซน จากนั้นนำกากมะพร้าวและรำข้าวสาลีมาปรับความชื้นโดยใช้น้ำกลั่นเป็นร้อยละ 60 ฐานเปียก หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที พักไว้ให้เย็นจนกระทั่งอุณหภูมิลดลงจนถึงอุณหภูมิห้องหลังแล้วจึงผสมเชื้อลงในซบสเตรท

### 3.4.4 การทดลองการหมักกากมะพร้าวและรำข้าวสาลีแบบอาหารแข็งในถังหมักแบบหมุน

ทำการทดลองการหมักโดยการศึกษาอัตราการเติมอากาศที่ 0.5 1.0 และ 1.5 ลิตรต่อลิตรของซบสเตรทต่อนาที่ (vvm) และการเติมรำข้าวสาลีซึ่งใช้อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 (โดยปริมาตร) โดยใช้ถังหมักแบบหมุนขนาด 30 ลิตร ใช้ความเร็วรอบในการหมุน 6 รอบต่อนาที่ ควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ภายในถังที่ร้อยละ 90 ใช้ซบสเตรทสำหรับการหมักปริมาตร 9 ลิตร ความเข้มข้นเริ่มต้นของเชื้อราเริ่มต้นเท่ากับ  $1 \times 10^6$  สปอร์ต่อกรัมซบสเตรทแห้ง ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน และสุ่มเก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง เพื่อทำการวิเคราะห์การเจริญของเชื้อราด้วยการวัดปริมาณกลูโคซามีนในซบสเตรทที่ได้จากการหมักและหาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซแลนเนส

### 3.4.5 การวิเคราะห์

#### 3.4.5.1 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมเอนไซม์

สุ่มเก็บตัวอย่างภายในถังหมักแบบหมุน 3 จุด โดยเก็บตัวอย่างแต่ละจุดปริมาณ 4 กรัม นำมาแช่ในสารละลายบัฟเฟอร์  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ค่า pH 6.5 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ทิ้งไว้เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นนำมากรองโดยใช้เครื่องกรองบีมน้ำสุญญากาศ หลังจากนั้นนำสารละลายตัวอย่างไปวิเคราะห์หาค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสซึ่งประกอบไปด้วยเอนไซม์ FPase, CMCase,  $\beta$ -glucosidase และไซแลนเนส

#### 3.4.5.1.1 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Filter paper cellulase (FPase)

นำสารละลายตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับกระดาษกรอง Whatman No. 1 ขนาด  $2 \times 2$  มิลลิเมตร บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 60 นาที หลังจากนั้นดูดส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959) (ภาคผนวก ก.2) ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase จะแสดงเป็นยูนิตต่อกรัมซบสเตรทแห้ง (U/gds) 1 ยูนิตของเอนไซม์ (U) หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายซบสเตรทแล้วปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคส

1 ไมโครโมล ( $\mu\text{mol}$ ) ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทดสอบ คำนวณหาปริมาณเอนไซม์ FPase ในหน่วยยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง (U/gds) ดังสมการที่ (3.1)

$$\begin{aligned} & \text{ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase (ยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง)} \\ & = \frac{\text{FPase (ยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง)} \times \text{ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \end{aligned} \quad (3.1)$$

#### 3.4.5.1.2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Carboxymethyl Cellulase (CMCase)

นำสารละลายตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับสารละลาย Carboxymethyl Cellulose (CMC) ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยมวลต่อปริมาตร สารละลายบัฟเฟอร์  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ค่า pH 5.5 ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็ว แล้วดูดส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959) (ภาคผนวก ก.2) ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase จะแสดงเป็นยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง (U/gds) 1 ยูนิตของเอนไซม์ (U) หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายซัสเตรทแล้วปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ( $\mu\text{mol}$ ) ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทดสอบ คำนวณหาปริมาณเอนไซม์ CMCase ในหน่วยยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง (U/gds) ดังสมการที่ (3.2)

$$\begin{aligned} & \text{ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase (ยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง)} \\ & = \frac{\text{CMCase (ยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง)} \times \text{ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \end{aligned} \quad (3.2)$$

#### 3.4.5.1.3 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase

นำสารละลายตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับสารละลาย Cellobiose ความเข้มข้น 15 มิลลิโมลาร์ ในสารละลายบัฟเฟอร์  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ค่า pH 5.5 ปริมาณ 2 มิลลิลิตรและสารละลายบัฟเฟอร์  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ค่า pH 5.5 ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็ว แล้วดูดส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลกลูโคสด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959) (ภาคผนวก ก.2) ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase จะแสดงเป็นยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง (U/gds) 1 ยูนิตของเอนไซม์ (U) หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายซัสเตรทแล้วปลดปล่อยน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครโมล ( $\mu\text{mol}$ ) ในเวลา 1

นาที่ ภายใต้สภาวะที่ทดสอบ คำนวณหาปริมาณเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ในหน่วยยูนิตต่อกรัม ซับสเตอร์ทแห่ง (U/gds) ดังสมการที่ (3.3)

$$\text{ค่ากิจกรรมเอนไซม์ } \beta\text{-glucosidase (ยูนิตต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่ง)} \\ = \frac{\beta\text{-glucosidase (ยูนิตต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่ง)} \times \text{ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (3.3)$$

#### 3.4.5.1.4 ค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนส

นำสารละลายตัวอย่างปริมาณ 1 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยาไฮโดรไลซิสกับสารละลายไซแลน ความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยมวลต่อปริมาตร ในสารละลายบัฟเฟอร์  $\text{CH}_3\text{COONa}$  ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ ค่า pH 5.5 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที จากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็ว แล้วดูดส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลไซโลส ด้วยวิธี Dinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959) (ภาคผนวก ก.2) ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนสจะแสดงเป็นยูนิตต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่ง (U/gds) 1 ยูนิตของเอนไซม์ (U) หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยสลายซับสเตอร์ทแล้วปลดปล่อยน้ำตาลไซโลส 1 ไมโครโมล ( $\mu\text{mol}$ ) ในเวลา 1 นาที ภายใต้สภาวะที่ทดสอบ คำนวณหาปริมาณเอนไซม์ไซแลนเนส ในหน่วยยูนิตต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่ง (U/gds) ดังสมการที่ (3.4)

$$\text{ค่ากิจกรรมเอนไซม์ไซแลนเนส (ยูนิตต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่ง)} \\ = \frac{\text{ไซแลนเนส (ยูนิตต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่ง)} \times \text{ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (3.4)$$

#### 3.4.5.2 การเจริญของเชื้อรา

การเจริญของเชื้อราสามารถวัดจากการวิเคราะห์กลูโคซามีน สุ่มเก็บตัวอย่างภายในถังหมักแบบหมุน 3 จุด โดยนำตัวอย่างแต่ละจุดไปอบแห้งเป็นเวลา 3 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาบดให้ละเอียด แล้วนำตัวอย่างปริมาณ 10 มิลลิกรัม มาเติมกรด  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ความเข้มข้นร้อยละ 60 โดยปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร พักทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง นำมาปรับความเข้มข้นให้เป็น 0.5 โมลาร์ ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปทำปฏิกิริยาโดยให้ความร้อนในหม้อนึ่งไอน้ำความดันสูงที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที จากนั้นพักไว้จนถึงอุณหภูมิห้อง แล้วนำมาปรับค่า pH เท่ากับ 7 ด้วยสารละลาย  $\text{H}_2\text{SO}_4$  และ สารละลาย  $\text{NaOH}$  แล้วจึงปรับปริมาตรสารละลายตัวอย่างเป็น 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำสารละลายตัวอย่างปริมาณ 2 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลาย  $\text{NaNO}_2$  ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตรและสารละลาย  $\text{KHSO}_4$  ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ทิ้งไว้สักพัก หลังจากนั้นดูดส่วนใสปริมาณ 3 มิลลิลิตร เติมสารละลายเอกซาร์เป็นเอกซาร์ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$H_2N_2SO_3$  ความเข้มข้นร้อยละ 12.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมสารเป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นเติมสารละลาย MBTH ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 3 นาทีแล้วทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็ว เติมสารละลาย  $FeCl_3$  ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร พักทิ้งไว้ในที่ ไม่มีแสงเป็นเวลา 30 นาที หลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร ปริมาณกลูโคซามีนในตัวอย่างสามารถคำนวณได้จากกราฟมาตรฐานของสารละลาย D-glucosamine hydrochloride และแสดงผลของการเจริญของเชื้อราโดยคำนวณจากสมการที่ 3.5 ในหน่วยของมิลลิกรัมกลูโคซามีนต่อกรัมซบสเตรทแห้ง

ปริมาณกลูโคซามีน (มิลลิกรัมต่อกรัมซบสเตรทแห้ง)

$$= \frac{\text{ปริมาณกลูโคซามีน(มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} \times \text{ปริมาตรทั้งหมดของสารละลาย (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักแห้งของตัวอย่าง (กรัม)}} \quad (3.5)$$

และสามารถคำนวณอัตราการเจริญจำเพาะ ( $\mu$ , ต่อวัน) จากสมการที่ 3.6

$$\mu = \frac{1}{X} \frac{dX}{dt} \quad (3.6)$$

$X$  คือ ปริมาณกลูโคซามีนต่อกรัมซบสเตรทแห้ง (มิลลิกรัมต่อกรัมซบสเตรทแห้ง)

$t$  คือ ระยะเวลา (วัน)

#### 3.4.5.3 การวิเคราะห์ทางสถิติ

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ วิเคราะห์ความแปรปรวนแบบ Two-way ANOVA ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยโปรแกรม Microsoft excel 2010

## บทที่ 4

### ผลและวิจารณ์การทดลอง

#### 4.1 การปรับปรุงถึงหมักแบบหมุน

หลังจากทำการปรับปรุงถึงหมักแบบหมุนของกฤตนันท์และคณะ (2559) โดยการติดตั้งชุดควบคุมความชื้น เปลี่ยนตำแหน่งการเติมอากาศและป้องกันการรบกวนของชั้นสเตรทระหว่างการหมักพบว่าสามารถควบคุมความชื้นสัมพัทธ์ภายในถังได้ในระดับร้อยละ 90-99 แต่อย่างไรก็ตามความชื้นของชั้นสเตรทระหว่างการหมักยังลดลงแต่ลดลงอย่างช้าจากเริ่มต้นที่ร้อยละ 60 ฐานเปียก ความชื้นของชั้นสเตรทลดลงค่อนข้างช้าจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ซึ่งความชื้นของชั้นสเตรทลดลงเหลืออยู่ในช่วงร้อยละ 47-24 ฐานเปียก ทั้งนี้อาจเกิดจากความสามารถในการอุ้มน้ำของชั้นสเตรทลดลง เนื่องจากสารอาหารภายในชั้นสเตรทเกิดการเปลี่ยนแปลง จากตารางที่ 4.2 พบว่าความชื้นสัมพัทธ์ภายในถังหมักก่อนการปรับปรุงลดลงอย่างต่อเนื่องระหว่างการหมักเนื่องจากไม่มีการควบคุมความชื้นภายในถังและส่งผลให้ความชื้นของชั้นสเตรทลดลงอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมักจากเริ่มต้นร้อยละ 60 ฐานเปียก ลดลงเหลือเพียงเฉลี่ยประมาณร้อยละ 24 ฐานเปียก และเมื่อทดสอบความสามารถในการป้องกันชั้นสเตรทภายในถังหมักที่รบกวนพบว่า มีร้อยละการรบกวนของชั้นสเตรทเท่ากับ 10.58 เนื่องจากไม่ได้ทำฝาปิดถึงหมักด้านในและใช้มุ้งลวดห่อหุ้มรอบถึงหมักซึ่งขนาดช่องค่อนข้างใหญ่เมื่อเปรียบเทียบกับขนาดของอนุภาคชั้นสเตรท แต่หลังจากการปรับปรุงถึงหมักแบบหมุนร้อยละการรบกวนลดลงเหลือเพียง 0.27 เนื่องจากมีการทำฝาปิดถึงหมักด้านใน ใช้ตาข่ายแบบไฟเบอร์ซึ่งมีขนาดช่องค่อนข้างเล็กเมื่อเปรียบเทียบกับขนาดอนุภาคของชั้นสเตรทห่อหุ้มรอบถึงหมักและมีการติดตั้งสวดก ซึ่งสามารถป้องกันการรบกวนของชั้นสเตรทได้ดี

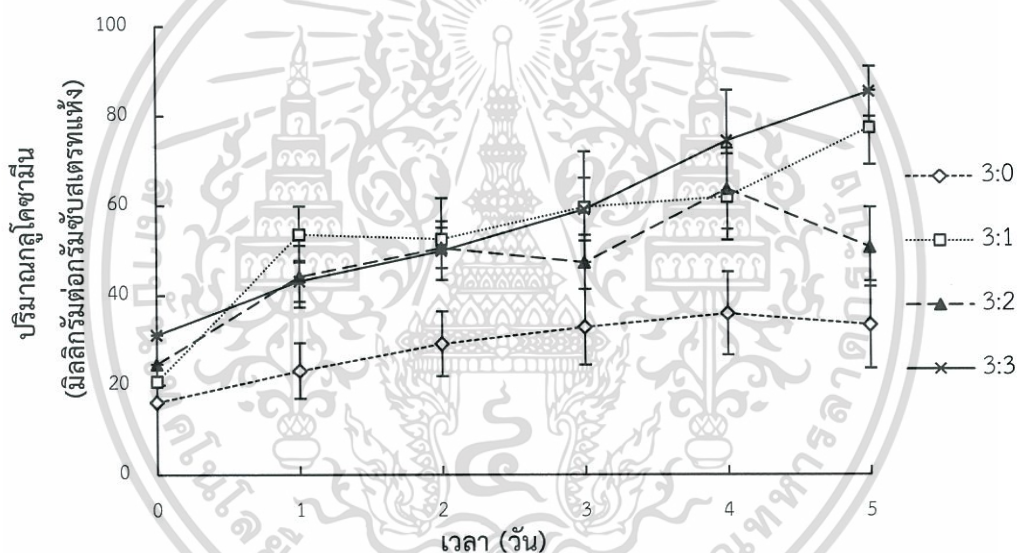
#### 4.2 ผลของการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศต่อการเจริญของเชื้อรา *T. reesei*

การศึกษาผลของอัตราการเติมอากาศ 0.5 1.0 และ 1.5 vvm และการเติมรำข้าวสาลีในกากมะพร้าวที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 ต่อการเจริญของเชื้อรา *T. reesei* ในระหว่างการหมักแบบอาหารแข็งโดยการวัดปริมาณกลูโคซามีน

ในการหมักกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี โดยใช้อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm พบว่าที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีปริมาณกลูโคซามีนสูงที่สุด เท่ากับ  $85.59 \pm 5.59$  มิลลิกรัมต่อกรัมชั้นสเตรทแห้ง ในวันที่ 5 ของการหมัก จากรูปที่ 4.1 จะเห็นว่าปริมาณกลูโคซามีนของอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลีที่ 3:3 เริ่มต้นเท่ากับ 31.16 มิลลิกรัมต่อกรัมชั้นสเตรทแห้ง หลังจากนั้นปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลีที่ 3:3 เริ่มต้นเท่ากับ 31.16 มิลลิกรัมต่อกรัมชั้นสเตรทแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

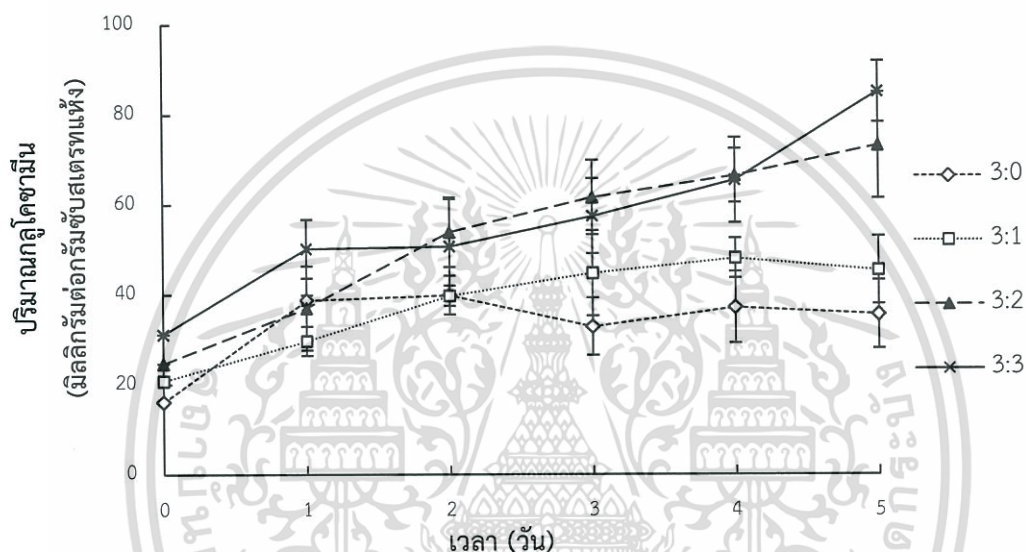
มะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ 16.14 มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง พบว่ามีปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างช้าจนกระทั่งสูงสุดในวันที่ 4 ของการหมัก เท่ากับ  $35.92 \pm 9.28$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง หลังจากนั้นปริมาณกลูโคซามีนมีแนวโน้มลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ 20.83 มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง พบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมักและค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 4 หลังจากนั้นเพิ่มสูงขึ้นเท่ากับ  $77.35 \pm 8.25$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง ในวันที่ 5 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้น เท่ากับ 24.67 มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง พบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องระหว่างวันที่ 0 ถึงวันที่ 2 ของการหมัก เท่ากับ  $50.56 \pm 4.53$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง จากนั้นปริมาณกลูโคซามีนมีแนวโน้มลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก



รูปที่ 4.1 ผลของอัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm และ อัตราการเติมรำข้าวสาลีต่อการเจริญของเชื้อรา *T. reesei*

ในการหมักกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี โดยใช้อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm พบว่าที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีปริมาณกลูโคซามีนสูงที่สุดเท่ากับ  $85.05 \pm 6.77$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จากรูปที่ 4.2 จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:3 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นที่ 31.16 มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง แล้วเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมักเท่ากับ  $50.21 \pm 6.55$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง หลังจากนั้นปริมาณกลูโคซามีนค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 4 ของการหมักแล้วจึงเพิ่มขึ้นอีกครั้งในวันที่ 5 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ 16.14 มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง พบว่าเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึง  $38.75 \pm 1.10$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่งในวันที่ 1 ของการหมักแล้วค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ  $20.83$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่ง พบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มสูงขึ้นอย่างคงที่จนถึง  $48.13 \pm 4.40$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่งในวันที่ 4 ของการหมัก จากนั้นจึงลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ  $24.67$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่ง พบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มสูงขึ้นค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาของการหมัก

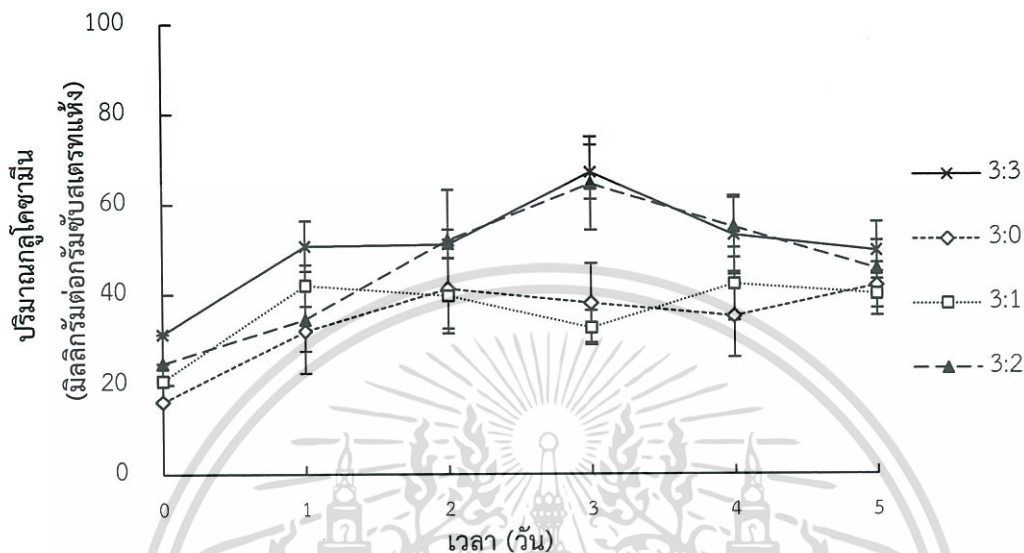


รูปที่ 4.2 ผลของอัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm และ อัตราการเติมรำข้าวสาลีต่อการเจริญของเชื้อรา *T. reesei*

ในการหมักกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี โดยใช้อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm พบว่าที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีปริมาณกลูโคซามีนสูงที่สุดเท่ากับ  $67.08 \pm 6.00$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่งในวันที่ 3 ของการหมัก จากรูปที่ 4.3 จะเห็นว่าอัตราส่วน 3:3 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นที่  $31.16$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่ง มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นค่อนข้างคงที่จนถึงวันที่ 3 ของการหมัก จากนั้นปริมาณกลูโคซามีนลดลงจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ  $16.14$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่ง พบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างคงที่จนถึงวันที่ 2 ของการหมัก หลังจากนั้นค่อนข้างคงที่ตลอดจนวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ  $20.83$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่ง พบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึง  $42.00 \pm 4.63$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห่งในวันที่ 1 ของการหมัก จากนั้นมีแนวโน้มค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีปริมาณ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กลูโคซามีนเริ่มต้นเท่ากับ 24.67 มิลลิกรัมต่อกรัมซัพสเตรทแห้ง พบว่าปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มขึ้นอย่างคงที่จนถึงวันที่ 3 ของการหมัก ซึ่งมีปริมาณกลูโคซามีนเท่ากับ  $64.54 \pm 10.32$  มิลลิกรัมต่อกรัมซัพสเตรทแห้ง หลังจากนั้นปริมาณกลูโคซามีนจึงลดลงอย่างต่อเนื่องจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก



รูปที่ 4.3 ผลของอัตราการเติม 1.5 vvm และอัตราการเติมรำข้าวสาลีต่อการเจริญของเชื้อรา *T. reesei*

จากรูปที่ 4.1 4.2 และ 4.3 จะเห็นว่าการเติมรำข้าวสาลีในกากมะพร้าวที่อัตราส่วนต่าง ๆ ส่งผลให้ปริมาณกลูโคซามีนของเชื้อรา *T. reesei* เพิ่มขึ้น โดยที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีปริมาณกลูโคซามีนสูงที่สุด อาจเกิดจากองค์ประกอบทางเคมีภายในรำข้าวสาลี ได้แก่ โปรตีน ซึ่งมีปริมาณร้อยละ 18.28 ส่งผลให้การเจริญของเชื้อราสูงขึ้น เนื่องจากโปรตีนเป็นแหล่งไนโตรเจนสำคัญต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ของเชื้อรา และจะเห็นอีกว่าที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีการเจริญต่ำที่สุด เนื่องจากกากมะพร้าวมีปริมาณโปรตีนต่ำ (ร้อยละ 6.47) ทำให้การเจริญของเชื้อราค่อนข้างน้อยเมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ ที่มีการเติมรำข้าวสาลี

#### 4.2.1 อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อรา (Specific growth rate, $\mu$ )

จากการเจริญของเชื้อราโดยการวัดปริมาณกลูโคซามีนสามารถนำมาคำนวณค่าอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อรา จากการเจริญของเชื้อราช่วง growth phase สามารถคำนวณได้จากสมการที่ (3.6) แสดงดังตารางที่ 4.1 พบว่าที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีอัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อราต่ำที่สุดเท่ากับ 0.20 ต่อวัน จากรูปที่ 4.1 จะเห็นว่าที่สภาวะดังกล่าวมีระยะ growth phase อยู่ช่วงระหว่างวันที่ 0 ถึง 5 ของการหมัก มีการเจริญค่อนข้างช้า จากรูปที่ 4.4 พบว่าในระหว่างการหมักอุณหภูมิภายในถังหมักเพิ่มสูงขึ้นถึงประมาณ 40 องศาเซลเซียส ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อรา เพราะอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

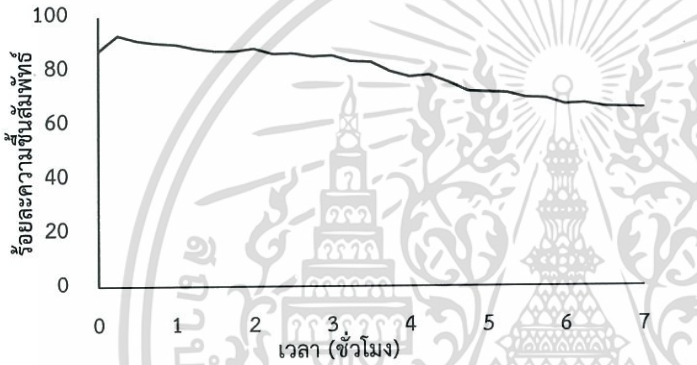
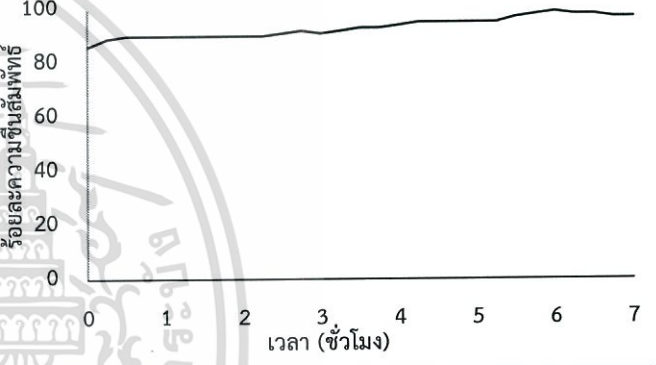
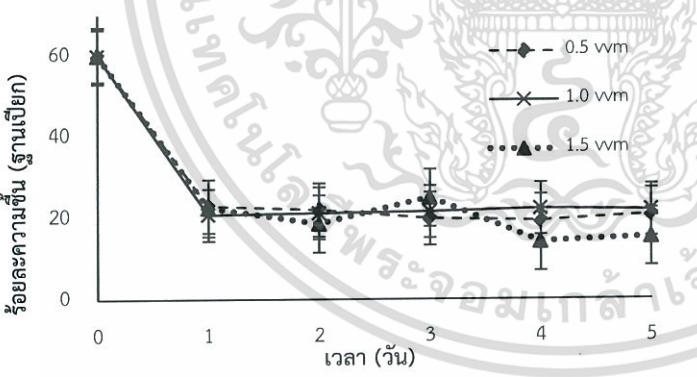
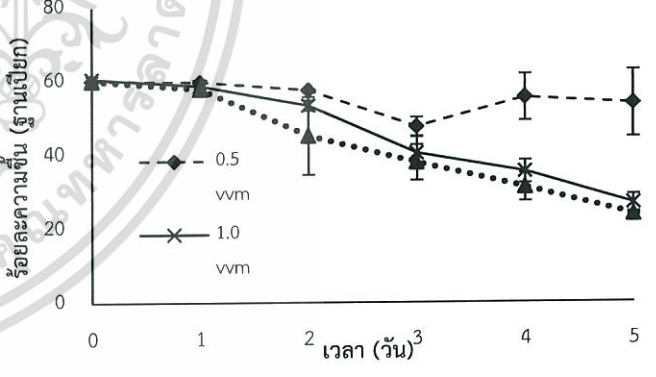
*T. reesei* อยู่ในช่วงระหว่าง 25 ถึง 35 องศาเซลเซียส (de Oliveira และคณะ, 2016) จะเห็นว่าที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีการเพิ่มขึ้นของอุณหภูมิภายในถังหมักสูงอย่างมากเมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ เนื่องจากการเพิ่มรำข้าวสาลีในกากมะพร้าวจะทำให้ความพรุนของซัสเตรทลดลง เพราะรำข้าวสาลีที่ความชื้นค่อนข้างสูงก็จะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างขนาดอนุภาครำข้าวสาลี อนุภาคมีการยึดติดกันแน่นทำให้พื้นผิวของการถ่ายเทออกซิเจนและอากาศลดลง เกิดการสะสมความร้อนภายในซัสเตรท (Lonsane และคณะ, 1985 ; Sodhi และคณะ, 2005) ทำให้การเจริญของเชื้อราจากการหมักที่อัตราส่วน 3:3 ค่อนข้างช้า ในทางกลับกันปริมาณกลูโคซามีนที่สภาวะดังกล่าวมีปริมาณกลูโคซามีนสูงที่สุด และที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการเจริญจำเพาะสูงที่สุด 0.95 ต่อวัน เมื่อสังเกตจากตารางที่ 4.1 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศและอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลีต่าง ๆ ส่งผลต่ออัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อไม่แตกต่างกัน

ตารางที่ 4.1 อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อรา *T. reesei*

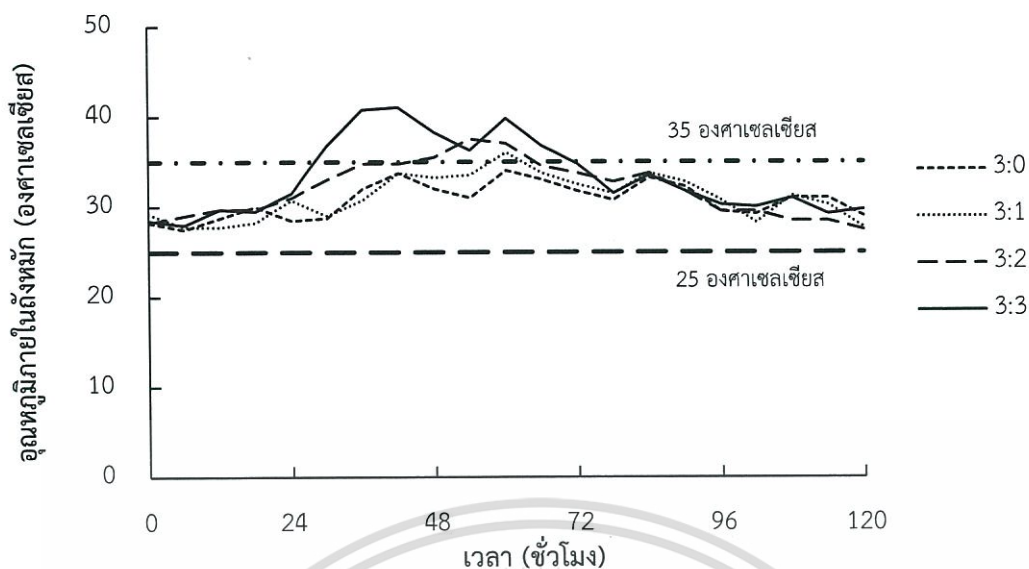
อัตราการเติมอากาศ (vvm)	อัตราส่วนกากมะพร้าว:รำข้าวสาลี (-)	อัตราการเจริญจำเพาะ (ต่อวัน)
0.5	3:0	0.30
	3:1	0.95
	3:2	0.58
	3:3	0.20
	3:0	0.88
1.0	3:1	0.32
	3:2	0.39
	3:3	0.48
	3:0	0.64
1.5	3:1	0.70
	3:2	0.37
	3:3	0.49
	3:0	0.64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 คุณสมบัติของถังหมักแบบหมักแบบหมุนก่อนและหลังทำการปรับปรุง

คุณสมบัติ	กฤตนันท์และคณะ (2559)	งานวิจัยนี้
ร้อยละการร่วงหล่นของ ชีสเตรท*	10.58	0.27
ความชื้นสัมพัทธ์ภายใน ถังหมัก*		
ความชื้นของ ชีสเตรท		

\* ทดสอบความสามารถโดยใช้กัมมะพร้าวเป็นชีสเตรทความชื้นร้อยละ 60 (ฐานเปียก) ดำเนินการในถังหมักแบบหมุน ความเร็วรอบในการหมุน 6 รอบต่อวันที่ ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm เป็นเวลา 7 ชั่วโมง



รูปที่ 4.4 อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมักที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm

### 4.3 ผลของการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

#### 4.3.1 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Filter paper cellulase (FPase)

การศึกษาอัตราการเติมอากาศ 0.5 1.0 และ 1.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 ต่อการผลิตเอนไซม์ FPase โดยใช้เชื้อรา *T. reesei* ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.5

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm (รูปที่ 4.5 (ก)) สามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงสุดที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 เท่ากับ  $5.47 \pm 1.33$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:3 มีการผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 จากนั้นลดลงจนถึงวันที่ 3 แล้วเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี 3:0 มีการผลิตเอนไซม์ค่อนข้างคงที่ตั้งแต่วันที่ 0 ถึงวันที่ 4 ของการหมัก โดยวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $4.43 \pm 0.83$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 4 ของการหมัก หลังจากนั้นค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ลดลง ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase เท่ากับ  $3.54 \pm 1.09$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ซึ่งจะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:1 มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมัก เท่ากับ  $2.21 \pm 0.18$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง และค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $5.08 \pm 1.09$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่ามีการผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมักและคงที่จนถึงวันที่ 3 จากนั้นเพิ่มขึ้นอย่างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm มีอัตราการผลิตเอนไซม์ FPase สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 เท่ากับ 3.39 หน่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ใด ๆ ทางการเมือง วิชาการ หรือเชิงพาณิชย์ หากมีข้อผิดพลาดประการใดขออภัยเป็นอย่างสูง

ต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งต่อวัน ซึ่งอยู่ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 และ 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ FPase สูงที่สุดเท่ากับ 2.21 หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งต่อวัน อยู่ในช่วงระหว่างวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 อัตราการผลิตเอนไซม์ FPase สูงที่สุดเท่ากับ 1.38 หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งต่อวัน อยู่ในช่วงระหว่างวันที่ 2 ถึง 4 ของการหมักค่อนข้างช้าเมื่อเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm (รูปที่ 4.5 (ข)) สามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ได้สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 เท่ากับ  $5.15 \pm 0.87$  หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งในวันที่ 5 ของการหมัก จากกราฟจะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:3 มีการผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมักและลดลงในวันที่ 2 จากนั้นเพิ่มขึ้นค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 การผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นค่อนข้างช้าและคงที่ตลอดระยะเวลาในการหมัก ซึ่งสามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase สูงที่สุด เท่ากับ  $3.20 \pm 0.08$  หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งในวันที่ 5 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $3.49 \pm 0.68$  หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 การผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว หลังจากนั้นค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase สูงที่สุดเท่ากับ  $4.37 \pm 1.37$  หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่ง จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:2 มีการผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 0 ถึง 2 ของการหมัก หลังจากนั้นค่อนข้างคงที่ตลอดระยะเวลาในการหมัก จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตเอนไซม์ FPase ได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm มีอัตราการผลิตที่สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 เท่ากับ 3.05 หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีอัตราการผลิตสูงที่สุด เท่ากับ 2.61 หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 1.81 หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีอัตราการผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 1.33 หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งต่อวัน ซึ่งเกิดขึ้นค่อนข้างช้า ในช่วงวันที่ 2 ถึง 3 ของการหมัก

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศที่ 1.5 vvm (รูปที่ 4.5 (ค)) สามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ  $5.88 \pm 0.83$  หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งในวันที่ 5 ของการหมัก จากกราฟพบว่าที่อัตราส่วน 3:2 มีการผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมัก และค่อนข้างคงที่ในวันที่ 2 หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase เท่ากับ  $5.09 \pm 0.42$  หน่วยต่อกรัมซับสเตอร์ทแห่งในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่า

ในช่วงวันที่ 0 ถึง 2 ของการหมัก การผลิตเอนไซม์ FPase ค่อนข้างน้อย และมีการผลิตเพิ่มสูงอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์ค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $4.86 \pm 1.24$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:1 การผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมักและลดลงเล็กน้อยในวันที่ 2 จากนั้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอีกครั้งในวันที่ 3 และคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $5.51 \pm 0.54$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 มีการผลิตเอนไซม์ FPase เพิ่มสูงขึ้นอย่างรวดเร็วและลดลงในวันที่ 2 จากนั้นมีการผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก จากการศึกษาวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตเอนไซม์ FPase ได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm มีอัตราการผลิตเอนไซม์สูงที่สุดที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 เท่ากับ 3.37 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีอัตราการผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 2.81 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตสูงที่สุดเท่ากับ 2.49 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 วันของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีอัตราการผลิตเอนไซม์สูงที่สุดเท่ากับ 2.23 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน อยู่ในช่วงวันที่ 2 ถึง 3 ของการหมัก ซึ่งค่อนข้างช้าเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ

จากการคำนวณอัตราการผลิตของเอนไซม์ FPase ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่าอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีอัตราการผลิตสูงที่สุด รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 3:1 และ 3:0 ตามลำดับ จะเห็นว่า การเติมรำข้าวสาลีในกากมะพร้าวมีความสำคัญต่อการผลิตเอนไซม์ FPase ส่งผลให้มีอัตราการผลิตสูงขึ้น เนื่องจากการเติมรำข้าวสาลีมีปริมาณโปรตีนสูงเหมือนเป็นการเพิ่มแหล่งไนโตรเจน ซึ่งช่วยเพิ่มการผลิตเอนไซม์ด้วยเช่นกัน (Vishwanatha และคณะ, 2009)

#### 4.3.2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ Caboxymethyl cellulase (CMCase)

การศึกษาอัตราการเติมอากาศ 0.5 1.0 และ 1.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 ต่อการผลิตเอนไซม์ CMCase โดยใช้เชื้อรา *T. reesei* ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.6

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm (รูปที่ 4.6 (ก)) สามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้มากที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ  $13.17 \pm 1.24$  จากกราฟพบว่าที่อัตราส่วน 3:2 มีการผลิตเอนไซม์ CMCase เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 2 ของการหมัก หลังจากนั้นการผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนสูงที่สุดในวันที่ 4 แล้วลดลงในวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 วัดค่ากิจกรรมของ

เอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $6.44 \pm 1.07$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันสุดท้ายของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:0 การผลิตเอนไซม์ CMCase ค่อนข้างคงที่อย่างช้าตลอดระยะเวลาการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัตถุประสงค์กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $10.71 \pm 0.90$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าสามารถผลิตเอนไซม์ CMCase ได้อย่างรวดเร็วในวันแรกและคงที่ในวันที่ 2 หลังจากนั้นเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วอีกครั้งในวันที่ 3 จากนั้นคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 วัตถุประสงค์กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $11.39 \pm 0.95$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:3 สามารถผลิตเอนไซม์ CMCase ได้อย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมัก หลังจากนั้นการผลิตเพิ่มขึ้นค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ  $0.5 \text{ vvm}$  มีอัตราการผลิตที่สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 เท่ากับ  $4.98$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 2 จนถึง 3 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุด เท่ากับ  $4.32$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 จนถึงวันที่ 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุด ใกล้เคียงกับอัตราส่วน 3:3 เท่ากับ  $4.31$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน แต่เกิดขึ้นค่อนข้างช้าอยู่ในช่วงวันที่ 2 จนถึง 4 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุดเท่ากับ  $2.05$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ซึ่งค่อนข้างต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ และเกิดขึ้นค่อนข้างช้า อยู่ในช่วงวันที่ 2 จนถึงวันที่ 3 ของการหมัก

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ  $1.0 \text{ vvm}$  (รูปที่ 4.6 (ข)) สามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้มากที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ  $12.94 \pm 2.92$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จากกราฟพบว่าที่อัตราส่วน 3:2 การผลิตเอนไซม์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรก และเพิ่มขึ้นอย่างคงที่จนถึงวันที่ 3 ของการหมัก หลังจากนั้นค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 วัตถุประสงค์กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $5.82 \pm 0.47$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าการผลิตเอนไซม์ CMCase ที่อัตราส่วน 3:0 เพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องแต่ค่อนข้างช้าตลอดระยะเวลาการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัตถุประสงค์กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $11.12 \pm 0.28$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:1 สามารถผลิตเอนไซม์ CMCase ได้อย่างต่อเนื่องในวันแรก และค่อนข้างคงที่ในวันที่ 2 จากนั้นเพิ่มขึ้นอย่างคงที่จนถึงวันที่ 4 และคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 วัตถุประสงค์กิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $10.95 \pm 1.78$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:3 สามารถผลิตเอนไซม์ได้อย่างรวดเร็วในวันแรกของการหมัก จากนั้นการผลิตเอนไซม์ลดลงวันที่ 2 แล้วมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่โดยไม่ได้รับอนุญาต  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมัก จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 เท่ากับ 4.02 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 3.99 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุด เท่ากับ 3.07 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน แต่เกิดขึ้นค่อนข้างช้าอยู่ในช่วงวันที่ 2 จนถึงวันที่ 4 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 1.93 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm (รูปที่ 4.6 (ค)) สามารถวัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ  $11.17 \pm 1.00$  ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 5 ของการหมัก จากกราฟพบว่าที่อัตราส่วน 3:2 สามารถผลิตเอนไซม์ CMCase ได้อย่างรวดเร็วตั้งแต่วันแรกของการหมัก จากนั้นการผลิตเอนไซม์มีแนวโน้มเพิ่มขึ้นค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 วัดค่ากิจกรรมเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $6.90 \pm 0.74$  ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:0 การผลิตเอนไซม์ CMCase ค่อนข้างน้อยและเพิ่มขึ้นอย่างคงที่ตลอดระยะเวลาในการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $10.49 \pm 2.60$  ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 5 ของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:1 สามารถผลิตเอนไซม์ CMCase ได้อย่างรวดเร็วในวันที่ 1 ของการหมัก และมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 3 ของการหมัก หลังจากนั้นค่อนข้างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $10.95 \pm 1.78$  ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 4 ของการหมัก จะเห็นว่าที่อัตราส่วน 3:3 มีการผลิตเอนไซม์ CMCase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วตั้งแต่วันแรกของการหมัก และเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องจนถึงวันที่ 4 และลดลงเพียงเล็กน้อยในวันที่ 5 จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase ที่สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 เท่ากับ 4.04 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึงวันที่ 1 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 3.58 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงที่สุด เท่ากับ 3.14 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 จนถึงวันที่ 3 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีอัตราการผลิตต่ำที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับอัตราส่วนอื่น ๆ เท่ากับ 2.16 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการเรียนการสอนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการคำนวณอัตราการผลิตของเอนไซม์ CMCase ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า เมื่อเติมรำข้าวสาลีในกากมะพร้าวในอัตราส่วนที่มากขึ้น อัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase มีแนวโน้มเพิ่มขึ้น แต่จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase สูงมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับสถานะอื่น ๆ แต่ช่วงเวลาที่เกิดอัตราการผลิตสูงที่สุดค่อนข้างช้า อาจเกิดจากการเติมรำข้าวสาลีในปริมาณน้อยกว่าที่อัตราส่วน 3:2 และ 3:3 ทำให้เกิดความล่าช้าในการผลิตเอนไซม์ CMCase ในขณะที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 และ 3:3 มีอัตราการผลิตสูงที่สุด โดยใช้ระยะเวลาเพียง 1 วันของการหมักเท่านั้น และสำหรับการหมักโดยไม่มีการเติมรำข้าวสาลีคือที่อัตราส่วน 3:0 จะเห็นว่ามียอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase ต่ำที่สุด

#### 4.3.3 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase

การศึกษาอัตราการเติมอากาศ 0.5 1.0 และ 1.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 ต่อการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase โดยใช้เชื้อรา *T. reesei* ซึ่งแสดงในรูปที่ 4.7

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm (รูปที่ 4.7 (ก)) พบว่าแต่ละอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี มีการผลิตของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวัน 1 ของการหมัก หลังจากนั้นลดลงเพียงเล็กน้อยจนถึงวันสุดท้ายของการหมัก วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 เท่ากับ  $65.72 \pm 2.26$  หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้งในวันที่ 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $55.37 \pm 4.81$  หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้ง ในวันที่ 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $63.23 \pm 0.91$  หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้งในวันที่ 1 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $59.49 \pm 6.00$  หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้ง ในวันที่ 1 ของการหมัก จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ที่สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 เท่ากับ 65.72 หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุดเท่ากับ 63.23 หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุดเท่ากับ 54.49 หน่วยต่อกรัมซบสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm (รูปที่ 4.7 (ข)) พบว่า แต่ละอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี มีการผลิตของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวัน 1 ของการหมัก หลังจากนั้นแนวโน้มลดลงอย่างคงที่ตลอดระยะเวลาในการหมัก วัดค่ากิจกรรม

ของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ  $62.92 \pm 4.08$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุดในวันที่ 1 ของการหมัก เท่ากับ  $59.39 \pm 1.25$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase เท่ากับ  $57.00 \pm 3.79$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 1 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $56.45 \pm 5.07$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 1 ของการหมัก จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ที่สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ 62.92 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุดเท่ากับ 59.38 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุดเท่ากับ 57.00 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุด เท่ากับ 56.45 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก

จากการทดลองการหมักโดยใช้อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm (รูปที่ 4.7 (ค)) พบว่า แต่ละอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี สามารถผลิตของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase อย่างรวดเร็วในวันแรกของการหมัก หลังจากนั้นก็มีแนวโน้มลดลงอย่างคงที่จนถึงวันสุดท้ายของการหมัก วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ  $61.88 \pm 1.92$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุดเท่ากับ  $57.20 \pm 0.78$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase เท่ากับ  $59.85 \pm 1.61$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งในวันที่ 1 ของการหมัก และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 วัดค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ได้สูงที่สุด เท่ากับ  $55.71 \pm 3.14$  หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้ง ในวันที่ 1 ของการหมัก จากการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สามารถนำมาคำนวณหาอัตราการผลิตได้ ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 จะเห็นว่าที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ที่สูงที่สุด ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:2 เท่ากับ 61.88 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก รองลงมาคือที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุด เท่ากับ 59.85 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก ที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:0 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุดเท่ากับ 57.20 หน่วยต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก และที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ไว้เพื่อการเรียนเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปเผยแพร่ขึ้นต้นการค้นคว้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

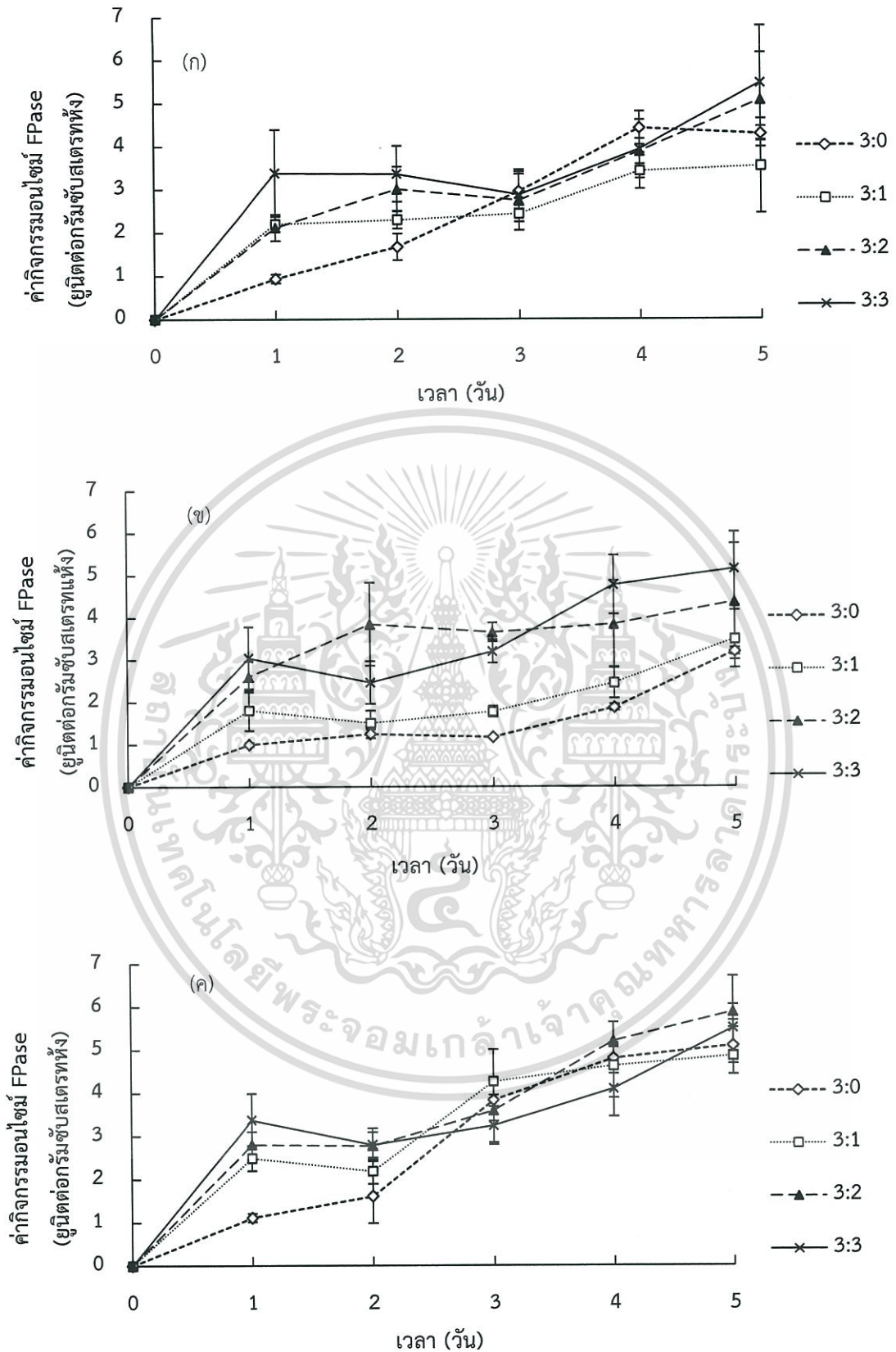
อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุด เท่ากับ 55.71 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก

จากการคำนวณอัตราการผลิตของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ซึ่งแสดงในตารางที่ 4.3 พบว่า ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase สูงที่สุด ซึ่งดูจากอัตราการผลิตเอนไซม์ที่เกิดขึ้นจากอัตราการเติมอากาศและอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลีต่าง ๆ ไม่มีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน

#### 4.3.4 ความสัมพันธ์ระหว่างการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสกับเอนไซม์ไซแลนเนส

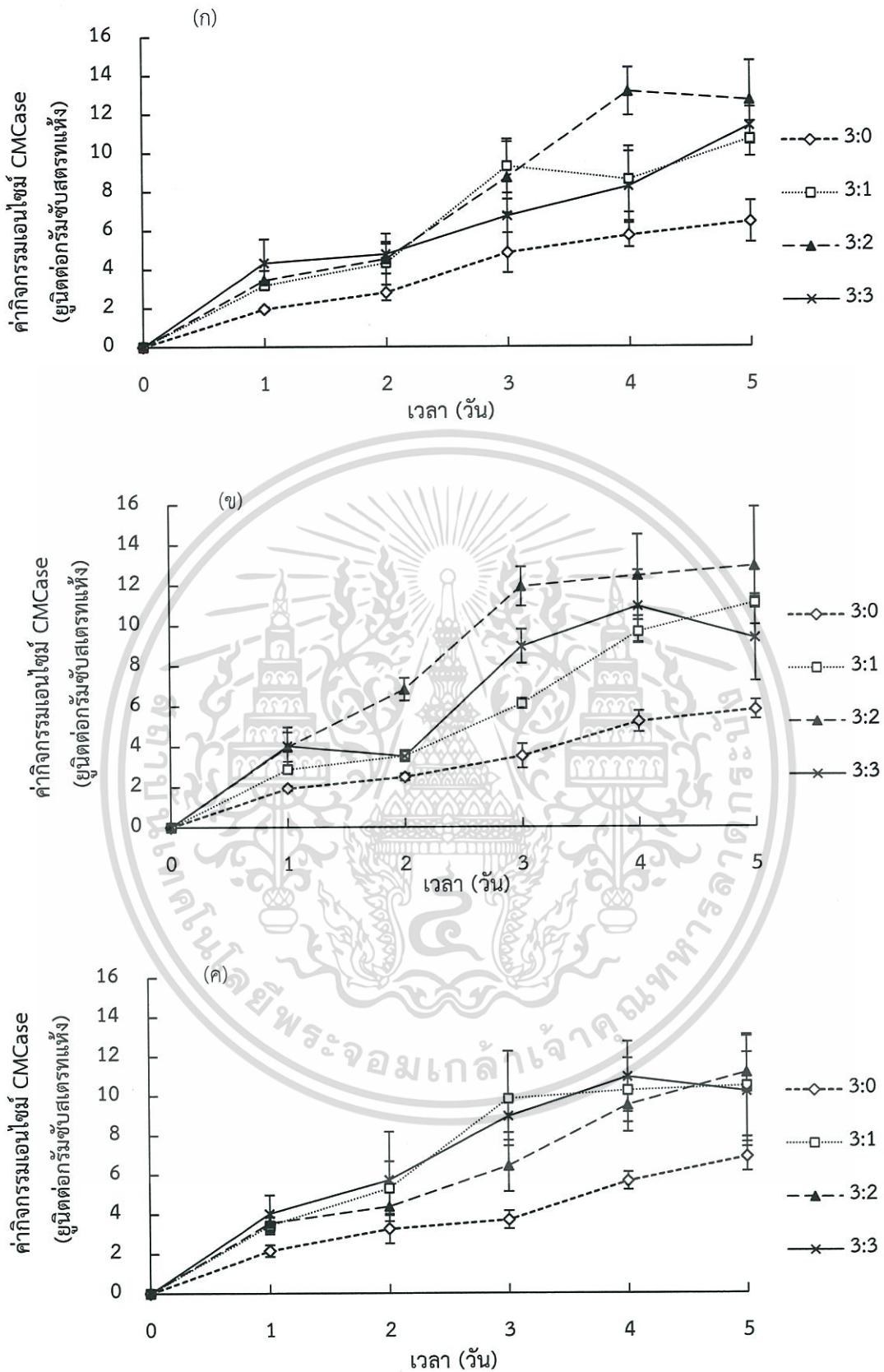
การศึกษาการผลิตเอนไซม์โดยใช้เชื้อรา *T. reesei* ในการหมักแบบ SSF นอกจากจะสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ยังสามารถผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสได้อีกด้วย งานวิจัยนี้จึงวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส ดังรูปที่ 4.8 เพื่อวิเคราะห์ความสัมพันธ์ของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซแลนเนส พบว่าจากตารางที่ 4.3 ซึ่งแสดงอัตราการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm และที่อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 มีอัตราการผลิตเอนไซม์ FPase สูงมากที่สุด เท่ากับ 3.39 ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมัก นอกจากนี้ยังมีอัตราการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสสูงมากที่สุด เท่ากับ 75.38 ยูนิตต่อกรัม ซับสเตรทแห้งต่อวัน ในช่วงวันที่ 0 ถึง 1 ของการหมักด้วยเช่นกัน สอดคล้องกับงานวิจัยของ Szczodrak (1988) ได้ศึกษาผลของความเข้มข้นฟางข้าวสาลีที่ผ่านการปรับสภาพด้วยวิธี Autohydrolysis ในอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซแลนเนส ด้วยการหมักแบบอาหารเหลวในขวดรูปชมพู่ด้วยเชื้อ *T. reesei* พบว่าที่ความเข้มข้นของฟางข้าวในอาหารเลี้ยงเชื้อร้อยละ 1.5 มีการผลิตเอนไซม์ FPase สูงที่สุด คือ 0.41 ยูนิตต่อมิลลิลิตร นอกจากนี้ยังมีการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสสูงที่สุดด้วยเช่นกัน เท่ากับ 11.39 ยูนิตต่อมิลลิลิตร Lee และคณะ (2017) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซแลนเนส โดยการหมักแบบอาหารแข็ง ในถังหมักแบบกวนแนวนอนด้วยเชื้อ *A. niger* โดยใช้ขาน้อยและกากผลเนื้อปาล์มเป็นซับสเตรท พบว่าการผลิตเอนไซม์ FPase และไซแลนเนส เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันแรกของการหมักเช่นเดียวกัน และมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงที่สุดในช่วงวันที่ 4 ถึง 5 การผลิตเอนไซม์ทั้งสองมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นในทิศทางคล้ายกัน

จากรูปที่ 4.8 ซึ่งแสดงการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศและอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลีต่าง ๆ พบว่าทุกสภาวะมีการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วภายในวันแรกจากนั้นลดลงเพียงเล็กน้อยตลอดระยะเวลาในการหมัก ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกันกับการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase (รูปที่ 4.7)



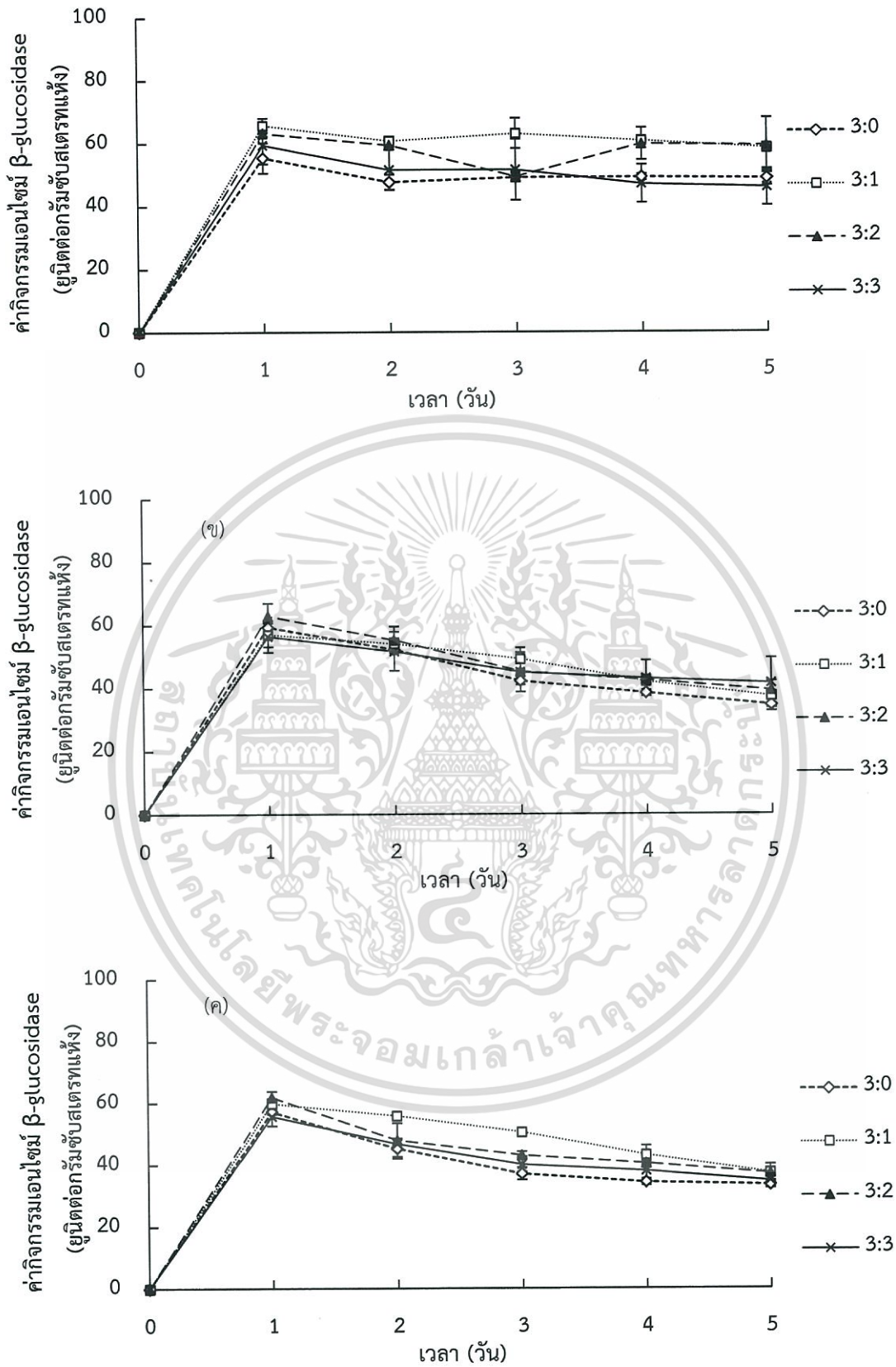
รูปที่ 4.5 ผลของอัตราการผลิตเอนไซม์ FPase ต่อการผลิตเอนไซม์ FPase (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vmm และ (ค) 1.5 vvm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ผลของอัตราการผลิตเอนไซม์ CMCase (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vvm และ (ค) 1.5 vvm ต่อการผลิตเอนไซม์ CMCase

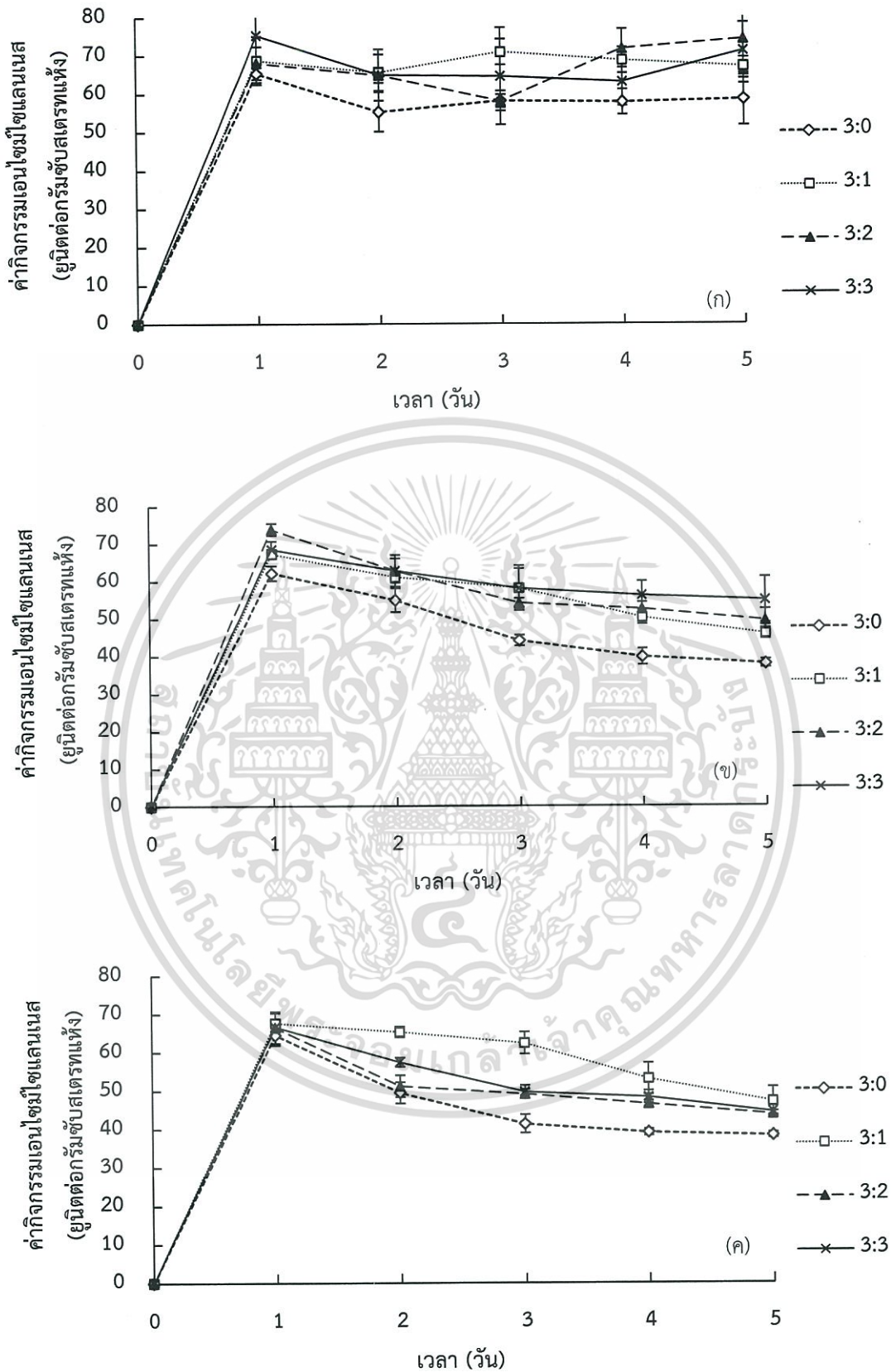
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 ผลของอัตราการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศ (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vvm และ

(ค) 1.5 vvm ต่อการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาค้นคว้าเท่านั้น เมื่ออนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ผลของอัตราการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศ (ก) 0.5 vvm (ข) 1.0 vmm และ (ค) 1.5 vvm ต่อการผลิตเอนไซม์ไซแลนเนส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและเอนไซม์ไซแลนเนสจากกากมะพร้าวโดยใช้เชื้อ *T. reesei*

อัตราการผลิต เต็มอากาศ (vvm)	อัตราส่วน กากมะพร้าว:รำข้าวสาลี (-)	อัตราการผลิตสูงสุด , ช่วงเวลา*				ค่ากิจกรรมของเอนไซม์			
		(ยูนิตต่อกรัมซบสเตรทแห้งต่อวัน , วัน)				ยูนิตต่อกรัมซบสเตรทแห้ง			
		เซลลูเลส		ไซแลนเนส		เซลลูเลส		ไซแลนเนส	
FPase	CMCase	$\beta$ -glucosidase		FPase	CMCase	$\beta$ -glucosidase			
0.5	3:0	1.38 2-4	2.05 , 2-3	55.37 , 0-1	65.39 , 0-1	4.42±0.38	4.85±1.03	55.37±4.81	65.39±2.32
	3:1	2.21 , 0-1	4.98 , 2-3	65.72 , 0-1	68.81 , 0-1	2.21±0.18	9.32±1.39	65.72±2.26	68.81±6.30
	3:2	2.21 , 0-1	4.31 , 2-4	63.23 , 0-1	68.12 , 0-1	2.21±0.31	13.17±1.2	63.23±0.91	68.12±4.26
	3:3	3.39 , 0-1	4.32 , 0-1	59.49 , 0-1	75.38 , 0-1	3.39±1.01	4.32±1.24	59.49±6.01	75.38±6.69
1.0	3:0	1.33 , 4-5	1.93 , 0-1	59.38 , 0-1	62.26 , 0-1	3.20±0.08	1.93±0.11	59.38±1.25	62.26±1.98
	3:1	1.81 , 0-1	3.07 , 2-4	57.00 , 0-1	67.43 , 0-1	1.81±0.48	9.69±0.57	57.00±3.79	67.43±1.25
	3:2	2.61 , 0-1	3.99 , 0-1	62.92 , 0-1	73.97 , 0-1	2.61±0.37	3.99±0.73	62.92±4.08	73.97±1.56
	3:3	3.05 , 0-1	4.02 , 0-1	56.45 , 0-1	68.62 , 0-1	3.05±0.73	4.02±0.89	56.45±5.07	68.62±2.25
1.5	3:0	2.23 , 2-3	2.16 , 0-1	57.28 , 0-1	64.53 , 0-1	3.84±0.48	2.16±0.29	57.28±0.78	64.53±2.61
	3:1	2.49 , 0-1	3.14 , 0-3	59.85 , 0-1	67.67 , 0-1	2.49±0.56	9.85±2.41	59.85±1.61	67.67±2.63
	3:2	2.81 , 0-1	3.58 , 0-1	61.88 , 0-1	66.50 , 0-1	2.81±0.30	3.58 ±0.27	61.88±1.91	66.50±4.11
	3:3	3.37 , 0-1	4.04 , 0-1	55.71 , 0-1	66.67 , 0-1	3.37±0.62	4.04±0.93	55.71±3.14	66.67±0.95

\*ช่วงเวลา คือ ช่วงที่อัตราการผลิตสูงสุดระหว่างทำการหมักแบบ SFF

#### 4.4 การเปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสกับงานวิจัยอื่น

เมื่อทำการเปรียบเทียบการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากงานวิจัยอื่น ๆ ดังตารางที่ 4.4 พบว่าการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดย *T. reesei* TISTR3080 และใช้กากมะพร้าวเป็นซับสเตรทในถังหมักแบบหมุน จากงานวิจัยนี้สามารถผลิตเอนไซม์ FPase, CMCase และ  $\beta$ -glucosidase ได้สูงกว่างานวิจัยของกฤตนันท์ และคณะ (2559) ซึ่งใช้เชื้อ *T. reesei* TISTR3080 และกากมะพร้าวเป็นซับสเตรทเช่นเดียวกันแต่ทำการหมักในขวดรูปชมพู่ซึ่งน่าจะเป็นผลมาจากการผสมที่ถี่ระหว่างการหมัก จากงานวิจัยของ Chakraborty และคณะ (2016) ใช้กระถินทางกระรอกเป็นซับสเตรท โดย *T. sp.* RCK65 ในขวดรูปชมพู่พบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ FPase และ CMCase ได้สูงกว่างานวิจัยนี้อาจเกิดจากองค์ประกอบทางเคมีของกระถินทางกระรอก มีเซลลูโลสสูงถึงร้อยละ 49.4 (Ajimambo และคณะ, 2017) ในขณะที่กากมะพร้าวมีเพียงร้อยละ 39.36 และจากงานวิจัยของ Lee และคณะ (2017) ใช้ขานอ้อยและกากเนื้อเมล็ดในปาล์มเป็นซับสเตรท โดย *A. niger* USM AI 1 ในถังหมักแบบกวนพบว่าสามารถผลิตเอนไซม์ CMCase ได้สูงกว่างานวิจัยนี้ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากถังหมักแบบกวนมีการรวมกลุ่มของซับสเตรท น้อยกว่าถังหมักแบบหมุนทำให้จุลินทรีย์ในถังหมักแบบกวนสามารถเจริญได้ดีกว่า

#### 4.5 ผลของอิทธิพลร่วมของอัตราการเติมอากาศและอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

จากผลการทดลองการเติมรำข้าวสาลีในกากมะพร้าวที่อัตราส่วน 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 และอัตราการเติมอากาศที่ 0.5 1.0 และ 1.5 vvm นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน ซึ่งแสดงค่า P-value ในตารางที่ 4.5 พบว่าการเติมรำข้าวสาลีที่อัตราส่วนต่าง ๆ ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญ ( $P < 0.05$ ) ต่อการผลิตเอนไซม์ FPase และ CMCase แต่ไม่ส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ให้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) นอกจากนี้ยังพบว่าอัตราการเติมอากาศไม่ได้ส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ( $P > 0.05$ ) อย่างไรก็ตาม อิทธิพลร่วมของการเติมรำข้าวสาลีและอัตราการเติมอากาศส่งผลอย่างมีนัยสำคัญต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ( $P < 0.05$ ) ทั้งเอนไซม์ FPase, CMCase และ  $\beta$ -glucosidase ในส่วนของการเจริญของเชื้อรา พบว่าผลของเฉพาะปัจจัยใดปัจจัยหนึ่งไม่ส่งผลให้การเจริญของเชื้อราให้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $P > 0.05$ ) ในทางกลับกันปัจจัยทั้งสองมีอิทธิพลร่วมกันส่งผลต่อการเจริญของเชื้อราให้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ )

ตารางที่ 4.4 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วยการหมักแบบอาหารแข็ง (SSF) จากงานวิจัยนี้และงานวิจัยอื่น

	งานวิจัยนี้	กฤตนันท์ และคณะ (Thammaratchai และคณะ, 2016)	Chakraborty และคณะ (2016)	Lee และคณะ (2017)
ซับสเตรท	กากมะพร้าว	กากมะพร้าว	กระถินทางกระรอก	ขานอ้อยและกากเนื้อเมล็ดในปาล์ม
ชนิดของเชื้อ	<i>T. reesei</i> TISTR3080	<i>T. reesei</i> TISTR3080	<i>T. sp.</i> RCK65	<i>A. niger</i> USM AI 1
ชนิดถังหมัก	ถังหมักแบบหมุน	ขวดรูปชมพู่	ขวดรูปชมพู่	ถังหมักแบบกวน
ค่ากิจกรรมเอนไซม์ (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)				
FPase	5.88	5.23	19.81	3.21
CMCase	13.17	5.18	53.88	63.4
$\beta$ -glucosidase	65.72	17.3	26.73	-

ตารางที่ 4.5 การวิเคราะห์ทางสถิติผลของอัตราการเติมอากาศและการเติมรำข้าวสาลีต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและการเจริญโดยใช้เชื้อ *T. reesei* ในถังหมักแบบหมุน

ปัจจัย	P-value			
	FPase	CMCase	$\beta$ -glucosidase	specific growth rate
การเติมรำข้าวสาลี	0.0012*	0.0072*	0.1198	0.5946
อัตราการเติมอากาศ	0.0544	0.7943	0.4767	0.9585
การเติมรำข้าวสาลี×อัตราการเติมอากาศ	0.0002*	<0.0001*	<0.0001*	<0.0001*

\*แสดงถึงความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (P<0.05)

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

#### 5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการหมักกากมะพร้าวแบบการหมักแบบอาหารแข็ง (Solid state fermentation, SSF) เพื่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยใช้เชื้อ *Trichoderma reesei* ในถังหมักแบบหมุน พบว่า อัตราการเติมอากาศและการเติมรำข้าวสาลีที่ในอัตราส่วนแตกต่างกัน ทั้งสองปัจจัยเป็นอิทธิพลร่วมซึ่งส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและการเจริญของเชื้อราอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ( $P < 0.05$ ) ซึ่งมีการผลิตเอนไซม์ FPase สูงที่สุดเมื่อทำการหมักแบบอาหารแข็ง ที่อัตราการเติมอากาศที่ 0.5 vvm และอัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:3 และ ในขณะที่การผลิตสูงสุดของเอนไซม์ CMCase และ  $\beta$ -glucosidase เกิดขึ้นจากการหมักกากมะพร้าว ที่อัตราการเติมอากาศที่ 0.5 vvm และใช้อัตราส่วนกากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี 3:1 นอกจากนี้ที่สภาวะดังกล่าวยังส่งผลให้อัตราการเจริญจำเพาะของเชื้อราสูงที่สุดอีกด้วย

#### 5.2 ข้อเสนอแนะ

1. เนื่องจากในระหว่างการหมักซึ่งควบคุมความสัมพัทธ์ภายในถัง แต่ยังไม่พบว่าความชื้นของซับสเตรทยังคงลดลง จึงควรแก้ปัญหาด้วยการติดตั้งเซอร์วัดความชื้นของซับสเตรท เครื่องควบคุมความชื้นและชุดสเปรย์พ่นละอองน้ำ เพื่อเพิ่มความชื้นของซับสเตรทโดยตรงเมื่อความชื้นของซับสเตรทต่ำกว่าที่กำหนด
2. เนื่องจากในระหว่างการหมักพบการเกาะตัวกันของซับสเตรทที่มีอนุภาคขนาดเล็กจึงควรคัดขนาดของกากมะพร้าวและรำข้าวสาลีก่อนทำการหมัก เพื่อลดการเกาะตัวของซับสเตรทและช่วยให้เกิดการผสมที่ดีขึ้น

## บรรณานุกรม

- กฤตนันท์ ธรรมรัตน์ชัย, นาริรัตน์ เหล็กเพชรและเสาวนิตย์ ไชสะอาด. 2559. “การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากกากมะพร้าวด้วยเชื้อรา *Trichoderma reesei* โดยใช้ถังหมักแบบถังหมุน.” ปริญญาโทวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- จันทร์จิรา คงอยู่ จงแจ้งกลาง, นายพนิต กิจสุบรรณ และนายชานนท์ สัตยารมณ. 2554. “การศึกษาการขยายขนาดกระบวนการหมัก *Bacillus subtilis* เพื่อผลผลิตเอนไซม์ที่มีความสามารถในการย่อย Fibrin โดยกระบวนการ หมักแบบแข็งโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์ Dimensionless Design Factors (DDF).” รายงานการวิจัย, สถาบันพัฒนาและฝึกอบรมโรงงานต้นแบบ, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- จิรศักดิ์ คงเกียรติขจร. 2557. “การหมักไฮโดรไลเสทกากมะพร้าวเพื่อลดเวลาในการผลิตกรดอะซิติก.” คณะทรัพยากรชีวภาพและเทคโนโลยี, มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.
- จงชาติ สุริยวงศ์. 2556. “ผลของกากมันสำปะหลังเสริมด้วยเอนไซม์ไซลาลเนสต่อการย่อยได้ของโภชนะสมรรถนะการ เจริญเติบโต และคุณภาพซากของไก่เนื้อ.” วิทยานิพนธ์ สาขาวิชาเทคโนโลยีการผลิตสัตว์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.
- พิมพ์ชนา วงศ์พิศาล, พรศิลป์ สีเผือก, ชัยสิทธิ์ ปรีชาและวุฒิชัย สีเผือก. 2559. “การคัดเลือกเชื้อราที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนสจากซากใบปาล์มน้ำมัน.” **แก่นเกษตร 44** ฉบับพิเศษ 1 : 948-952.
- รัชพล พะวงค์รัตน์. 2558. “กระบวนการปรับสภาพเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเอทานอลจากวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรประเภทลิกโนเซลลูโลส.” บทความหน่วยวิจัยจุลทรีย์เพื่อการเกษตรคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, วิทยาเขตกำแพงแสน, นครปฐม.
- สรารุณี มาทาและเสน่ห์ กาฬภักดี. 2547. “การออกแบบและสร้างถังหมักโคจิจ.” โครงการส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรครุศาสตร์อุตสาหกรรมบัณฑิต, สาขาวิชาวิศวกรรมอุตสาหกรรม คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม, สถาบันเทคโนโลยีราชมงคล.
- สิริมา ชินสาร และกฤษณะ ชินสาร. 2558. “การสกัดและใช้ประโยชน์เส้นใยอาหารและเซลลูโลสจากกากมะพร้าวเพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและการสร้างตัวแบบเพื่อการพยากรณ์การถ่ายเทมวลสารระหว่างการทอด.” คณะวิทยาศาสตร์, มหาวิทยาลัยบูรพา.
- โสภณ บุญล้ำ, กมลพรรณ เจือกวัน และจุฑามาศ กระจ่างศรี. 2557. “การวิจัยและถ่ายทอดเทคโนโลยี การใช้รำข้าวสาลีในอาหารเปิดไข่ที่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่.” เอกสารนี้เป็นเทคโนโลยี การใช้รำข้าวสาลีในอาหารเปิดไข่ที่มีผลต่อสมรรถภาพการผลิตและคุณภาพไข่.” ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วารสารวิจัยเพื่อการพัฒนาเชิงพื้นที่. ปีที่ 6, ฉบับที่ 5, พฤษภาคม-มิถุนายน.  
หน้า 5-16.

- Ahamed, A. and Vermette, P. 2008. "Culture-based Strategies to Enhance Cellulase Enzyme Production from *Trichoderma reesei* RUT-C30 in Bioreactor Culture Conditions." **Biochemical Engineering Journal**. 40(3). : 399–407.
- Aidoo, K. E., Hendry, R. and Wood, B. J. B. 1981. "Estimation of Fungal Growth in a Solid-state Fermentation System." **European Journal of Applied Microbiology and Biotechnology**. 12(1). : 6-9.
- Ajiambo, F., Nzila, C. and Namango, S. 2017. "Towards Bioethanol Production in Kenya – Enhanced Pretreatment of Prosopis Juliflora Using Ionic Liquids." **International Research Journal of Engineering and Technology**. 4(3). : 2
- Alam, Z., Mamun, A. A., Qudsieh, I. Y., Muyibi, S. A., Salleh, H. M. and Omar, N. M. 2009. "Solid-state Bioconversion of Oil Palm Empty Fruit Bunches for Cellulase Enzyme Production Using a Rotary Drum Bioreactor." **Biochemical Engineering Journal**. 46(1). : 61–64.
- Alonso, E. 2018. "The Role of Supercritical Fluids in the Fractionation Pretreatments of a Wheat Bran-based Biorefinery." **The Journal of Supercritical Fluids**. 133. : 603–614.
- Ang, S. K., Shaza, E. M., Adibah, Y., Suraini, A. A. and Madihah, M. S. 2013. "Production of Cellulases and Xylanase by *Aspergillus fumigatus* SK1 Using Untreated Oil Palm Trunk through Solid-state Fermentation." **Process Biochemistry**. 48(9). : 1293–1302.
- Anwar, Z., Gulfraz, M. and Irshad, M. 2014. "Agro-industrial Lignocellulosic Biomass a Key to Unlock the Future Bio-energy : A Brief Review." **Journal of Radiation Research and Applied Sciences**. 7(2). : 163–173.
- Association of Official Analytical Chemists (AOAC). (2010). "Official Methods of Analysis", 18th edition. Washington DC, USA
- Austin, J., Lewis, L. and Southern, L. 2001. **Swine Nutrition**. Second Edition. Boca Raton : CRC Press. : 821.
- Awafo, V. A., Chahal, D. S. and Simpson, B. K. 2000. "Evaluation of Combination Treatments of Sodium Hydroxide and Steam Explosion for the Production of Cellulase-systems by Two *T. reesei* Mutants under Solid-state Fermentation Conditions." **Bioresource Technology**. 73(3). : 235-245.

- Balat, M. 2011. "Production of Bioethanol from Lignocellulosic Materials via the Biochemical Pathway : A Review." **Energy Conversion and Management.** 52(2) : 858-875.
- Bedford, M. and Classen, H. 1992. "The Influence of Dietary Xylanase on Intestinal Viscosity and Molecular Weight Distribution of Carbohydrates in Rye-fed Broiler Chick." **Progress in Biotechnology.** 7 : 361-370.
- Bhat, M. K. 2000. "Cellulases and Related Enzymes in Biotechnology." **Journal of Biotechnology Advances.** 18(5) : 355–383.
- Biely, P., Vrsanska, M. and Kucar, S. 1992. "Identification and Mode of Action of Endo-(1→4)-β-Xylanases." **Progress in Biotechnology.** 7 : 81-95.
- Brahmachari, G., Demain, A. L. and Adrio, J. L. 2016. **Biotechnology of Microbial Enzymes : Production, Biocatalysis and Industrial Applications.** Academic Press Inc. : 65.
- Brahmachari, G. 2017. "Solid State Fermentation for Production of Microbial Cellulases." **Biotechnology of Microbial Enzymes.** 43-64.
- Brown, D.E., Hasan, M., Lepe-Casillas, M. and Thornton, A. J. 1990. "Effect of Temperature and pH on Lipid Accumulation by *Trichoderma reesei*." **Applied Microbiology and Biotechnology.** 34(3) : 335–339.
- Chakraborty, S., Gupta, R., Jain, K. K. and Kuhad, R. C. 2016. "Cost-effective Production of Cellulose Hydrolysing Enzymes from *Trichoderma sp.* RCK65 under SSF and Its Evaluation in Saccharification of Cellulosic Substrates." **Bioprocess and Biosystems Engineering.** 39(11). : 1659–1670.
- Challenge Group. 2013. "Xylanase." [Online]. Available : <http://www.worldenzyme.com/index.php?a=show&m=Article&id=356>. Retrieved on April 16, 2018.
- Chen, H. 2014. "Chemical Composition and Structure of Natural Lignocellulose." **Biotechnology of Lignocellulose : Theory and Practice.** : 25–71.
- Christian, V., Shrivastava, R., Shukla, D., Modi, H. A and Vyas, B. R. 2005. "Degradation of Xenobiotic Compounds by Lignin-degrading White-rot Fungi : Enzymology and Mechanisms Involved." **Indian Journal of Experimental Biology.** 43(4) : 301-312
- Coughlan, M. P., Tuohy, M. A., Filho, E. X. F., Puls, J., Claeysens, M., Vrsanska, M. and
- เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hughes, M. M. 1993. "Enzymological Aspects of Microbial Hemicellulases with Emphasis on Fungal Systems". **Hemicellulose and Hemicellulases**. 53–84.
- de Oliveira, G. S., Adriani, P. P., Borges, F. G., Lopes, A. R., Campana, P. T. and Chambergo, F. S. 2016. "Epoxide Hydrolase of *Trichoderma reesei* : Biochemical Properties and Conformational Characterization." **International Journal of Biological Macromolecules**. 89 : 569-574.
- dos Santos Castro, L., Pedersoli, W. R., Antoniêto, A. C. C., Steindorff, A. S., Silva-Rocha, R., Martinez-Rossi, N. M., Rossi, A., Brown, N. A., Goldman, G. H., Faça, V. M., Persinoti, G. F. and Silva, R. N. 2014. "Comparative Metabolism of Cellulose, Sophorose and Glucose in *Trichoderma reesei* Using High-throughput Genomic and Proteomic Analyses." **Biotechnology for Biofuels**. 7. : 41.
- Fernandez, M., Perez-Correa, J., Solar, I. and Agosin, E. 1996. "Automation of a Solid Substrate Cultivation Pilot Reactor." **Bioprocess Engineering**. 16(1) : 1–4.
- Figueroa-Montero, A., Esparza-Izunza, T., Saucedo-Castañeda, G., Huerta-Ochoa, S., Gutiérrez-Rojas, M. and Favela-Torres, E. 2011. "Improvement of Heat Removal in Solid-state Fermentation Tray Bioreactors by Forced Air Convection." **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 86. : 1321–1331.
- Garcia-Ochoa, F., Santos, V. E. and Gomez, E. 2011. "Stirred Tank Bioreactors" **Comprehensive Biotechnology**. Universidad Complutense. Elsevier : Madrid, Spain.
- Germeca, M., Karhana, M., Bialkab, K. L., Demircib, A. and Turhan, I. 2018. "Mathematical Modeling of Lactic Acid Fermentation in Bioreactor with Carob Extract." **Biocatalysis and Agricultural Biotechnology**. 14. : 254–263.
- Goering, H.K. and Van Soest, P.J. 1970. "Forage Fiber Analysis (Apparatus Reagents, Procedures and Some Applications)". **Agriculture Handbook No. 379**. United States Department of Agriculture, Washington DC.
- Gowthaman, M. K., Krishna, C., and Moo-Young, M. 2001. "Fungal Solid State Fermentation - An Overview." **Applied Mycology and Biotechnology**. 1. : 305–352.

- Hale, J. D. and Clermont, L. P. 1963. "Influence of Prosenchyma Cell-Wall Morphology on Basic Physical and Chemical Characteristics of Wood." **Journal of Polymer Science : Part C. 2.** : 253-261.
- Han, Y. W. and Anderson, A. W. 1975. "Semi-solid Fermentation of Ryegrass Straw." **Applied Microbiology.** 30(6) : 930-934.
- Hardin, M. T., Mitchell, D. A. and Howes, T. 2000. "Approach to Designing Rotating Drum Bioreactors for Solid State Fermentation on the Basis of Dimensionless Design Factors." **Biotechnology and Bioengineering.** 67(3) : 274-282.
- Himmel, M. E., Ding, S. Y., Johnson, D. K., Adney, W. S., Nimlos, M. R., Brady, J. W. and Foust, T. D. 2007. "Biomass Recalcitrance : Engineering Plants and Enzymes for Biofuels Production." **Science.** 315(5813) : 804-807.
- Howard, R. L., Abotsi, E., Jansen van Rensburg, E. L. and Howard, S. 2003. "Lignocellulose Biotechnology : Issues of Bioconversion and Enzyme Production." **African Journal of Biotechnology.** 2(12) : 602-619.
- Idris, A. S. O., Pandey, A., Rao S. S. and Sukumaran, R. K. 2017. "Cellulase Production through Solid-state Tray Fermentation, and Its Use for Bioethanol from Sorghum Stover." **Bioresource Technology.** 242 : 265-271.
- Kadic, E. and Heindel, T. J. 2014. **An Introduction to Bioreactor Hydrodynamics and Gas-Liquid Mass Transfer.** First Edition. John Wiley & Sons. Inc. : Ames, Iowa.
- Kalogeris, E., Iniotaki, F., Topakas, E., Christakopoulos, P., Kekos, D. and Macris B. J. 2003. "Performance of an Intermittent Agitation Rotating Drum Type Bioreactor for Solid-state Fermentation of Wheat Straw." **Bioresource Technology.** 86(3) : 207-213.
- Krishna, C. 1999. "Production of Bacterial Cellulases by Solid State Bioprocessing of Banana Wastes." **Bioresource Technology.** 69(3) : 231-239.
- Krishna, C. 2005. "Solid-state Fermentation Systems-An Overview." **Critical Reviews in Biotechnology.** 25(1-2) : 1-30.
- Krishna, C., and Nokes, S. E. 2001. "Influence of Inoculum Size on Phytase Production and Growth in Solid State Fermentation by *Aspergillus niger*." **Transactions of the American Society of Agricultural Engineers.** 44(4) : 1031-1036.

- Kung'u, J. "The Phases of Fungal Growth in Indoor Environment." [Online]. Available : <https://www.moldbacteria.com/mold/the-phases-of-fungal-growth-in-indoor-environment.html>. Retrieved on May 21, 2018.
- Larroche, C. 1996. "Microbial Growth and Sporulation Behaviour in Solid State Fermentation." **Journal of Scientific and Industrial Research**. 55(5) : 408–423.
- Lee, C. K., Darah, I. and Ibrahim, C. O. 2017. "Efficiency of Developed Solid State Bioreactor 'FERMSOSTAT' on Cellulolytic and Xylanase Enzymes Production." **Sains Malaysiana**. 46(8) : 1249-1257.
- Levine, J. S. 1996. **Biomass Burning and Global Change : Remote Sensing, Modeling and Inventory Development, and Biomass Burning in Africa**. The MIT Press. : Massachusetts. 1. : 35.
- Li W. Y., Teck, N. A., Gek, C. N. and Chua, A. S. M. 2014. "Fungal Solid-state Fermentation and Various Methods of Enhancement in Cellulase Production." **Biomass and bioenergy**. 67. : 319-338.
- Lilian, S. C., Pedersoli, W. R., Antoniêto, A. C. C., Steindorff, A. S., Silva-Rocha, R., Martinez-Rossi, N. M., Rossi, A., Brown, N. A., Goldman, G. H., Faça, V. M., Persinoti, G. F. and Silva, R. N. 2014. "Comparative Metabolism of Cellulose, Sophorose and Glucose in *Trichoderma reesei* Using High-throughput Genomic and Proteomic Analyses." **Biotechnology for Biofuels**. 7. : 41.
- Liu, H. Q., Yue, F., Zhao, D. Q. and Jiang, J. X. 2012. "Evaluation of Cellulases Produced from Four Fungi Cultured on Furfural Residues and Microcrystalline Cellulose." **Biodegradation**. 23(3) : 465–472.
- Lonsane, B. K., Ghildyal, N. P., Budiatman, S. and Ramakrishna, S. V. 1985. "Engineering Aspects of Solid State Fermentation." **Enzyme and Microbial Technology**. 7(6) : 258-265.
- Lonsane, B. K., Saucedo-Castaneda, S., Raimbault, M., Roussos, S., Viniegra-Gonzalez, G., Ghildyal, N. P., Ramakrishna, M., and Krishnaiah, M. M. 1992. "Scale-up Strategies for Solid State Fermentation Systems." **Process Biochemistry**. 27(5) : 259–273.
- Madadi, M. and Abbas, A. 2017. "Lignin Degradation by Fungal Pretreatment : A Review." **Journal of Plant Pathology and Microbiology**. 8(2) : 398.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Malherbe, S. and Cloete, T. E. 2003. "Lignocellulose Biodegradation : Fundamentals and Applications." **Reviews in Environmental Science and Biotechnology.** 1(2) : 105-114.
- Mari, V., Merj, P. and Mojca, B. 2014. "Intracellular pH responses in the industrially important fungus *Trichoderma reesei*." **Fungal Genetics and Biology.** 70. : 86–93.
- Maurya, D. P., Singh, D., Pratap, D. and Maurya, J. P. 2012. "Optimization of Solid State Fermentation Conditions for the Production of Cellulase by *Trichoderma reesei*." **Journal of Environmental Biology.** 33(1) : 5-8.
- Melikoglu, M., Lin, C. S. K. and Webb, C. 2015. "Solid State Fermentation of Waste Bread Pieces by *Aspergillus awamori* : Analysing the Effects of Airflow Rate on Enzyme Production in Packed Bed Bioreactors." **Food and Bioproducts Processing.** 95. : 63-75.
- Mé'ndez-González, F., Loera-Corral, O., Saucedo-Castaneda, G. and Favela-Torres, E. 2018. "Bioreactors for the Production of Biological Control Agents Produced by Solid-State Fermentation." **Current Developments in Biotechnology and Bioengineering.** 109-121.
- Miller, G. L. 1959. "Use of Dinitrosalicylic Acid Reagent for Determination of Reducing Sugar." **Analytical Chemistry.** 31(3). : 426-429.
- Mitchell, D. A., Krieger, N. and Berovic, M. 2006. "Solid-state Fermentation Bioreactors : Fundamentals of Design and Operation". **Berlin : Springer Verlag.** : 47–51, 65–75, 158–159.
- Mitchell, D. A., Targonski, Z., Rogalski, J. and Leonowicz, A. 1992. Solid Substrate Cultivation. **Elsevier Applied Science.** 29–52.
- Motta, F. L., Andrade, C. C. P. and Santan, M. H. A. 2013. "A Review of Xylanase Production by the Fermentation of Xylan : Classification, Characterization and Applications." [Online]. Available : <http://dx.doi.org/10.5772/53544>. Retrieved on May 20, 2018.
- Muñoz-Páeza, K. M., Ruiz-Ordáz, N., García-Menac, J., Ponce-Noyolad, M. T., Ramos-Valdiviadl, A. C., Robles-Gonzáleze, V., Villa-Tanacab, L., Barrera-Cortés, J., Rinderknecht-Seijasf, N. and Poggi-Varaldo, H. M. 2013. "Comparison of Biohydrogen Production in Fluidized Bed Bioreactors at Room Temperature

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- and 35 °C.” *International Journal of Hydrogen Energy*. 38(28). : 12570-12579.
- Nascimento, R. P., Junior, N. A., Pereira, N. Jr., Bon, E. P. S. and Coelho, R. R. R. 2009. “Brewer’s Spent Grain and Corn Steep Liquor as Sub-strates Forcellulolytic Enzymes Production by *Streptomyces malaysiensis*.” *Letters in Applied Microbiology*. 48(5). : 529–535.
- Olsson, C. and Westman, G. 2013. “Direct Dissolution of Cellulose : Background, Means and Applications.” *Cellulose Fundamental Aspects*. : 143-177.
- Pandey, A., Soccol, C. R., and Mitchell, D. 2000. “New Developments in Solid-state Fermentation : I. Bioprocess and Products.” *Process Biochemistry*. 35(10). : 1153–1169.
- Pandey, A., Soccol, C. R., Rodriguez-Leon, J. A., and Nigam, P. 2001. “Solid-State Fermentation in Biotechnology – Fundamentals and Applications.” *Bioresource Technology*. 82(3) : 305-305.
- Pandey, S., Srivastava, M., Shahid, M., Kumar, V., Singh, A., Trivedi, S. and Srivastava, Y. K. 2015. “*Trichoderma* Species Cellulases Produced by Solid State Fermentation.” *Journal of Data Mining in Genomics & Proteomics*. 6 : 2.
- Panneerselvam, A. 2013. “Ozonolysis – A Novel Oxidative Pretreatment Technology for Energy Grasses.” Doctoral thesis of North Carolina State Biological and Agricultural Engineering.
- Pardo, E., Mari´n, S., Sanchis, V. and Ramos, A. J. 2005. “Impact of Relative Humidity and Temperature on Visible Fungal Growth and OTA Production of Ochratoxigenic *Aspergillus ochraceus* Isolates on Grapes.” *Food Microbiology*. 22(5). : 383-389.
- Prescott, L. M., Harley, J. P. and Klein, D. A. 2004. *Microbiology*. 6th Edition. McGraw-Hill : New York.
- Raimbault, M. 1998. “General and Microbiological Aspects of Solid Substrate Fermentation.” *Electronic Journal of Biotechnology*. 1(3). : 26-27.
- Rajesh, M.J., Rajesh, L. and Abachire, L.W. 2012. “Optimization of Solid State Fermentation Conditions for the Production of Cellulase by Using

*Trichoderma Reesei.*” **European Journal of Applied Engineering and Scientific Research.** 1(4) : 196-200.

Ramesh, M. V. and Lonsane, B. K. 1990. “Critical Importance of Moisture Content of the Medium in Alpha-amylase Production by *Bacillus Licheniformis* in a Solid-state Fermentation System.” **Applied Microbiology and Biotechnology.** 33(5) : 501–505.

Ray, R. C. and Behera, S. S. 2017. “Solid State Fermentation for Production of Microbial Cellulases.” **Biotechnology of Microbial Enzymes.** 92. : 43-79.

Sajith, S., Priji, P., Sreedevi, S. and Benjamin, S. 2016. “An Overview on Fungal Cellulases with an Industrial Perspective.” **Journal of Nutrition and Food Sciences.** 6(1) : 461.

Salihu, A., Abbas, O., Sallau, A. B. and Alam, Z. 2015. “Agricultural Residues for Cellulolytic Enzyme Production by *Aspergillus niger*: Effects of Pretreatment.” **Biotechnology.** 5. : 1101–1106.

Schoemaker, H. E., Tuor, U., Muheim, A., Schmidt H. W. H. and Leisola, M. S. A. 1991. “White-rot degradation of Lignin and Xenobiotics.” **Biodegradation : Natural and Synthetic Materials.** 1. : 157-158.

Shuhei, Y., Ryosuke, Y., Shohei, K., Hideo, N., Tomohisa, H., Tsutomu, T., Chiaki, O., Hideki, F. and Akihiko, K. 2010. “Ethanol Production from Cellulosic Materials Using Cellulose-expressing Yeast.” **Biotechnol Journal.** 5(5) : 449-455.

Sindhu, R., Pandey, A. and Binod, P. 2015. “Solid-state Fermentation for the Production of Poly (hydroxyalkanoates).” **Chemical and Biochemical Engineering Quarterly.** 29(2) : 173–181.

Singhania, R. R., Sukumaran, R. K., Patel, A. K., Larroche, C. and Pandey, A. 2010. “Advancement and Comparative Profiles in the Production Technologies using Solid-state and Submerged Fermentation for Microbial Cellulases.” **Enzyme and Microbial Technology.** 46(7) : 541–549.

Sodhi, H. K., Sharma, K., Gupta, J. K. and Soni, S. K. 2005. “Production of a Thermostable  $\alpha$ -amylase from *Bacillus* sp. PS-7 by Solid State Fermentation and Its Synergistic Use in the Hydrolysis of Malt Starch for Alcohol Production.” **Process Biochemistry.** 40(2) : 525-534.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Sreenath, H. K., Moldes, A. B., Koegel, R. G. and Straub, R. J. 2001. "Lactic Acid Production from Agriculture Residues." **Biotechnology Letters**. 23(3). : 179-184.
- Suha, S.S., Güray, A. and Vardar-Sukan, F. 1989. "Effects of Natural Oils and Surfactants on Cellulase Production and Activity." **Journal of Chemical Technology and Biotechnology**. 46(3). : 179-187.
- Szczodrak, J. 1988. "Production of Cellulases and Xylanase by *Trichoderma reesei* F-522 on Pretreated Wheat Straw." **Acta Biotechnology**. 8(6). : 509-515
- Taherzadeh, M. J. and Karimi, K. 2008. "Pretreatment of Lignocellulosic Wastes to Improve Ethanol and Biogas Production : A Review." **International Journal of Molecular Sciences**. 9(9). : 1621-1651.
- Tien, M. and Kirk, T. K. 1983. "Lignin-degrading Enzyme from the Hymenocyte *Phanerochaete Chrysosporium* Burds." **Science**. 221(4611). : 661-663.
- Thammaratchai, K., Lexpet, N., Kaisaard, S. and Chysirichote, T. 2018. "Uses of Copra Waste and Wheat Bran for Cellulase Production by *Trichoderma reesei* in Solid State Fermentation." **Proceedings of the 2018 8th International Conference on Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics**. 56-59.
- Utharalakshmi, N., Kumar, A. G. and Narendrakumar, G. 2015. "Optimization of Cellulase Producing *Aspergillus flavus* SB4 by Solid-State Fermentation Using Response Surface Methodology (RSM)-CCD." **Research Journal of Pharmacy and Technology**. 8(4). : 349-354.
- Valkonen, M., Penttilä, M. and Benčina, M. 2014. "Intracellular pH Responses in the Industrially Important Fungus *Trichoderma reesei*." **Fungal Genetics and Biology**. 70. : 86-93.
- Vishwanatha, K. S., Rao, A. G. A. and Singh, S. A. 2010. "Acid Protease Production by Solid-state Fermentation Using *Aspergillus oryzae* MTCC 5341 : Optimization of Process Parameters." **Journal of Industrial Microbiology & Biotechnology**. 37(2). : 129-138.
- Wang, T., Yang, H., Kubicki, J. D. and Hong, M. 2016. "Cellulose Structural Polymorphism in Plant Primary Cell Walls Investigated by High-Field 2D Solid-State NMR Spectroscopy and Density Functional Theory Calculations." **Biomacromolecules**. 17(6). : 2210-2222.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Xu, F., Chen, H. and Li, Z. 2002. "Effect of Periodically Dynamic Changes of Air on Cellulase Production in Solid-state Fermentation." **Enzyme and Microbial Technology**. 30(1) : 45-48.
- Yadav, J. S. 1988. "SSF of Wheat Straw with Alcaliphilic *Coprinus*." **Biotechnology and Bioengineering**. 31(5) : 414-417.
- Yalegama, L. L. W. C., Karunaratne, D. N., Sivakanesanc, R. and Jayasekara, C. 2013. "Chemical and Functional Properties of Fibre Concentrates Obtained from Byproducts of Coconut Kernel." **Food Chemistry**. 141(1) : 124-130.
- Zainuddin, M. F., Shamsudin, R., Mokhtar, M. N. and Ismail. D. 2014. "Physicochemical Properties of Pineapple Plant Waste Fibers from the Leaves and Stems of Different Varieties." **BioResources**. 9(3) : 5311-5324.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก

### ภาคผนวก ก วิธีการทดลอง

- ก.1 วิธีการเตรียมสารมาตรฐาน
- ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีการ DNS
- ก.3 กราฟมาตรฐานสำหรับคำนวณปริมาณกลูโคซามีน ค่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสและไซแลนเนส

### ภาคผนวก ข ข้อมูลดิบ

- ข.1 กราฟความชื้นของซบسترระหว่างการทำหมัก
- ข.2 กราฟอุณหภูมิภายในถังหมัก
- ข.3 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์และปริมาณกลูโคซามีน
- ข.4 องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี

### ภาคผนวก ค รูปภาพ

- ค.1 ส่วนประกอบของถังหมักแบบหมุน
- ค.2 เชื้อรา *Trichoderma reesei* และอาหารเลี้ยงเชื้อ
- ค.3 ซบسترที่ตัวอย่างที่ทำการหมักในแต่ละวัน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. ขั้นตอนการเตรียมสารมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน

1. เตรียมสารละลาย D-glucosamine hydrochloride ที่มีความเข้มข้น 0 5 10 15 20 และ 25 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร
2. นำสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 2 มิลลิลิตร มาผสมกับสารละลาย  $\text{NaNO}_2$  ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตรและสารละลาย  $\text{KHSO}_4$  ความเข้มข้นร้อยละ 5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้จนไม่เกิดแก๊ส
3. หลังจากนั้นดูดส่วนใสจากสารละลายข้อ 2 ปริมาณ 3 มิลลิลิตร เติมสารละลาย  $\text{H}_6\text{N}_2\text{SO}_3$  ความเข้มข้นร้อยละ 12.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร เขย่าด้วย เครื่องผสมสารเป็นเวลา 3 นาที
4. เติมสารละลาย MBTH ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 นาที หลังจากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิต่ำ
5. เติมสารละลาย  $\text{FeCl}_3$  ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยมวลต่อปริมาตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร พักทิ้งไว้ในที่มืด 30 นาที
6. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร

## 2. ขั้นตอนการเตรียมสารมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์

สมการมาตรฐานเจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร

1. เตรียมสารละลาย D-glucose ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.01 0.03 0.05 0.07 0.09 0.11 และ 0.13 โดยมวลต่อปริมาตร
2. นำสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง
3. เตรียมสารละลาย DNS และเติมลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายในข้อ 2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
4. นำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วจากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิต่ำ
5. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 3 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
6. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

สมการมาตรฐานเจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร

1. เตรียมสารละลาย D-glucose ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.20 0.25 0.30 0.40 และ 0.50 โดยมวลต่อปริมาตร
2. นำสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง
3. เตรียมสารละลาย DNS และเติมลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายในข้อ 2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
4. นำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วจากนั้นทำให้อุณหภูมิ ลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิต่ำ
5. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 6 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
6. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

## 2. ขั้นตอนการเตรียมสารมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์เอนไซม์ไซแลนเนส

สมการมาตรฐานเจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร

1. เตรียมสารละลาย D-xylose ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.01 0.03 0.05 0.07 0.09 และ 0.11 โดยมวลต่อปริมาตร
2. นำสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง
3. เตรียมสารละลาย DNS และเติมลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายในข้อ 2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
4. นำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วจากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิต่ำ
5. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 3 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
6. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

สมการมาตรฐานเจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร

1. เตรียมสารละลาย D-xylose ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 0.2 0.3 0.4 0.5 และ 0.6 โดยมวลต่อปริมาตร
2. นำสารละลายที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. เตรียมสารละลาย DNS และเติมลงในหลอดทดลองที่มีสารละลายในข้อ 2 ปริมาณ 1 มิลลิลิตร หลังจากนั้นเขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
4. นำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วจากนั้นทำให้อุณหภูมิลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงอุณหภูมิห้อง
5. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 6 มิลลิลิตร เขย่าด้วยเครื่องผสมสารให้เข้ากัน
6. นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงโดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 1. ขั้นตอนการเตรียมสารละลาย DNS

เตรียมสารละลาย DNS โดยใช้ 3, 5-Dinitrosalicylic acid 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสาร  $\text{KNaC}_4\text{H}_4\text{O}_4 \cdot 4\text{H}_2\text{O}$  30 กรัม กวนให้เข้ากันแล้วเติม สารละลาย NaOH ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ปริมาณ 20 มิลลิลิตร จากนั้นกวนจนให้สารละลายเข้ากัน เก็บสารละลายในขวดสีชา

## 2. ขั้นตอนการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีการ DNS method (Miller, 1959)

ทำการดูดสารละลายตัวอย่างส่วนใส 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลอง เติมสารละลาย DNS ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน จากนั้นนำไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นทำการลดอุณหภูมิอย่างรวดเร็วแล้วเติมน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากันหลังจากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง โดยใช้เครื่อง Spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลรีดิวซ์





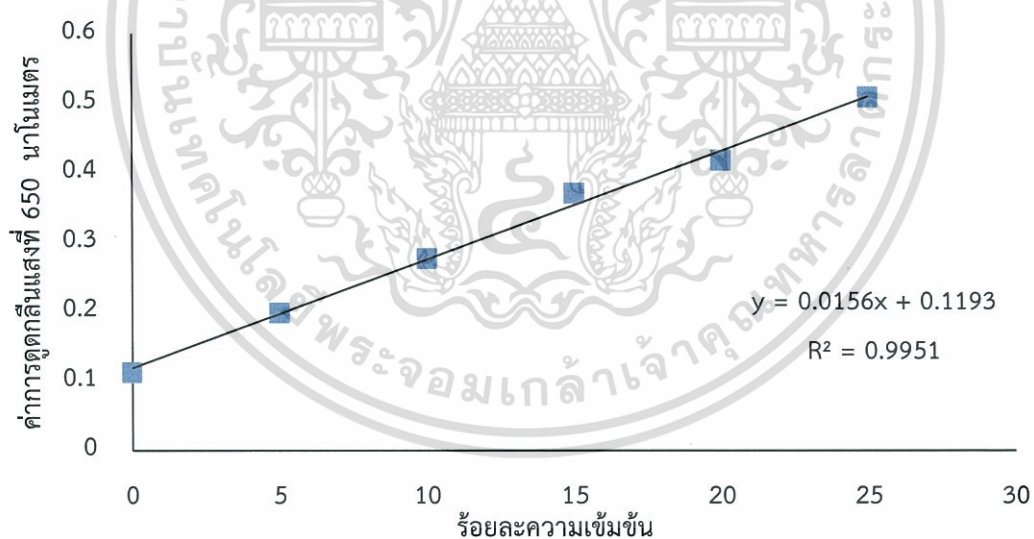
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2.1 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย D-glucosamine hydrochloride ที่ความเข้มข้น  
ต่างๆ

ความเข้มข้นของสารละลาย D-glucosamine hydrochloride (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 650 นาโนเมตร
0	0.113
5	0.199
10	0.277
15	0.371
20	0.418
25	0.509

จะได้สมการของสารมาตรฐานดังสมการที่ ก.2.1 แสดงดังรูปที่ ก.2.1

$$\text{ร้อยละความเข้มข้นของ D-glucosamine} = \frac{\text{ค่าการดูดกลืนแสง} - 0.1193}{0.0156} \quad (\text{ก.2.1})$$



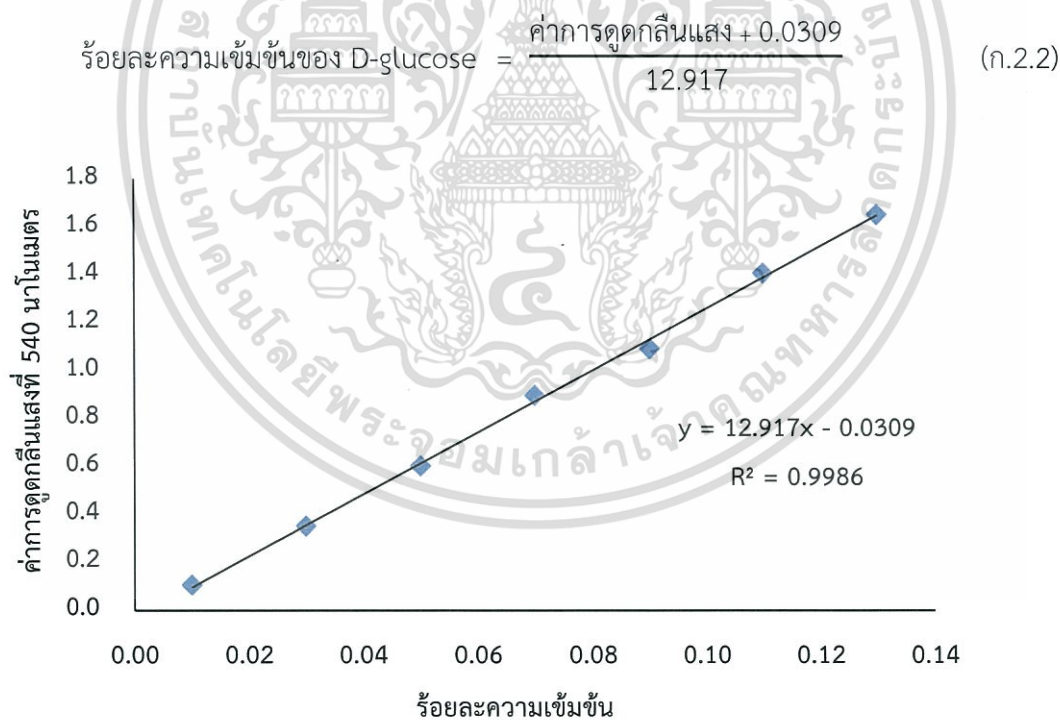
รูปที่ ก.2.1 สารมาตรฐาน D-glucosamine hydrochloride

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2.2 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย D-glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร)

ร้อยละความเข้มข้นของ D-glucose (โดยมวลต่อปริมาตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
0.01	0.107
0.03	0.352
0.05	0.604
0.07	0.898
0.09	1.093
0.11	1.407
0.13	1.652

จะได้สมการของสารมาตรฐานดังสมการที่ ก.2.2 แสดงดังรูปที่ ก.2.2



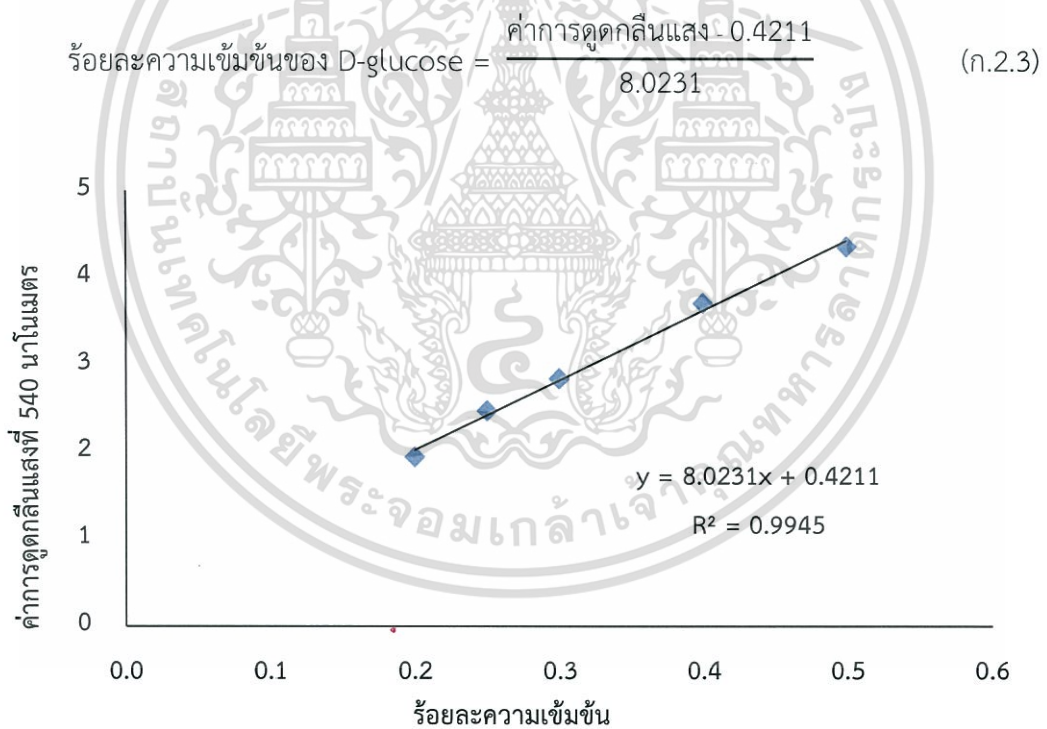
รูปที่ ก.2.2 สารมาตรฐาน D-glucose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2.3 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย D-glucose ที่ความเข้มข้นต่างๆ (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร)

ร้อยละความเข้มข้นของ D-glucose (โดยมวลต่อปริมาตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
0.2	1.945
0.25	2.476
0.3	2.846
0.4	3.712
0.5	4.364

จะได้สมการของสารมาตรฐานตั้งสมการที่ ก.2.3 แสดงดังรูปที่ ก.2.3

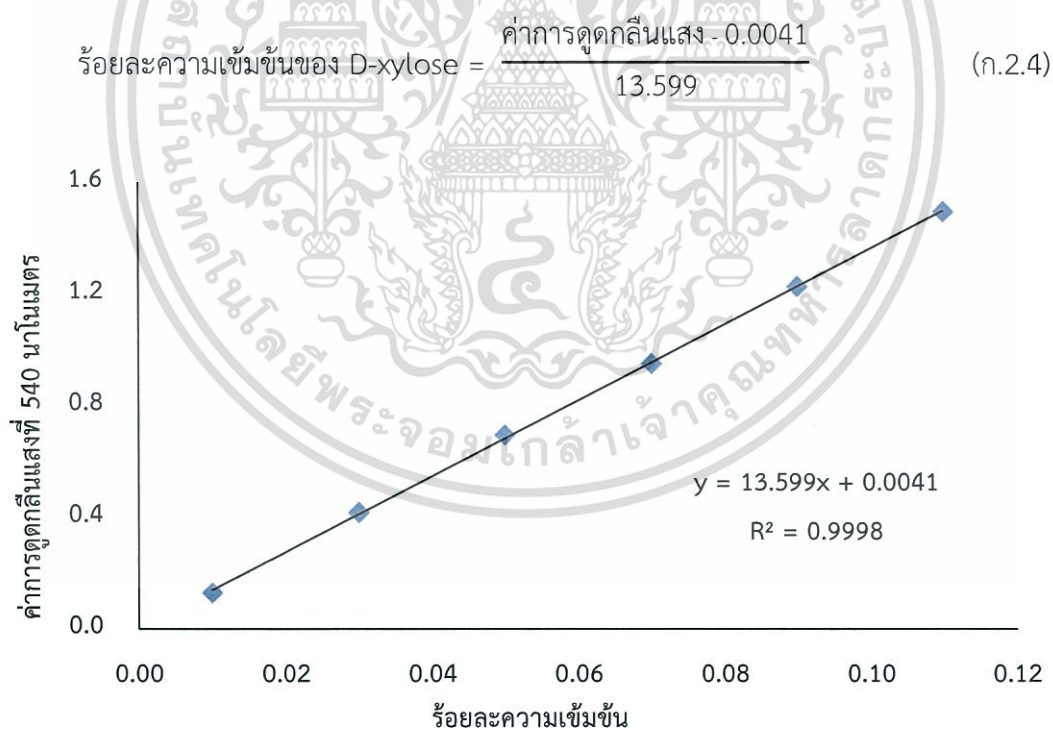


รูปที่ ก.2.3 สารมาตรฐาน D-glucose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร)

ตารางที่ ก.2.4 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย D-xylose ที่ความเข้มข้นต่างๆ (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร)

ร้อยละความเข้มข้นของ D-xylose (โดยมวลต่อปริมาตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
0.01	0.130
0.03	0.418
0.05	0.696
0.07	0.952
0.09	1.228
0.11	1.496

จะได้สมการของสารมาตรฐานดังสมการที่ ก.2.4 แสดงดังรูปที่ ก.2.4



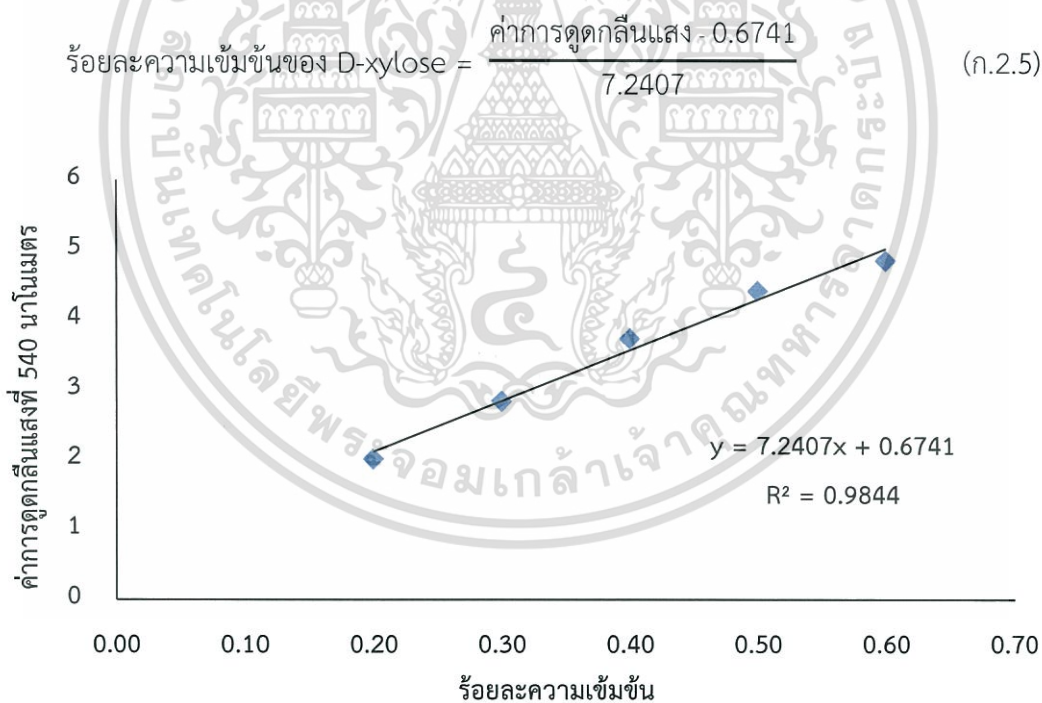
รูปที่ ก.2.4 สารมาตรฐาน D-xylose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 3 มิลลิลิตร)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2.5 ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลาย D-xylose ที่ความเข้มข้นต่างๆ (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร)

ร้อยละความเข้มข้นของ D-xylose (โดยมวลต่อปริมาตร)	ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร
0.2	2.014
0.3	2.840
0.4	3.736
0.5	4.414
0.6	4.847

จะได้สมการของสารมาตรฐานดังสมการที่ ก.2.5 แสดงดังรูปที่ ก.2.5



รูปที่ ก.2.5 สารมาตรฐาน D-xylose (เจือจางโดยการเติมน้ำกลั่น 6 มิลลิลิตร)

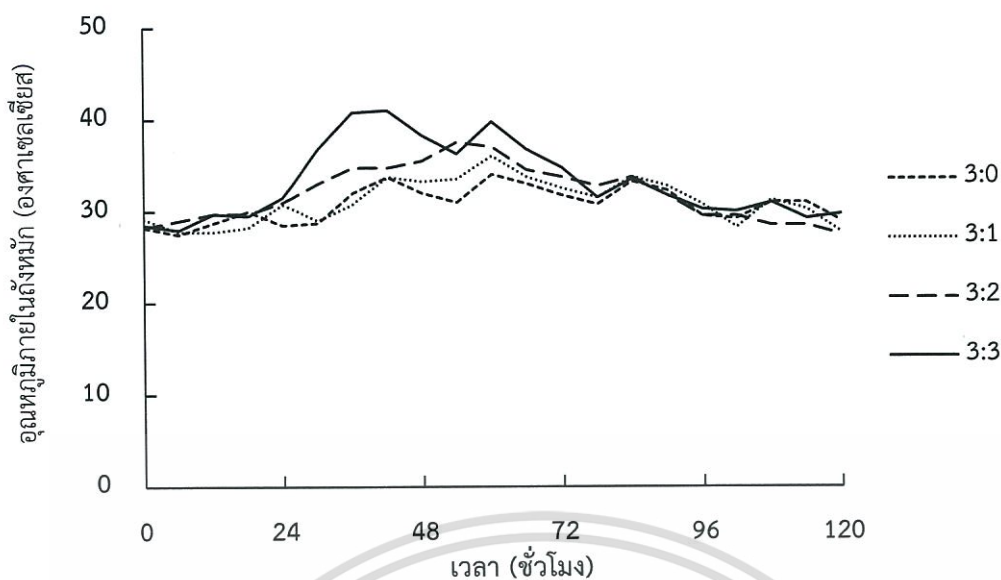
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



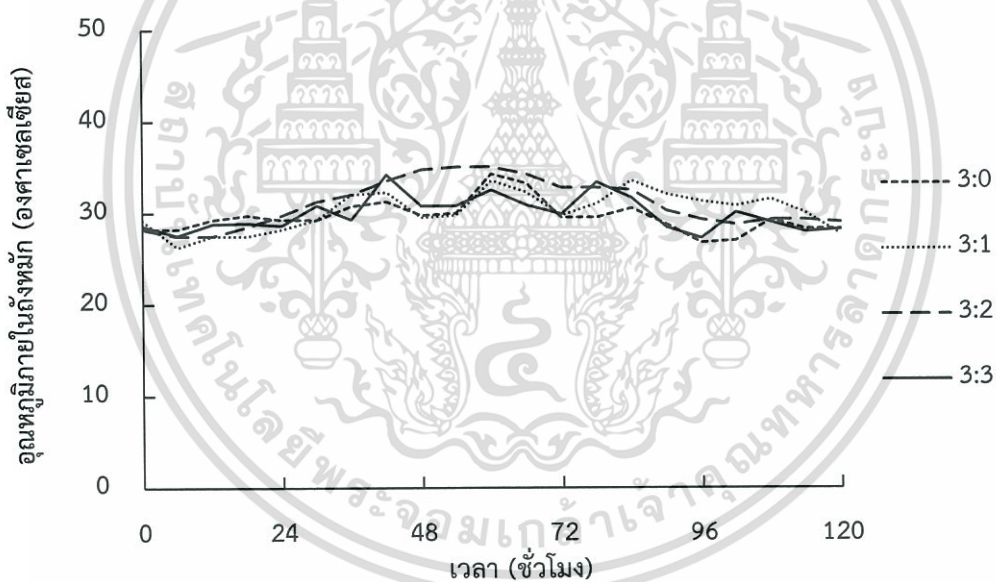
ภาคผนวก ข.1

อนุทฎมิภยในถังหมัก

เอกสรนั้เป็นเอกสรที่สงวนไว้ส้หรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

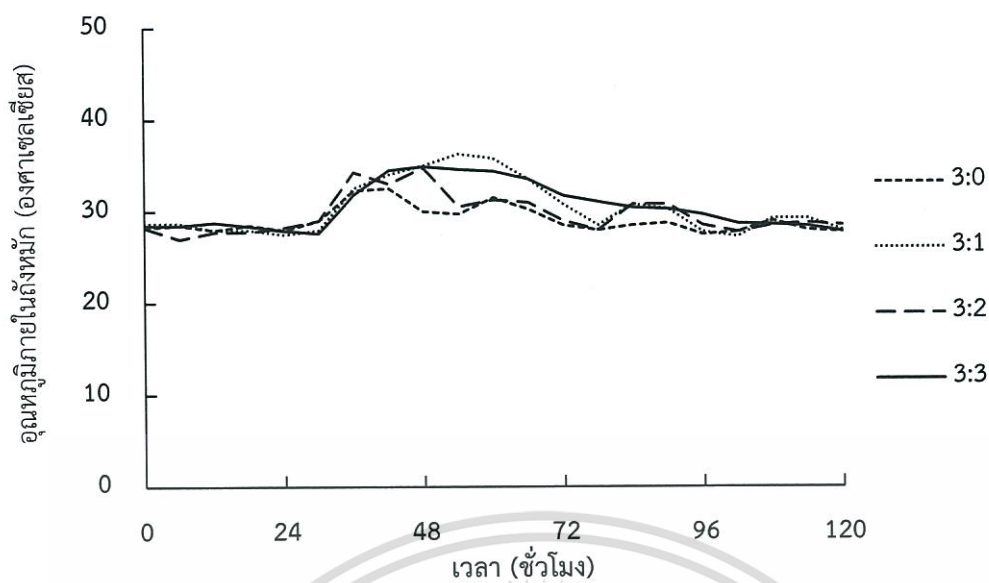


รูปที่ ข.1.1 อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมัก ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm



รูปที่ ข.1.2 อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมัก ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



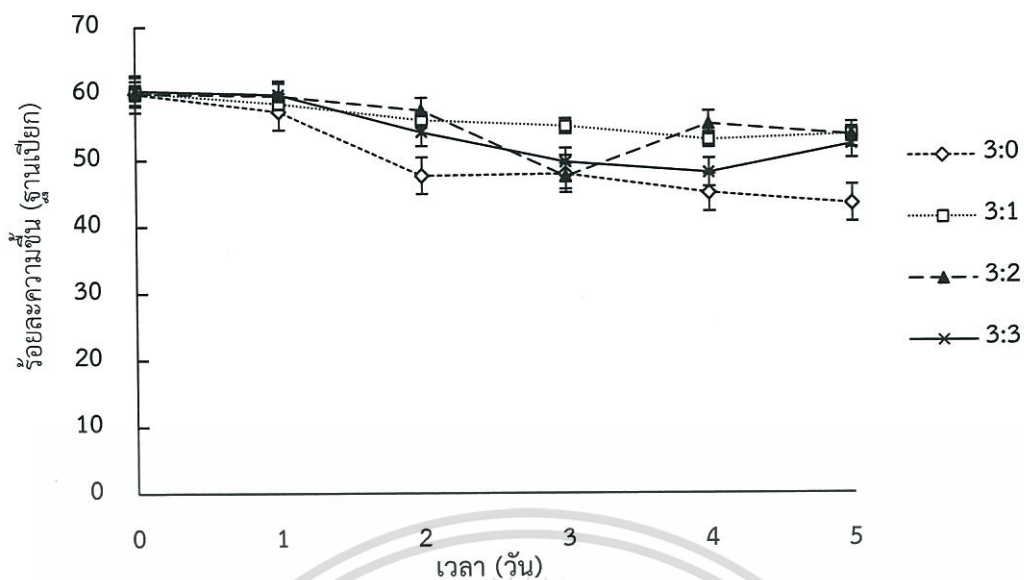
รูปที่ ข.1.3 อุณหภูมิภายในถังหมักของระหว่างการหมัก ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm



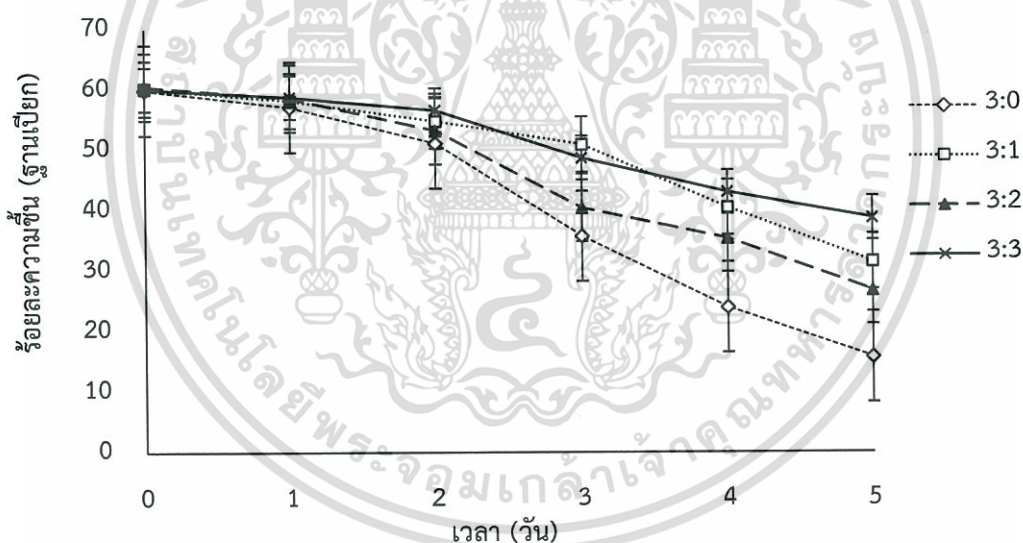
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

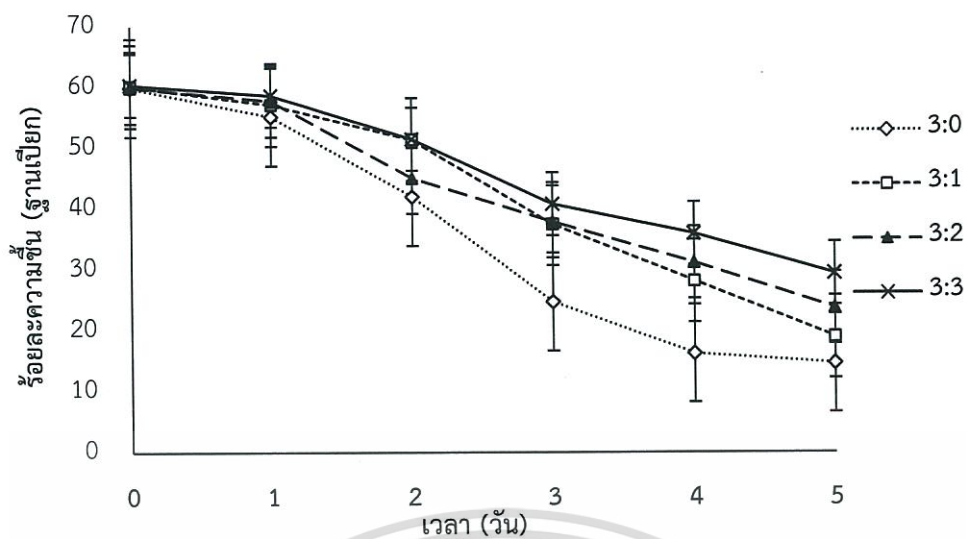


รูปที่ ข.2.1 ความชื้นของชั้นสเตรทระหว่างการหมักที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm



รูปที่ ข.2.2 ความชื้นของชั้นสเตรทระหว่างการหมักที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ข.2.3 ความชื้นของชั้นسترระหว่างกรหมักที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.1 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)										ค่าเฉลี่ย
			0.886	0.954	0.819	0.853	0.861	0.861	0.945	0.861	0.853	0.853	
3:0	1	1	0.886	0.954	0.819	0.853	0.861	0.861	0.945	0.861	0.853	0.940	
		2	0.899	0.841	0.924	0.974	1.024	1.008	1.133	1.116	1.099		
	2	1	1.913	1.959	2.005	1.959	1.997	1.898	1.959	1.997	1.898	1.674	
		2	1.391	1.335	1.403	1.440	1.490	1.502	1.391	1.328	1.266		
	3	1	3.250	3.272	3.169	3.162	3.088	3.184	3.536	3.455	3.543	2.956	
		2	2.561	2.535	2.516	2.541	2.490	2.477	2.794	2.865	2.781		
	4	1	4.658	4.665	4.716	4.803	4.824	4.701	4.868	4.875	4.723	4.427	
		2	3.906	3.912	3.942	4.327	4.238	4.256	4.060	4.108	4.113		
	5	1	4.435	4.398	4.458	3.969	3.924	4.021	4.280	4.310	4.324	4.295	
		2	4.408	4.237	4.342	4.480	4.297	4.386	4.314	4.391	4.336		
3:1	1	1	2.498	2.447	2.455	2.100	2.176	2.354	2.455	2.430	-	2.212	
		2	2.245	2.201	2.011	2.112	2.121	1.986	2.121	2.157	1.814		
	2	1	2.076	2.149	2.116	2.246	2.197	2.254	2.343	2.020	2.092	2.305	
		2	2.253	2.321	2.076	2.518	2.529	2.369	2.729	2.649	2.549		
	3	1	5.153	5.292	5.479	7.200	7.502	7.420	6.034	6.074	6.017	2.439	
		2	2.487	2.503	2.503	2.331	2.206	2.152	2.557	2.620	2.596		
	4	1	3.653	3.820	3.667	3.828	3.755	3.755	3.245	3.194	3.260	3.432	
		2	2.673	2.665	2.689	3.642	3.594	3.522	3.666	3.586	3.562		
	5	1	1.398	1.438	1.462	2.772	2.684	2.213	2.205	2.285	-	3.548	
		2	3.550	3.678	3.588	4.280	4.235	4.295	4.897	4.882	4.934		
	3:2	1	1	1.914	1.995	1.977	1.870	1.968	1.977	1.808	1.861	1.843	2.125
			2	2.448	2.546	2.555	2.022	1.942	1.987	2.537	2.537	2.457	
		2	1	2.596	2.478	2.621	2.688	2.722	2.612	2.486	2.520	2.528	3.014
			2	2.448	2.546	2.555	3.424	3.381	3.331	4.056	3.651	3.727	
3		1	2.057	2.057	1.979	2.516	2.170	2.148	2.113	2.120	2.113	2.757	
		2	3.489	3.667	3.621	3.555	3.357	3.548	2.967	3.086	3.059		
4		1	3.380	3.373	3.592	4.059	3.840	3.804	4.030	3.986	4.008	3.886	
		2	4.133	3.258	3.553	4.267	4.267	4.214	4.151	4.151	3.883		
5		1	2.719	2.746	2.706	5.113	4.983	3.991	5.004	5.201	5.031	5.081	
		2	3.910	3.982	4.045	8.477	8.432	8.414	6.508	6.481	6.724		
3:3		1	1	4.063	4.542	4.445	4.001	4.320	4.232	4.453	4.303	4.374	3.388
			2	2.634	2.578	2.490	2.570	2.498	2.498	2.458	2.258	2.274	
		2	1	4.031	4.150	3.823	4.262	4.110	4.230	3.432	3.655	3.655	3.367
			2	2.908	2.881	2.813	2.771	2.689	2.785	2.833	2.771	2.806	
	3	1	3.562	3.673	3.617	3.135	3.207	3.372	3.009	2.970	2.906	2.883	
		2	2.182	2.229	2.130	2.402	2.379	2.900	2.958	2.866	-		
	4	1	3.572	3.414	3.615	3.744	3.622	3.974	4.096	3.909	-	3.937	
		2	3.051	2.701	3.063	4.648	4.601	4.714	5.046	4.702	4.393		
	5	1	4.603	4.494	4.120	3.450	4.510	4.362	4.354	4.424	4.401	5.474	
		2	6.952	7.270	6.933	7.043	6.868	6.525	6.195	6.111	5.917		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.2 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase (ยูนิตต่อกรัมขั้วสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	0.902	0.884	0.945	1.013	1.031	1.116	0.979	0.988	0.988	1.002
		2	0.962	1.011	1.052	1.052	0.987	1.044	1.027	1.027	1.027	
	2	1	1.181	1.203	1.225	1.277	1.351	1.351	1.432	1.417	1.432	1.251
		2	1.188	1.137	1.144	1.151	1.217	1.129	1.122	1.137	1.428	
	3	1	1.134	1.151	1.168	1.232	1.197	1.185	1.128	1.162	1.208	1.174
		2	2.629	2.662	2.667	2.754	2.743	2.705	2.521	2.570	2.597	
	4	1	1.708	1.964	1.754	1.801	1.852	1.894	1.936	1.988	1.955	1.873
		2	2.776	2.810	2.829	2.853	2.881	2.914	2.586	2.572	2.524	
	5	1	3.155	3.188	3.197	3.230	3.151	3.176	3.076	3.109	3.151	3.198
		2	3.140	3.131	3.088	3.266	3.292	3.296	3.322	3.283	3.313	
3:1	1	1	2.303	2.423	2.286	2.183	2.149	2.234	0.993	0.958	0.933	1.813
		2	1.924	1.899	1.924	1.735	1.761	1.761	1.684	1.709	1.778	
	2	1	1.660	1.668	1.755	1.581	1.597	1.534	0.873	0.952	0.967	1.509
		2	1.730	1.566	1.344	1.750	1.590	1.400	1.973	1.771	1.451	
	3	1	1.907	1.859	1.875	1.978	2.042	1.931	1.708	1.740	1.692	1.778
		2	1.757	1.784	1.716	1.628	1.649	1.588	1.723	1.709	1.716	
	4	1	1.915	1.988	2.060	2.174	2.217	2.217	2.295	2.506	2.072	2.457
		2	2.530	2.584	2.572	2.687	2.693	2.693	3.108	2.988	2.934	
	5	1	2.956	2.918	2.843	2.622	2.563	2.659	1.744	1.636	1.728	3.491
		2	4.104	4.007	4.038	3.788	3.895	3.803	4.022	4.022	4.129	
3:2	1	1	2.924	2.864	2.813	3.009	3.060	3.077	2.796	2.864	2.941	2.606
		2	2.317	2.387	2.352	2.175	2.131	2.14	2.378	2.317	2.370	
	2	1	4.679	4.703	4.538	4.648	4.750	4.648	4.875	4.930	4.734	3.847
		2	2.561	2.681	2.591	3.095	3.155	3.049	3.237	3.192	3.185	
	3	1	3.982	4.050	4.010	3.593	3.570	3.392	3.604	3.616	3.570	3.653
		2	3.772	3.728	3.855	3.525	3.722	3.664	3.360	3.379	3.366	
	4	1	4.821	4.869	4.847	4.692	4.638	4.858	4.724	4.633	4.729	3.845
		2	4.520	4.560	4.600	4.554	4.577	4.531	4.462	4.479	4.491	
	5	1	4.697	4.774	4.841	5.429	5.501	5.434	6.501	6.185	6.420	4.374
		2	2.987	2.957	2.972	3.182	3.232	3.207	3.383	3.518	3.508	
3:3	1	1	4.063	4.542	4.445	4.001	4.320	4.232	4.453	4.303	4.374	3.052
		2	2.507	2.522	2.648	2.413	2.515	2.428	2.186	2.193	2.287	
	2	1	4.031	4.150	3.823	4.262	4.110	4.230	3.432	3.655	3.655	2.467
		2	2.241	2.343	2.241	2.190	2.138	2.226	1.744	1.686	1.671	
	3	1	3.562	3.673	3.617	3.135	3.207	3.372	3.009	2.970	2.906	3.203
		2	2.632	2.782	2.764	3.287	3.197	3.281	3.287	3.197	3.281	
	4	1	3.572	3.414	3.615	3.744	3.622	3.974	4.096	3.909	-	4.777
		2	5.361	5.378	5.290	5.645	5.591	5.541	4.793	5.000	5.115	
	5	1	4.603	4.494	4.120	3.450	4.510	4.362	4.354	4.424	4.401	5.156
		2	4.060	4.069	4.119	4.458	4.296	4.286	5.637	5.721	5.770	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.3 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ FPase (ยูนิตต่อกรัมขั้วสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	1.083	1.179	1.218	1.187	1.226	1.210	1.091	1.258	1.330	1.113
		2	1.043	1.107	0.979	1.043	1.043	0.987	1.051	1.027	0.963	
	2	1	2.178	2.224	2.207	2.056	2.166	2.201	2.201	2.184	2.247	1.613
		2	1.030	1.037	1.004	1.076	1.023	1.050	1.050	1.050	1.050	
	3	1	4.304	4.313	4.397	4.086	4.161	4.104	4.379	4.277	4.410	3.835
		2	3.358	3.296	3.342	3.342	3.332	3.419	3.476	3.517	3.517	
	4	1	4.876	4.352	4.741	5.090	5.522	4.954	5.352	5.308	5.291	4.804
		2	4.454	4.517	4.454	4.651	4.580	4.609	4.605	4.593	4.521	
	5	1	5.276	5.132	5.077	5.560	4.902	5.564	5.035	6.774	5.006	5.099
		2	4.349	4.399	4.303	5.241	5.104	4.891	5.016	5.079	5.075	
3:1	1	1	2.982	2.889	2.812	2.982	2.778	2.643	3.643	3.160	2.973	2.494
		2	1.982	1.939	1.974	2.094	2.060	2.068	2.034	1.965	1.922	
	2	1	2.089	2.503	2.471	2.341	2.641	2.763	2.828	3.219	2.422	2.191
		2	2.142	1.924	1.640	2.017	1.706	1.448	2.086	1.738	1.461	
	3	1	4.918	4.549	4.765	5.399	5.364	5.531	5.796	5.810	-	4.267
		2	3.085	3.048	3.116	3.073	3.123	3.104	3.545	3.532	3.675	
	4	1	3.994	4.090	4.058	4.340	4.276	4.607	5.124	5.002	-	4.631
		2	4.817	4.764	4.823	4.796	4.764	4.764	4.727	4.706	4.647	
	5	1	3.234	3.008	3.083	3.996	3.695	3.920	4.428	4.649	4.635	4.861
		2	5.230	5.354	5.344	6.020	6.144	6.075	6.139	6.322	6.226	
3:2	1	1	2.449	2.399	2.407	2.576	2.720	2.576	2.526	2.678	2.627	2.807
		2	2.949	3.017	3.128	3.179	3.043	3.068	-	-	-	
	2	1	3.089	3.240	3.112	3.089	3.240	3.112	2.772	2.930	2.764	2.779
		2	2.462	2.554	2.612	2.629	2.393	2.462	-	-	-	
	3	1	2.920	3.030	2.902	2.810	2.951	2.853	2.994	2.865	2.988	3.598
		2	4.348	4.397	4.331	4.266	4.145	4.151	-	-	-	
	4	1	4.944	5.031	4.944	4.668	4.841	4.977	4.619	4.852	4.928	5.211
		2	5.285	5.230	5.787	5.967	5.501	5.561	-	-	-	
	5	1	5.820	6.315	5.783	6.155	7.022	7.013	6.980	7.008	6.457	5.884
		2	5.160	5.099	5.873	5.910	4.770	4.761	-	-	-	
3:3	1	1	3.082	3.151	3.004	4.182	4.260	4.225	3.134	3.169	3.524	3.377
		2	3.967	4.146	3.990	2.670	2.655	2.694	2.950	3.027	2.950	
	2	1	2.810	2.880	2.824	3.185	3.109	3.053	3.185	3.109	3.053	2.802
		2	2.872	2.978	3.140	2.689	2.625	2.576	2.202	2.046	2.096	
	3	1	3.288	3.347	3.512	3.129	3.165	3.235	3.949	3.795	3.860	3.245
		2	2.636	2.575	2.631	2.875	2.981	2.931	3.476	3.521	3.504	
	4	1	3.656	3.633	3.633	3.297	3.314	3.106	3.701	3.740	-	4.101
		2	4.457	4.652	4.617	4.821	4.776	4.831	4.682	4.542	4.632	
	5	1	2.396	2.464	2.750	2.396	2.464	2.589	2.969	2.980	3.047	5.508
		2	4.799	5.007	6.007	5.835	5.976	5.543	5.773	5.728	-	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.4 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย	
3:0	1	1	1.891	1.823	1.942	1.959	1.840	1.806	1.874	1.975	2.094	1.957	
		2	1.799	1.882	1.949	1.982	1.849	1.916	2.016	1.999	1.932		
	2	1	2.820	2.988	2.927	2.911	3.003	3.079	2.805	3.079	3.079	2.798	
		2	2.458	2.396	2.470	2.570	2.607	2.470	2.408	2.359	2.384		
	3	1	2.992	3.227	3.256	3.403	3.432	3.344	4.327	4.195	4.371	4.849	
		2	5.730	6.040	5.872	5.872	5.950	5.976	5.264	5.381	5.484		
	4	1	5.606	5.751	5.795	5.997	6.113	6.171	5.128	5.780	5.693	5.743	
		2	6.069	5.856	5.962	6.200	6.211	6.069	6.200	6.164	6.069		
	5	1	6.916	6.901	6.990	6.397	6.471	6.531	6.708	6.812	6.797	6.437	
		2	6.891	6.913	7.046	7.135	7.035	6.958	7.013	7.090	7.146		
3:1	1	1	3.013	3.250	3.386	3.234	2.929	2.946	3.454	3.318	3.437	3.179	
		2	3.115	3.133	3.168	3.151	3.151	3.133	3.274	3.063	3.063		
	2	1	3.199	3.085	3.037	2.891	3.021	3.102	2.762	3.005	3.005	4.342	
		2	5.056	5.237	5.483	5.614	5.746	5.385	6.222	6.156	6.156		
	3	1	9.115	8.365	10.127	10.975	10.567	11.170	11.529	11.154	-	9.322	
		2	8.577	8.234	8.515	8.016	7.907	7.891	8.125	8.265	8.499		
	4	1	6.956	7.058	7.277	7.408	6.956	6.709	6.927	6.112	6.287	8.626	
		2	7.925	8.197	8.309	10.711	10.631	10.230	10.278	10.502	10.246		
	5	1	3.946	4.458	4.841	5.992	6.679	6.407	5.544	4.186	4.793	10.710	
		2	10.756	10.816	10.455	11.328	11.132	11.674	11.945	11.599	11.328		
	3:2	1	1	3.814	3.867	3.583	3.193	3.051	3.086	4.044	4.169	3.831	3.442
			2	2.974	2.902	2.910	3.045	5.896	2.724	2.974	3.009	2.885	
2		1	5.160	5.464	5.160	5.430	5.565	5.447	10.339	9.597	10.103	4.546	
		2	3.897	3.746	3.763	4.149	3.796	3.931	4.838	3.897	3.948		
3		1	10.295	10.652	10.401	9.648	9.740	10.586	10.784	10.732	10.216	8.738	
		2	7.436	8.821	7.817	5.159	6.531	7.648	6.361	6.531	7.931		
4		1	12.159	12.499	13.142	13.588	14.195	14.249	14.177	14.195	15.142	13.166	
		2	10.148	12.266	11.141	14.222	14.792	13.010	13.215	12.616	12.236		
5		1	14.634	14.436	14.364	20.459	20.729	20.225	13.663	12.764	13.573	12.726	
		2	9.627	10.361	10.946	10.456	10.429	11.735	13.408	15.611	14.890		
3:3		1	1	5.695	5.855	5.109	5.162	5.269	5.375	5.429	5.429	5.429	4.327
			2	2.962	2.946	2.850	3.042	2.898	3.026	3.748	3.855	-	
	2	1	10.967	10.168	10.839	10.839	10.200	9.258	9.929	10.488	10.488	4.780	
		2	4.434	4.571	4.448	4.393	4.283	4.379	5.549	5.426	5.533		
	3	1	12.591	11.595	13.665	12.259	12.891	12.875	11.422	11.975	11.785	6.746	
		2	6.032	6.160	6.426	6.415	7.729	7.716	-	-	-		
	4	1	12.554	12.741	12.626	13.085	13.358	13.171	13.214	13.071	13.099	8.269	
		2	6.376	6.435	6.471	8.264	8.418	8.394	9.894	10.147	-		
	5	1	12.494	13.320	12.853	13.91	13.94	13.52	12.946	13.351	13.382	11.390	
		2	11.289	11.212	10.383	10.992	10.176	11.018	13.021	12.717	11.702		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.5 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)										ค่าเฉลี่ย
			1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
3:0	1	1	1.820	1.786	1.752	1.769	1.924	1.803	1.924	1.855	1.906	1.932	
		2	1.908	1.989	2.006	2.104	1.973	2.087	2.055	2.055	2.055		
	2	1	2.598	2.524	2.480	2.598	2.598	2.598	2.790	2.598	2.864	2.493	
		2	2.215	2.332	2.317	2.303	2.434	2.259	2.273	2.244	2.857		
	3	1	2.924	3.073	3.050	3.154	3.292	3.200	2.647	2.808	2.832	3.525	
		2	3.700	3.851	3.949	4.284	4.035	4.068	4.165	4.241	4.175		
	4	1	5.451	5.170	5.096	6.337	6.001	6.104	5.273	5.563	5.273	5.229	
		2	4.876	4.838	4.857	5.067	5.143	5.172	4.619	4.591	4.695		
	5	1	6.427	6.118	6.193	6.293	6.477	6.402	6.009	6.084	6.151	5.821	
		2	5.230	5.404	5.482	5.421	5.334	5.325	5.516	5.577	5.334		
3:1	1	1	2.886	2.852	2.989	3.006	2.989	2.972	2.663	2.749	2.766	2.875	
		2	2.824	3.390	3.698	3.201	3.698	3.013	3.372	3.390	3.612		
	2	1	3.166	3.406	3.118	3.534	3.918	3.518	3.790	3.854	3.598	3.545	
		2	2.565	2.470	2.517	2.281	2.360	2.470	2.250	2.391	2.549		
	3	1	6.271	6.001	6.136	5.879	5.771	5.947	6.122	6.298	6.690	6.124	
		2	5.514	5.260	5.562	5.451	5.467	5.578	4.592	4.513	4.497		
	4	1	9.049	9.097	8.940	10.097	10.158	9.808	10.097	10.158	9.808	9.690	
		2	4.409	4.481	3.975	4.240	4.300	4.300	4.975	4.686	4.903		
	5	1	11.131	11.324	11.273	10.754	10.907	10.744	11.344	11.232	11.365	11.119	
		2	5.330	5.244	5.351	4.899	4.877	4.856	4.188	4.339	-		
3:2	1	1	3.660	3.218	3.218	3.377	3.165	3.289	3.412	3.519	3.625	3.990	
		2	5.167	5.218	5.031	4.368	4.487	4.368	4.334	4.113	4.249		
	2	1	7.211	7.151	6.880	7.361	7.632	7.391	7.361	7.632	7.391	6.839	
		2	6.583	6.348	6.552	6.175	6.034	6.473	6.661	6.160	6.113		
	3	1	12.626	12.169	11.966	11.343	11.839	12.322	10.518	10.416	10.518	11.940	
		2	11.488	11.214	11.019	12.507	13.102	12.507	13.205	13.273	12.884		
	4	1	10.039	10.200	10.625	10.831	10.808	10.808	11.831	-	-	12.478	
		2	14.408	13.088	14.162	14.462	14.355	14.570	13.861	14.645	15.063		
	5	1	9.663	10.114	10.074	10.424	10.565	10.936	10.545	9.943	10.555	12.938	
		2	15.088	15.078	15.308	15.145	14.954	15.269	16.465	16.475	16.284		
3:3	1	1	2.976	2.945	3.133	3.008	2.898	2.945	3.983	3.860	3.807	4.040	
		2	4.971	4.522	4.418	4.919	5.713	4.677	4.418	4.625	4.556		
	2	1	2.817	2.773	2.744	2.729	2.802	2.598	3.138	3.253	3.335	3.523	
		2	3.627	3.778	3.627	3.694	3.744	3.527	3.845	3.744	4.012		
	3	1	6.178	6.070	6.046	6.755	6.671	6.575	8.306	8.602	8.643	8.966	
		2	8.997	8.866	8.431	9.505	9.099	9.577	9.157	9.200	9.331		
	4	1	9.585	9.465	11.149	10.471	10.165	10.066	12.205	11.984	-	10.951	
		2	12.483	12.911	12.613	13.494	13.286	13.338	13.662	13.532	13.584		
	5	1	7.657	8.208	7.608	9.338	9.004	8.935	11.703	11.296	-	9.372	
		2	13.901	14.113	14.450	15.199	14.962	15.112	15.336	16.098	16.534		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.6 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ CMCase (ยูนิตต่อกรัมข้าวสาลีแห้ง)									ค่าเฉลี่ย	
			1.861	2.022	1.958	1.958	1.717	1.829	1.845	1.861	2.006		
3:0	1	1	1.861	2.022	1.958	1.958	1.717	1.829	1.845	1.861	2.006	2.155	
		2	2.166	2.357	2.437	2.373	2.453	2.421	2.485	2.437	2.612		
	2	1	2.205	2.192	2.232	2.575	2.483	2.430	2.337	2.271	2.219	3.265	
		2	3.775	3.786	3.902	3.972	4.007	3.821	4.135	4.088	4.030		
	3	1	3.957	4.029	4.049	4.131	4.193	4.224	4.049	4.162	4.203	3.712	
		2	3.290	3.245	3.343	3.405	3.539	3.432	3.147	3.209	3.201		
	4	1	5.230	5.247	5.339	5.398	5.491	5.365	5.214	5.281	5.163	5.673	
		2	6.347	6.242	6.216	5.613	5.709	5.779	6.067	6.190	6.216		
	5	1	6.279	6.288	6.196	6.196	6.379	6.438	6.388	6.546	6.446	6.901	
		2	7.811	7.591	7.641	7.870	8.005	8.081	7.599	7.565	7.751		
3:1	1	1	3.625	3.693	3.862	3.760	4.032	3.964	3.845	3.845	3.879	3.438	
		2	2.903	2.955	3.110	3.127	3.127	3.006	3.041	3.144	2.972		
	2	1	6.128	5.836	5.689	5.998	5.852	6.616	7.770	7.592	6.714	5.319	
		2	4.286	4.462	4.382	4.126	4.142	4.094	4.302	3.694	4.062		
	3	1	11.383	12.024	11.090	12.233	13.208	11.66	11.411	12.163	12.302	9.854	
		2	6.150	6.744	6.663	8.664	8.380	7.420	8.448	8.867	8.569		
	4	1	8.254	8.628	8.414	8.948	9.310	8.916	9.886	9.886	9.395	10.269	
		2	13.170	13.423	12.429	10.676	9.929	10.784	10.881	10.712	11.206		
	5	1	6.835	6.985	6.966	8.311	8.696	8.461	9.270	9.260	9.373	10.492	
		2	12.536	11.854	13.066	12.821	13.483	13.371	12.383	12.200	12.984		
	3:2	1	1	3.801	3.698	3.664	3.920	3.903	3.852	3.749	3.715	3.579	3.575
			2	3.091	2.956	3.277	3.496	3.513	3.699	3.986	3.040	3.412	
		2	1	4.890	4.314	4.959	5.097	5.223	5.246	5.028	5.281	5.315	4.388
			2	3.791	4.048	3.972	3.685	3.443	3.670	3.655	3.655	3.715	
3		1	5.075	5.107	5.173	5.326	5.272	5.107	5.293	5.425	5.578	6.439	
		2	8.371	8.114	7.320	7.576	7.344	7.650	7.674	7.222	7.283		
4		1	8.243	7.892	8.173	8.324	8.354	8.444	8.564	8.544	8.504	9.535	
		2	10.496	10.517	10.951	10.984	11.504	11.634	10.105	10.452	9.943		
5		1	10.235	10.235	10.573	10.826	10.272	9.709	10.563	10.460	10.272	11.165	
		2	11.283	10.896	11.424	12.640	12.461	12.659	12.065	12.536	11.867		
3:3		1	1	4.727	3.999	3.999	5.489	5.506	5.662	3.947	4.068	3.739	4.040
			2	3.617	3.865	4.052	2.701	2.576	4.051	4.086	3.999	-	
		2	1	7.855	7.717	7.897	7.800	7.730	7.855	8.508	7.897	8.313	5.738
			2	3.627	3.627	3.584	3.090	3.161	3.542	3.572	3.635	3.872	
	3	1	9.677	9.972	9.795	8.852	8.876	9.135	9.618	9.571	9.111	8.966	
		2	7.898	7.052	7.876	8.343	8.376	8.387	10.353	9.257	9.244		
	4	1	10.564	10.418	10.766	9.510	9.106	9.218	8.904	8.915	9.510	10.951	
		2	11.109	11.059	11.448	11.358	11.238	12.076	13.603	13.883	14.441		
	5	1	7.845	8.731	7.543	7.679	7.887	7.793	7.918	7.397	7.866	10.207	
		2	10.979	10.961	10.988	12.094	12.757	12.138	14.486	14.764	13.902		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.7 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase (ยูนิตต่อกรัมซับสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	48.512	49.577	50.109	51.301	49.830	52.340	54.292	52.112	52.340	55.374
		2	59.941	59.415	57.490	60.641	61.766	60.491	57.990	58.665	59.916	
	2	1	47.213	46.984	49.317	51.330	51.399	50.987	50.209	48.745	49.271	47.646
		2	46.483	46.520	45.980	44.601	45.756	45.011	45.775	46.147	45.905	
	3	1	47.256	48.511	47.542	48.313	47.432	45.979	48.357	48.159	49.303	49.118
		2	51.287	50.938	50.123	50.200	50.433	49.929	49.832	50.589	49.948	
	4	1	48.836	48.727	48.380	49.423	49.988	47.967	51.531	50.314	50.988	49.159
		2	48.246	48.478	48.175	48.762	49.100	49.385	48.798	48.833	48.940	
	5	1	50.144	50.566	49.633	52.144	50.566	51.677	51.100	50.611	50.766	48.776
		2	45.617	46.712	46.480	46.646	46.446	48.770	47.077	46.994	46.015	
3:1	1	1	64.304	60.975	63.465	64.380	63.872	64.126	64.786	63.948	63.491	65.716
		2	67.149	67.783	67.149	68.496	67.413	68.813	68.998	66.515	67.228	
	2	1	58.255	59.371	59.734	59.443	58.110	61.213	59.831	60.146	59.031	60.754
		2	63.105	62.021	62.686	61.529	63.154	61.061	61.406	63.179	60.297	
	3	1	67.469	66.515	67.836	67.323	67.029	69.231	65.684	67.616	68.473	63.069
		2	58.747	59.004	57.741	58.654	59.379	58.466	58.958	57.928	59.192	
	4	1	61.222	61.047	60.960	62.444	60.392	61.549	59.519	59.366	59.715	60.730
		2	61.149	58.723	59.539	61.893	60.933	60.500	60.740	60.500	62.950	
	5	1	58.782	59.837	55.929	60.293	56.553	60.029	60.245	60.988	59.885	58.423
		2	58.202	57.909	56.351	56.916	57.615	57.638	57.683	58.067	58.699	
3:2	1	1	64.461	63.338	64.033	63.739	61.254	63.285	63.338	63.873	63.713	63.237
		2	65.454	62.845	64.336	61.621	62.792	60.742	63.378	63.404	62.659	
	2	1	58.379	59.135	58.606	59.841	61.177	58.202	58.706	58.379	59.488	59.377
		2	59.690	59.765	60.347	59.690	59.765	60.347	60.019	58.526	58.728	
	3	1	50.135	49.795	51.683	50.856	52.086	49.562	51.598	50.601	50.940	49.410
		2	48.673	48.336	47.860	47.880	48.276	47.205	47.106	47.582	49.208	
	4	1	55.616	54.542	54.520	55.375	54.367	54.761	54.915	55.462	55.813	59.696
		2	66.081	64.340	64.982	64.179	64.152	63.991	63.857	62.920	64.661	
	5	1	50.526	49.710	49.832	50.893	51.934	50.771	52.892	53.504	51.444	59.179
		2	67.502	66.343	66.154	67.880	67.853	68.150	65.830	65.965	68.042	
3:3	1	1	68.889	66.626	66.626	64.204	61.595	64.470	63.059	64.603	63.352	59.492
		2	54.132	53.964	53.988	54.084	54.517	54.301	54.156	54.132	54.156	
	2	1	57.953	58.863	57.546	57.593	57.354	57.043	57.522	56.396	56.420	51.548
		2	45.769	45.009	46.159	45.297	46.159	45.523	45.215	46.693	45.359	
	3	1	56.947	56.781	57.587	55.762	55.193	55.549	54.435	56.284	54.222	47.008
		2	38.632	38.962	37.920	37.624	37.294	37.937	38.580	38.458	37.972	
	4	1	52.344	50.665	52.580	50.213	51.009	51.009	51.181	52.968	50.622	45.916
		2	39.578	39.560	40.629	41.074	39.702	41.056	40.753	40.700	40.842	
	5	1	55.036	55.294	56.626	55.153	57.561	56.836	56.556	55.667	57.818	51.014
		2	46.378	45.951	45.718	45.562	45.912	47.116	45.135	45.271	44.669	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.8 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase (ยูนิตต่อกรัมซบสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	53.141	60.876	59.535	60.979	61.856	59.690	57.524	60.876	59.046	59.385
		2	58.234	60.780	59.458	-	-	-	-	-	-	-
	2	1	53.146	51.285	50.642	52.127	50.066	50.842	56.469	53.146	51.285	52.228
		2	53.131	52.059	51.840	-	-	-	-	-	-	-
	3	1	40.208	38.844	47.981	45.200	42.108	46.547	39.327	40.916	42.989	42.281
		2	41.472	42.559	41.618	-	-	-	-	-	-	-
	4	1	38.490	37.510	35.270	38.616	39.960	38.700	38.028	36.908	38.434	38.416
		2	38.407	39.121	38.993	-	-	-	-	-	-	-
	5	1	31.051	31.877	32.240	32.052	32.228	33.317	36.460	36.310	36.710	34.572
		2	34.975	35.912	35.795	-	-	-	-	-	-	-
3:1	1	1	55.055	54.696	55.312	55.723	55.903	54.824	53.899	47.425	52.152	57.006
		2	60.616	59.275	57.109	60.461	60.719	59.714	60.436	61.957	60.822	
	2	1	52.873	51.315	51.669	52.637	51.622	47.985	58.140	54.999	-	54.098
		2	55.959	55.431	54.975	55.215	54.015	56.463	53.847	60.471	54.015	
	3	1	52.907	53.503	53.122	52.883	52.716	49.140	49.617	53.527	53.956	49.195
		2	46.089	45.988	45.095	45.886	46.048	46.170	45.785	47.610	45.460	
	4	1	39.581	39.581	40.467	42.184	41.678	41.569	41.660	42.148	41.443	42.013
		2	43.688	42.513	42.351	42.188	42.802	42.152	43.544	43.435	43.254	
	5	1	37.912	37.670	37.637	37.346	37.492	37.993	37.330	37.395	36.668	37.409
		2	37.992	37.717	37.457	37.900	35.929	36.953	36.617	37.976	37.381	
3:2	1	1	59.649	59.649	59.888	60.312	57.579	58.906	58.906	58.614	59.304	62.917
		2	67.429	65.389	66.485	66.944	66.842	66.230	66.103	67.352	66.919	
	2	1	51.071	51.657	51.995	52.378	49.110	51.927	52.423	50.981	51.634	55.316
		2	59.213	58.154	60.318	58.366	59.307	59.001	58.413	59.307	60.436	
	3	1	44.894	44.799	48.972	44.894	45.542	44.760	47.371	45.542	44.589	45.253
		2	44.113	44.251	44.560	44.594	44.749	44.491	45.058	45.555	45.830	
	4	1	40.560	40.715	41.525	41.266	40.577	43.300	41.732	42.800	-	42.545
		2	43.179	43.549	42.873	43.372	43.549	43.823	43.662	44.419	43.984	
	5	1	35.741	35.996	36.643	36.914	37.094	36.914	37.680	36.583	37.079	39.256
		2	41.676	40.830	41.188	42.351	42.250	41.533	42.351	42.250	41.533	
3:3	1	1	61.454	62.334	61.532	60.081	60.910	61.376	60.625	60.651	60.573	56.450
		2	53.269	51.482	51.153	51.482	51.905	52.093	52.140	51.905	51.129	
	2	1	57.292	57.393	57.970	57.819	56.715	57.518	57.342	56.841	56.841	51.704
		2	46.717	46.257	46.192	45.885	46.323	44.527	47.528	45.600	45.907	
	3	1	50.374	50.287	51.768	49.373	49.046	51.506	51.158	51.942	50.396	45.011
		2	39.219	38.732	38.570	39.526	39.129	36.081	43.980	39.724	39.381	
	4	1	48.506	47.767	49.846	47.826	47.534	47.554	47.709	48.486	48.156	42.997
		2	37.743	37.514	38.088	38.153	37.907	38.399	37.776	37.399	-	
	5	1	47.471	47.471	48.519	49.343	48.632	48.969	49.399	49.867	48.632	41.502
		2	33.649	34.313	34.416	33.649	34.313	35.227	34.003	34.755	-	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.9 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์  $\beta$ -glucosidase ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ $\beta$ -glucosidase (ยูนิตต่อกรัมซบสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	58.557	57.328	55.786	57.135	56.798	56.654	57.497	57.786	56.750	57.199
		2	58.569	56.226	56.967	-	-	-	-	-	-	
	2	1	50.321	47.823	46.951	46.476	51.351	46.495	46.476	51.351	46.495	45.237
		2	41.613	42.432	42.798	-	-	-	-	-	-	
	3	1	39.605	38.636	38.820	39.374	37.974	39.236	39.374	37.974	38.897	37.088
		2	34.681	35.709	35.508	-	-	-	-	-	-	
	4	1	34.207	34.295	33.288	33.225	34.043	33.174	33.275	33.502	33.917	34.330
		2	33.801	35.949	35.255	-	-	-	-	-	-	
	5	1	32.162	32.575	32.800	32.838	33.726	36.128	33.513	32.963	34.189	33.464
		2	32.738	34.033	33.716	-	-	-	-	-	-	
3:1	1	1	58.820	58.870	56.837	59.531	58.972	59.252	57.294	57.879	58.870	59.849
		2	60.977	59.971	60.745	61.699	61.647	62.060	62.060	60.797	61.003	
	2	1	56.069	56.020	53.240	54.557	51.752	54.971	54.362	57.386	54.923	55.831
		2	56.823	56.943	57.207	57.255	56.751	57.327	57.087	56.967	55.311	
	3	1	52.397	51.122	48.948	47.882	50.578	52.459	53.692	52.564	52.209	50.501
		2	48.745	49.617	49.922	49.151	49.110	50.266	49.557	49.212	51.584	
	4	1	40.891	40.299	40.187	39.787	39.451	40.459	40.379	41.755	40.763	43.109
		2	45.387	46.147	45.966	45.315	45.279	46.074	45.821	45.731	46.273	
	5	1	34.651	33.353	34.608	34.566	35.144	35.426	35.864	36.484	36.061	37.402
		2	39.229	39.550	39.107	39.718	38.985	39.641	39.810	40.237	40.803	
3:2	1	1	60.123	59.946	61.365	59.287	60.504	59.895	59.718	60.706	60.402	61.881
		2	64.296	63.759	62.583	-	-	-	-	-	-	
	2	1	54.414	52.147	53.711	52.351	51.740	52.261	52.850	52.805	54.165	47.996
		2	43.341	43.013	42.806	-	-	-	-	-	-	
	3	1	43.538	44.656	45.059	43.116	43.776	43.171	44.491	44.161	43.831	43.070
		2	41.857	42.054	42.579	-	-	-	-	-	-	
	4	1	41.476	40.727	41.492	40.939	41.655	40.370	40.923	41.150	40.906	40.414
		2	40.408	39.867	38.994	-	-	-	-	-	-	
	5	1	36.903	37.031	36.960	37.483	37.215	37.285	36.776	37.483	36.550	37.283
		2	38.136	37.391	36.940	-	-	-	-	-	-	
3:3	1	1	58.191	58.295	59.022	62.036	59.386	54.814	57.334	58.763	58.451	55.711
		2	55.950	54.715	52.642	51.920	51.920	52.875	52.619	53.201	50.662	
	2	1	48.763	47.576	47.451	46.389	48.513	47.368	48.513	48.721	48.013	46.793
		2	48.131	47.856	46.352	43.748	45.103	46.268	43.155	46.225	44.129	
	3	1	42.207	41.641	42.843	42.914	40.792	41.482	42.224	44.028	42.366	40.116
		2	39.415	38.247	37.012	37.946	37.045	37.028	37.963	38.096	-	
	4	1	41.081	40.442	40.004	40.812	40.189	40.357	41.384	41.888	39.113	38.022
		2	35.856	35.691	33.492	35.886	35.691	36.559	36.783	33.941	35.227	
	5	1	37.417	36.620	34.932	36.666	36.229	38.104	37.589	37.682	37.651	34.793
		2	32.686	32.036	31.717	32.779	33.310	32.500	32.686	33.005	32.673	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.10 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส (ยูนิตต่อกรัมซัสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	66.360	64.949	62.019	62.914	60.852	63.972	61.693	63.538	63.864	65.389
		2	68.120	66.782	67.317	67.986	67.370	67.852	67.638	67.451	66.327	
	2	1	62.679	64.075	58.125	58.541	58.346	60.525	58.541	58.346	60.525	55.356
		2	51.548	50.252	51.289	51.329	50.232	50.691	50.292	50.671	50.392	
	3	1	64.293	58.073	58.003	57.673	59.558	58.686	58.969	64.364	63.398	58.224
		2	56.080	55.498	56.703	55.810	56.059	54.709	55.540	54.958	59.653	
	4	1	60.345	59.298	62.067	60.857	60.345	58.786	67.580	58.740	59.461	57.852
		2	53.659	53.621	56.400	55.506	55.068	55.334	55.201	53.164	55.905	
	5	1	66.039	62.781	64.993	64.517	64.779	64.922	63.780	64.755	66.824	58.589
		2	52.539	51.704	51.828	52.024	52.166	53.267	52.894	52.699	-	
3:1	1	1	62.111	59.201	62.274	62.873	64.559	62.764	65.619	64.695	64.369	68.813
		2	75.974	73.967	73.288	73.599	75.720	74.560	74.560	73.458	75.041	
	2	1	59.656	63.003	59.292	61.706	61.420	61.836	61.836	61.420	62.614	65.664
		2	69.497	65.937	69.286	69.708	72.924	69.629	68.969	72.502	70.710	
	3	1	73.107	72.950	69.991	76.485	75.883	76.302	73.343	73.945	72.060	70.952
		2	68.265	68.791	67.514	68.491	68.541	67.213	68.491	68.541	67.213	
	4	1	66.184	66.838	66.020	66.161	67.189	65.483	65.156	66.511	64.478	68.773
		2	69.565	69.411	68.125	73.447	73.164	71.287	71.750	72.701	74.449	
	5	1	62.816	62.380	63.278	67.204	68.025	68.667	65.331	67.024	66.229	67.176
		2	70.366	67.709	67.950	69.424	66.936	68.771	69.134	69.472	68.457	
3:2	1	1	68.721	67.695	62.644	64.618	63.592	60.098	62.110	62.053	67.979	68.122
		2	73.660	71.028	72.944	72.401	70.370	71.829	71.142	71.257	72.058	
	2	1	49.806	70.329	68.009	49.806	70.329	68.009	52.458	69.440	71.271	64.936
		2	66.102	65.616	65.886	67.154	66.021	66.534	66.831	67.451	67.802	
	3	1	57.806	55.960	58.888	57.000	55.875	58.464	56.575	56.024	54.517	58.142
		2	58.339	59.860	58.952	58.906	59.451	59.360	60.563	60.813	59.201	
	4	1	75.490	76.838	73.225	80.135	76.121	73.798	73.225	74.401	82.973	71.829
		2	65.250	66.680	65.180	65.883	67.548	67.055	67.337	69.728	72.050	
	5	1	82.038	81.865	80.104	88.995	87.610	87.581	81.807	83.626	88.187	74.312
		2	64.693	62.531	62.684	61.243	63.492	61.745	66.287	67.531	65.588	
3:3	1	1	86.045	74.078	79.007	82.540	80.717	83.908	82.512	81.942	81.942	75.377
		2	68.252	69.919	68.252	69.755	68.088	69.004	71.716	70.017	-	
	2	1	54.546	57.570	74.796	76.283	76.719	71.823	77.667	68.593	69.644	64.991
		2	58.664	61.290	59.837	58.776	60.172	61.625	60.982	60.954	59.893	
	3	1	82.618	76.200	79.193	72.750	73.004	79.954	72.141	75.185	-	64.645
		2	51.919	51.376	53.644	53.337	53.621	53.054	53.408	54.873	53.668	
	4	1	68.398	61.349	71.900	72.983	67.154	65.196	65.726	75.932	-	63.133
		2	56.776	56.049	56.630	57.018	57.527	57.963	56.970	58.351	60.411	
	5	1	74.669	79.197	80.848	77.446	81.848	79.822	76.770	71.817	-	71.271
		2	65.473	63.597	63.254	68.882	66.319	66.398	63.730	60.453	65.420	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.11 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส (ยูนิตต่อกรัมขั้วสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	62.704	61.241	61.075	57.018	61.075	60.026	60.026	61.682	61.075	62.263
		2	62.410	65.502	65.502	62.698	64.690	65.292	62.934	63.379	62.410	
	2	1	54.728	52.688	51.835	53.281	53.267	49.748	52.854	49.511	52.831	55.074
		2	57.033	59.351	55.675	57.970	54.996	57.642	57.806	59.047	61.060	
	3	1	44.221	43.555	38.619	43.500	42.538	43.130	46.421	44.350	44.664	44.237
		2	45.067	44.737	45.311	45.224	44.077	48.212	45.345	44.181	43.104	
	4	1	38.846	38.861	37.152	38.096	38.426	38.846	35.353	38.201	37.916	39.860
		2	42.165	39.305	41.094	39.213	43.847	42.761	42.930	43.862	40.605	
	5	1	37.551	37.203	37.055	37.484	35.675	36.037	37.632	37.967	37.967	38.023
		2	39.581	38.620	37.297	38.913	39.317	38.941	38.913	39.317	38.941	
3:1	1	1	66.739	68.664	67.702	61.322	67.812	64.154	68.554	-	-	67.430
		2	67.807	68.304	66.758	67.227	69.352	67.034	66.868	67.338	66.179	
	2	1	61.852	61.675	61.321	61.245	63.469	61.321	61.599	61.953	62.661	61.196
		2	60.642	64.572	62.979	56.892	59.640	62.234	59.332	58.202	59.948	
	3	1	64.644	64.720	65.129	64.465	64.057	64.567	60.790	62.117	62.526	58.255
		2	52.241	52.675	51.872	53.152	54.020	53.217	52.957	52.978	-	
	4	1	46.100	48.305	46.264	49.718	49.137	50.356	50.298	50.317	52.910	50.403
		2	50.864	50.322	53.167	51.174	52.102	51.851	52.373	51.445	50.555	
	5	1	47.340	46.770	47.288	44.643	45.680	44.626	44.505	44.401	42.118	46.046
		2	47.287	47.402	46.012	46.028	47.222	46.453	46.094	46.274	48.694	
3:2	1	1	75.861	75.548	73.049	75.889	75.520	77.991	72.424	71.685	72.481	73.968
		2	74.194	74.030	73.702	71.819	73.320	72.528	73.538	74.630	73.211	
	2	1	59.055	58.259	55.412	58.886	59.731	61.081	57.222	63.759	-	62.903
		2	66.274	68.112	66.752	65.972	64.537	65.972	66.526	66.601	68.791	
	3	1	56.762	53.274	55.742	55.885	54.457	54.600	52.805	54.927	55.865	54.269
		2	51.517	51.701	52.656	53.979	53.961	54.402	54.346	54.953	55.008	
	4	1	50.994	51.123	50.257	50.312	50.976	52.654	52.488	51.769	-	52.668
		2	52.992	54.078	53.147	54.130	53.285	54.492	55.457	54.871	54.354	
	5	1	46.078	47.945	46.239	45.917	45.740	47.188	49.490	46.561	47.784	49.582
		2	50.861	51.814	52.090	51.414	50.999	51.752	53.242	52.612	54.748	
3:3	1	1	73.678	71.710	72.681	69.604	69.853	67.802	67.635	72.376	65.612	68.616
		2	68.600	66.362	66.202	68.664	67.129	67.449	66.394	66.969	66.362	
	2	1	68.922	65.593	64.036	66.909	65.137	67.177	61.055	65.486	68.520	62.959
		2	60.280	61.174	59.595	60.995	59.952	59.744	59.565	59.356	59.773	
	3	1	64.475	62.331	62.424	62.914	61.119	63.566	63.310	63.659	63.147	58.152
		2	52.007	52.400	52.498	53.234	54.338	53.994	54.019	53.454	53.847	
	4	1	60.714	59.696	60.756	59.779	57.803	59.529	59.841	57.970	60.818	56.277
		2	52.307	52.330	52.910	52.776	53.088	52.709	52.686	53.244	54.025	
	5	1	59.588	59.988	60.349	62.092	60.670	59.788	61.251	59.588	62.132	55.031
		2	49.269	48.366	48.386	50.934	50.492	49.349	48.687	49.650	49.971	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.12 ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ไซแลนเนส (ยูนิตต่อกรัมซบสเตรทแห้ง)										ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	69.845	65.358	73.222	62.832	63.399	60.588	67.988	63.270	63.425	64.534	
		2	66.682	63.509	63.048	62.050	62.690	63.611	63.202	63.995	62.895		
	2	1	53.522	52.568	51.973	51.273	52.016	51.358	51.273	52.016	51.973	49.515	
		2	48.533	47.320	47.395	47.134	46.201	46.686	47.134	46.201	46.686		
	3	1	43.330	44.779	43.050	46.343	44.186	42.820	43.495	40.070	41.931	41.358	
		2	40.120	37.450	37.550	39.78	39.63	40.45	39.249	40.306	39.906		
	4	1	38.528	37.463	37.895	38.771	39.041	39.256	38.906	39.054	38.448	39.125	
		2	38.857	39.726	37.694	39.516	39.867	40.105	40.203	40.568	40.357		
	5	1	40.571	37.719	38.081	39.447	37.371	41.656	37.639	38.242	38.041	38.314	
		2	38.018	38.561	37.583	38.154	39.078	36.931	38.276	37.311	36.972		
3:1	1	1	64.591	65.489	62.278	70.169	64.047	70.931	63.938	65.244	64.836	67.669	
		2	70.373	69.960	71.201	70.870	68.718	68.469	68.966	68.248	69.711		
	2	1	67.037	67.324	62.938	62.547	64.374	66.410	68.029	66.828	68.786	65.369	
		2	64.186	63.519	64.880	65.188	64.161	63.775	66.447	65.137	65.085		
	3	1	65.726	61.878	64.562	65.659	65.256	65.08	66.464	66.911	63.242	62.423	
		2	58.708	64.395	59.099	59.989	59.902	58.057	59.338	59.512	59.837		
	4	1	46.388	49.197	48.580	49.145	50.909	50.772	51.166	49.693	-	53.116	
		2	58.777	56.243	58.836	57.075	56.669	57.036	54.327	54.792	56.456		
	5	1	42.856	41.799	40.199	43.731	46.765	44.954	45.588	-	-	47.178	
		2	49.626	50.574	49.233	49.642	49.789	50.885	51.277	50.754	-		
3:2	1	1	62.346	61.858	52.979	63.269	64.354	62.509	61.749	63.242	-	66.504	
		2	70.573	71.476	68.739	70.764	70.190	70.436	69.724	70.053	70.244		
	2	1	55.720	55.574	48.230	53.367	54.871	52.882	52.906	53.100	51.281	51.238	
		2	50.234	49.273	51.065	49.680	48.867	47.278	45.338	48.146	49.717		
	3	1	47.877	47.936	44.307	49.309	47.013	48.328	48.289	47.327	48.838	49.157	
		2	49.632	49.632	50.897	47.191	50.440	51.388	51.265	49.772	51.459		
	4	1	46.675	46.431	42.391	44.307	46.675	46.431	46.309	45.979	45.979	46.571	
		2	46.811	47.036	47.084	47.922	47.406	46.746	45.716	47.084	49.371		
	5	1	42.527	42.376	44.586	44.041	43.935	43.556	44.328	43.163	-	43.826	
		2	43.878	44.345	43.848	44.330	43.787	45.023	43.561	44.857	44.330		
3:3	1	1	67.625	67.096	66.012	66.930	68.181	67.069	65.873	65.623	65.178	66.672	
		2	66.420	67.941	66.706	65.818	64.899	65.597	67.149	67.561	68.417		
	2	1	57.966	58.122	58.501	57.075	56.384	56.295	55.648	55.359	55.715	57.490	
		2	60.007	57.876	57.876	57.876	58.221	56.810	56.925	55.686	62.485		
	3	1	52.407	50.136	50.949	50.136	46.123	51.233	52.180	52.123	52.539	49.679	
		2	47.130	49.059	50.240	49.559	45.677	49.627	47.016	50.467	-		
	4	1	51.012	50.238	48.383	49.788	50.094	49.626	48.924	48.978	50.382	48.327	
		2	46.07	49.92	48.13	47.762	45.097	46.745	47.701	45.259	45.768		
	5	1	46.206	47.712	44.383	42.88	44.17	42.79	46.624	44.550	46.524	44.463	
		2	44.973	44.865	43.746	43.403	44.215	45.533	38.384	44.919	44.468		

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.13 ปริมาณกลูโคซามีน ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ปริมาณกลูโคซามีน (มิลลิกรัมต่อกรัมขั้วสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	16.587	18.383	18.982	27.964	12.395	6.407	21.377	20.778	16.587	23.185
		2	25.344	23.053	32.977	30.687	29.160	29.160	32.214	25.344	-	
	2	1	21.976	21.377	26.168	22.575	30.359	24.371	20.180	-	-	29.165
		2	42.901	37.557	29.924	30.687	32.214	33.740	40.611	33.740	38.321	
	3	1	24.970	23.174	30.359	26.168	25.569	32.156	27.964	24.371	26.766	32.904
		2	30.687	40.611	38.321	42.901	44.427	32.977	44.427	43.664	-	
	4	1	38.144	30.359	35.749	30.958	47.725	25.569	20.778	29.162	17.186	35.917
		2	44.427	39.084	45.191	37.557	38.321	43.664	49.008	46.718	-	
	5	1	41.737	39.940	29.162	24.371	20.180	23.772	28.563	27.964	-	33.383
		2	36.794	37.557	33.740	32.977	41.374	39.847	48.244	50.534	34.504	
3:1	1	1	56.727	57.939	50.667	59.758	44.606	48.848	41.576	39.758	-	53.622
		2	62.946	59.845	59.845	58.295	55.969	49.767	52.868	-	-	
	2	1	61.576	48.242	43.394	45.818	50.061	38.545	35.515	42.182	-	52.516
		2	57.519	63.721	73.798	59.070	59.845	54.419	51.318	-	-	
	3	1	62.788	53.697	63.394	33.697	38.545	39.758	57.939	67.636	50.061	59.642
		2	65.271	68.372	64.496	62.171	56.744	66.822	83.876	71.473	-	
	4	1	48.242	53.697	57.333	64.000	49.455	51.879	56.727	48.848	-	61.907
		2	65.271	66.822	69.922	66.047	77.674	75.349	74.574	66.822	-	
	5	1	71.273	71.879	90.061	68.848	65.818	73.091	73.697	59.758	-	77.354
		2	73.023	74.574	84.651	86.202	83.876	83.876	91.628	-	-	
3:2	1	1	41.656	39.669	49.603	52.252	44.967	41.656	46.291	46.954	42.318	44.217
		2	34.530	34.530	39.658	51.624	47.350	45.641	45.641	50.769	-	
	2	1	42.318	43.642	58.212	58.874	48.278	44.967	53.576	-	-	50.556
		2	31.966	33.675	33.675	54.188	53.333	47.350	47.350	-	-	
	3	1	46.954	60.199	53.576	52.914	57.550	39.669	41.656	-	-	47.350
		2	49.915	53.333	38.803	48.205	42.222	87.521	79.829	-	-	
	4	1	46.954	58.874	72.781	69.470	72.119	62.185	-	-	-	63.732
		2	70.427	72.991	51.624	53.333	56.752	60.171	68.718	67.863	-	
	5	1	52.252	41.656	48.940	55.563	54.901	62.848	52.252	50.265	45.629	50.722
		2	58.462	52.479	44.786	42.222	40.513	41.368	57.607	60.171	-	
3:3	1	1	38.720	39.329	49.085	39.329	55.183	46.646	-	-	-	43.205
		2	40.000	37.561	41.220	44.878	46.098	44.878	41.220	40.610	38.780	
	2	1	50.915	56.402	60.061	52.744	50.305	55.183	39.329	40.549	45.427	49.923
		2	73.537	77.805	80.244	46.707	45.488	40.000	52.195	58.293	-	
	3	1	58.841	51.524	57.012	64.390	81.463	64.390	59.451	60.671	65.549	59.126
		2	49.756	51.585	64.390	81.463	64.390	55.854	64.390	66.220	-	
	4	1	69.207	71.646	72.256	65.549	63.110	64.329	58.232	69.817	-	74.435
		2	52.195	51.585	48.537	83.293	95.488	78.415	88.780	88.171	83.902	
	5	1	79.573	75.915	83.232	68.598	66.768	72.866	50.305	57.622	58.841	85.386
		2	85.732	83.293	77.805	88.780	92.439	81.463	91.829	92.439	-	

\*ปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้น (วันที่ 0) ที่อัตราส่วน 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 เท่ากับ 16.14 20.83 24.67 และ 31.14 มิลลิกรัมต่อกรัมขั้วสเตรทแห้ง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.14 ปริมาณกลูโคซามีน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ปริมาณกลูโคซามีน (มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	45.989	50.934	32.802	42.692	42.143	38.297	51.484	32.802	-	38.754
		2	37.195	35.366	43.902	32.927	35.366	40.854	33.537	29.268	29.878	
	2	1	36.648	48.187	35.000	44.890	37.198	25.110	51.484	45.440	36.099	39.888
		2	43.902	43.293	48.171	42.683	32.927	31.098	38.415	44.512	32.927	
	3	1	26.758	37.198	32.253	53.681	43.242	37.198	37.747	42.143	39.945	32.902
		2	26.220	25.610	28.659	25.000	24.390	30.488	29.878	27.439	24.390	
	4	1	28.956	31.703	26.758	43.242	42.143	48.187	44.890	37.747	38.846	37.183
		2	32.927	32.317	31.098	41.463	43.902	32.927	35.366	-	-	
	5	1	29.268	29.268	23.171	41.593	48.736	35.000	52.033	21.264	33.352	35.642
		2	29.268	29.268	23.171	33.537	36.585	29.268	22.561	25.610	28.049	
3:1	1	1	29.053	26.947	26.421	30.632	32.737	32.211	34.842	38.000	-	29.698
		2	24.606	25.212	27.030	30.061	34.909	28.848	33.697	-	-	
	2	1	36.947	38.526	42.211	44.842	39.579	38.526	34.316	37.474	-	39.745
		2	42.182	37.939	35.515	44.000	41.576	38.545	43.394	44.000	39.152	
	3	1	50.105	45.368	44.842	37.474	35.895	38.000	42.737	-	-	44.791
		2	40.970	36.727	41.576	45.818	42.788	48.242	63.394	60.970	-	
	4	1	46.421	49.053	46.947	50.105	46.421	51.158	35.368	42.211	34.316	48.135
		2	51.879	53.091	48.848	56.727	50.061	51.273	54.303	42.788	47.030	
	5	1	58.000	54.316	51.158	44.316	45.474	35.368	38.526	-	-	45.468
		2	57.939	51.273	50.061	34.303	35.515	44.606	47.030	45.212	-	
3:2	1	1	33.675	30.256	38.803	22.564	24.274	27.692	27.692	29.402	-	37.005
		2	48.278	48.940	40.331	45.629	46.954	42.980	39.007	-	-	
	2	1	58.462	51.624	60.171	59.316	48.205	46.496	50.769	53.333	-	53.883
		2	50.927	54.238	50.265	78.742	58.874	64.172	40.331	46.954	44.967	
	3	1	73.846	65.299	54.188	49.060	62.735	48.205	54.188	-	-	61.620
		2	57.550	60.199	52.252	66.821	70.795	76.093	67.483	64.172	65.497	
	4	1	73.846	76.410	67.863	63.590	55.043	63.590	-	-	-	66.478
		2	60.861	62.848	57.550	71.457	64.172	68.146	72.119	65.497	73.444	
	5	1	88.376	77.265	65.299	92.650	96.923	71.282	67.863	78.120	-	73.152
		2	65.497	67.483	64.172	64.834	58.874	67.483	64.834	-	-	
3:3	1	1	39.070	48.372	47.209	53.023	51.279	44.884	40.233	43.721	-	50.207
		2	63.171	59.512	54.634	58.902	41.220	54.634	41.829	48.537	-	
	2	1	50.116	49.535	54.767	37.326	40.814	45.465	51.860	54.767	-	50.700
		2	46.098	46.098	39.390	44.268	44.268	68.049	65.000	77.195	-	
	3	1	50.116	53.023	58.256	60.581	53.023	58.256	57.093	51.279	51.860	57.477
		2	52.195	48.537	38.780	58.293	72.317	60.732	65.000	71.098	74.146	
	4	1	61.744	66.977	67.558	64.070	69.884	60.000	45.465	47.209	50.116	65.449
		2	69.268	68.659	63.780	72.927	83.293	79.634	69.268	69.268	-	
	5	1	79.767	83.837	79.186	73.953	76.279	81.512	63.488	68.721	72.209	85.054
		2	102.195	84.512	70.488	88.171	79.634	90.000	80.854	79.634	90.000	

\*ปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้น (วันที่ 0) ที่อัตราส่วน 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 เท่ากับ 16.14 20.83 24.67 และ 31.14 มิลลิกรัมต่อกรัมซัสเตรทแห้ง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3.15 ปริมาณกลูโคซามีน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm

อัตราส่วน กากมะพร้าวต่อรำข้าวสาลี	ระยะเวลา (วัน)	การทดลอง (ครั้งที่)	ปริมาณกลูโคซามีน (มิลลิกรัมต่อกรัมขั้วสเตรทแห้ง)									ค่าเฉลี่ย
3:0	1	1	32.214	36.794	38.321	31.450	41.374	42.901	36.794	44.427	31.450	31.835
		2	25.610	29.268	21.951	23.171	23.780	21.951	18.293	25.000	-	
	2	1	33.740	35.267	36.031	55.878	50.534	45.191	45.191	50.534	54.351	41.242
		2	28.049	34.756	35.366	33.537	23.171	30.488	40.854	42.683	39.634	
	3	1	49.008	45.954	41.374	36.794	39.847	53.588	49.008	47.481	50.534	38.022
		2	25.610	30.488	28.659	35.976	35.976	33.537	28.659	26.220	29.878	
	4	1	48.244	39.847	48.244	45.954	45.191	29.924	31.450	-	-	35.104
		2	29.268	28.049	34.146	37.195	41.463	27.439	18.902	23.171	-	
	5	1	39.084	39.084	47.481	41.374	44.427	32.977	28.397	35.267	-	41.846
		2	32.927	46.951	43.902	44.512	37.195	45.732	43.293	50.000	-	
3:1	1	1	35.671	40.549	46.646	49.695	42.378	38.110	34.451	-	-	41.999
		2	43.182	45.455	49.242	40.909	46.970	43.182	30.303	38.636	-	
	2	1	32.012	33.232	37.500	51.524	53.354	59.451	46.646	40.549	39.329	39.691
		2	35.606	37.879	40.909	38.636	37.121	38.636	29.545	31.818	-	
	3	1	27.744	24.085	24.695	36.890	36.280	36.890	32.012	33.232	-	32.563
		2	30.303	34.091	37.879	30.303	28.788	35.606	34.091	31.061	35.606	
	4	1	32.012	33.232	33.841	42.988	43.598	42.988	38.720	38.720	-	42.239
		2	64.394	50.000	43.182	41.667	37.879	40.152	44.697	-	-	
	5	1	52.744	47.866	42.378	40.549	39.329	45.427	42.988	42.378	-	40.032
		2	37.121	34.848	38.636	31.061	38.636	31.061	32.576	45.455	-	
3:2	1	1	33.694	37.516	54.076	40.064	33.057	41.975	33.057	40.701	-	34.464
		2	20.000	25.983	25.128	31.111	28.547	25.128	41.368	35.385	37.949	
	2	1	61.083	74.459	58.535	50.892	50.255	54.076	51.529	71.274	62.357	52.007
		2	73.846	67.863	69.573	39.658	42.222	42.222	39.658	-	-	
	3	1	49.618	60.446	61.083	68.089	71.274	73.185	78.280	71.274	73.822	64.540
		2	71.282	68.718	38.803	37.949	49.060	51.624	-	-	-	
	4	1	65.541	61.083	53.439	44.522	48.981	45.159	47.070	61.083	59.172	54.904
		2	60.171	61.880	44.786	48.205	58.462	45.641	75.556	-	-	
	5	1	43.248	40.701	36.242	71.274	58.535	57.898	47.070	34.968	40.701	45.558
		2	28.547	32.821	43.077	48.205	48.205	51.624	60.171	47.350	-	
3:3	1	1	44.884	50.698	40.814	45.465	48.953	51.860	46.628	49.535	-	50.732
		2	62.121	60.606	60.606	37.121	54.545	49.242	46.970	54.545	-	
	2	1	42.558	50.698	46.047	53.023	61.163	52.442	50.116	54.186	55.930	51.108
		2	46.970	50.758	46.212	46.970	60.606	49.242	53.030	-	-	
	3	1	64.651	66.977	70.465	54.767	60.000	62.907	71.628	66.977	-	67.076
		2	62.879	72.727	71.212	81.061	67.424	79.545	56.818	59.091	68.939	
	4	1	66.395	54.767	48.953	55.930	63.488	66.395	61.744	58.837	65.814	53.109
		2	44.697	37.879	47.727	56.818	40.909	47.727	46.212	37.121	54.545	
	5	1	55.930	58.256	61.163	43.140	44.884	58.256	51.860	53.023	-	49.588
		2	56.061	46.212	41.667	46.970	54.545	40.152	35.606	41.667	-	

\*ปริมาณกลูโคซามีนเริ่มต้น (วันที่ 0) ที่อัตราส่วน 3:0 3:1 3:2 และ 3:3 เท่ากับ 16.14 20.83 24.67 และ 31.14 มิลลิกรัมต่อกรัมขั้วสเตรทแห้ง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข.4  
องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

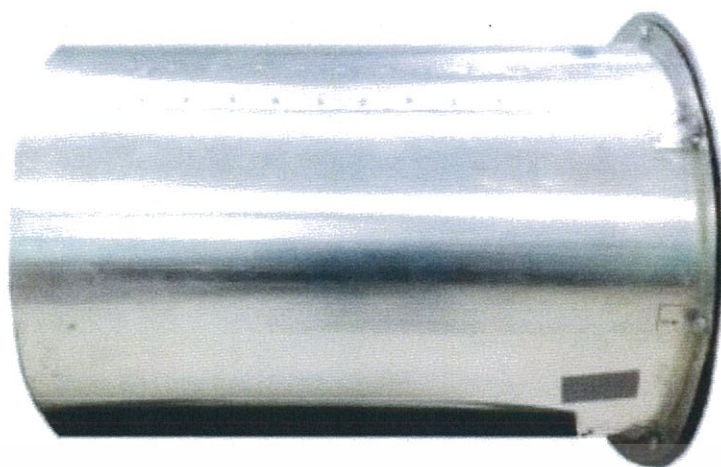
ตารางที่ ข.4.1 องค์ประกอบทางเคมีของกากมะพร้าวและรำข้าวสาลี

องค์ประกอบทางเคมี (ร้อยละ)	กากมะพร้าว	รำข้าวสาลี	วิธีการวิเคราะห์
ความชื้น	4.62	7.12	AOAC 18 <sup>th</sup> ed., 2010, Method 934.01
โปรตีน	6.47	18.28	AOAC 18 <sup>th</sup> ed., 2010, Method 984.13
ไขมัน	30.94	4.65	AOAC 18 <sup>th</sup> ed., 2010, Method 2003.05
เซลลูโลส	39.36	9.71	Forage Fiber Analysis. Goering and Van Soest, 1970
เฮมิเซลลูโลส	9.87	31.98	Forage Fiber Analysis. Goering and Van Soest, 1970
เถ้า	1.16	5.28	AOAC 18 <sup>th</sup> ed., 2010, Method 942.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

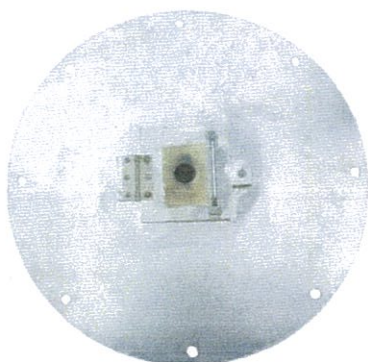


รูปที่ ค.1.1 ถังหมักชั้นนอก

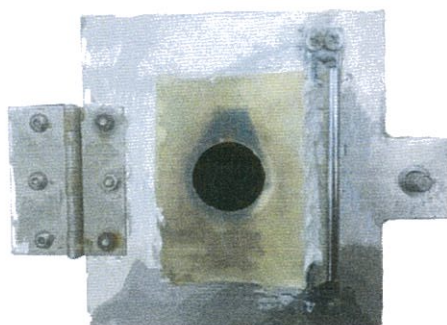


รูปที่ ค.1.2 (ก) ถังหมักชั้นใน (ข) ช่องเก็บตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

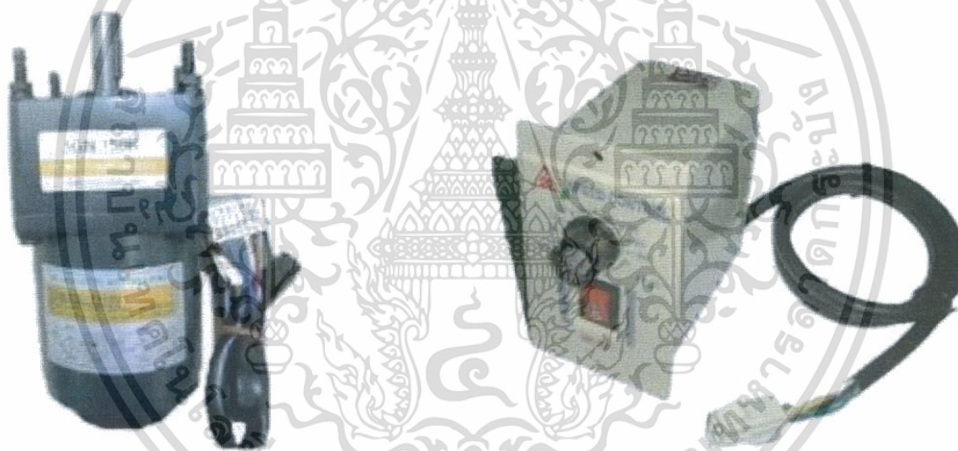


(ก)



(ข)

รูปที่ ค.1.3 (ก) ฝาถังชั้นนอก (ข) ช่องเก็บตัวอย่าง



(ก)



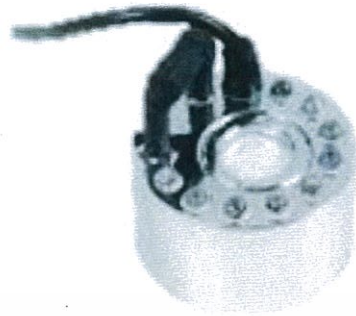
(ข)

รูปที่ ค.1.4 (ก) มอเตอร์ (ข) ตัวปรับความเร็วรอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)

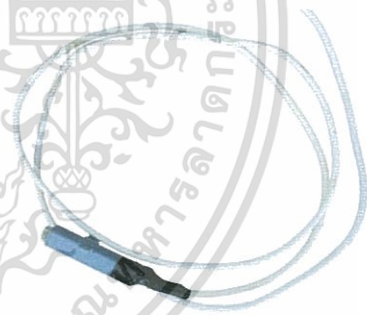


(ข)

รูปที่ ค.1.5 (ก) ถังใส่น้ำ (ข) เครื่องสร้างหมอก



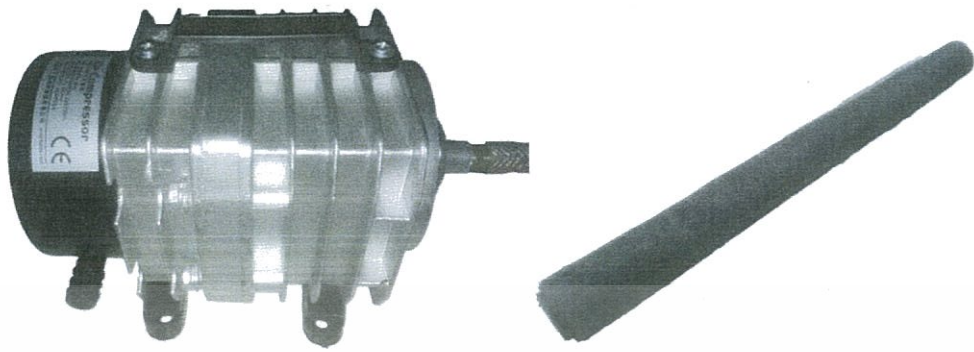
(ก)



(ข)

รูปที่ ค.1.6 (ก) ชุดควบคุมความชื้น (ข) เซนเซอร์วัดความชื้น

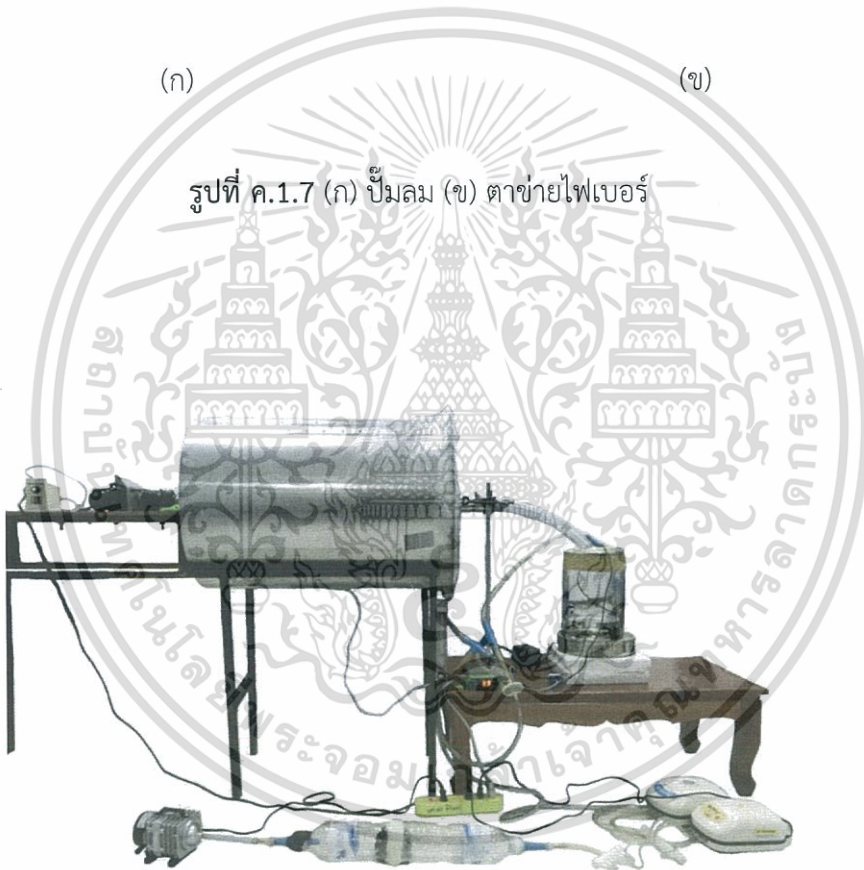
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)

(ข)

รูปที่ ค.1.7 (ก) มอเตอร์ (ข) ใยแก้วนำแสง



รูปที่ ค.1.8 ชุดถังหมักแบบหมุนหลังการปรับปรุง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.2.1 เชื้อรา *Trichoderma reesei*













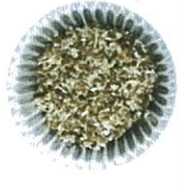









รูปที่ ค.2.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้









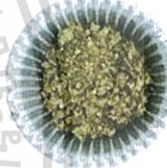



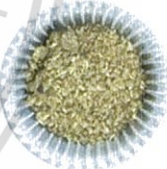








เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้


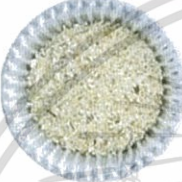



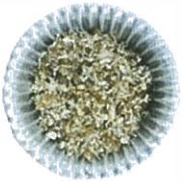

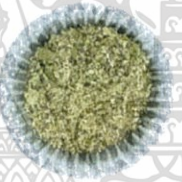






ตารางที่ ค.3.1 ซับสเตอร์ที่ตัวอย่างที่ทำการหมักในแต่ละวัน ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 vvm

อัตราส่วน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
3:0					
3:1					
3:2					
3:3					

ตารางที่ ค.3.2 ชั้นสเตรทตัวอย่างที่ทำการหมักในแต่ละวัน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.0 vvm

อัตราส่วน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
3:0					
3:1					
3:2					
3:3					

ตารางที่ ค.3.3 ชั้นสเตรทตัวอย่างที่ทำการหมักในแต่ละวัน ที่อัตราการเติมอากาศ 1.5 vvm

อัตราส่วน	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 4	วันที่ 5
3:0					
3:1					
3:2					
3:3	