



การสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์จากกล่องเครื่องดื่ม
ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ
Extraction of Plastic and Aluminum Foil from Beverage Cartons
with Biological Processes

ชฎาพร หัตถบุรณ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร
พ.ศ. 2556



การสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์จากกล่องเครื่องดื่ม
ด้วยกระบวนการทางชีวภาพ
Extraction of Plastic and Aluminum Foil from Beverage Cartons
with Biological Processes

ชฎาพร หัตถบุรณ

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชา วิทยาการสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ
คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

พ.ศ. 2556

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

ชื่อปริญญาโท การสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วย กระบวนการทางชีวภาพ
ชื่อ นามสกุล ชฎาพร หัตถบุรณ์
ชื่อปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชา วิทยาการสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ
คณะ วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
อาจารย์ที่ปรึกษา ดร.ดวงฤทัย นิคมรัฐ

คณะกรรมการสอบปริญญาโทได้ให้ความเห็นชอบปริญญาโทฉบับนี้แล้ว

ดร.ภัทริกา สูงสมบัติ

ประธานกรรมการ

ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชณี ผิวทอง

กรรมการ

ดร.ดวงฤทัย นิคมรัฐ

กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาปริญญาโท

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

อนุมัติให้รับปริญญาโทฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาการสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

ลิขสิทธิ์ของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

ชื่อปริญญาโท การสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วย
กระบวนการทางชีวภาพ
ชื่อ นามสกุล ชฎาพร หัตถบุรณ์
ชื่อปริญญา วิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชา และคณะ วิทยาการสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ
วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
ปีการศึกษา 2556

บทคัดย่อ

การสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยกระบวนการทางชีวภาพ เป็นแนวทางหนึ่งที่เหมาะสมในการรีไซเคิล เนื่องด้วยเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม และยังได้กระดาษ และส่วนอื่นๆ คือ พลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ที่สามารถนำไปใช้ประโยชน์ งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ถูกคัดแยกจากเปลือกผลทุเรียนและขนุน ที่มีศักยภาพในการย่อยเซลลูโลสให้สามารถย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มในระดับขนาดเล็ก ด้วยการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น เพื่อบอกประสิทธิภาพในการย่อยกระดาษด้วยวิธีทางชีวเคมีคือ เบนดิคซ์ โดยเทียบกับตัวควบคุมที่ใช้ต่างและน้ำ เมื่อพัฒนาต่อในระดับขนาดกลางและใหญ่ พบว่าเชื้อจุลินทรีย์สามารถช่วยย่อยและแยกแผ่นกระดาษออกจากพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ได้ง่าย ในระยะเวลาที่สั้น (14 วัน) หลังการต้มในน้ำเดือดเป็นเวลานาน 10 นาที ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการปรับตัวได้ดี สามารถย่อยกระดาษภายใน 14 วัน และสามารถย่อยอย่างต่อเนื่องได้เป็นระยะเวลา 28 วัน สามารถย่อยสลายเซลลูโลสจากกล่องเครื่องดื่มได้ดีกว่าเชื้อรา ได้กระดาษแยกออกจากพอยล์และพลาสติกร้อยละ 70 และร้อยละ 66 ตามลำดับ ผลดังกล่าวนี้ จึงชี้ให้เห็นว่ากระบวนการย่อยทางชีวภาพด้วยจุลินทรีย์มีศักยภาพสูง ที่สามารถนำไปใช้ในการย่อยผลิตภัณฑ์กระดาษต่างๆ เพื่อการรีไซเคิล และสามารถไปประยุกต์ใช้ในงานระดับอุตสาหกรรมต่อไป

คำสำคัญ: รา แบคทีเรีย เซลลูเลส น้ำตาลรีดิวซ์

Independent Study Title	Extraction of Plastic and Aluminum Foil from Beverage Cartons with Biological Processes
Author	Chadaporn Hattaboon
Degree	Bachelor of Science
Major program	Environmental Science and Natural Resources Faculty of Science and Technology
Academic Year	2013

ABSTRACT

Extraction of plastic and aluminum foil from beverage cartons with biological processes is one environmentally friendly approach that is appropriated for paper recycling. The other remained parts including plastic and foils can thus be utilized. This research aimed to improve the capability in digestion of cellulose paper of microbes, isolated and screen from fruit, durian and jackfruit, in degradation of beverage cartons. In the small scale processes, reducing sugar indicating the efficiency of the degradation process of the boxes was released from the hydrolysis of paper and determined by biochemical method of Benedict test. The controls of alkali and water immersion were utilized for these experiments. In the medium and large scale digestion processes, the results showed that microorganisms helped separate sheet papers from the plastic and aluminum foils shortly in 14 days after boiling in water for 10 min. The bacteria digestion were well adapted within 14 days, and prolonged their high degradability until 28 days. They could degrade the cellulose components better than the fungi with the separation efficiency of 70 percent and 66 percent, respectively. Therefore, from overall, the biodegradation process of microorganisms have a high potential in digestion of various paper products for recycling and can be applied in industrial applications.

Keywords: Fungus, Bacterium, Cellulase, Reducing sugar

กิตติกรรมประกาศ

การทำปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ประสบความสำเร็จสมบูรณ์ด้วยความช่วยเหลือ ในการวางแผน งานวิจัย การให้คำแนะนำปรึกษา การชี้แนะในทางที่ถูกต้อง การตรวจทานแก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดจนเป็นผู้ให้กำลังใจแก่ผู้วิจัยเสมอมา ทั้งนี้คณาจารย์ประกอบด้วย อาจารย์ที่ปรึกษาหลัก คือ ดร.ดวงฤทัย นิคมรัฐ, ดร.ภัทริกา สูงสมบัติ ประธานกรรมการสอบโครงการงาน และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์รัชณี ผิวทอง กรรมการสอบโครงการงาน ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านเป็นอย่างสูง ซึ่งมีส่วนช่วยเหลือทำให้งานวิจัยฉบับนี้ มีความสมบูรณ์มากขึ้น

ขอขอบคุณขอขอบคุณโครงการส่งเสริมสิ่งประดิษฐ์และนวัตกรรมเพื่อคนรุ่นใหม่ ที่สนับสนุนช่วยเหลือทุนในการทำวิจัย และความช่วยเหลืออำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือต่างๆ ภายในห้องปฏิบัติการเป็นอย่างดี จนทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่สิ่งแวดล้อม ณ บริษัท เด็นโซ่(ประเทศไทย) จำกัด จ.สมุทรปราการ ที่ให้ความช่วยเหลือ สนับสนุน การให้ความร่วมมือในการทำงานวิจัยฉบับนี้ และยังให้กำลังใจ คำแนะนำและความรู้ต่างๆ ในระหว่างการทำงานวิจัย เป็นอย่างดี

สุดท้ายนี้ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ญาติผู้ใกล้ชิดทุกคน คณาจารย์ทุกท่าน เจ้าหน้าที่ทุกคน ตลอดจนพี่ๆ และเพื่อนๆทุกคน ที่ให้ความช่วยเหลือ เป็นกำลังใจ ให้คำแนะนำ การสนับสนุน ทำให้งานวิจัยฉบับนี้ มีความสมบูรณ์มากขึ้น และสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ชฎาพร หัตถบุรณ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(ก)
Abstract	(ข)
กิตติกรรมประกาศ	(ค)
สารบัญ	(ง)
สารบัญตาราง	(ช)
สารบัญภาพ	(ซ)
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
1.5 วิธีดำเนินงานวิจัย	3
1.6 ระยะเวลาการดำเนินงาน	4
1.7 แผนการปฏิบัติงาน	4
1.8 กรอบแนวความคิด	6
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	7
2.1 กล้องเครื่องตีพิมพ์	7
2.1.1 วัตถุประสงค์	8
2.1.2 ประโยชน์ที่ได้จากกล้องเครื่องตีพิมพ์	8
2.2 กระดาษ	9
2.2.1 วัตถุประสงค์ที่ใช้ในการผลิตกระดาษ	9
2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเยื่อกระดาษและมีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษ	10
2.2.3 กระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ	10
2.2.4 กระบวนการผลิตกระดาษ	11
2.3 เซลลูโลส	12
2.3.1 โครงสร้างของเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช	12
2.3.2 ชนิดของเซลลูโลส	13
2.3.3 การนำวัสดุเซลลูโลสไปใช้ประโยชน์	13
2.3.4 การย่อยสลายเซลลูโลส	14
2.3.5 ข้อดีของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์	14
2.3.6 แบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลส	15

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4 ชนิดและเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส	16
2.4.1 เอนไซม์เซลลูเลส	16
2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส	21
2.4.3 คุณสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลส	24
2.4.4 การนำเอนไซม์ไปใช้ประโยชน์	25
2.5 ชนิดสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่ได้ในกระบวนการย่อยเซลลูโลส	26
2.5.1 ซูโครส	26
2.5.2 ไคติน	26
2.5.3 แป้ง	28
2.5.4 อินูลิน	29
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	30
2.6.1 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส	30
2.6.2 การย่อยสลายกระดาษและกล่องเครื่องดื่ม	35
บทที่ 3 วิธีดำเนินการ	37
3.1 รูปแบบการศึกษา	37
3.2 วัตถุประสงค์ สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ	37
3.3 แนวทางการวิจัย	39
3.3.1 การหมักขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ	39
3.3.2 การหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการ	41
3.3.3 การหมักขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการ	43
บทที่ 4 ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล	48
4.1 ผลการหมักขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ	48
4.1.1 กระบวนการย่อยกระดาษกรอง	48
4.1.2 กระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่ม	53
4.2 ผลการหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการ	58
4.2.1 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม	58
4.2.2 ประสิทธิภาพในการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม	62
4.3 ผลการหมักขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการ	65
4.2.1 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม	65
4.2.2 ประสิทธิภาพในการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม	67
4.4 ประสิทธิภาพขบวนการแยกกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์	68

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	71
5.1 สรุปผล	71
5.2 ข้อเสนอแนะ	73
เอกสารอ้างอิง	75
ภาคผนวก	81
ประวัติผู้วิจัย	



สารบัญตาราง

ตาราง	หน้า
1.1 แสดงแผนการปฏิบัติงาน	4
2.1 ปริมาณเซลลูโลสในวัสดุอินทรีย์	13
2.2 ตัวอย่างของวัสดุเซลลูโลสที่นำมาใช้ในปัจจุบัน	14
2.3 ผลลัพธ์จากการย่อยเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์	16
2.4 การย่อยสลายสารตั้งต้นโดยเซลลูเลส	18
2.5 น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์เซลลูเลสจากจุลินทรีย์	24
4.1 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์	49
4.2 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรองด้วยต่าง	50
4.3 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรองด้วยน้ำ	51
4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์	52
4.5 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์	53
4.6 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกล่องเครื่องดื่มด้วยต่าง	54
4.7 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกล่องเครื่องดื่มด้วยน้ำ	55
4.8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์	56
4.9 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์	60
4.10 ร้อยละองค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มที่สามารถรีไซเคิลได้ จากกระบวนการย่อยขนาดกลาง ด้วยเชื้อรา แบคทีเรีย ตัวควบคุมต่าง และน้ำ	69

สารบัญภาพ

ภาพ	หน้า
2.1 แสดงชั้นของกล่องเครื่องต้มทั้งหกชั้นซึ่งประกอบไปด้วยกระดาษ โพลีเอททิลีน และอลูมิเนียมฟอยล์	8
2.2 เส้นใยเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช	12
2.3 โครงสร้างของน้ำตาลซูโครส	26
2.4 โครงสร้างของไคติน	27
2.5 โครงสร้างของไคโตซาน	27
2.6 โครงสร้างของอะไมโลเพกทิน	29
2.7 โครงสร้างของอินูลิน	30
3.1 ตัวอย่างกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ใช้เป็นตัวแทนกระดาษ	37
3.2 ตัวอย่างกล่องเครื่องต้มที่เหลือทิ้ง	38
3.3 ตัวอย่างกระดาษกรอง (ก) และกล่องเครื่องต้ม (ข) ที่ใช้ในการทดลองขนาดเล็ก (กว้าง x ยาว เท่ากับ 0.2 x 1 เซนติเมตร)	39
3.4 การหมักกระดาษกรอง (ก) และกล่องเครื่องต้ม (ข) ในขวดปริมาตร 600 มิลลิลิตร ตัวอย่างหมักใช้ปริมาณ 14 กรัมในน้ำ 300 มิลลิลิตร	40
3.5 สภาพกระดาษกรองที่ผ่านการหมักขนาดเล็กเป็นเวลานาน 3 วันด้วย (ก) ราขาว (ข) ราน้ำตาล (ค) Bacteria Mixtures ขนุน (ง) Bacteria Mixtures ทูเรียน (จ) โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ (ฉ) น้ำ ตามลำดับ	41
3.6 สภาพกล่องเครื่องต้มเป็นเวลานาน 3 วันที่ผ่านการหมักขนาดเล็กด้วย (ก) ราขาว (ข) ราน้ำตาล (ค) Bacteria Mixtures ขนุน (ง) Bacteria Mixtures ทูเรียน (จ) โซเดียมไฮดรอกไซด์และ (ฉ) น้ำ ตามลำดับ	41
3.7 ตัวอย่างกล่องเครื่องต้มที่ใช้ในการทดลองขนาดกลาง (กว้าง x ยาว เท่ากับ 0.4 x 2 เซนติเมตร)	42
3.8 สภาพการย่อยขนาดกลางของกล่องเครื่องต้มเป็นเวลานาน 1 วัน โดยใช้เชื้อที่ผ่านการทดสอบในการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องต้มได้ดีในถังหมัก คือ (ก) Bacteria mixtures ทูเรียน (ข) ราน้ำตาล และ (ค) ตัวควบคุมที่ย่อยด้วยต่าง (0.5 N NaOH)	43
3.9 ตัวอย่างกล่องเครื่องต้มที่ละลายขนาด ถูกตัดออกเป็นแผ่นใช้ในการทดลองขนาดใหญ่	44
3.10 สภาพการหมักกล่องเครื่องต้มเป็นเวลานาน 10 วัน ด้วย (ก) เชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกไว้ คือ (ก) Bacteria mixture-ทูเรียน และ (ข) ราน้ำตาล	44
3.11 แผนภาพการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการคัดเลือก เชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยกระดาษกรองและกล่องเครื่องต้มที่ถูกตัดให้มีขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 0.2 x 1 เซนติเมตร	45

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า	
3.12	แผนภาพการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยกล่องเครื่องต้มที่ถูกตัดให้มีขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 0.4×2 เซนติเมตร	46
3.13	แผนภาพการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยกล่องเครื่องต้ม	47
4.1	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสจากกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์ (W Br MJ MD) ที่แตกต่างกัน ต่าง (C) และน้ำ (CW)	52
4.2	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ (W Br MJ MD) ที่แตกต่างกัน ต่าง (C) และน้ำ (CW)	56
4.3	แสดงประสิทธิภาพในการย่อยสลายกล่องเครื่องต้มด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยเปรียบเทียบเชื้อราน้ำตาล เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียน ตัวควบคุม 2 ชนิด คือ น้ำ และต่าง	57
4.4	แสดงลักษณะทางกายภาพในวันที่ 1 ด้วยกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย (MD) เชื้อรา (Br) และต่าง (C) เป็นเวลานาน 30 วัน	58
4.5	แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย (MD) เชื้อรา (Br) และย่อยด้วยต่าง (C) เป็นเวลานาน 30 วัน	58
4.6	แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้หลังกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย (MD) และเชื้อรา (Br) เป็นเวลานาน 30 วัน	59
4.7	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยเชื้อรา (Br) ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	60
4.8	แสดงลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ในถังหมักเชื้อราน้ำตาลในถังหมักเป็นเวลานาน 7 วัน	60
4.9	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย (MD) ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	61
4.10	ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ในถังหมักแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียนในถังหมักเป็นเวลานาน 7 วัน	61
4.11	แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยต่าง (0.5 N NaOH) ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	62
4.12	แผนภูมิแสดงร้อยละองค์ประกอบในกล่องเครื่องต้มที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อราที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	63
4.13	แผนภูมิแสดงร้อยละองค์ประกอบในกล่องเครื่องต้มที่ผ่านการย่อยด้วยแบคทีเรียที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	63
4.14	แผนภูมิแสดงร้อยละองค์ประกอบในกล่องเครื่องต้มที่ผ่านการย่อยด้วยต่างที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	64

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพ	หน้า
4.15 แผนภูมิแสดงร้อยละขององค์ประกอบในกล่องเครื่องต้มที่ผ่านการย่อยด้วยน้ำที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	64
4.16 แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้มโดยใช้เชื้อราเป็นเวลานาน 30 วัน	65
4.17 แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้มโดยใช้เชื้อแบคทีเรียเป็นเวลานาน 30 วัน	66
4.18 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย	66
4.19 แผนภูมิแสดงร้อยละขององค์ประกอบในกล่องเครื่องต้มรีไซเคิลที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อรา ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	67
4.20 แผนภูมิแสดงร้อยละขององค์ประกอบในกล่องเครื่องต้มรีไซเคิลที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรีย ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	68
4.21 แผนภูมิแสดงร้อยละขององค์ประกอบในกล่องเครื่องต้มรีไซเคิลที่ผ่านการย่อยด้วยรา แบคทีเรีย ตัวควบคุมต่าง และน้ำ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง	69



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัญหาขยะนับเป็นปัญหาใหญ่อย่างหนึ่งเราต้องเผชิญในยุคปัจจุบัน เนื่องจากในแต่ละวันมีของเหลือใช้ที่เกิดจากการอุปโภคบริโภคเป็นจำนวนมาก วัสดุรีไซเคิลจึงเป็นแนวทางหนึ่งของการจัดการกับขยะที่ได้รับความสนใจมากขึ้น ขั้นตอนส่วนใหญ่คือการนำขยะไปผ่านกระบวนการแปรสภาพในกระบวนการรีไซเคิล เช่น การหลอมเพื่อใช้เป็นวัสดุใหม่ แล้วนำกลับมาใช้ประโยชน์อีกครั้ง เป็นวัสดุที่อาจจะเป็ผลิตภัณฑ์เดิมหรือผลิตภัณฑ์ใหม่ แต่ในกระบวนการรีไซเคิลขยะส่วนใหญ่จำเป็นต้องผ่านกระบวนการย่อยสลาย คัดแยกเอาส่วนที่ไม่เกี่ยวข้องออกก่อน กล่องเครื่องตีที่ใช้แล้วเป็นตัวอย่างหนึ่งของขยะประเภทกระดาษปนกับโลหะที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลเพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่ การย่อยโดยวิธีทางชีวภาพจะมีลักษณะการย่อยเกิดขึ้นช้าๆ ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นจะขึ้นกับอุณหภูมิสิ่งแวดล้อมที่สิ่งมีชีวิตนั้นๆ สามารถเจริญเติบโตได้ และปฏิกริยาที่เกิดขึ้นก็ไม่รุนแรงไม่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม ทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้ภาชนะที่ทนทานต่อการกัดกร่อน ต้นทุนจึงต่ำกว่า (นิวัติ มณีขัติย์, 2556)

กระดาษได้ถูกผลิตขึ้นมาเพื่อตอบสนองความต้องการการใช้งานของมนุษย์ในหลายรูปแบบ นับตั้งแต่ใช้เป็นวัสดุพิมพ์เพื่อการโฆษณา ใช้เป็นวัสดุในการทำกล่องบรรจุสินค้า ทั้งเพื่อการขายปลีกและการขนส่ง ใช้เป็นวัสดุในการทำกระดาษสะอาด เช่น กระดาษอนามัย ตลอดจนใช้ในงานพิเศษเฉพาะ เช่น กระดาษฉนวน กระดาษนิรภัย อุตสาหกรรมกระดาษเป็นอุตสาหกรรมที่ใช้ทรัพยากรธรรมชาติด้านพืชผลทางการเกษตร น้ำ และพลังงาน ตัวอย่างเช่น ในการผลิตเยื่อเคมีฟอกขาวเพื่อการทำกระดาษพิมพ์ โรงงานใช้กำลังผลิตกระดาษ 1,000 ตันต่อวัน ต้องใช้ไม้เป็นวัตถุดิบถึง 2,500 ตัน ใช้ น้ำประมาณ 5,000 แกลลอนในการฟอกเยื่อ และเดินแผ่นเยื่อประมาณ 1 ตัน นอกจากนี้ยังต้องใช้พลังงานเชื้อเพลิงในการผลิตเยื่อ บดเยื่อและอบแห้งกระดาษในปริมาณที่สูงมาก กล่องเครื่องตีที่เหลือทิ้งในปัจจุบันจะใช้วิธีการทำลายด้วยวิธีการเผาเช่นเดียวกับกระดาษพิมพ์สำนักงาน ซึ่งการเผานี้จะก่อให้เกิดหมอกควันในชั้นบรรยากาศ ทั้งนี้จากการศึกษาพบว่ากล่องเครื่องตีที่นำไปรีไซเคิลจำนวน 1 ตัน จะช่วยลดปริมาณก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ถึง 900 กิโลกรัม และช่วยประหยัดพื้นที่ในการฝังกลบประมาณ 4 ตารางเมตร หากสามารถนำเศษกระดาษที่ใช้แล้วกลับมาทำเป็นเยื่อใช้ซ้ำหรือเยื่อเวียนทำใหม่ได้ จะเป็นการช่วยลดปริมาณการใช้ทรัพยากรธรรมชาติ ลดการใช้พลังงาน และ

ยังเป็นการช่วยกำจัดขยะหรือรีไซเคิลที่เกิดจากเศษกระดาษต่างๆ ได้อีกทางหนึ่ง (กลอยตา ณ ถลาง, 2551)

กล่องเครื่องดื่มมีองค์ประกอบหลักคือ กระดาษ พลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ ซึ่งทั้งหมดนี้สามารถถูกนำกลับมารีไซเคิลได้ เช่น กล่องเครื่องดื่มที่เรียกกันทั่วไปว่ากล่องยูเอชที มีกระดาษที่ถูกเคลือบด้วยพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์แผ่นบางที่ผนึกกันแน่นหนารวมกัน 6 ชั้น โดยส่วนกระดาษร้อยละ 75 มีหน้าที่ทำให้กล่องมีรูปทรงแข็งแรงและทนทาน ส่วนพลาสติกโพลีเอทที่ลีนร้อยละ 20 ซึ่งมีน้ำหนักเบา ช่วยผนึกยึดกันระหว่างชั้น และส่วนของอะลูมิเนียมพอยล์ร้อยละ 5 ช่วยในการป้องกันอากาศ แสงสว่าง และแบคทีเรียไม่ให้เข้าไปสัมผัสถึงเครื่องดื่มที่อยู่ภายในกล่อง และยังช่วยเก็บรักษาความสดใหม่ให้กับเครื่องดื่มที่อยู่ข้างในให้เก็บได้นานโดยไม่ต้องแช่เย็น และไม่ต้องใส่วัตถุกันเสียหรือสารกันบูด (กลอยตา ณ ถลาง, 2551)

เซลลูโลสซึ่งเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมากที่สุดมีประมาณร้อยละ 45 ของสารอินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติ ส่วนใหญ่พบที่ผนังเซลล์ในพืชชั้นสูงทุกชนิด เป็นองค์ประกอบหลักในกระดาษทุกชนิด ในปัจจุบันการย่อยเซลลูโลสในกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มเพื่อให้ได้เยื่อกระดาษในการนำมาใช้ซ้ำโดยใช้วิธีทางเคมีที่ก่อเกิดความเสียหายต่อสิ่งแวดล้อม ต่อมาได้มีงานวิจัยคิดค้นวิธีการย่อยเซลลูโลสด้วยวิธีทางชีวภาพจากจุลินทรีย์ที่สามารถเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ไม่ก่อพิษ ด้วยหลักการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ที่มาจากจุลินทรีย์ เนื่องด้วยเอนไซม์จากจุลินทรีย์เกิดปฏิกิริยาการย่อยเซลลูโลสภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง (นิวัต มณีขัติย์, 2556)

จากปัญหาและแนวทางในการจัดการกล่องเครื่องดื่มดังกล่าวเหล่านี้จึงเป็นที่มาของงานวิจัยนี้ ผู้วิจัยมีความต้องการพัฒนาการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มด้วยวิธีทางชีวภาพของจุลินทรีย์ ซึ่งเป็นแนวทางที่ดี ช่วยลดปริมาณการใช้ทรัพยากรธรรมชาติและพลังงานได้มากด้วยกระบวนการย่อยกระดาษให้มีคุณภาพ สามารถแยกส่วนของพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มได้อย่างง่าย ส่วนที่แยกได้เหล่านี้สามารถนำมาใช้ประโยชน์รีไซเคิลได้ โดยงานที่ได้จะเป็นต้นแบบของกระบวนการย่อยทางชีวภาพ ได้เชื้อจุลินทรีย์ที่ผ่านการคัดแยกสามารถย่อยเซลลูโลส และมีความสามารถในการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มได้ดี

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 เพื่อพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ได้จากเปลือกผลทุเรียนและขนุนที่มีศักยภาพในการย่อยเซลลูโลสให้สามารถย่อยกระดาษได้ดี

1.2.2 เพื่อพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม โดยเน้นความสามารถในการแยกให้ได้แผ่นเยื่อกระดาษออกจากกล่องเครื่องดื่ม

1.2.3 เพื่อพัฒนากระบวนการย่อยกล่องเครื่องต้ม โดยเน้นการได้พลาสติกและอะลูมิเนียมพอยล์กลับมา และแยกออกจากกระดาษได้ดี

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

1.3.1 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ มีดังนี้

1.3.1.1 กล่องเครื่องต้ม จำนวน 4 กิโลกรัม

1.3.1.2 ถังพลาสติกที่ใช้สำหรับหมักกล่องเครื่องต้ม

ก) ขวดหมักขนาดเล็ก ขนาด 600 มิลลิลิตร จำนวน 12 ขวด

ข) ถังหมักขนาดกลาง ขนาด 4 ลิตร จำนวน 3 ถัง

ค) ถังหมักขนาดใหญ่ ขนาด 50 ลิตร จำนวน 2 ถัง

1.3.2 ระยะเวลาในการหมัก ประมาณ 2-3 เดือน

1.3.3 จุลินทรีย์ชนิดเชื้อราและแบคทีเรียเพื่อใช้ในการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้ม

1.3.3.1 เชื้อรา *Aspergillus* spp. (จากงานวิจัยของ ดร.ดวงฤทัย นิคมรัฐ)

1.3.3.2 แบคทีเรีย *Bacillus* spp. ที่คัดแยกจากเปลือกทุเรียนและเปลือกขนุน (จากงานวิจัยของ ดร. ดวงฤทัย นิคมรัฐ)

1.3.4 สถานที่ทำวิจัย

ห้องปฏิบัติการเทเวศร์ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับเมื่อทำการวิจัยเสร็จแล้วจะได้

1.4.1 ได้ต้นแบบของกระบวนการย่อยกระดาษจากวัสดุกระดาษที่เหลือใช้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.4.2 ได้ชนิดสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีการพัฒนาคุณลักษณะในการย่อยสลายกระดาษและกล่องเครื่องต้มได้อย่างมีประสิทธิภาพ

1.4.3 ได้พลาสติกและอะลูมิเนียมพอยล์แยกจากกระดาษที่สามารถนำไปรีไซเคิลใหม่ได้

1.5 วิธีดำเนินงานวิจัย

1.5.1 คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทั้งราและแบคทีเรียที่มีความสามารถย่อยเซลลูโลสและกระดาษได้ดี

1.5.2 พัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้ม

1.5.3 ย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องต้มด้วยจุลินทรีย์ที่ได้คัดเลือกมา วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Bradford

1.5.4 ทำการตัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ออกจากกระดาษที่ได้จากการย่อย
กล่องเครื่องดื่ม

1.5.5 ชั่งน้ำหนักขององค์ประกอบที่ตัดแยกออก แล้วคำนวณหาร้อยละการได้กลับมาของ
กระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์

1.6 ระยะเวลาการดำเนินการ

เดือนพฤศจิกายน 2556 – เดือนมีนาคม 2557

1.7 แผนการปฏิบัติงาน

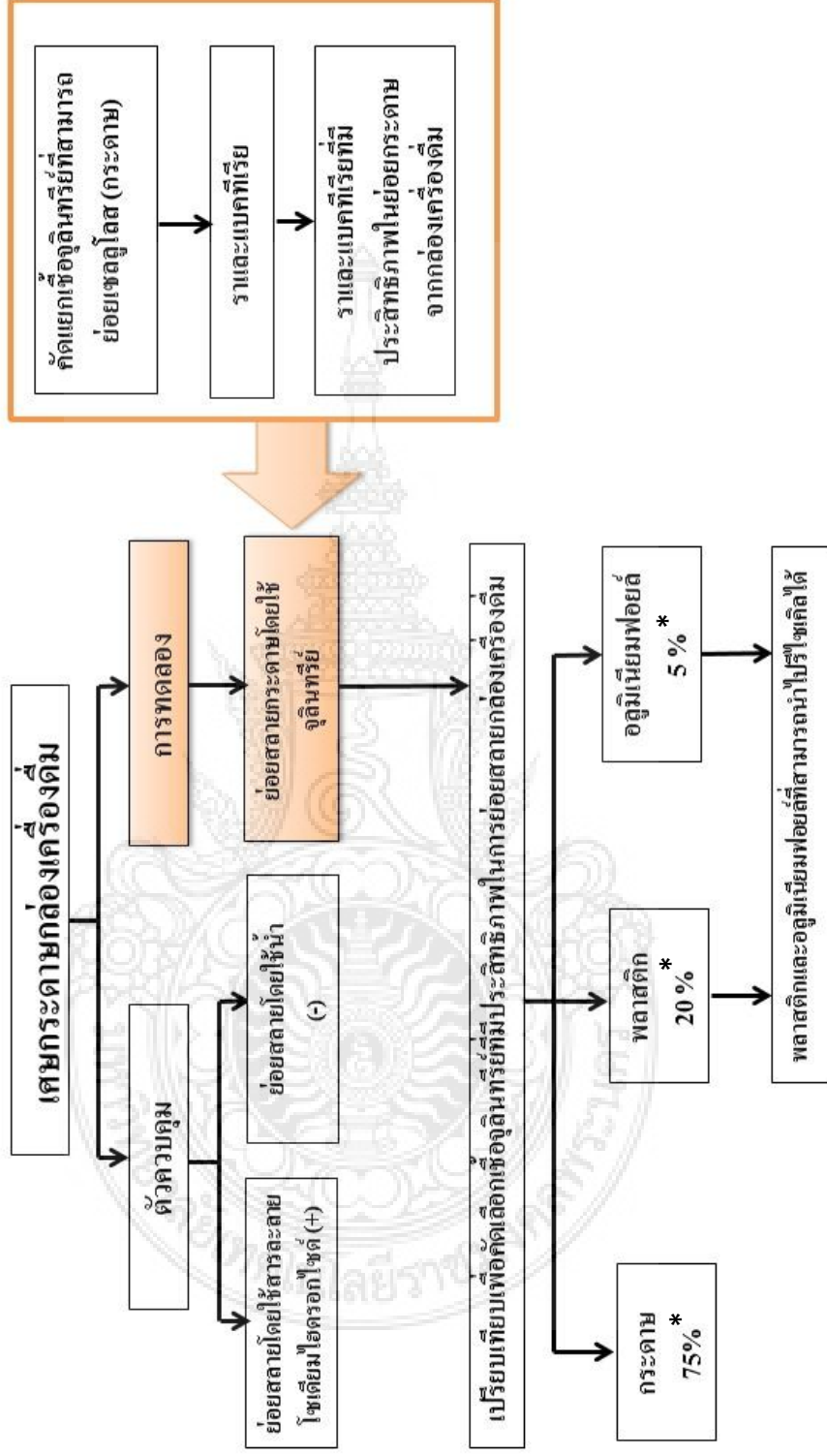
ตารางที่ 1.1 แสดงแผนการปฏิบัติงาน

การดำเนินงาน	ระยะเวลา (เดือน) พ.ศ. 2556 – พ.ศ. 2557					
	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.
1. ศึกษาข้อมูล	←→					
2. เก็บรวบรวมข้อมูล	←→					
3. เสนอหัวข้องานวิจัย		←→				
4. ดำเนินการวิจัย						
4.1 คัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง ราและแบคทีเรียที่มีความ สามารถย่อยเซลลูโลสและ กระดาษได้ดี		←→				
4.2 พัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ให้มี ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย กระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม		←→				
4.3 ย่อยกระดาษจากกล่อง เครื่องดื่มด้วยจุลินทรีย์ที่ได้ คัดเลือกมาวิเคราะห์หาปริมาณ น้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Bradford			←→			

การดำเนินงาน	ระยะเวลา (เดือน) พ.ศ. 2556 – พ.ศ. 2557					
	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.
4.4 ทำการคัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ออกจากกระดาษที่ได้จากการย่อยกล่องเครื่องดื่ม				←	→	
4.5 ชั่งน้ำหนักขององค์ประกอบที่คัดแยกออกแล้ว คำนวณหาร้อยละการได้กลับมาของกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมพอยล์				←	→	
5. วิเคราะห์ผลการทดลอง				←	→	
6. สรุปและนำเสนอผลงานวิจัย					←	→



1.8 กรอบแนวความคิด



* เป็นค่าที่ได้ จากองค์ประกอบจริง

บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

การศึกษางานวิจัยเรื่องการสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยกระบวนการทางชีวภาพมีความเกี่ยวข้องสัมพันธ์กับความรู้และทฤษฎีต่างๆ ซึ่งต้องนำมาใช้เป็นข้อมูลพื้นฐานประกอบพิจารณาอ้างอิง และวิเคราะห์ในการทำงานวิจัย ดังนั้นเพื่อให้เกิดความเข้าใจได้อย่างชัดเจน ภายในบทนี้จึงกำหนดหัวข้อความรู้และทฤษฎีที่เกี่ยวข้องไว้ 6 หัวข้อ ดังนี้

- 2.1 กล่องเครื่องดื่ม
- 2.2 กระจก
- 2.3 เซลลูโลส
- 2.4 ชนิดและเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส
- 2.5 ชนิดสารตั้งต้น และผลิตภัณฑ์ที่ได้ในกระบวนการย่อยเซลลูโลส
- 2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 กล่องเครื่องดื่ม

กล่องเครื่องดื่ม หมายถึง กล่องที่ใช้บรรจุเครื่องดื่มหรืออาหารเหลวประเภทนม น้ำผลไม้ ชา กาแฟ แบ่งเป็น 2 ประเภท ได้แก่ 1) กล่องยูเอชที มีกระจก อะลูมิเนียมพอยล์และพลาสติก ประเภทโพลีเอททิลีนเป็นส่วนประกอบ ซึ่งช่วยให้ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุสามารถเก็บไว้ได้นานโดยไม่ต้องแช่เย็น 2) กล่องพาสเจอร์ไรซ์ มีส่วนประกอบเป็นกระจก และพลาสติกเท่านั้น จึงต้องแช่เย็นเพื่อให้ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุอยู่เก็บไว้ได้นาน

ปัจจุบันกล่องเครื่องดื่มเป็นที่นิยมอย่างแพร่หลายด้วยคุณสมบัติกล่องปลอดเชื้อที่คงคุณค่า และเก็บความสดใหม่ให้กับเครื่องดื่มได้นานถึง 6 เดือน โดยไม่ต้องใส่วัตถุกันเสีย และไม่ต้องแช่เย็นจึงปลอดภัยสำหรับผู้บริโภคทุกวัย โดยเฉพาะกับเด็กๆ ที่ต้องดื่มนมเป็นประจำ เมื่อไม่ต้องแช่เย็นก็ไม่ต้องเปลืองค่าไฟ น้ำหนักกล่องเบาช่วยประหยัดเชื้อเพลิงในการขนส่ง กระจกซึ่งเป็นวัสดุหลักในการผลิตกล่องมาจากสวนป่าที่ปลูกทดแทนต่อเนื่องพร้อมหมุนเวียนมาใช้ใหม่ (Renewable) จึงไม่ต้องทำลายป่าไม้จากธรรมชาติ กล่องเครื่องดื่มจึงเป็นผลิตภัณฑ์ที่รักษาสิ่งแวดล้อมตั้งแต่กระบวนการผลิตจนถึงการนำไปรีไซเคิล ซึ่งไม่มีส่วนใดเหลือทิ้งเป็นขยะ (นิวัติ มณีชาติย์, 2556)

2.1.1 วัสดุดิบ

2.1.1.1 กระดาษ ประมาณร้อยละ 75 มีหน้าที่ทำให้กล่องมีรูปทรงที่แข็งแรง และทนทาน สามารถใส่นมและเครื่องดื่มต่างๆ ได้

2.1.1.2 พลาสติกโพลีเอททีลีน ประมาณร้อยละ 20 มีน้ำหนักเบา ช่วยเรื่องการฉีก และป้องกันความชื้น

2.1.1.3 อลูมิเนียมฟอยล์ ประมาณร้อยละ 5 ช่วยป้องกันอากาศ แสงสว่าง และเชื้อจุลินทรีย์ ไม่ให้เข้าไปสัมผัสกับผลิตภัณฑ์ที่อยู่ภายในกล่อง ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้นมหรือเครื่องดื่มเสีย

ชั้นของกล่องเครื่องดื่มประกอบไปด้วยส่วนต่างๆ มีทั้งหมด 6 ชั้น (ภาพที่ 2.1)



ภาพที่ 2.1 แสดงชั้นของกล่องเครื่องดื่มทั้งหกชั้นซึ่งประกอบไปด้วยกระดาษ โพลีเอททีลีน และอลูมิเนียมฟอยล์

ที่มา: กลอยตา ณ ถกลาง (2551)

2.1.2 ประโยชน์ที่ได้จากกล่องเครื่องดื่ม

กล่องเครื่องดื่มที่นำมาผลิตแผ่นไม้กระดาน จะถูกตัดย่อยเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนที่จะนำมาโรยบนแผ่นเหล็ก เพื่อขึ้นรูปแผ่นตามความหนาที่ต้องการ จากนั้นจะนำเข้าไปเครื่องอัดร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 170 องศาเซลเซียส เพื่อหลอมพลาสติกที่มีอยู่ในกล่องแล้วจึงนำไปเข้าเครื่องอัดเย็น ทั้งนี้พลาสติกจะเป็นตัวยึดกระดาษ และอลูมิเนียมให้ติดกันโดยไม่ต้องใช้กาวหรือสารเคมีใดๆ ในขั้นตอนการผลิต คุณสมบัติของแผ่นไม้กระดานที่ผลิตจากกล่องเครื่องดื่ม คือ ผลิตจากวัสดุเหลือใช้สามารถกั้นน้ำได้ สามารถตัดโค้งและทำเป็นรูปร่างต่างๆ ได้ตามความต้องการปราศจากสารฟอร์มาลดีไฮด์

นอกจากจะใช้ผลิตกระดาษรีไซเคิลแล้ว กล่องเครื่องตี้มยังสามารถนำไปผลิตผลิตภัณฑ์พลาสติกเพื่อนำไปใช้เป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้เป็นอย่างดี เช่น ที่รองแก้ว ที่วางซีดี ที่ใส่ของ กระเป๋า และเครื่องใช้อื่นๆ อีกมากมาย ซึ่งหากเป็นผลิตภัณฑ์ด้านพลาสติกแล้ว สามารถที่จะตอบสนองความต้องการที่จะนำส่วนประกอบเหล่านี้ไปใช้ได้อย่างไม่ยากเย็นนัก (นิวัติ มณีชาติย์, 2556)

2.2 กระดาษ

กระดาษถูกผลิตขึ้นมาเพื่อตอบสนองความต้องการต่อการใช้งานของมนุษย์ในหลายรูปแบบ นับตั้งแต่ใช้เป็นวัสดุพิมพ์เพื่อการโฆษณา ใช้เป็นวัสดุในการทำกล่องบรรจุสินค้า ทั้งเพื่อการขายปลีก และการขนส่ง ใช้เป็นวัสดุในการทำกระดาษอัด เช่น กระดาษอนามัย ตลอดจนใช้ในงานพิเศษเฉพาะ อย่าง เช่น กระดาษฉนวน กระดาษนิรภัย อุตสาหกรรมกระดาษเป็นอุตสาหกรรมที่ใช้ทรัพยากรธรรมชาติสูงมาก ทั้งด้านพืชผลทางการเกษตร น้ำ และพลังงาน เช่น การผลิตเยื่อเคมีฟอกขาวเพื่อการทำกระดาษพิมพ์ โรงงานที่มีกำลังผลิต 1,000 ตันต่อวัน ต้องใช้ไม้เป็นวัตถุดิบถึง 2,500 ตัน น้ำที่ใช้ในการฟอกเยื่อ และเดินแผ่นเยื่อประมาณ 1 ตัน ต้องใช้น้ำประมาณ 5,000 แกลลอน นอกจากนี้ยังต้องใช้พลังงานเชื้อเพลิงในการผลิตเยื่อ บดเยื่อ และอบแห้งกระดาษในปริมาณที่สูงมาก ดังนั้นถ้าหากสามารถนำเศษกระดาษที่ใช้แล้วกลับมาทำเป็นเยื่อใช้ซ้ำหรือเยื่อเวียนทำใหม่ได้ จะเป็นการช่วยลดปริมาณการใช้ทรัพยากรธรรมชาติและพลังงานลงได้เป็นอย่างมาก นอกจากนี้ยังเป็นการช่วยกำจัดขยะหรือรีไซเคิลที่เกิดจากเศษกระดาษต่างๆ ได้อีกทางหนึ่งด้วย (กลอยตา ณ ถลาง, 2551)

อุตสาหกรรมการผลิตกระดาษในปัจจุบันได้พัฒนาโดยลำดับจากกรรมวิธีของชาวจีนที่ค้นพบตั้งแต่ ค.ศ. 105 โดยการสกัดเยื่อ (Pulp) จากวัตถุดิบก่อนจะนำมาสานอัดกันแน่นเป็นแผ่น

2.2.1 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตกระดาษ

2.2.1.1 ไม้ เป็นแหล่งวัตถุดิบที่สำคัญที่สุดในอุตสาหกรรมกระดาษ เราแบ่งไม้เป็น 2 ประเภท ตามลักษณะของเส้นใย (Fiber)

ก) ไม้เนื้ออ่อน (Soft Wood) จะเป็นไม้ที่มีเส้นใยยาว (ประมาณ 3-4 มิลลิเมตร) ส่วนใหญ่เป็นไม้ประเภทสน

ข) ไม้เนื้อแข็ง (Hard Wood) จะเป็นไม้ที่มีเส้นใยสั้น (ประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร) ส่วนใหญ่เป็นไม้ผลัดใบในฤดูใบไม้ร่วง

2.2.1.2 ไม้ล้มลุก ที่สำคัญ เช่น ปอ ป่าน ลิ้นจี่ ฝ้าย และใผ่ เป็นต้น

2.2.1.3 ชานอ้อย เป็นวัตถุดิบสำคัญของอุตสาหกรรมผลิตเยื่อกระดาษในประเทศไทย

2.2.1.4 ฟางข้าว

2.2.1.5 กระดาษใช้แล้ว

2.2.2 องค์ประกอบทางเคมีที่สำคัญของเยื่อกระดาษและมีผลต่อคุณสมบัติของกระดาษ

2.2.2.1 เซลลูโลส (Cellulose) ทำหน้าที่เป็นโครงสร้างของเส้นใย และให้ความแข็งแรง

2.2.2.2 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ทำหน้าที่เป็นสารยึดเซลลูโลสไว้ด้วยกัน และให้ความแข็งแรงกับเส้นใยด้วย

2.2.2.3 ลิกนิน (Lignin) ทำหน้าที่เป็นสารยึดและให้ความแข็งแรงกับเนื้อเยื่อ (Tissue) ของไม้ในกระบวนการสกัดเยื่อกระดาษจะต้องกำจัดลิกนินออกไป เนื่องจากเป็นสาเหตุทำให้กระดาษมีสีคล้ำ และเยื่อมีความแข็งแรงต่ำ

2.2.3 กระบวนการผลิตเยื่อกระดาษ

การสกัดเยื่อจากไม้ หรือวัตถุดิบประเภทอื่น ๆ สามารถทำได้ 3 วิธี คือ

2.2.3.1 กระบวนการทางกล (Mechanical Pulping)

โดยการบดเนื้อไม้ด้วยลูกกลิ้ง (Grinder or Grinding Stone) ขนาดใหญ่ จนเนื้อไม้ละเอียดแล้วนำมาแยกเยื่อออกจากเศษไม้ชิ้นหยาบๆ ต้นทุนดำเนินการของกระบวนการนี้จะต่ำ ผลผลิตสูง เนื่องจากลิกนินถูกสกัดออกไปน้อยมาก เยื่อที่ได้จึงมีความแข็งแรงต่ำ เหมาะกับการนำไปผลิตกระดาษคุณภาพต่ำ เช่น กระดาษหนังสือพิมพ์

2.2.3.2 กระบวนการทางเคมี (Chemical Pulping)

การสกัดเยื่อจะใช้สารเคมี เพื่อแยกเซลลูโลสออกมาให้มากที่สุดหรืออีกนัยหนึ่งเพื่อสกัดเอาลิกนินออกไปให้มากที่สุด บางกรณีจะสกัดเฮมิเซลลูโลสออกไปด้วย เยื่อที่ได้จะมีความแข็งแรงสูง เนื่องจากลิกนินส่วนใหญ่ถูกกำจัดออกไป เหมาะกับการนำไปผลิตกระดาษคุณภาพชั้นดี แต่ต้นทุนดำเนินการสูง สารเคมีที่ใช้สกัดเยื่อจะแตกต่างกันออกไปขึ้นกับกระบวนการ เช่น กระบวนการโซดาจะใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ กระบวนการซัลเฟตจะใช้โซเดียมซัลเฟต กระบวนการนี้บางครั้งเรียกว่า กระบวนการคราฟท์ (Kraft Process) เยื่อที่ได้จากกระบวนการนี้มีความแข็งแรงที่สุด และกระดาษที่ผลิตจากเยื่อคราฟท์จะเรียกว่า กระดาษคราฟท์ ส่วนกระบวนการซัลไฟต์จะใช้สารพวกไบซัลไฟต์ และกรดซัลฟิวรัส

2.2.3.3 กระบวนการกึ่งเคมี (Semi-Chemical Pulping)

เป็นกระบวนการ 2 ขั้นตอน โดยขั้นตอนแรกเป็นการใช้สารเคมีเพื่อให้สารที่ยึดเส้นใยอ่อนตัวลงทำให้สามารถสกัดเยื่อออกมาง่ายขึ้น และใช้พลังงานน้อยลง ขั้นตอนที่ 2 เป็นการบดเนื้อไม้หรือวัตถุดิบอื่น ๆ ที่ผ่านการแช่สารเคมีมาแล้วเพื่อสกัดเยื่อออกมา เยื่อที่ได้จากวิธีนี้จะมีความแข็งแรงมากกว่าเยื่อที่สกัดโดยกระบวนการทางกล แต่ก็แข็งแรงน้อยกว่าเยื่อที่สกัดด้วยกระบวนการทางเคมี ผลที่ได้ต่ำกว่ากระบวนการทางกล เนื่องจากลิกนินบางส่วนถูกกำจัดออกไป

2.2.4 กระบวนการผลิตกระดาษ

เยื่อที่สกัดออกมาได้จะแขวนลอยอยู่ในน้ำ เรียก Pulp Slurry ซึ่งจะนำไปขึ้นรูปเป็นแผ่นกระดาษต่อไป ขั้นตอนสำคัญหลังจากได้ Pulp Slurry มาแล้วมีดังนี้ คือ

2.2.4.1 การฟอกสี (Bleaching) เพื่อกำจัดลิกนินที่อยู่ในเยื่อกระดาษทำให้กระดาษมีสีขาวขึ้น อย่างไรก็ตามการฟอกสีจะทำความแข็งแรงของเยื่อลดลงด้วย สารเคมีที่ใช้ฟอกสี เช่น คลอรีน ไฮโปคลอไรต์ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ เป็นต้น

2.2.4.2 การเติมสารแต่งเติม (Additives) นิยมเติมขณะตีปั่นเยื่อ สารที่ใช้เติมสามารถแบ่งออกได้เป็น 4 ประเภท ดังต่อไปนี้

ก) สารเพิ่มปริมาณ (Filler) ส่วนใหญ่เป็นสารอนินทรีย์ วัตถุประสงค์ของการใช้สารนี้ เพื่อเพิ่มปริมาณทำให้ได้กระดาษมากขึ้น ช่วยลดต้นทุนการผลิต นอกจากนี้ยังใช้เพื่อเพิ่มความขาว ความเรียบของกระดาษ และการดูดซับหมึกพิมพ์ สารที่ใช้เช่นแคลเซียมคาร์บอเนต ทิตาเนียมไดออกไซด์ และโซนาเคลย์หรือคาโอลิน เป็นต้น

ข) Sizing Agent ทำหน้าที่เพิ่มความต้านทานการซึมผ่านของของเหลว เช่น น้ำหมึกพิมพ์ เป็นต้น กระดาษเขียนพิมพ์ (Writing Paper) ต้องเติมสารนี้เสมอ ส่วนกระดาษซับหมึกไม่ต้องการเติม สารที่ใช้เป็น Sizing Agent เช่น โรซิน ซี้ผึ้ง เจลาติน และเรซิน สังกะเราะห์ เป็นต้น

ค) Binder สารนี้ทำหน้าที่เพิ่มความแข็งแรงให้กระดาษ เช่น ความต้านทานแรงดึง ความต้านทานแรงด้นทะลุ และความต้านทานแรงฉีกขาด เป็นต้น สารที่ใช้เป็น Binder เช่น ยาง และเรซินสังกะเราะห์ เป็นต้น

ง) สารแต่งเติมเบ็ดเตล็ด เช่น สารเพิ่มความขาว สารป้องกันการเกิดโฟม และสารให้ความแข็งแรงขณะเปียก เป็นต้น

2.2.4.3 การตีปั่นเยื่อ เพื่อให้เยื่อแยกออกจากกันให้ดียิ่งขึ้น ทำให้กระดาษมีผิวเรียบขึ้น

2.2.4.4 การโรยเยื่อ เป็นขั้นตอนการขึ้นรูปแผ่นกระดาษ

2.2.4.5 การอัดรีด (Pressing) เพื่อรีดเอาน้ำส่วนใหญ่ออกไปก่อนนำกระดาษไปรีดแห้ง

2.2.4.6 การรีดแห้ง (Drying) กระดาษที่ผ่านการอัดรีดมาแล้วยังมีความสูงชื้น ต้องนำไปทำให้แห้งอีก โดยความชื้นสุดท้ายของกระดาษควรมีค่าประมาณร้อยละ 4-8 กระดาษที่จะนำไปทำแห่งนี้ อาจมีการพ่น Sizing Agent ก่อนด้วย

2.2.4.7 การรีดเรียบ (Calendering) เพื่อลบรอยที่เกิดจากสายพานหรือตะแกรงระหว่างขั้นตอนการขึ้นรูปแผ่นกระดาษ นอกจากนี้ยังทำให้กระดาษเนื้อแน่น และเรียบมากขึ้น การรีดเรียบจะใช้ลูกกลิ้งขนาดใหญ่ ลูกกลิ้งโลหะผิวเรียบจะใช้สำหรับรีดกระดาษให้ผิวเรียบ ส่วนลูกกลิ้งผิวหุ้มสั๊กลาดจะใช้เพื่อการขัดผิวกระดาษให้เรียบ และมันวาว

2.3 เซลลูโลส (Cellulose)

เซลลูโลสเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่พบมากที่สุดประมาณร้อยละ 45 ของสารอินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติ ส่วนใหญ่สะสมอยู่ที่ผนังเซลล์ในพืชชั้นสูงทุกชนิด ซึ่งมีส่วนประกอบของเซลลูโลสมากกว่าร้อยละ 97-99 จัดว่าเป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์ ประกอบด้วย Polymer Chain เรียงขนานกัน และยึดกันด้วย Dispersion Force และ Hydrogen Bond ภายในโมเลกุล เซลลูโลสจึงยึดติดกันแน่น ทำให้เซลลูโลสทำปฏิกิริยากับสารต่างๆ ได้ช้า เซลลูโลสใน Primary Cell Wall ประกอบด้วย กลูโคสยาวประมาณ 2,000 โมเลกุล และไม่ต่ำกว่า 14,000 โมเลกุลใน Secondary Cell Wall โดยโมเลกุลของเซลลูโลสจะเกาะกันเป็นคู่ตามยาว และเรียงขนานกันเป็นกลุ่ม 40 คู่ เรียกว่า ไมโครไฟบริล (Microfibril) เพื่อให้ความแข็งแรงกับผนังเซลล์ของพืช (Fan *et al.*, 1987)

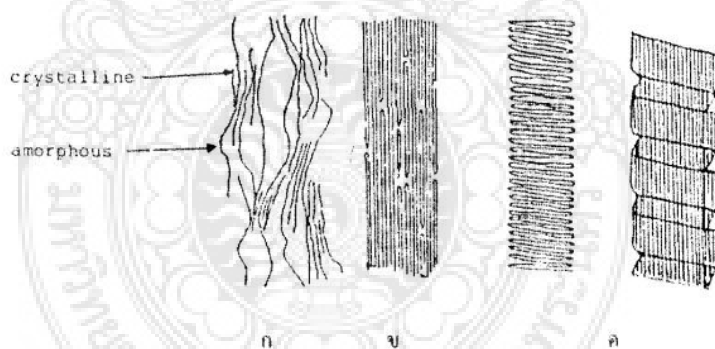
2.3.1 โครงสร้างของเซลลูโลสในผนังเซลล์พืชชั้นสูง

แบ่งออกเป็น 3 แบบ คือ

2.3.1.1 Fringe Micelle ประกอบด้วยส่วนที่เป็นผลึก และส่วนที่เป็นอสัณฐาน

2.3.1.2 โครงสร้างของเซลลูโลสที่มีวนหรือพับไปตามแกนของเส้นใยเซลลูโลส

2.3.1.3 โครงสร้างที่มีลักษณะเป็นแบบริบบิ้น และม้วนเป็นเกลียว (ภาพที่ 2.2)



ภาพที่ 2.2 เส้นใยเซลลูโลสในผนังเซลล์พืช

ก. แบบ Fringe Micelle

ข. แบบที่มีวนหรือพับไปตามแกนของเส้นใยเซลลูโลส

ค. แบบริบบิ้น และม้วนเป็นเกลียว

ที่มา : Goksoyr and Eriksen (1980)

โครงสร้างที่แตกต่างกัน 3 แบบ ก่อให้เกิดช่องว่างระหว่างโมเลกุล ทำให้โมเลกุลไม่ต่อเนื่องในธรรมชาติจึงไม่พบเซลลูโลสในรูปอิสระแต่มักรวมกับลิกนิน เฮมิเซลลูโลส เพนโตแซน แทนนิน และไขมัน เป็นต้น (Fan *et al.*, 1987)

2.3.2 ชนิดของเซลลูโลส

แบ่งตามความสามารถของการละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ได้เป็น 3 ชนิด คือ

2.3.2.1 แอลฟา-เซลลูโลส คือ เซลลูโลสที่ไม่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5

2.3.2.2 เบต้า-เซลลูโลส คือ เซลลูโลสที่ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 ที่อุณหภูมิห้อง แต่สามารถตกตะกอนได้ง่ายในสารละลายที่มีสภาพเป็นกรด

2.3.2.3 แกมมา-เซลลูโลส คือ เซลลูโลสที่ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 และสารละลายกรด แต่สามารถตกตะกอนได้โดยใช้แอลกอฮอล์

2.3.3 การนำวัสดุเซลลูโลสไปใช้ประโยชน์

ประชาชนส่วนใหญ่ในประเทศไทยประกอบอาชีพเกษตรกรรม ทำให้มีผลพลอยได้และวัสดุอินทรีย์ที่เหลือทิ้ง เช่น ใบไม้ และเศษวัชพืชจำนวนมาก ก่อให้เกิดปัญหาขยะมูลฝอยตามมา การคิดหาวิธีนำเศษอินทรีย์เหลือทิ้งเหล่านี้ไปแปรรูปหรือเพิ่มมูลค่า จะช่วยแก้ปัญหาเหล่านี้ได้ส่วนหนึ่ง ตัวอย่างของเศษวัสดุอินทรีย์ที่มีส่วนประกอบเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ และตัวอย่างของวัสดุเซลลูโลสที่นำมาใช้ในปัจจุบัน แสดงดังตารางที่ 2.1

ตารางที่ 2.1 ปริมาณเซลลูโลสในวัสดุอินทรีย์

วัสดุอินทรีย์	ปริมาณเซลลูโลส (%)
ฝ้าย	91.0
เนื้อไม้	40.0-45.0
กระดาษหนังสือพิมพ์	40.0-48.0
วัสดุเหลือใช้จาก Furfural Process	40.0
ข้าวสาลี	30.5
ข้าวเจ้า	32.1
ข้าวบาร์เลย์	40.0
ข้าวโอ๊ต	42.8
ข้าวไรน์	34.0
ชานอ้อย	46.0
ชานอ้อยส่วนแกน	55.4

ที่มา: Goksoyr and Eriksen (1980)

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างของวัสดุเซลลูโลสที่นำมาใช้ในปัจจุบัน

วัสดุเซลลูโลส	การใช้ประโยชน์
ชานอ้อย ฟางข้าว พืชไม้เนื้ออ่อน	ทำเยื่อกระดาษ เชื้อเพลิง
ไมพุ่ม ไมวงปีสั้น	ทำเยื่อกระดาษ ไม้อัด
เศษไม้จากป่า	ทำเยื่อกระดาษ ไม้อัด
เส้นใยที่เหลือจากอุตสาหกรรมทำเยื่อกระดาษ	นำกลับมาใช้ในอุตสาหกรรมแผ่นกระดาษ เชื้อเพลิง
เศษกระดาษ	นำกลับมาใช้ในอุตสาหกรรมแผ่นกระดาษ
เศษเปลือกไม้ต่างๆ	เชื้อเพลิง ใช้ปรับปรุงคุณภาพของดิน

ที่มา: Goksoyr and Eriksen (1980)

2.3.4 การย่อยสลายเซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นสารประกอบที่มีโครงสร้างเป็นผลึกหรือเป็น Linear Homopolymer ของกลูโคสที่จับกันด้วย β -1, 4-glucosidic Linkage ซึ่งยากต่อการย่อยสลาย นอกจากนี้โดยธรรมชาติของเซลลูโลสจะมี Lignin จับอยู่ ซึ่งเป็นตัวขัดขวางปฏิกิริยาการย่อยสลาย (Fan *et al.*, 1987)

การย่อยสลายเซลลูโลส ทำได้ 2 วิธี คือ

2.3.4.1 วิธีการทางเคมีหรือการย่อยสลายด้วยกรดเข้มข้นหรือกรดเจือจาง (Acid Hydrolysis) เช่น กรดซัลฟูริก และกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งต้องทำภายใต้อุณหภูมิสูง วิธีนี้มีข้อจำกัดคือให้ปริมาณกลูโคสต่ำ และเกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการด้วย

2.3.4.2 วิธีการทางชีวภาพหรือการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (Enzyme Hydrolysis) ที่ได้จากจุลินทรีย์ เช่น เชื้อรา แบคทีเรีย โดยเอนไซม์จากจุลินทรีย์จะทำให้ปฏิกิริยาการย่อยสลายเกิดภายใต้สภาวะที่ไม่รุนแรง คือที่อุณหภูมิประมาณ 50 องศาเซลเซียส ความดันบรรยากาศ เพราะเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารประกอบเซลลูโลสมาก ทำให้ไม่สูญเสียกลูโคสระหว่างเกิดปฏิกิริยา และไม่เกิดผลิตภัณฑ์ที่ไม่ต้องการ

2.3.5 ข้อดีของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์

2.3.5.1 เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ จึงเร่งปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องให้ความร้อน ทำให้ประหยัดต้นทุนในการผลิต

2.3.5.2 ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งจะเกิดได้เร็วกว่าปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์ เนื่องจากเอนไซม์ไปลดพลังงานอิสระของการกระตุ้นของปฏิกิริยาทำให้ปฏิกิริยาถึงภาวะสมดุลได้เร็ว

2.3.5.3 เอนไซม์มีความจำเพาะกับสารตั้งต้น ดังนั้นผลผลิตที่ได้จะมีความบริสุทธิ์มาก

2.3.5.4 ไม่เกิดปฏิกิริยาข้างเคียง เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะกับสารตั้งต้น

2.3.5.5 เอนไซม์สามารถย่อยสลายสารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงได้ตามที่ต้องการ

2.3.5.6 ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เปลี่ยนแปลงเป็นสารอื่น และสามารถทำการหมักน้ำตาลที่เกิดขึ้นไป

พร้อมกับการย่อยเซลลูโลสได้

2.3.5.7 ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่ทนต่อการกัดกร่อน

2.3.6 แบคทีเรียที่ย่อยเซลลูโลส

ตัวอย่างของแบคทีเรียที่สามารถย่อยเซลลูโลสมีดังนี้

2.3.6.1 แบคทีเรียในกระเพาะอาหารของสัตว์กินพืช เช่น วัว ควาย ในดิน เช่น *Bacillus* sp. และในทะเล เช่น *Cytophaga* sp. (Larry *et al.*, 2006)

2.3.6.2 แบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาพทั้งที่มีออกซิเจนและไม่มีออกซิเจน (Facultative Anaerobe) เช่น *Cellvibrio* sp. และ *Cellulomonas* sp. เป็นต้น

2.3.6.3 แบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะไม่มีออกซิเจน เช่น *Clostridium thermophilum* และ *Ruminococcus albus* เป็นต้น

2.3.6.4 Myxobacteria เช่น *Sporocytophaga* sp. (รพีพรรณ อินปันแก้ว, 2536)

2.3.6.5 จุลินทรีย์ที่เป็นปรสิตในพืช มีทั้งพวกย่อยเซลลูโลสอย่างเดียว หรือก่อโรคในพืชด้วย เช่น *Pseudomonas solanacearum* (ปัจจุบันคือ *Ralstonia solanacearum*) ทำให้เกิดโรคเหี่ยวในพืช จุลินทรีย์ย่อยไม้ ได้แก่ แอคติโนไมซีส เป็นต้น (Fergus, 1969)

แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนจะย่อยเซลลูโลสได้ผลิตภัณฑ์หลัก 2 ชนิด คือ CO₂ และสารอินทรีย์ที่เป็นองค์ประกอบของเซลล์ สวนรา และแอคติโนไมซีส จะได้ CO₂ เป็นผลิตภัณฑ์หลัก และเกิดการลดอินทรีย์ในปริมาณน้อย อัตราการย่อยเริ่มต้นจะถูกจำกัดด้วยกระบวนการ Oxidation ของคาร์โบไฮเดรต เพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของสารตัวกลาง ซึ่งจะเกิดขึ้นขณะมีการใช้น้ำตาล ส่วน Mesophilic และ Thermophilic Anaerobe ไม่สามารถย่อยสารตั้งต้นอย่างสมบูรณ์ได้ สารอินทรีย์หลายชนิดจึงถูกขับออกมาเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเกิดการสะสมของ CO₂, H₂, Ethanol และกรดอินทรีย์ เช่น Acetic acid, Lactic acid และ Succinic acid เป็นต้น (Bisaria and Ghose, 1981) (ตารางที่ 2.3)

ตารางที่ 2.3 ผลลัพธ์จากการย่อยเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์

แบคทีเรีย	ผลิตภัณฑ์หลัก	เอกสารอ้างอิง
Mesophiles		
<i>Clostridium cellobioparum</i>	CO ₂ , H ₂ , Ethanol, Acetic, Lactic และ Formic acids	Haward and Elliott, 1988
<i>Bacteroides succinogenes</i>	CO ₂ , Acetic และ Succinic acid	Forsberg <i>et al.</i> , 1981
<i>Ruminococcus flavefaciens</i>	Acetic, Formic และ Succinic acid	Julliard <i>et al.</i> , 1999
Thermophiles		
<i>Clostridium thermocellum</i>	CO ₂ , H ₂ , Ethanol, Acetic, Lactic, Formic และ Succinic acid	Thomas and Zeikus, 1981

2.4 ชนิดและเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

2.4.1 เอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเซลลูโลส คือ เซลลูเลส เอนไซม์ที่ทำให้เกิดการสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ผลิตได้โดยสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น ข้าวหมอลด ข้าวบาร์เลย์ ใบยาสูบ ไลเดียนดิน ปลวก หอยทาก แบคทีเรีย และรา เป็นต้น (Klyosov, 1990)

เอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์เป็นเอนไซม์ที่ผลิตออกมาสู่ภายนอกเซลล์จัดเป็นแหล่งผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่ดีที่สุด เนื่องจากสะดวกต่อการสกัด สามารถผลิตได้ในปริมาณมาก ต้นทุนการผลิตต่ำ ทั้งนี้พบวาทสภาพการเพาะเลี้ยงมีผลต่อชนิดและปริมาณของเอนไซม์ที่สร้างขึ้น เช่น องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ ไดแก ชนิดและปริมาณของเซลลูโลสที่ใช้ ปริมาณเกลือของโลหะต่างๆ สภาพความเป็นกรด-ด่าง อุณหภูมิ และออกซิเจน เป็นต้น (Alexander, 1967)

2.4.1.1 การสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส

กลไกการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส พบว่าเกิดบนไรโบโซมในไซโตพลาสซึม โดยมี mRNA Template ที่จำเพาะเจาะจงทำหน้าที่ลอกแบบจากยีนเซลลูเลสแต่ละยีน จากนั้นจะผานเยื่อหุ้มเซลล์มาเกาะที่ผนังเซลล์ก่อนหรือปล่อยออกสู่ภายนอกทันที เซลลูเลส เป็น Adaptive Enzyme ซึ่งจะมีการสังเคราะห์เมื่อใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน แต่จะสังเคราะห์ได้น้อยหรือไม่สังเคราะห์ในแหล่งที่มีกลูโคส (Mandels and Reese, 1957)

การควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการ Induction และ Catabolite Repression ที่อาจเป็นอิสระแก่กัน หรือเกิดขึ้นร่วมกัน ถ้าการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสถูกควบคุมโดย Induction เซลลูโลสจะไม่เป็นตัวชักนำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ เนื่องจากไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ ดังนั้นจะมีการสังเคราะห์เอนไซม์ในปริมาณน้อย ทำให้เกิดการย่อยสลายได้ผลผลิตที่ละลายน้ำได้ และสามารถเข้าสู่เซลล์เพื่อชักนำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสออกมา Cyclic adenosine 3', 5' monophosphate (cAMP) มีบทบาทสำคัญต่อกระบวนการ Catabolite Repression เนื่องจากในการเพาะเลี้ยงเชื้อมีการใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน ทำให้ cAMP ภายในเซลล์มีความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นการสังเคราะห์เอนไซม์ที่ใช้แหล่งพลังงานอื่นจะถูกยับยั้งโดยโปรตีนจำเพาะ กลไกการควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสจึงอาจเกิดจากกลูโคสทำหน้าที่เป็น End Product Repression (Fan *et al.*, 1987)

2.4.1.2 องค์ประกอบของเอนไซม์เซลลูเลส

เซลลูเลสประกอบด้วยกลุ่มของเอนไซม์ที่ทำงานร่วมกัน คือ

ก) เอนไซม์ C1 หรือ Hydrogen Bondase ทำหน้าที่กระตุ้นหรือแตกสลายเซลลูโลสให้มีสภาพที่เหมาะสม คือ ทำให้พันธะไฮโดรเจนอ่อนลง เพื่อเป็นสารตั้งต้นของเซลลูเลส

ข) เอนไซม์ Cx หรือ β -1, 4 glucanase เป็นเซลลูเลสที่ย่อยสลายพันธะในเซลลูโลส หรือ อนุพันธ์ของเซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ แต่ไม่สามารถย่อยสลายสารตั้งต้นที่มีโครงสร้างซับซ้อนได้ กลุ่มนี้มี 3 ชนิด คือ

1. Endo- β -glucanase จะทำหน้าที่ย่อย β -1, 4-glycosidic linkage แบบสุ่ม ผลจากการย่อยทำให้สายโมเลกุลของเซลลูโลสสั้นลงอย่างรวดเร็ว ขณะที่หมูรีดิซจะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ ได้ผลผลิต คือ กลูโคส และ Cellotriose เอนไซม์นี้ ไม่ย่อย Cellobiose แต่ย่อย Cellodextrin, เซลลูโลสที่เกิดการพองตัว, Carboxy-Methyl Cellulose (CMC) และ Hydroxyl-Ethyl Cellulose (HEC) ได้ และปฏิกิริยาจะลดลงเมื่อสายโมเลกุลเซลลูโลสสั้นลง ในการตรวจสอบเอนไซม์นี้จะใช้ CMC และ HEC เป็นสารตั้งต้น

2. Exo- β -glucanase ทำหน้าที่ย่อยเซลลูโลสด้าน Non-Reducing End เอนไซม์นี้สามารถย่อยเซลลูโลสในรูปผลึกหรือเซลลูโลสที่ไม่ละลายน้ำ เป็น Cellodextrin และ Cellobiose สามารถตรวจสอบเอนไซม์นี้โดยการใช้ฝ้ายอิเซล และ Amorphous Cellulose เป็นสารตั้งต้น อย่างไรก็ตาม การทำงานของเอนไซม์จะลดลงเมื่อขนาดของสารตั้งต้นสั้นลง นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์นี้ไม่สามารถย่อย Crystalline Cellobiose ได้ และจะเกิดปฏิกิริยาด้านการทำงานเมื่อมี Endoglucanase ผสมอยู่

3. β -glucosidase ทำหน้าที่ย่อย Cellobiose และ Cello-oligosaccharide ได้ผลิตภัณฑ์เป็นกลูโคส ไม่สามารถย่อยเซลลูโลสหรือ Cellodextrin ได้ ทดสอบเอนไซม์นี้โดยใช้ Cellobiose, p-nitrophenyl- β -d-glucoside หรือ Salicin เป็นสารตั้งต้น (Fan *et al.*, 1987) การย่อยสลายสารตั้งต้นโดยเซลล์แสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 การย่อยสลายสารตั้งต้นโดยเซลล์

ชนิดของเอนไซม์	ชนิดของสารตั้งต้น				
	Crystalline Cellulose	CMC	Amorphous Cellulose	Cellotetraose	Cellobiose
Endo- β -glucanase	-	+	+	+	-
Exo- β -glucanase	+	-	+	+	-
β -glucosidase	-	-	-	+	+

หมายเหตุ: +, ย่อยสลายได้; -, ย่อยสลายไม่ได้

ที่มา: สมรักษ์ พันธุ์ผล (2535)

2.4.1.3 การทำงานของเอนไซม์เซลล์

กลไกการสลายเซลลูโลสโดยเอนไซม์เซลล์ประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็น Prohydrolytic Step คือสายโซ่ Anhydroglucose จะถูกทำให้บวมขึ้น ขั้นที่สองเกิด Hydrolytic Cleavage ของสายโพลีเมอร์ กลไกการทำงานเริ่มจากเซลลูโลสจะเกิดบวมตัวพร้อมกับการสลายพันธะไฮโดรเจน ซึ่งเกิดจากการทำงานร่วมกันของ Endoglucanase และ Exoglucanase จะย่อยสลายเซลลูโลสได้ปลายอิสระ ส่วน Exoglucanase จะดึงโมเลกุลของ Cellobiose ออกจากปลายซึ่งถูกย่อยสลายต่อไปโดย β -glucosidase จนได้น้ำตาลกลูโคสอิสระ (Fan *et al.*, 1987)

2.4.1.4 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลล์

ก) β -glucosidase จะถูกยับยั้งด้วยปริมาณกลูโคสที่เพิ่มขึ้น ทำให้มีการสะสมของ Cellobiose ซึ่งจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Endoglucanase และ Exoglucanase ทำให้ปฏิกิริยาช้าลงและยุติในที่สุด

ข) สารที่มี Configuration คลายสารตั้งต้นจะยับยั้งการรวมตัวของเอนไซม์กับสารตั้งต้นได้ เช่น Methyl Cellulose และ Gluconolactones เป็นต้น โดยจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ β -glucosidase ทำให้การย่อยเซลลูโลสเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์

ค) สารพวก Polyols และ Erythritol จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Glucosidase และ Galactosidase

ง) โปรตีนของเอนไซม์ถูกทำให้เสียสภาพโดยสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับ SH-group เช่น Mercuric Ions แต่อาจแก้ไขโดยใช้ Cysteine และ Chloride Ions

จ) เอนไซม์ Endopeptidase สามารถลดการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสได้ แต่เอนไซม์ Exopeptidase ไม่สามารถย่อยเอนไซม์ Exocellulase ที่อยู่ในสภาพปกติ นอกจากนี้ยังพบว่าเซลลูเลสสามารถคงทนต่อสภาพความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่เปลี่ยนแปลงไป

ฉ) การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นกับโครงสร้างทางเคมีของเอนไซม์ ซึ่งแล้วแต่ชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์

ช) เอนไซม์เซลลูเลส อาจถูกยับยั้งโดย Melanin ซึ่งเป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิด และอาจถูกยับยั้งโดยสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อน หรือ คอลลอยด์ต่างๆ ในดิน

ซ) Clay Minerals อาจเป็นอุปสรรคต่อการย่อยเซลลูโลสในดินได้ เพราะสามารถดูดซับเซลลูโลส และสารผลิตภัณฑ์บางชนิดได้ ทำให้เอนไซม์เซลลูเลสที่สังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ไม่สามารถทำงานได้เต็มประสิทธิภาพ (Fan *et al.*, 1987)

2.4.1.5 การวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

Goksoyr และ Eriksen (1980) ได้แบ่งการทำงานของเอนไซม์เป็น 2 วิธี คือ

ก) Physical Assay เป็นการวัดความสามารถในการทำงานของ Complex Enzyme ที่ได้จากน้ำเลี้ยงเชื้อ (Culture Filtrate) ประกอบด้วย 2 วิธี คือ

1) การสลายให้ได้น้ำตาล (Saccharolytic Method)

เป็นการวัดปริมาณกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสในอาหารเพาะเลี้ยง โดย Mandels (1977) ได้รวบรวมวิธีการวัดน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสโดยใช้ Dinitrosalicylic Acid Reagent (DNS Reagent) เป็นสารทดสอบ ซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสารตั้งต้นดังนี้

1.1) Filter Paper Assay เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมาก เนื่องจากกระดาษกรองสามารถเตรียมได้ง่าย วิธีการคือ ใช้กระดาษกรองขนาด 1-6 เซนติเมตร ปริมาณ 50 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลองที่มีส่วนผสมของเอนไซม์และบัฟเฟอร์ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เติม DNS Reagent 3 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึงนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 nm เพื่อหาปริมาณของ Reducing Sugar

1.2) Cotton Assay คล้ายกับ Filter Paper Assay แต่ใช้เส้นใยฝ้าย 50 มิลลิกรัม เป็นสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์และบัฟเฟอร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติม DNS Reagent และหาปริมาณของ Reducing Sugar

1.3) CMC Assay เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการวัดการทำงานของเซลลูเลส เนื่องจาก CMC เป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ดี จึงสะดวกต่อการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในการวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์จะบม 1 เปอร์เซ็นต์ CMC ใน 0.05 M Citrate Buffer pH 4.8 กับเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม DNS Reagent เพื่อหาปริมาณของ Reducing Sugar

1.4) Amorphous Cellulose Assay วิธีนี้จะวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์โดยบม 1 เปอร์เซ็นต์ Walseth Cellulose ใน 0.05 M Citrate Buffer pH 4.8 กับเอนไซม์ ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อนำส่วนใสไปหาปริมาณ Reducing Sugar โดยการทำปฏิกิริยากับ DNS Reagent

2) การตรวจสอบโครงสร้างของเซลลูโลสที่เกิดการเปลี่ยนแปลงหลังเกิดการย่อยในกรณีที่มีการย่อยสลายเซลลูโลสไม่สมบูรณ์หรือไม่เกิดน้ำตาลขึ้น จะตรวจสอบลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเซลลูโลส วิธีการที่ใช้คือ การวัดความเหนียวของเส้นใยฝ้ายก่อน และหลังทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในเวลาที่กำหนด ซึ่งต้องใช้เครื่องมือ และความละเอียดสูง นอกจากนี้ยังอาจตรวจสอบเส้นใยอิสระที่เกิดจากการย่อยสลายกระดาษกรอง และการหาน้ำหนักของสารตั้งต้นที่หายไป การวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส อาจทำได้โดยศึกษาการย่อยสลายในอาหารรูน Hankin และ Anagostakis (1977) วัดความสามารถการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสโดยวิธี Solid Media Containing Carboxymethylcellulose โดยเฉพาะเลี้ยงเชื้อลงในอาหาร CMC Agar วัดขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของโคโลนี จากนั้นเทราดผิวหน้าอาหารด้วย 1 เปอร์เซ็นต์ (w/v) Aqueous Hexadecyltrimethyl Ammonium Bromide ซึ่ง Reagent นี้จะทำให้เกิดการตกตะกอนของ CMC ที่ไม่ถูกย่อยสลาย ทำให้เกิดวงใสของ CMC จากนั้นจึงวัดขนาดของเส้นผ่านศูนย์กลางวงใสแล้วหาอัตราส่วนกับขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางโคโลนี

ข) Biochemical Assay เป็นการวัดความสามารถในการทำงานของ Complex Cellulase เฉพาะแต่ละองค์ประกอบเท่านั้น

1) Endoglucanase นิยมใช้ CMC และ Hydroxyethyl Cellulose เป็นสารตั้งต้นโดยวัดจากค่าความหนืดที่เปลี่ยนไป ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อเวลาของปฏิกิริยาเปลี่ยนไปเป็นวิธีที่ยุงยาก จึงใช้วิธีวัดปริมาณ Reducing Sugar จากการทำปฏิกิริยากับ DNS Reagent ที่เกิดขึ้นแทน

2) Exoglucanase วิธีนี้ยังไม่มีสารตั้งต้นที่จำเพาะต่อ Exoglucanase ดังนั้นการวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์นี้จึงจำเป็นต้องสกัดให้ได้ Exoglucanase ที่บริสุทธิ์ก่อนนำมาทำปฏิกิริยากับสารตั้งต้นซึ่งจะใช้เซลลูโลสที่มีอัตรา Polymerization ต่ำ เช่น Avicel หรือเซลลูโลสที่ผ่านการแช่ด้วยกรดฟอสฟอริก

3) β -glucosidase นิยมใช้ Cellobiose และ p-nitrophenyl- β -D-glucoside (pNPG) เป็นสารตั้งต้น โดยหากใช้ Cellobiose เป็นสารตั้งต้น นิยมวัดปริมาณของกลูโคสที่ได้จากการย่อย แต่หากใช้ pNPG จะมีการเติมโซเดียมคาร์บอเนตหลังจากการบ่มกับเอนไซม์ จากนั้นวัดปริมาณ Reducing Sugar ที่ปลดปล่อยออกมา

2.4.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

2.4.2.1 ชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์

ความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความแตกต่างกัน มีรายงานจุลินทรีย์เพียงไม่กี่ชนิดที่สามารถผลิตเอนไซม์ได้ในปริมาณสูง และมีองค์ประกอบครบทั้งสามส่วน คือ Endoglucanase, Exoglucanase และ β -glucosidase ในปริมาณที่พอเหมาะ กลุ่มจุลินทรีย์ที่มีผู้นิยมนำมาศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ได้แก่ *Aspergillus* sp., *Trichoderma* sp., *Penicillium* sp., *Bacillus* sp. และ *Clostridium* sp. เป็นต้น

2.4.2.2 ส่วนประกอบทางอาหาร

ส่วนประกอบของอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของจุลินทรีย์แต่ละชนิดแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับแหล่งอาหารที่สำคัญบางชนิด ได้แก่

ก) แหล่งและความเข้มข้นของคาร์บอน

เป็นปัจจัยที่สำคัญต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จากการทดลองของ จิตตเสน อรุณศรี (2529) ซึ่งนำเชื้อ *Hemicola nigrescens* CM33 มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีแหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน ได้แก่ Cellulose Powder, Cellulose Acetate, CMC และ Cellobiose พบว่าอาหารที่มี CMC เป็นแหล่งคาร์บอนให้ปริมาณเซลลูเลสสูงสุด แต่ ระพีพรรณ อินปันแก้ว (2536) ที่ทำการแยก 19 สายพันธุ์ แบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูเลสจากกระดาษหมักของโคพื้นเมือง พบว่า *Ruminococcus albus* 21Aa มีแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ Filter Paper Pulp

ข) แหล่งและความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน

Keskar (1992) ได้เพาะเลี้ยง *Penicillium janthinellum* ในอาหารเหลว พบว่า ในอาหารที่ไม่มีแหล่งไนโตรเจน เชื้อเจริญได้ไม่ดีและผลิตเอนไซม์เซลลูเลสน้อย เมื่อเติมแหล่งไนโตรเจนให้เชื้อ พบว่า Ammonium Sulphate ช่วยให้เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสดีกว่า Nitrate และ Ali *et al.* (1991) ได้ศึกษาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของ *Aspergillus terreus* พบว่า Ammonium Nitrate เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ให้ค่า Enzyme และ Specific Activity สูงที่สุด นอกจากนั้น ฤมล (2544) ได้ทำการศึกษา *Bacillus subtilis* CMU4-4 และ *Bacillus coagulans* TI-5 โดยเพาะเลี้ยงใน Cellulose Broth ที่มีแหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน

คือ Tryptone, Ammonim Nitrate, Soytone, Ammonium Sulphate และ Peptone พบว่า *Bacillus subtilis* CMU4-4 ใช้ Tryptone และ *Bacillus coagulans* TI-5 ใช้ Peptone เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ทำให้สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุด

2.4.2.3 เทคนิคในการเพาะเลี้ยง (Goksoyr and Eriksen, 1980)

การศึกษาเกี่ยวกับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส มีวิธีที่นิยมนำมาใช้ 2 วิธี ดังนี้

ก) Submerge Culture การเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการเติมอาหารแข็งลงไป และมีการให้อากาศหมุนเวียนตลอดเวลาหรือใช้เครื่องพ่นอากาศ เช่น Milala *et al.* (2005) ทำการเพาะเลี้ยง *Aspergillus niger* ในสภาวะ Submerge Culture พบว่า เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มี Maize Straw เป็นแหล่งคาร์บอน เชื่อสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงที่สุด คือ 102 U/mL นอกจากนี้ ชริดา และคณะ (2549) เพาะเลี้ยงเชื้อ *Lentinus* sp. ในสภาวะ Solid State และ Submerge Culture มีแหล่งคาร์บอนเป็นแกลบข้าวเจ้าปน พบว่าเชื่อสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะ Submerge Culture และ Fungsin *et al.* (2008) พบว่า *Aspergillus niger* เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะ Submerge Culture สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้เท่ากับ 56.2 g/L

ข) Solid State หรือ Koji-type Process การเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนผิวอาหารแข็งที่ชื้น ซึ่งวิธีนี้นิยมใช้เลี้ยงเชื้อรามากกว่าแบคทีเรีย ส่วนผสมของอาหารแข็งประกอบด้วยวัสดุที่เป็นของแข็งแห้ง และน้ำในอัตราส่วนที่เหมาะสม ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดและสายพันธุ์ของจุลินทรีย์ อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งส่วนใหญ่ใช้รำข้าวสาลี รำข้าวเจ้า ฟางข้าว และเสริมอาหารพวกโปรตีน

2.4.2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเพาะเลี้ยงเพื่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

ก) pH

จุลินทรีย์ส่วนใหญ่เจริญและมีกระบวนการชีวเคมีในสภาพที่เป็นกลาง อย่างไรก็ตามจุลินทรีย์หลายชนิดมีการเจริญและผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีในสภาวะที่มีความเป็นกรดหรือด่าง มากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์นั้น เช่น Immanuel *et al.* (2007) ทำการเพาะเลี้ยง *Aspergillus niger* และ *A. fumigatus* ในอาหารที่มีกาบมะพร้าวเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เชื้อทั้งสองชนิดผลิตเอนไซม์เซลลูเลสสูงที่สุดที่ pH 5 ในปี 2544 นฤมล ทำการเพาะเลี้ยง *Bacillus subtilis* CMU4-4 และ *Bacillus coagulans* TI-5 ใน Cellulose Broth พบว่า pH 5.5 มีความเหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด และที่ pH 3 ไม่พบการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Oikawa *et al.* (1994) ที่เพาะเลี้ยง *Acetobacter xylinum* KU-1 ใน Cellulose Broth และพบว่า pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ pH 5.5 เช่นเดียวกับกับ Singh และ Kumar (1998) ที่เพาะเลี้ยง *Bacillus brevis* VS-1 พบว่า pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ pH 5.5 ส่วน ระพีพรรณ อินปิ่นแก้ว (2536) ใช้ Cellulose Broth ที่ pH แตกต่างกัน

ในการเพาะเลี้ยง *Ruminococcus albus* 21Aa พบว่า pH 6.8 เป็น pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด

ข) อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงและผลิตเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ บางชนิดผลิตเอนไซม์ได้ในสภาวะอุณหภูมิต่ำ บางชนิดผลิตเอนไซม์ได้ในสภาวะอุณหภูมิสูง เช่น Haq *et al.* (2005) ทำการเพาะเลี้ยง *Trichoderma harzianum* UM-11 ใน CMC Broth ที่อุณหภูมิ 20-40 องศาเซลเซียส พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ 28 องศาเซลเซียส และจากรายงานของ Kathiresan และ Manivannan (2006) ทำการเพาะเลี้ยง *Penicillium fellutanum* ที่อุณหภูมิ 20, 30 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงที่สุด รองลงมา คือ 20 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สวนจิตตเสน อรุณศรี (2529) ศึกษาค้นคว้า *Hemicola nigrescens* CM33 พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ 45 องศาเซลเซียส และไม่พบการผลิตเอนไซม์ที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส และเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในอาหารที่มีฟางข้าวป่นเป็นแหล่งคาร์บอน พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ 40 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส ไม่มีการผลิตเอนไซม์เช่นกัน

ค) ระยะเวลาในการเพาะเลี้ยง

ช่วงเวลาที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงจะแตกต่างกันไปตามชนิดของจุลินทรีย์ ดังเช่น การเพาะเลี้ยง *Rhizopus stolonifer* ในอาหารที่มี Cassava Waste เป็นแหล่งคาร์บอน พบว่า เชื้อเริ่มผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในวันที่ 2 และผลิตเอนไซม์ได้ดีที่สุดในวันที่ 10 (Pothiraj *et al.*, 2006) สวนการเพาะเลี้ยง *Trichoderma reesei* Rut C-30 พบว่า เมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเหลวเป็นเวลา 7 วัน เชื้อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุด และในการเพาะเลี้ยง *Hemicola nigrescens* CM33 ในอาหารเหลวเป็นระยะเวลา 5 วัน พบว่าเชื้อสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุด และเมื่อเพาะเลี้ยงบนอาหารแข็ง พบว่าเวลาที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส คือ วันที่ 5 เช่นกัน (จิตตเสน อรุณศรี, 2529) ซึ่งสอดคล้องกับการเพาะเลี้ยง *Penicillium fellutanum* ในสภาวะ Submerged Fermentation เมื่อนำไปบ่มเป็นระยะเวลา 1-6 วัน พบว่า เชื้อสามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงนาน 5 วัน มีค่า Enzyme Activity เท่ากับ 79 U/mL (Kathiresan และ Manivannan, 2006) สวน *Trichoderma koningii* พบว่าผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้มากที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 84 ชั่วโมง (Liu และ Yang, 2006) แต่ในการเพาะเลี้ยง *Bacillus subtilis* CY5 และ *Bacillus circulans* TP3 เป็นระยะเวลา 24-120 ชั่วโมง พบว่า เชื้อทั้งสองชนิดผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้ดีที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงเป็นระยะเวลา 96 ชั่วโมง (Ray *et al.*, 2007)

2.4.3 คุณสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลส

เอนไซม์เซลลูเลสจากจุลินทรีย์แต่ละชนิด อาจมีคุณสมบัติเหมือนหรือต่างกัน ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบ โครงสร้างของเอนไซม์ ชนิดและแหล่งที่มาของจุลินทรีย์ ปัจจัยที่มีผลต่อคุณสมบัติของเอนไซม์ประกอบด้วย

2.4.3.1 น้ำหนักโมเลกุล เอนไซม์เซลลูเลสจะมีน้ำหนักโมเลกุลแตกต่างกันไปตามชนิดและแหล่งของจุลินทรีย์ที่ผลิต (ตารางที่ 2.5)

ตารางที่ 2.5 น้ำหนักโมเลกุลของเอนไซม์เซลลูเลสจากจุลินทรีย์

ชนิดของจุลินทรีย์	น้ำหนักโมเลกุล (Daltons)	เอกสารอ้างอิง
<i>Aspergillus oryzae</i>	130,000	Riou <i>et al.</i> , 1998
<i>A. niger</i> CCRC 31494	49,000	Yan and Lin, 1997
<i>Bacillus amyloliquefaciens</i> DL-3	55,118	Lee <i>et al.</i> , 2008
<i>Bacillus subtilis</i> KSM-635	40,000	Ozaki <i>et al.</i> , 1995
<i>Bacteroides succinogenes</i> S85	43,000	Forsberg and Hellstrom , 1987
<i>Cladosporium resinae</i>	98,000	Oh <i>et al.</i> , 1999
<i>Clostridium thermocellum</i>	60,000	Ahsan <i>et al.</i> , 1997
<i>Streptomyces flavovirgatus</i>	45,000	Mackenzie <i>et al.</i> , 1984
<i>Trichoderma reesei</i>	81,600	Chirio and Brown, 1987

2.4.3.2 อุณหภูมิ และ pH ที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

ก) อุณหภูมิที่เหมาะสมและความเสถียร

เอนไซม์มีความไวต่อการเปลี่ยนแปลงของสภาพแวดล้อม อุณหภูมิที่สูงหรือต่ำ มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ อัตราการเกิดปฏิกิริยามีค่าสูงสุดที่อุณหภูมิหนึ่ง เรียกว่า ค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน เมื่ออุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่าจุดนี้ อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะลดลง เพราะเอนไซม์เกิดการเสียสภาพหรืออยู่ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมในการเกิดปฏิกิริยา โดยเอนไซม์เซลลูเลสจะเกิดการเสียสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 80 องศาเซลเซียส

ข) pH ที่เหมาะสมและความเสถียร

การเปลี่ยนแปลงของ pH มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ เมื่อ pH เปลี่ยนแปลงเพียงเล็กน้อย อาจทำให้อัตราการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์เพิ่มขึ้นหรือลดลงได้ เนื่องจากเอนไซม์มีการแตกตัวตรงหมู่อะมิโน และหมู่คาร์บอกซิลหรือ Side Chain ได้ต่างกัน ในสถานะที่ pH แตกต่างกันจะมีผลให้โครงสร้างสามมิติของเอนไซม์เปลี่ยนไป เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดในที่ pH ค่าหนึ่งเรียกว่า ค่า pH ที่เหมาะสมในการทำงาน ณ จุดที่ pH มีค่าสูงหรือต่ำกว่าค่านี้ กิจกรรมการทำงานของเอนไซม์จะลดลง เอนไซม์เซลล์จะทำงานได้ดีที่สุดใน pH ช่วง 5.0 ถึง 9.0 เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารตั้งต้น อัตราการเกิดปฏิกิริยาของเอนไซม์จะมีค่าสูงขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรก และลดขาลงเมื่อความเข้มข้นของสารตั้งต้นสูงขึ้น จนในที่สุดอัตราเร็วของปฏิกิริยา จะไม่เพิ่มขึ้นอีก

ค) ผลของอิออนโลหะและสารยับยั้ง

สารยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ (Enzyme Inhibitor) เป็นตัวแปรหนึ่งที่ใช้ในการอธิบายกลไกการทำงานของเอนไซม์ ความจำเพาะของเอนไซม์ต่อสารตั้งต้น และลักษณะของ Functional Group ที่บริเวณ Active Site ทำให้เข้าใจและสามารถควบคุมกระบวนการที่เกิดขึ้นได้ (Goksoyr and Eriksen, 1980)

2.4.4 การนำเอนไซม์ไปใช้ประโยชน์

จุลินทรีย์เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ที่สำคัญ จึงมีการนำเอนไซม์เซลล์จากจุลินทรีย์ มาใช้ในการกระบวนการผลิตสารสำคัญหลายชนิด โดยมีเซลล์ของแบคทีเรียหรือยีสเป็นวัตถุดิบสำคัญ เนื่องจากหาง่าย และเป็น การลดปัญหาสิ่งแวดล้อม

ตัวอย่างของการนำเอนไซม์เซลล์ไปใช้ประโยชน์ ได้แก่

2.4.4.1 สกัดสารในใบชา ถั่วเหลือง มันเทศ แป้งข้าวโพด และวุ้น

2.4.4.2 ผลิตน้ำส้มสายชูจากเยื่อสม และเยลลี่จากสาหร่าย

2.4.4.3 ย่อยเซลล์สัตว์ที่ตกค้างจากโรงงานอุตสาหกรรมกระดาษ

2.4.4.4 ย่อยเปลือกถั่วเหลือง

2.4.4.5 เปลี่ยนแปลงเนื้อเยื่ออาหารของผัก ข้าวเจ้า และข้าวเหนียว

2.4.4.6 แปรรูปนมในผงซักฟอก เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการขจัดความสกปรก และไม่ทำ

ลายเส้นใยผ้า

2.4.4.7 ช่วยแยกเซลล์เดี่ยว และ Active Protoplast ของพืช

2.4.4.8 ช่วยทำให้น้ำผัก ผลไม้ ใส่ขึ้น

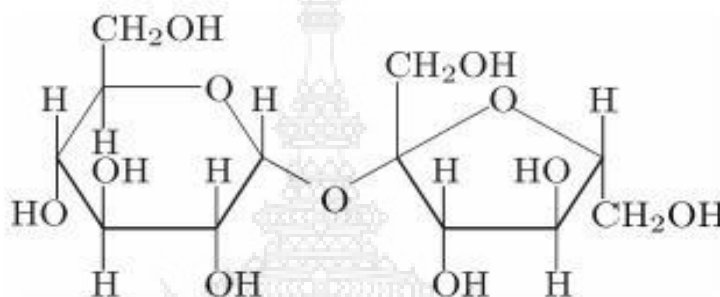
2.4.4.9 ช่วยย่อยสลายเซลล์ในสิ่งปฏิกูล

2.4.4.10 นำกลูโคสซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากการทำงานของเอนไซม์ไปใช้เป็นสารตั้งต้นเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ และโปรตีนเซลล์เดี่ยว (Goksoyr and Eriksen, 1980)

2.5 ชนิดสารตั้งต้นและผลิตภัณฑ์ที่ได้ในกระบวนการย่อยเซลลูโลส

2.5.1 ซูโครส (Sucrose) (“ซูโครส”, 2551)

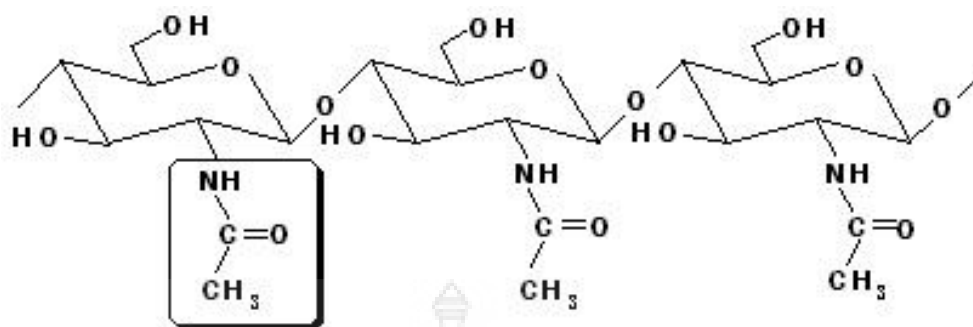
ซูโครส ($C_{12}H_{22}O_{11}$) มีชื่อทางเคมีคือ β -D-fructofuranosyl-(2,1)- α -D-glucopyranoside เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่ (Disaccharide) ชนิดหนึ่ง มีชื่อสามัญว่า น้ำตาลทราย (Table Sugar) โดยซูโครส 1 โมเลกุลประกอบด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว 2 โมเลกุล ได้แก่ กลูโคส และ ฟรุคโตส เชื่อมต่อกันด้วย Glycosidic Bond (ภาพที่ 2.3)



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างของน้ำตาลซูโครส
ที่มา : Stryer (1988)

2.5.2 ไคติน (Chitin)

ไคติน เป็นโพลิเมอร์ธรรมชาติ ซึ่งมีปริมาณมากเป็นอันดับสอง รองจากเซลลูโลสที่เป็นส่วนประกอบของเนื้อไม้ พบเป็นส่วนประกอบผนังเซลล์ของรา เห็ด ยีสต์ และ จุลินทรีย์หลายชนิด หรือพบเป็นโครงสร้างแข็งของสัตว์ไม่มีกระดูกสันหลัง จำพวกแมลง กุ้ง ปู ปลาหมึก เป็นต้น โดยไคตินมีลักษณะเป็นของแข็ง ละลายได้ในกรดอินทรีย์ เช่น กรดเกลือ กรดกำมะถัน กรดฟอสฟอริก และกรดฟอร์มิกที่ปราศจากน้ำ แต่ไม่ละลายในด่างเจือจาง แอลกอฮอล์ และตัวทำละลายอินทรีย์อื่นๆ ไคตินเกิดจากการเรียงต่อกันเป็นสายของ N-acetyl-D-glucosamine เชื่อมต่อกันด้วย Glycosidic Bond ทำตำแหน่ง β -1,4 มีสูตรโมเลกุล $(C_8H_{13}O_5)_n$ โดยทั่วไปมีชื่อทางเคมีว่า Poly- β -(1,4)-2-acetamido-2-deoxy-D-glucose (Shahidi *et al.*, 1999) (ภาพที่ 2.4)



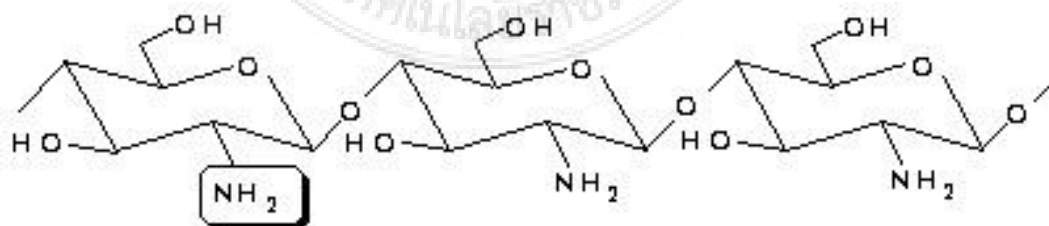
ภาพที่ 2.4 โครงสร้างของไคติน
ที่มา : Stryer (1988)

ไคตินที่ได้จากแต่ละแหล่ง มีโครงสร้างและคุณสมบัติแตกต่างกันตามลักษณะการเรียงตัวของสายโซ่ซึ่งแบ่งได้เป็น 3 กลุ่ม คือ

2.5.2.1 แบบแอลฟา: มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะสวนทางกัน (Anti-Parallel) มีพันธะไฮโดรเจนอยู่ในเส้นตรงเดียวกัน เป็นโครงสร้างที่มีความแข็งแรงสูง พบในเปลือกกุ้งและกระดองปู

2.5.2.2 แบบเบตา: มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในทิศทางเดียวกัน จึงจับกันได้ไม่คอบแข็งแรง มีความไวต่อปฏิกิริยาเคมีมากกว่าแบบอัลฟา ไคแก ไคตินจากแกนปลาหมึก

2.5.2.3 แบบแกมมา: มีการเรียงตัวของสายโซ่โมเลกุลในลักษณะที่ไม่แน่นอน สามารถเปลี่ยนรูปร่างเป็นแบบแอลฟาได้ มีความแข็งแรงรองจากแบบอัลฟา ไคแก ไคตินจากเห็ด รา และพืชชั้นต่ำ ส่วนไคโตซาน คือ อนุพันธ์ของไคตินที่ตัดเอาหมู่ Acetyl (Deacetylation) ของน้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine ออกตั้งแต่ 50 เปอร์เซ็นต์ขึ้นไป และมีคุณสมบัติละลายได้ในกรดอ่อน ไคโตซานที่ได้จะมีส่วนผสมของ น้ำตาล N-acetyl-D-glucosamine และ glucosamine อยู่ในสายโพลิเมอร์เดียวกัน (ภาพที่ 2.5)



ภาพที่ 2.5 โครงสร้างของไคโตซาน
ที่มา : Stryer (1988)

ปัจจุบันมีการนำไคตินและไคโตซานมาประยุกต์ใช้ ดังนี้

ก) ด้านอาหาร ไคโตซานมีสมบัติในการต่อต้านจุลินทรีย์และเชื้อราบางชนิด โดยมีกลไกคือ ไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับเยื่อหุ้มเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีประจุลบได้ ทำให้เกิดการรั่วไหลของโปรตีนและสารอื่นของเซลล์ ในหลายประเทศได้ขึ้นทะเบียนไคตินและไคโตซานให้เป็นสารที่ใส่เติมในอาหารได้ สามารถนำไปใช้เป็นสารกันบูด สารช่วยรักษากลิ่น รส สารให้ความข้น สารเคลือบอาหาร ผัก และผลไม้ เพื่อรักษาความสดหรือผลิตในรูปแบบที่รับประทานได้ (Edible Film) สำหรับบรรจุอาหาร

ข) ด้านอาหารเสริม ไคโตซานสามารถช่วยลดคอเลสเตอรอล และไขมันในเส้นเลือดได้ โดย ไคโตซานจะไปจับกับคอเลสเตอรอล ทำให้ร่างกายไม่สามารถดูดซึมไปใช้หรือดูดซึมได้น้อยลง นอกจากนี้ ทางการแพทย์ มีรายงานการนำ N-acetyl-D-glucosamine ไปใช้รักษาอาการไขข้อเสื่อม โดยอธิบายว่า ข้อเสื่อมเกิดเนื่องจากการสึกกร่อนของเนื้อเยื่ออ่อนที่เคลือบอยู่ระหว่างข้อกระดูก ซึ่ง Glucosamine เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ Proteoglycan และ Matrix ของกระดูกอ่อน จึงช่วยทำให้เยื่อหุ้มกระดูกอ่อนหนาขึ้น

ค) ด้านการแพทย์ มีการวิจัยนำแผ่นไคโตซานมาใช้ปิดแผล ช่วยทำให้ไม่เปื้อนแผลปน โดยไคโตซานช่วยลดการหดตัวของ Fibroblast ทำให้แผลเรียบ กระตุ้นให้เกิดการซ่อมแซมบาดแผลให้หายเร็วขึ้น

ง) ด้านเภสัชกรรม ใช้ไคโตซานเพื่อควบคุมการปลดปล่อยตัวยาสำคัญ

จ) ด้านการเกษตร ใช้เป็นปุ๋ยชีวภาพ เนื่องจากไคตินสามารถช่วยกระตุ้นระบบภูมิคุ้มกันของพืช และกระตุ้นการนำแร่ธาตุไปใช้ ผลคือสามารถเพิ่มผลผลิตและคุณภาพการผลิตได้ ทำให้เกษตรกรมีต้นทุนต่ำลง เนื่องจากลดการใช้ปุ๋ยและยาฆ่าแมลง

ฉ) ด้านการปศุสัตว์ ใช้เป็นส่วนผสมในอาหารสัตว์เพื่อกระตุ้นภูมิคุ้มกัน และลดการติดเชื้อ ทำให้น้ำหนักตัวของสัตว์เพิ่มขึ้น

ช) ด้านการบำบัดน้ำเสีย ใช้บำบัดน้ำเสียจากอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากไคโตซานมีประจุบวก สามารถจับกับโปรตีนและไขมันได้ดี นอกจากนี้ ไคโตซานยังสามารถดูดซับอามอนิอัมของโลหะหนัก และจับสีจางช่วยในการบำบัดน้ำเสียได้

ซ) ด้านสิ่งทอ นำมาขึ้นรูปเป็นเส้นใย และใช้ในการทอรวมหรือเคลือบกับเส้นใยอื่นๆ เพื่อให้ได้คุณสมบัติการต้านจุลชีพ ลดการเกิดกลิ่นอับชื้น (ประภัสสร สุรพัฒน์วารณ, 2551)

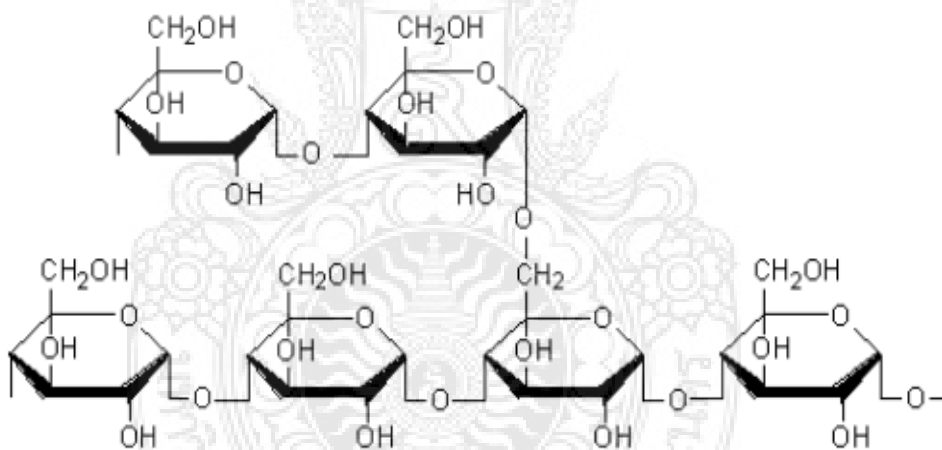
2.5.3 แป้ง (Starch)

แป้งเป็น Polysaccharide ประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคสที่ต่อกันเป็นสายตรง (Straight Chain) และแตกแขนง (Branched Chain) เป็นคาร์โบไฮเดรตที่สะสมเป็นส่วนใหญ่ใน

ผลิตผลเกษตรหลังการเก็บเกี่ยว พบในรูปของเม็ดแป้งใน Plastids และ Chloroplasts ในส่วนของใบ แป้งประกอบด้วย α -amylose และ Amylopectin ในปริมาณที่แตกต่างกัน

α -amylose ประกอบด้วย D-glucose มาเชื่อมต่อกันเป็นสายโซยาวด้วย α -1,4 Glycosidic Bond โดยไม่มีการแตกกิ่งก้านสาขา มีมวลโมเลกุลตั้งแต่ 1-500 กิโลดาลตัน เมื่อ α -Amylose อยู่ในน้ำจะเกิดการสร้างเป็นไมเซลล์ ในไมเซลล์นี้ Polysaccharide จะอยู่ในลักษณะของการขดตัวเป็นเกลียวยาว (Helical Coil) เมื่อทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน (I_2) จะให้สีน้ำเงิน

Amylopectin ประกอบด้วย D-glucose ประมาณ 2,000-200,000 หน่วยกลูโคส ต่อกันด้วย α -1, 4 Glycosidic Bond ระหว่างโมเลกุลของกลูโคส และทุก 20-25 หน่วยของกลูโคส จะมีการแตกกิ่งก้านสาขาและเชื่อมต่อกันด้วย α -1,6 Glycosidic Bond โดยมีอัตราส่วนระหว่างพันธะทั้งสองชนิดเป็น 15 : 1 ดังนั้นโครงสร้างของ Amylopectin จึงเป็นกิ่งก้านสาขา (Branched Polysaccharide) (ภาพที่ 2.6) และสามารถทำปฏิกิริยากับสารละลายไอโอดีน (I_2) ได้สีม่วงถึงแดง (อาภัสสรา ชมิตต์, 2537)

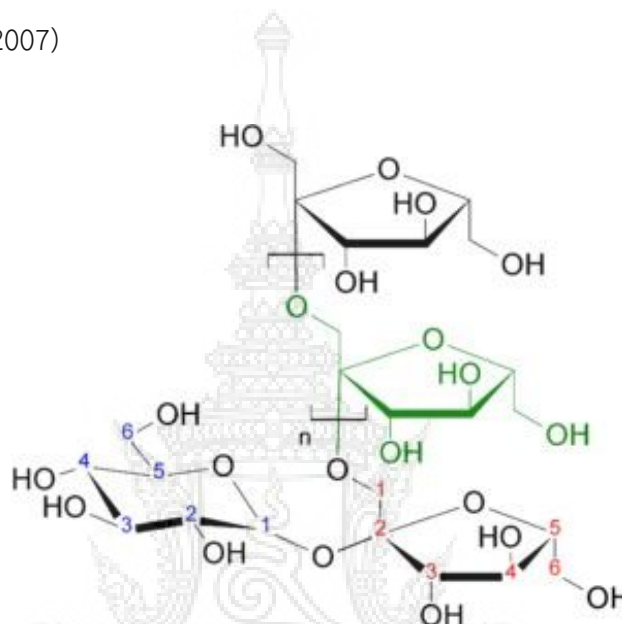


ภาพที่ 2.6 โครงสร้างของ Amylopectin
ที่มา : Stryer (1988)

2.5.4 อินูลิน (Inulin) (“อินูลิน”, 2551)

อินูลิน เป็นพอลิเมอร์ของน้ำตาลฟรุกโตสที่เชื่อมต่อกันเป็นเส้นตรงที่ตำแหน่ง β - 2, 1 Linked Polyfructan มีปลายด้านหนึ่ง คือกลูโคสที่เชื่อมต่อกับฟรุกโตสในลักษณะการเชื่อมของซูโครส (ภาพที่ 2.7) โดยพบเป็นคาร์โบไฮเดรตสะสมในหัวและรากพืชหลายชนิดเช่น Jerusalem Artichoke รักเร และซีคโออะรี เป็นต้น

อินูลิน จัดเป็น Prebiotic เมื่อทานเข้าไปแล้วจะแตกออกเป็น Fructan ในลำไส้ สามารถนำไปสร้างพลังงานได้ อินูลินจะช่วยลดความอยากอาหาร ทำให้ทานได้น้อยลง กระตุ้นการขับถ่ายบ่อยขึ้น ป้องกันการท้องผูก เพิ่มภูมิคุ้มกัน ป้องกันการเจริญเติบโตของแบคทีเรียก่อโรค ใช้เป็นอาหารสำหรับคนเป็นเบาหวาน อินูลินจะทำให้การแพร่กระจายของเชื้อมะเร็งลดลง และเหมาะสำหรับผู้หญิงที่มีระบบเลือดผิดปกติโดยเฉพาะวัยหมดประจำเดือน (“เครื่องดื่มอินูลินผสมคลอโรฟิลล์อัลฟา”, 2007)



ภาพที่ 2.7 โครงสร้างของอินูลิน

ที่มา : “อินูลิน”(2551)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากการศึกษาการสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยกระบวนการทางชีวภาพ กิจกรรมที่จำเป็นและสำคัญอย่างยิ่งในการวิจัย คือ งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง เพราะจะช่วยให้ผู้วิจัยเข้าใจทฤษฎี แนวคิด และการศึกษาผลงานวิจัยที่ผ่านมา ซึ่งเป็นประโยชน์ต่อผู้วิจัยเกี่ยวกับแนวทางในการดำเนินการวิจัยให้มีคุณภาพและช่วยให้ทำการวิจัยสำเร็จตามวัตถุประสงค์ที่ตั้งไว้ ดังนั้นผู้วิจัยจึงศึกษาค้นคว้างานวิจัยที่เกี่ยวข้อง ดังนี้

2.6.1 การผลิตเอนไซม์เซลลูเลส

Ferchak และ Pye (1993) ศึกษาผลของกลูโคส เซลโลไบโอส เอทานอล และอีออนของโลหะบางชนิดที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส จาก *Thermomonospora fusca* ซึ่งจัดเป็น Thermoactinomycetes ชนิดหนึ่ง ผลการศึกษาพบว่า เซลโลไบโอส เป็นสารที่มีฤทธิ์แรงในการยับยั้งการทำงานของระบบเอนไซม์เซลลูเลส โดยมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลาย

Swollen Cellulose ลดลง 25 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่กลูโคสเป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้งปานกลาง มีผลทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลง 40 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 20 เปอร์เซ็นต์ และจากการทดสอบคุณสมบัติของอีออนชนิดต่างๆ พบว่า Ca^{2+} และ Co^{2+} ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 ถึง 1.0 mM มีผลในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์เพียงเล็กน้อย ในขณะที่ Pb^{2+} และ Hg^{2+} ที่ความเข้มข้น 1.0 mM มีผลการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

Prasertsan และ Doelle (1986) ได้ทำการแยกและศึกษาลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลสจาก *Cellulomonas* spp. พบว่าแบคทีเรียชนิดนี้สร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้ 6 ชนิด คือ จาก Endoglucanase I ถึง VI (EG I–EG VI) มีน้ำหนักโมเลกุลอยู่ในช่วง 44,000–143,000 ดาลตัน สภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้ง 6 ชนิด คือ อุณหภูมิ 50 เปอร์เซ็นต์ (ยกเว้น Endoglucanase II มีอุณหภูมิเหมาะสมที่ 40 เปอร์เซ็นต์) ที่ pH 6.0–7.0 ผลของการศึกษาอิทธิพลของตัวยับยั้งที่มีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดต่างๆ พบว่ากลูโคสจะยับยั้งกิจกรรมของ EG VI ได้ 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 1.11 mM EG V ถูกยับยั้ง 30 เปอร์เซ็นต์ EG II และ EG VI ถูกยับยั้ง 20 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้นของกลูโคส 1.65 mM ในส่วนของเซลล์โอบิโอส พบว่าสามารถยับยั้งกิจกรรมของ EG I และ EG VI ได้ในช่วง 0–50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 2.92 mM ส่วนผลของอีออนของโลหะชนิดต่างๆ คือ Hg^{2+} Co^{2+} Ca^{2+} Mg^{2+} Zn^{2+} และ Fe^{2+} พบว่า Hg^{2+} เท่านั้นที่มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ได้ถึง 50 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 5.0 mM

Eriksson *et al.* (1990) ได้ศึกษาเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการย่อยสลายสารประกอบในขยะและน้ำเสียต่างๆ ได้แก่ เซลลูเลสจัดเป็น Extracellular, Hydrolytic Enzyme พบในเชื้อราหลายชนิด เช่น *Aspergillus* spp., *Chaetomium* spp., *Penicillium* spp., *Fusarium* spp. ในแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Cellulomonas* spp., *Bacillus* spp., *Pseudomonas* spp. และแอคติโนมัยสิท เช่น *Streptomyces* spp., *Thermonospora* spp. (Bellamy, 1977) เอนไซม์ดังกล่าวประกอบด้วย Endo 1,4- β -glucanases, Exo 1,4- β -glucanases และ 1,4- β -glucosidase ซึ่งเอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้จะรวมกันย่อยเซลลูโลสได้กลูโคส

Asha และ Prema (2007) ได้ศึกษาลักษณะเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตขึ้นโดยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Bacillus pumilis* โดยทำการทดลองเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อแบบแข็งโดยทำการศึกษาความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีสารประกอบจากแหล่งวัตถุดิบเหลือทิ้งทางการเกษตรชนิดต่างๆ ดังนี้ เปลือกข้าว ฟางข้าว ชี้อ้อย ชานอ้อย กากมะพร้าว และรำข้าวสาลี จากการศึกษพบว่า รำข้าวสาลีเป็นแหล่งอาหารที่ทำให้แบคทีเรียมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด ทั้งนี้เพราะในรำข้าวสาลีประกอบด้วยน้ำตาลที่ละลายน้ำได้ เช่น Glucose 42.5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง, Xylose 15.4 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง Arabinose 3.1 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง และ Galactose 2.7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักแห้ง ซึ่งเป็นอาหารที่

จำเป็นสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์ นอกจากนั้นยังได้ทำการศึกษาผลความชื้น และ pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสด้วย พบว่ามีความชื้นมากกว่า 75 เปอร์เซ็นต์ เป็นความชื้นที่เหมาะสมมากที่สุด สำหรับ pH 8-9 เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์

Jahasz *et al.* (2005) ได้ทำการศึกษาลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตได้จากเชื้อ *Trichoderma reesei* RUT C30 โดยทำการหาแหล่งชนิดของคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้เชื้อ *Trichoderma reesei* RUT C30 มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด โดยแหล่งคาร์บอนที่ใช้ได้แก่ ต้นสนใบสั้น ต้นหลิว ชังข้าวโพด และ Solka Floc ซึ่งเกิดนำวัตถุดิบเหล่านั้นมาใช้เป็นสับเสตรต้นนั้นต้องนำมาผ่านการแปรรูปทางเคมีที่เหมาะสมก่อน จากการศึกษาพบว่า ชังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่สุดที่ทำให้ *Trichoderma reesei* RUT C30 มีความสามารถในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสมากที่สุด ส่วน Solka Floc, ต้นหลิวและต้นสนใบสั้นให้กิจกรรมเอนไซม์รองลงมาตามลำดับ

Singh *et al.* (1990) ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์ β -glucosidase จากเชื้อรา *Aspergillus niger* AS101 ซึ่งผ่านการทำบริสุทธิ์เพียงบางส่วน พบว่าเอนไซม์ β -glucosidase จากเชื้อราชนิดนี้ สามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสได้นานหลายวันโดยไม่มีการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ แต่ถ้าเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จะเหลือกิจกรรมของเอนไซม์เพียง 32 เปอร์เซ็นต์ การเติม Bovine Serum Albumin (BSA), Glycerol หรือ Sodium Azide จะช่วยป้องกันการสูญเสียกิจกรรมของเอนไซม์ได้ การแช่แข็งและการละลายหลายๆ ครั้งจะทำให้เอนไซม์เสียสภาพ เนื่องจากโครงสร้างของโมเลกุลเอนไซม์เปลี่ยนไป ซึ่งสามารถป้องกันได้โดยการเติม Glycerol ที่ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) เอนไซม์ชนิดนี้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ที่ระดับ pH 5.0-5.5 และสามารถทนต่อความเป็นกรดเป็นด่างได้ในช่วงกว้าง คือ pH 4.0-6.0 ค่าครึ่งชีวิตของเอนไซม์ คือ 75 องศาเซลเซียส นาน 40 นาที และพบว่า Na^{2+} K^{2+} Mn^{2+} CO^{2+} Ca^{2+} และ Mg^{2+} มีผลในการกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ โดย CO^{2+} นั้นให้ค่ากิจกรรมของเอนไซม์สูงสุดถึง 179 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่ Pb^{2+} และ Hg^{2+} มีผลในการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ชนิดนี้

Magnelli *et al.* (1996) ได้ศึกษาคุณสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลสที่ผลิตได้จากเชื้อรา *Saccobolus Saccoboloides* ซึ่งเป็นเชื้อราจำพวก *Coprophilous* พบว่า อุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ Endoglucanase และ β -glucosidase เท่ากับ 55 องศาเซลเซียส ในขณะที่ Exoglucanase เท่ากับ 50 องศาเซลเซียส ใน 0.1 M Acetate Buffer pH 4.8 ส่วน pH ที่เหมาะสมกับการทำงานของเอนไซม์ Endoglucanase เท่ากับ pH 4.8 β -glucosidase เท่ากับ pH 5.4 และ Exoglucanase เท่ากับ pH 5.2 นอกจากนั้นยังได้ทำการศึกษาความเสถียรของเอนไซม์ที่อุณหภูมิ

ต่างๆ พบว่าที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส Endoglucanase และ Exoglucanase ในขณะที่เอนไซม์ β -glucosidase มีค่าครึ่งชีวิตของเอนไซม์เท่ากับ 6-7 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิเดียวกัน

น้อย เกษมสุขสกุล (2539) ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในสภาพการหมักแบบแห้ง (Solid-State Fermentation) จากเชื้อราที่ชอบอุณหภูมิสูง ที่ทำการคัดเลือกได้จากเชื้อธรรมชาติ โดยทำการทดลองแปรผันชนิดของวัสดุหมักประเภท Lignocellulose ที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรกรรม เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอน ได้แก่ ฟางข้าว ผักตบชวา ขี้เลื่อย เปลือกมันสำปะหลังและ แกลบบดระเอียด นอกจากนั้นยังได้ศึกษาอิทธิพลของแหล่งไนโตรเจน โดยแปรผันชนิด และปริมาณของสารที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน เช่น $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ NH_2NO_3 KNO_3 และ $\text{Co}(\text{NH}_4)_2$ ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ คือ การใช้ฟางข้าวขนาด 2-4 เซนติเมตรเป็นแหล่งคาร์บอน ใช้ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ที่ความเข้มข้น 5.0-7.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ pH 5.0-5.5 ความชื้นเริ่มต้นที่ 70 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้น 10^7 สปอร์ต่อมิลลิลิตร และใช้ระยะเวลาในการบ่มเชื้อ 10 วัน จะได้เอนไซม์ย่อยสลายกระดาษกรองและเอนไซม์ย่อยสลายคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส (CMCase) สูงถึง 16.353 และ 48.71 หน่วยสากลต่อกรัมของสับสเตรท ตามลำดับ

วิเชียร ศรีสุข (2532) ศึกษาชนิดของวัสดุหมักที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว ชานอ้อย กาบข้าวโพด ชังข้าวโพด และรำข้าวสาลี เพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลส และไซแลน จากเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* *Fresenius* รหัส 4-45-1F ในการหมักแบบแห้ง ผลการทดลองพบว่า ฟางข้าวเป็นวัสดุที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์ดังกล่าว และนอกจากนั้นการเติมแหล่งไนโตรเจน คือ NH_4NO_3 ปริมาณ 0.2 กรัม และ Yeast Extract 0.001 กรัม ต่อฟางข้าว 5 กรัม มีผลทำให้เชื้อราชนิดนี้ สร้างเอนไซม์ย่อยสลายเซลลูโลสและไซแลนได้สูงสุด

พรเทพ ถนนแก้ว (2538) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ในสภาพการหมักแบบเหลวจากเชื้อรา *Acrophidophora* spp. ที่แยกได้จากดิน โดยพบว่าเชื้อราชนิดนี้สามารถสร้างเอนไซม์ได้สูงสุดเมื่อ pH เริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ pH 5.0 ที่อุณหภูมิบ่มเชื้อ 40 องศาเซลเซียส โดยใช้ *Microcrystalline Cellulose* เป็นแหล่งคาร์บอน และมี NH_4NO_3 เป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้การเติม Casein ที่ความเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์ ช่วยให้เชื้อราผลิตเอนไซม์ Filter Paper Activity (FPA) และ Carboxymethyl Cellulose (CMCase) เพิ่มขึ้น 1.26 และ 1.66 เท่าตามลำดับ และเมื่อทำการผลิตเอนไซม์ในถังหมัก (Fermentor) ขนาด 5 ลิตร พบว่าการผลิตเอนไซม์ในสภาวะที่ไม่มีการควบคุม pH เชื้อราสามารถผลิตเอนไซม์ ให้ค่า FPA และ CMCase สูงกว่าการผลิตในสภาวะที่มีการควบคุม pH ให้เท่ากับ pH 5.0 ประมาณ 1.03 และ 1.10 เท่าตามลำดับ

Nisizawa (1972) ได้ศึกษาการยับยั้งการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสในเชื้อรา *Trichoderma viride* โดยเปรียบเทียบกับสารที่มีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างเอนไซม์เซลลูเลส คือ กลูโคส Actinomycin-D และ Puromycin ซึ่งเป็นยาปฏิชีวนะที่ทำหน้าที่ในการยับยั้งการสร้างโปรตีนในระดับการ Transcription และ Translation ตามลำดับ พบว่ากลูโคสจะมีคุณสมบัติในการยับยั้งการสร้างเอนไซม์เซลลูเลสคล้ายกับการยับยั้งการสร้างโปรตีนโดย Puromycin นั่นคือ Catabolite Repression โดยกลูโคสจะไปลดอัตราการ Translation ของ Cellulose mRNA

Rao *et al.* (1983) ได้ศึกษาแหล่งของคาร์บอน และไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในสภาพการหมักแบบแห้งจากเชื้อรา *Pestalotiopsis Versicolour* โดยใช้กระดาษหนังสือพิมพ์ กากอ้อย ฟางข้าวและฟางข้าวที่ผ่านกระบวนการปรับสภาพด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ พบว่ากากอ้อยเป็นแหล่งคาร์บอนและ KNO_3 ที่ระดับความเข้มข้น 1 กรัม ต่อสับสเตรท 10 กรัม เป็นแหล่งไนโตรเจน ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้สูงสุด

Amadioha (1993) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* โดยการใช้วิธีการผลิตเอนไซม์ 2 แบบ คือ แบบ *In vitro* โดยเลี้ยงเชื้อราในอาหารเหลว และแบบ *In vivo* โดยใช้เชื้อราบนหัวมันฝรั่ง เรียกว่า *Rhizopus-infected Tissue of Potato Tubers* ผลการทดลองพบว่า เชื้อราดังกล่าวสามารถผลิตเอนไซม์ย่อยสลายคาร์บอกซิลเมทิลเซลลูโลส (CMCase) ได้ น้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing Sugar) 0.21 mg/mL และ 0.26 mg/mL ในการผลิตเอนไซม์ แบบ *In vivo* และ *In vitro* ตามลำดับ ภายในระยะเวลา 10 วัน นอกจากนี้ยังพบว่าเอนไซม์ที่ผลิตได้จากวิธีทั้งสองนี้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการทำงานที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสและ pH 6.0

Magnelli *et al.* (1996) ได้ศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *Saccobolus saccoboloides* ในสภาพการหมักแบบเหลวโดยใช้ 1 เปอร์เซ็นต์ Crystalline Cellulose เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียวแล้วทำการแปรผันปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส ผลการทดลองพบว่าเชื้อราสายพันธุ์ดังกล่าวสามารถสร้างเอนไซม์ได้สูงสุดในสภาพการเลี้ยงเชื้อแบบเขย่าที่ความเร็ว 125 รอบต่อนาที ที่ pH 6.0 และพบสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจน ซึ่งได้แก่ Casaminoacid Asparagine และ Urea ให้ผลผลิตเอนไซม์สูงสุด ตามลำดับ และสูงกว่าแหล่งไนโตรเจนที่อยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนทุกชนิด ซึ่งได้แก่ Ammonium Nitrate, Ammonium Sulphate, Ammonium Phosphate และ Potassium Nitrate ซึ่ง Magnelli *et al.* ได้อธิบายผลการทดลองว่าแหล่งไนโตรเจนที่อยู่ในรูปสารประกอบอินทรีย์ไนโตรเจนนั้น จะทำให้ pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงอย่างมากจนถึงระดับที่สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้ ทำให้การสร้างเอนไซม์ลดน้อยลงด้วยเช่นกัน

2.6.2 การย่อยสลายกระดาษและกล่องเครื่องดื่ม

นุศรา จักษุทิพย์ และ กิ่งกาญจน์ ม่วงไหมทอง (2547) ได้ศึกษาวิธีการผลิตแอลกอฮอล์จากกระดาษเหลือใช้ เนื่องจากกระดาษมีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบสำคัญในการผลิตเอทานอล แต่โดยปกติเซลลูโลสจะอยู่ร่วมกับส่วนประกอบอื่น ได้แก่ เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเป็นตัวขัดขวางการเกิดปฏิกิริยาของเซลลูโลสกับเอนไซม์ที่ใช้ในปฏิกิริยาการย่อยเซลลูโลส ดังนั้นจึงต้องทำการแยกส่วนประกอบดังกล่าวออกจากโครงสร้างของกระดาษโดยการใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ปรับสภาพของกระดาษก่อน แล้วจึงนำกระดาษที่ปรับสภาพแล้วไปทำการย่อยเซลลูโลสให้เป็นน้ำตาลโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส จากนั้นหมักน้ำตาลที่ได้ด้วยยีสต์เพื่อเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์ ผลการทดลองพบว่า กระดาษที่ไม่ผ่านการปรับสภาพด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ จะมีเซลลูโลสประกอบอยู่ 80.27 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 10.45 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 9.28 เปอร์เซ็นต์ ส่วนกระดาษที่ผ่านการปรับสภาพโดยการแช่กระดาษในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 3 M เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 90 นาที จะได้กระดาษที่มีเซลลูโลสประกอบอยู่ 98.17 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 0.71 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 1.12 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำกระดาษที่ได้จากการปรับสภาพไปผลิตเอทานอลด้วยวิธีการย่อยเซลลูโลสและวิธีการหมักแบบต่อเนื่องและหมักแบบต่อเนื่องโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* และ *Trichoderms harzianum* ในการย่อยเซลลูโลส และใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในการหมักแอลกอฮอล์ ซึ่งใช้กระดาษจำนวน 3 กรัม เอนไซม์เซลลูเลส จำนวน 75 มิลลิลิตร และยีสต์ จำนวน 10 มิลลิลิตร ในอาหารเสริมและสารละลายอะซิเตรตบัฟเฟอร์เข้มข้น 0.04 M ที่มี pH เท่ากับ 5.0 ที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 5 วัน พบว่าเอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อรา *Aspergillus fumigatus* และ *Trichoderms harzianum* สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์และใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* เปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์ไปเป็นเอทานอลได้เท่ากับ 0 และ 0.0443 เปอร์เซ็นต์ v/v ตามลำดับ สำหรับวิธีการย่อยสลาย ส่วนวิธีการย่อยเซลลูโลสและหมักแบบต่อเนื่องจะได้ปริมาณเอทานอลเท่ากับ 0 และ 0.2583 เปอร์เซ็นต์ v/v ตามลำดับ

จรวย ธงไชย (2551) ได้สนใจในการผลิตเอทานอลจากเศษกระดาษกล่องนม โดยการนำเศษกระดาษกล่องนมไปรีไซเคิล ซึ่งต้องผ่านกระบวนการต่างๆ หลายขั้นตอน เช่น กระจายเยื่อ การแยกหมึกพิมพ์ และการฟอกเยื่อเพื่อให้ได้เอทานอลใหม่ฟอกขาวหรือเออร์รีไซเคิลฟอกขาว สำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเป็นกระดาษพิมพ์และเขียน จากการศึกษาวิจัยพบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเออร์รีไซเคิลที่ได้หลังผ่านการแยกหมึกแล้วที่ระดับการใช้ความเข้มข้นของน้ำเยื่อที่ 10 เปอร์เซ็นต์ โดยมีการเติมปริมาณโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ และใช้ปริมาณไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเศษกระดาษกล่องนมอบแห้ง จะให้ผลผลิตเออร์รีไซเคิลที่สูงสุดเท่ากับ 50.9 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหนักเศษกระดาษกล่องนมอบแห้ง เออร์รีไซเคิลที่ได้พื้นที่จุดตกปรกมี

ค่าเท่ากับ $10.8 \text{ mm}^2/\text{m}^2$ มีค่า ERIC เท่ากับ 39.1 ppm และมีความขาวสว่าง 30.1 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเมื่อนำเยื่อรีไซเคิลไปฟอกขาว แบบ Op D Ep P จะให้เยื่อรีไซเคิลฟอกขาวที่มีความสะอาดโดยมีค่าพื้นที่จุดสกปรกมีค่าเท่ากับ $5.3 \text{ mm}^2/\text{m}^2$ มีค่า ERIC เท่ากับ 10.8 ppm ความขาวสว่าง 80.6 เปอร์เซ็นต์ และเยื่อรีไซเคิลที่ได้มีค่าความยาวของเส้นใยในช่วง 2.3–2.7 mm ซึ่งจัดเป็นเยื่อใยขาวสรุปได้ว่าสามารถผลิตเยื่อรีไซเคิลฟอกขาวสำหรับใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตกระดาษพิมพ์และเขียนได้

กลยุทธ์ กลาง (2551) จัดทำโครงการหลังคาเขียวเพื่อมูลนิธิอาสาเพื่อนพึ่ง (ภาฯ) ยามยาก ได้ศึกษาในการนำวัสดุเหลือใช้ไปใช้ประโยชน์เพื่อช่วยเหลือผู้ขาดแคลนที่ประสบปัญหาทางด้านที่อยู่อาศัย สร้างความยั่งยืนในการจัดการสิ่งแวดล้อมที่เอื้อประโยชน์ให้กับทุกคนในสังคม ขั้นตอนการผลิตหลังคาเขียวในตอนแรกจะมีการแยกเยื่อกระดาษออกไป หลังจากนั้นเศษพลาสติกและพอยล์ที่เหลือจะถูกนำมาตัดย่อยเป็นชิ้นเล็กๆ ก่อนที่จะนำมาโรยบนแผ่นเหล็ก เพื่อขึ้นรูปแผ่นตามความหนาที่ต้องการ นำเข้าเครื่องอัดร้อนที่อุณหภูมิประมาณ 160 องศาเซลเซียสขึ้นไป เพื่อหลอมพลาสติกที่ปนอยู่แล้วจึงนำไปเข้าเครื่องอัดเย็น นำมาทับลอนเหล็กให้เป็นรูปทรงเดียวกับกระเบื้องหลังคาและตัดขอบออก โดยกล่องเครื่องตีที่ใช้แล้วประมาณ 2,000 กล่อง จะสามารถนำไปผลิตหลังคาขนาด 0.90×2.40 เมตร ได้ 1 แผ่น คุณสมบัติที่โดดเด่น น้ำหนักเบาและทนทานกว่ากระเบื้องหลังคาทั่วไปผลิตจากกล่องเครื่องตีที่บริโภคแล้วโดยไม่ต้องมีการใช้สารเคมีประกอบในกระบวนการผลิต ทนไฟไม่แตกง่าย ไม่ต้องใช้โครงสร้างหนักเนื่องจากไม่ซึมซับน้ำ ไม่ดูดซับแสงแดดหรือความร้อน ช่วยประหยัดพลังงาน ปลอดภัยจากเชื้อราและซ่อมแซมง่ายด้วยการใช้ความร้อนเชื่อมประสาน



บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 รูปแบบการศึกษา

การศึกษาวิจัยเรื่องการสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยกระบวนการทางชีวภาพเป็นวิธีการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง เพื่อศึกษาและพัฒนากระบวนการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ต้องผ่านการคัดเลือกเพื่อให้มีประสิทธิภาพมากที่สุด ขณะที่ในการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มให้ได้กระดาษแยกออกจากกัน และทำการคัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ออก เพื่อนำมาใช้ประโยชน์ต่อไป

3.2 วัตถุประสงค์ สารเคมี อุปกรณ์และเครื่องมือ

3.2.1 วัตถุประสงค์

3.2.1.1 กระดาษกรอง (1 แผ่น มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 23 เซนติเมตร และน้ำหนัก 1.5881 กรัม แสดงในภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 ตัวอย่างกระดาษกรองเบอร์ 1 ที่ใช้เป็นตัวแทนกระดาษ

3.2.1.2 กล่องเครื่องดื่ม (1 กล่อง มีปริมาตร 230 มิลลิลิตร และน้ำหนัก 8.0323 กรัม แสดงในภาพที่ 3.2)



ภาพที่ 3.2 ตัวอย่างกล่องเครื่องต้มที่เหลือทิ้ง

3.2.2 สารเคมี

3.2.2.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)

3.2.2.2 น้ำตาลกลูโคส

3.2.2.3 สารละลายเบเนดิกซ์

3.2.3 อุปกรณ์

3.2.3.1 ขวดหมักขนาดเล็ก ขนาด 600 มิลลิลิตร จำนวน 12 ขวด

3.2.3.2 ถังหมักขนาดกลาง ขนาด 4 ลิตร จำนวน 3 ถัง

3.2.3.3 ถังหมักขนาดใหญ่ ขนาด 50 ลิตร จำนวน 2 ถัง

3.2.3.4 ปีกเกอร์ (Beaker)

3.2.3.5 หลอดทดลอง

3.2.3.6 ที่ตั้งหลอดทดลอง

3.2.3.7 ซ้อนตักสาร

3.2.3.8 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.3.9 ที่เขี่ยเชื้อ

3.2.3.10 แผ่นสไลด์

3.2.3.11 กระจกปิดสไลด์

3.2.4 เครื่องมือ

3.2.4.1 เครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง

3.2.4.2 เตาไฟฟ้าสำหรับให้ความร้อน (Hot Plate)

3.2.4.3 ไมโครปิเปต

3.2.4.4 กล้องจุลทรรศน์

3.2.4.5 เครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)

3.2.4.6 หม้อนิ่งไอน้ำแรงดันสูง

3.2.5 จุลินทรีย์

3.2.5.1 เชื้อราขาว (White Rot fungus)

3.2.5.2 เชื้อราน้ำตาล (*Aspergillus niger*)

3.2.5.3 เชื้อแบคทีเรียที่หมักจากขุ่น* (*Cellulomonas* spp.)

3.2.5.4 เชื้อแบคทีเรียที่หมักจากทุเรียน* (*Bacillus subtilis*)

(*เชื้อแบคทีเรียมาจากกระบวนการหมักเปลือกทุเรียนและขุ่นในงานวิจัยของ ดร.ดวงฤทัย นิคมรัฐ)

3.3 แนวทางการวิจัย

3.3.1 การหมักขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ

ในการหมักขนาดเล็กมีจุดประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลสจากกระดาษกรอง แล้วนำมากระตุ้นเพื่อใช้ในถังหมักขนาดกลางต่อไป

3.3.1.1 เตรียมอุปกรณ์สำหรับการหมักขนาดเล็ก โดยใช้ขวดปริมาตร 600 มิลลิลิตร หมักกล่องเครื่องดื่ม 14 กรัมต่อน้ำ 300 มิลลิลิตร (ขนาดของกระดาษกรองและกล่องเครื่องดื่มที่ใช้ในการหมักถูกตัดให้มีขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 0.2 x 1 เซนติเมตร) แสดงตัวอย่างในภาพที่ 3.3 โดย ขบวนการหมักกระดาษกรองได้ถูกแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง แสดงได้ดังภาพที่ 3.4 ตามลำดับ

ชุดที่ 1 คือ การย่อยเซลลูโลสจากตัวอย่างกระดาษกรอง

ชุดที่ 2 คือ การย่อยเซลลูโลสจากตัวอย่างกล่องเครื่องดื่ม



ภาพที่ 3.3 ตัวอย่างกระดาษกรอง (ก) และกล่องเครื่องดื่ม (ข) ที่ใช้ในการทดลองขนาดเล็ก (กว้าง x ยาว เท่ากับ 0.2 x 1 เซนติเมตร)



ภาพที่ 3.4 การหมักกระดาศกรอง (ก) และกล่องเครื่องต้ม (ข) ในขวดปริมาตร 600 มิลลิลิตร
ตัวอย่างหมักใช้ปริมาณ 14 กรัม ในน้ำ 300 มิลลิลิตร

3.3.1.2 การย่อยเซลลูโลสจากกระดาศกรองและกล่องเครื่องต้มในขวดหมักขนาดเล็ก (600 มิลลิลิตร) โดยเติมเชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ 1 เปอร์เซ็นต์ (v/v) ในอาหารเชื้อ PDB (อาหารเฉพาะสำหรับเลี้ยงเชื้อรา) และ NB (อาหารเฉพาะสำหรับเชื้อแบคทีเรีย) ดังแสดงในภาพที่ 3.5 และ 3.6 ต่อไปนี้

ขวดที่ 1 ย่อยสลายด้วยราขาวปริมาณ 10 log เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ขวดที่ 2 ย่อยสลายด้วยราน้ำตาลในปริมาณ 10 log เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ที่ผ่านการเลี้ยงเซลล์มา 1 โคโลนี)

ขวดที่ 3 ย่อยสลายด้วย Bacteria Mixtures ที่คัดแยกได้จากขบวนการหมักเปลือกขนุน (ที่มีศักยภาพในการย่อยเซลลูโลส)

ขวดที่ 4 ย่อยสลายด้วย Bacteria Mixtures ที่คัดแยกได้จากขบวนการหมักเปลือกทุเรียน (ที่มีศักยภาพในการย่อยเซลลูโลส)

ขวดที่ 5 ย่อยสลายด้วยด่าง (0.5 N NaOH)

ขวดที่ 6 ย่อยสลายด้วยน้ำ (Sterile Distilled Water)

3.3.1.3 ทำการหมักกระดาศกรองและกล่องเครื่องต้มแบบไม่ใช้ออกซิเจนเป็นเวลาอย่างน้อย 30 วัน โดยทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 2 วันในระหว่างการหมัก มาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ผลิตขึ้นด้วยวิธี Bradford

3.3.1.4 ทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์จากขวดที่มีการย่อยกล่องเครื่องต้มดีที่สุดจำนวน 2 กลุ่มตัวอย่าง เพื่อใช้ในการหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการต่อไป



ภาพที่ 3.5 สภาพกระดาศกรองที่ผ่านการหมักขนาดเล็กเป็นเวลานาน 3 วันด้วย (ก) ราขาว (ข) ราน้ำตาล (ค) Bacteria Mixtures ขนุน (ง) Bacteria Mixtures ทุเรียน (จ) โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ (ฉ) น้ำ ตามลำดับ



ภาพที่ 3.6 สภาพกล่องเครื่องต้มเป็นเวลานาน 3 วันที่ผ่านการหมักขนาดเล็กด้วย (ก) ราขาว (ข) ราน้ำตาล (ค) Bacteria Mixtures ขนุน (ง) Bacteria Mixtures ทุเรียน (จ) โซเดียมไฮดรอกไซด์ และ (ฉ) น้ำ ตามลำดับ

3.3.2 การหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการ

ในการหมักขนาดกลาง เป็นการศึกษและพัฒนากระบวนการหมักเพื่อให้ได้กระดาศจากกล่องเครื่องต้มปริมาณสูงสุด โดยต้องสามารถตัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ออกจากกระดาศได้ เพื่อไปใช้ประโยชน์ต่อไป โดยทั้งพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์สามารถนำไปรีไซเคิลใช้ใหม่ได้อีก ในการหมักขนาดกลางด้วยขวดขนาด 4 ลิตร มีน้ำหมัก (อาหารเลี้ยงเชื้อ+เชื้อจุลินทรีย์) ในปริมาตร 3 ลิตร จำนวน 3 ถัง โดยถังที่ 1 และ 2 ใส่จุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการ

ย่อยดี คือ Bacteria Mixtures ทูเรเนียน และรำน้ำตาล ตามลำดับ ซึ่งมาจากขั้นตอนการหมักขนาดเล็กที่มีขั้นตอนการทำดังนี้

3.3.2.1 ตัดกล่องเครื่องดื่มที่เหลือทิ้ง (ขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 0.4×2 เซนติเมตร) แสดงในภาพที่ 3.7

3.2.2.2 ใส่กล่องเครื่องดื่มที่เตรียมไว้ปริมาณ 140 กรัมต่อน้ำ 3 ลิตรในถังหมักขนาด 4 ลิตร จำนวน 3 ถัง

3.2.2.3 เติมเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยกล่องเครื่องดื่มได้ดี 2 ชนิดจากขั้นตอนขนาดเล็กลงในถังขนาดกลางแต่ละถัง ในถังตัวควบคุมใส่ด่าง (0.5 N NaOH) แทนการใส่เชื้อจุลินทรีย์ แสดงในภาพที่ 3.8

3.2.2.4 ทำการหมักกล่องเครื่องดื่มแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยการปิดฝาถังแน่นใช้พลาสติกคลุม เป็นเวลา 30 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วันในระหว่างที่ทำกรหมัก วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Bradford

3.2.2.5 เมื่อสิ้นสุดการหมัก 30 ทำการตัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ออกจากกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยการใช้ตะแกรงกรอง

3.2.2.6 ชั่งน้ำหนักขององค์ประกอบที่คัดแยกออกมาได้ แล้วคำนวณหาร้อยละการได้กลับมาของพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ในกระบวนการย่อยเซลลูโลสเมื่อเทียบกับกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์ที่อยู่ในกล่องเครื่องดื่ม



ภาพที่ 3.7 ตัวอย่างกล่องเครื่องดื่มที่ใช้ในการทดลองขนาดกลาง (กว้าง x ยาว เท่ากับ 0.4×2 เซนติเมตร)



ภาพที่ 3.8 สภาพการย่อยขนาดกลางของกล่องเครื่องดื่มเป็นเวลานาน 1 วัน โดยใช้เชื้อที่ผ่านการทดสอบในการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มได้ดีในถังหมัก คือ (ก) Bacteria Mixtures ทูเรียน (ข) ราน้ำตาล และ (ค) ตัวควบคุมที่ย่อยด้วยต่าง (0.5 N NaOH)

3.3.3 การหมักขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการ

ในการหมักขนาดใหญ่เป็นการศึกษาและพัฒนากระบวนการหมักเพื่อให้ได้กระดาษจากกล่องเครื่องดื่มปริมาณสูงสุด สามารถคัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ออกจากกระดาษเพื่อให้นำไปใช้ประโยชน์รีไซเคิลใหม่ได้อีก ในการหมักขนาดกลางของถัง 50 ลิตร มีน้ำหมัก (อาหารเลี้ยงเชื้อ+เชื้อจุลินทรีย์) ในปริมาตร 30 ลิตร จำนวน 2 ถัง โดยถังที่ 1 และ 2 ใส่จุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์ที่พบว่ามีประสิทธิภาพในการย่อยดี (ในที่นี้คือ Bacteria Mixtures ทูเรียน และราน้ำตาล ซึ่งมาจากขั้นตอนการหมักขนาดเล็ก) มีขั้นตอนการทำดังนี้

3.3.3.1 ถังหมักขนาด 50 ลิตร จำนวน 2 ถัง ใส่กล่องเครื่องดื่มที่เตรียมไว้โดยขนาดของกล่องเครื่องดื่มที่ใช้ในการหมักขนาดใหญ่ คือ กล่องเครื่องดื่มที่ละขนาด แสดงได้ดังภาพที่ 3.9 โดยหมักกล่องเครื่องดื่ม 1,400 กรัมต่อน้ำ 30 ลิตร

3.3.3.2 เติมน้ำเชื้อจุลินทรีย์ที่ย่อยกล่องเครื่องดื่มได้ดี 2 ชนิดลงในถังขนาดใหญ่แต่ละถัง

3.3.3.3 ทำการหมักกล่องเครื่องดื่มแบบไม่ใช้ออกซิเจนด้วยการปิดฝาถังแน่นใช้พลาสติกคลุม แสดงในภาพที่ 3.10 เป็นเวลา 30 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน ในระหว่างที่ทำการหมัก วิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Bradford

ถังที่ 1 การย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อ Bacteria Mixtures ทูเรียน

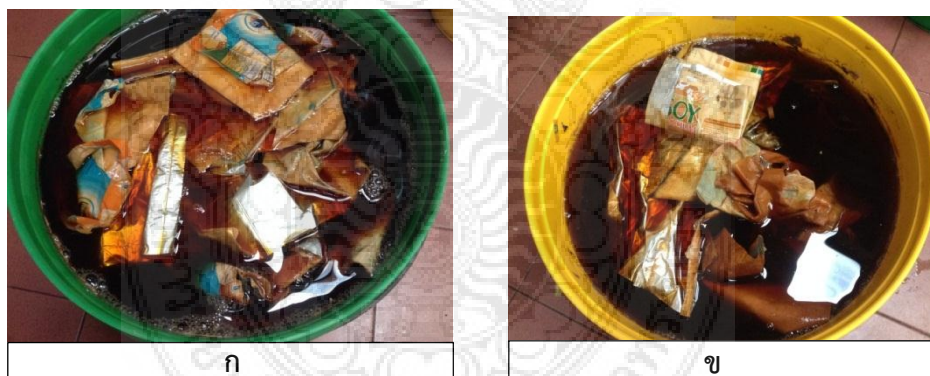
ถังที่ 2 การย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อราน้ำตาล

3.2.2.4 เมื่อสิ้นสุดการหมัก 30 ทำการคัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ออกจากกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยการใช้ตะแกรงกรอง

3.2.2.5 ชั่งน้ำหนักขององค์ประกอบที่คัดแยกออกมาได้ แล้วคำนวณหาร้อยละการได้กลับมาของพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ในกระบวนการย่อยเซลลูโลสเมื่อเทียบกับกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมพอยล์ที่อยู่ในกล่องเครื่องดื่ม

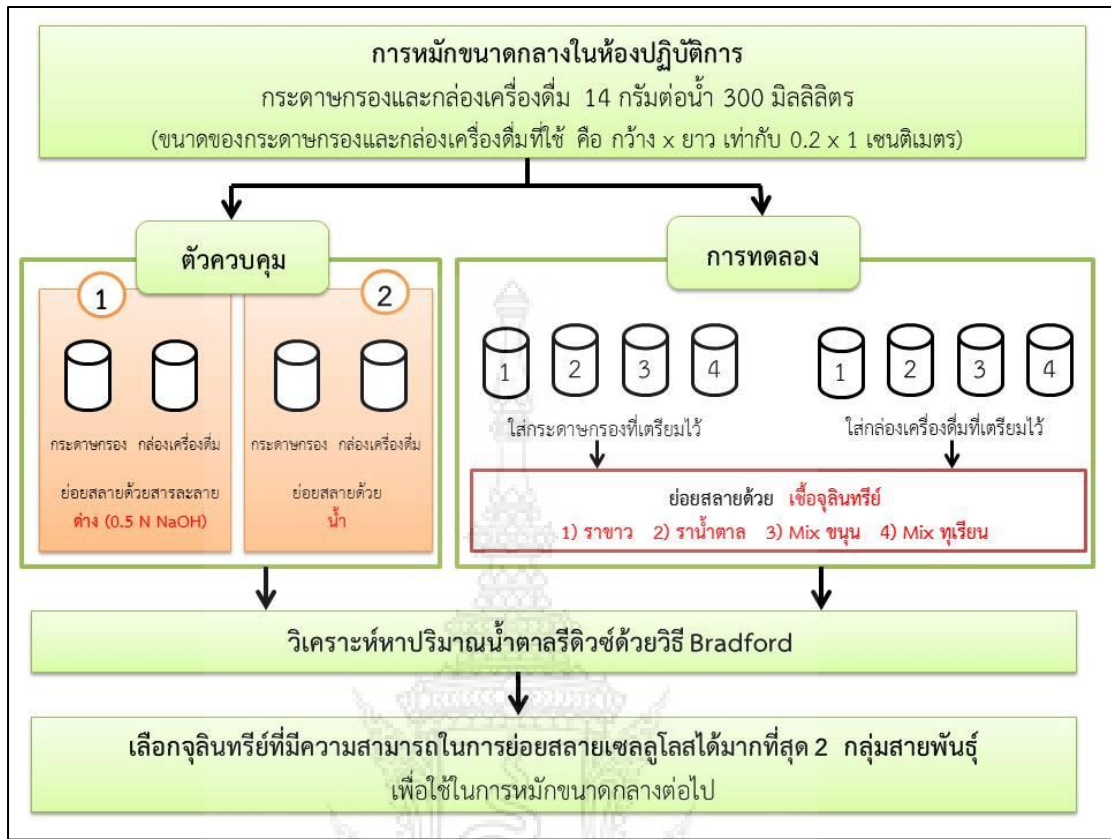


ภาพที่ 3.9 ตัวอย่างกล่องเครื่องดื่มที่คละขนาด ถูกตัดออกเป็นแผ่นใช้ในการทดลองขนาดใหญ่

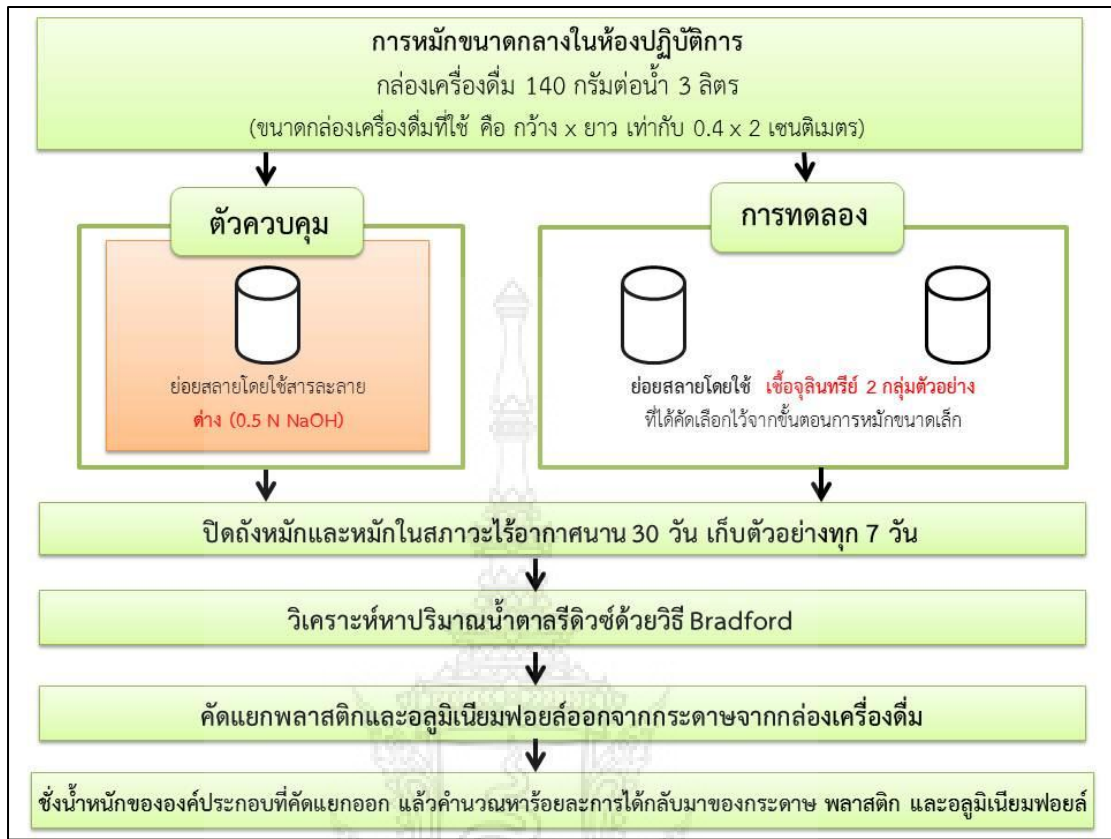


ภาพที่ 3.10 สภาพการหมักกล่องเครื่องดื่มเป็นเวลานาน 10 วัน ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ที่คัดเลือกไว้ คือ (ก) Bacteria Mixture ทุเรียน และ (ข) ราน้ำตาล

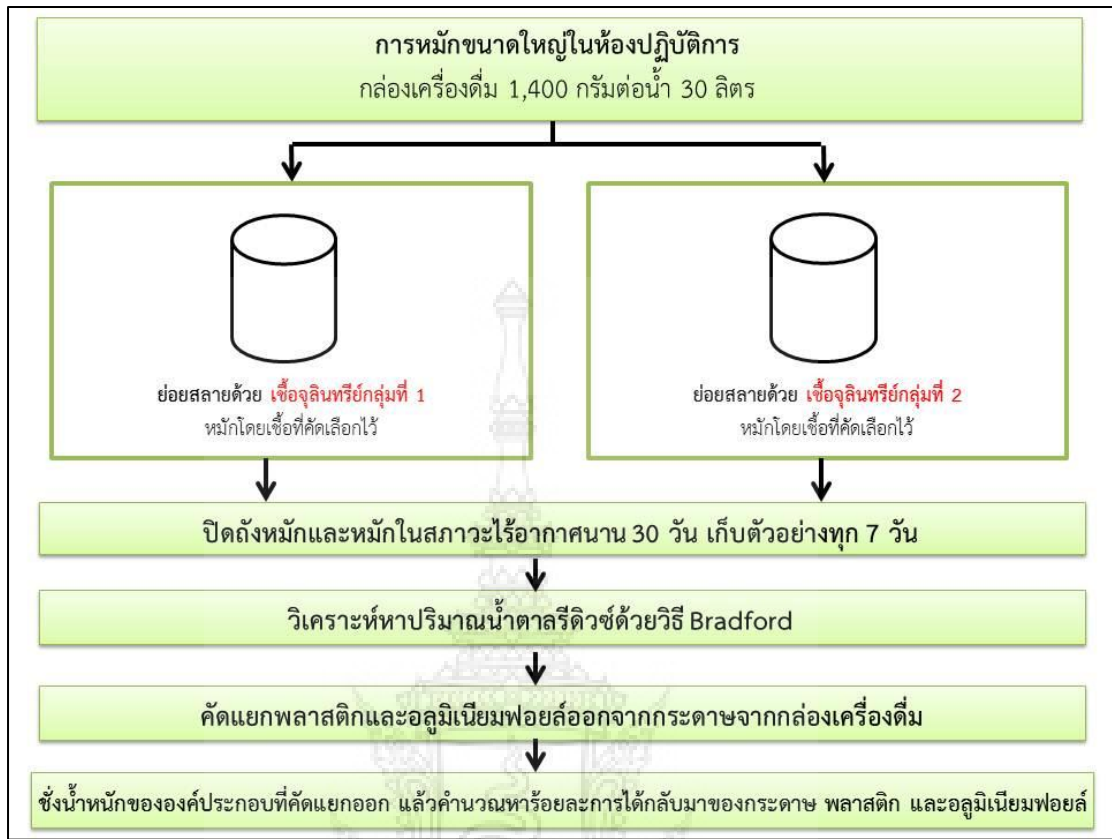
จากขั้นตอนการดำเนินการทั้งหมดในงานวิจัยการย่อยและคัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์นี้ สามารถแสดงในรูปแบบภาพของขั้นตอน ประกอบด้วยขั้นตอนของการหมักขนาดเล็กในห้องปฏิบัติการ ขั้นตอนของการหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการ และขั้นตอนของการหมักขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการ แสดงดังในภาพที่ 3.11-3.13



ภาพที่ 3.11 แผนภาพการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดเล็กลงในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยกระดาษกรองและกล่องเครื่องต้มที่ถูกตัดให้มีขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 0.2 x 1 เซนติเมตร



ภาพที่ 3.12 แผนภาพการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยกล่องเครื่องต้มที่ถูกตัดให้มีขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 0.4 x 2 เซนติเมตร



ภาพที่ 3.13 แผนภาพการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการเพื่อทำการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยกล่องเครื่องต้ม

บทที่ 4

ผลการวิเคราะห์ข้อมูลและอภิปรายผล

ผลการศึกษาวิจัยเรื่องการสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยกระบวนการทางชีวภาพเป็นวิธีการศึกษาวิจัยเชิงทดลอง เพื่อศึกษากระบวนการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มได้ดี และทำการคัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์เพื่อนำมาหลอมและสามารถนำมาใช้ประโยชน์ที่มีมูลค่า โดยสรุปผลการศึกษาได้ดังนี้

4.1 กระบวนการย่อยขนาดเล็ก

4.1.1 กระบวนการย่อยกระดาษกรอง

4.1.2 กระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่ม

4.2 การพัฒนากระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่มขนาดกลาง

4.2.1 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม

4.2.2 ประสิทธิภาพในการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์

4.3 การพัฒนากระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่มขนาดใหญ่

4.3.1 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม

4.3.2 ประสิทธิภาพในการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์

4.4 ประสิทธิภาพขบวนการแยกกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมพอยล์

4.1 กระบวนการย่อยขนาดเล็ก

ในการหมักขนาดเล็กมีจุดประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลล์ulos จากกระดาษกรองและกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม แล้วนำมากระตุ้นเพื่อใช้ในถังหมักขนาดกลางต่อไป

4.1.1 กระบวนการย่อยกระดาษกรอง

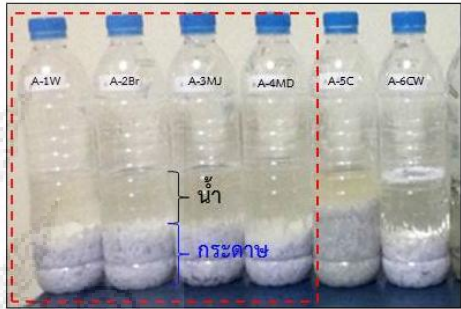
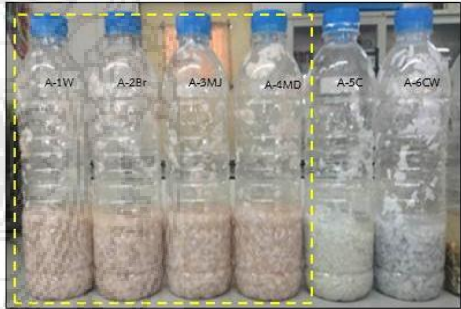

การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลล์ulos จากกระดาษกรองในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมของการย่อย ดังแสดงในตารางที่ 4.1-4.3 โดยหมักกระดาษกรอง

14 กรัมต่อน้ำ 300 มิลลิลิตร ในขวดปริมาตร 600 มิลลิลิตร ขนาดของกระดาษกรองถูกตัดให้มีขนาด กว้าง x ยาว เท่ากับ 0.2×1 เซนติเมตร


4.1.1.1 ลักษณะการย่อยทางกายภาพ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.1-4.3 พบว่าการย่อยสลายเซลลูโลส (จากกระดาษ) ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในระยะเวลาการหมักที่ต่างต่างกัน กระดาษจะเกิดการย่อย เปื่อย ตกตะกอนแล้วจมตัวลงสู่ก้นขวด และแยกชั้นระหว่างกระดาษและน้ำ สามารถมองเห็นได้ชัดเจน

ตารางที่ 4.1 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรอง	
	เชื้อจุลินทรีย์	ภาพแสดง
1-10	กระดาษเกิดการย่อย เปื่อย เกิดการตกตะกอนแล้วจมตัวลงสู่ก้นขวด กระดาษและน้ำแยกชั้น สามารถมองเห็นได้อย่างชัดเจน	
11-20	เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปเรื่อยๆ กระดาษย่อย เปื่อย มีส่วนที่ย่อยกลายเป็นเนื้อเดียวกันมากขึ้น	
21-30	กระดาษเปื่อย ยุ่ยจนกลายเป็นเนื้อเดียวกันทั้งหมด	

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรองด้วยต่าง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรอง	
	เชื้อจุลินทรีย์	ภาพแสดง
1-10	ในวันแรกเมื่อใส่กระดาษลงไป กระดาษเกิดการยุบจนไม่เป็นแผ่น แล้วกลายเป็นเนื้อเดียวกัน เมื่อ ระยะเวลาผ่านไปเรื่อยๆ มีแก๊ส เกิดขึ้นภายในขวดจึงทำให้ขวดบวม	
11-20	กระดาษเกิดการยุบ จนกลายเป็นเนื้อ เดียวกัน	
21-30	กระดาษยุบจนไม่เป็นแผ่น น้ำเกิด การขุ่น	

ตารางที่ 4.3 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรองด้วยน้ำ

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรอง	
	เชื้อจุลินทรีย์	ภาพแสดง
1-10	กระดาษ ดูดซับน้ำอย่างช้าๆ บางส่วนของกระดาษ ตกตะกอนลงสู่ ก้นขวดภาชนะอย่างช้าๆ ลักษณะ กระดาษยังเป็นแผ่นคงเดิม และแยก ชั้นตะกอนอย่างเห็นได้ชัดระหว่าง กระดาษกับน้ำ แต่ยังคงมีกระดาษ บางส่วนเท่านั้นที่ยังคงลอยอยู่บนผิว น้ำ	
11-20	เมื่อระยะเวลาผ่านไป กระดาษดูด ซับน้ำได้ดีขึ้น ยังคงแยกชั้นตะกอน ระหว่างน้ำกับกระดาษอย่างเห็นได้ ชัด	
21-30	กระดาษเริ่มยุ่ย ดูดซับน้ำจนอึดตัว แต่ยังคงแยกชั้นกันอยู่คงเดิม	

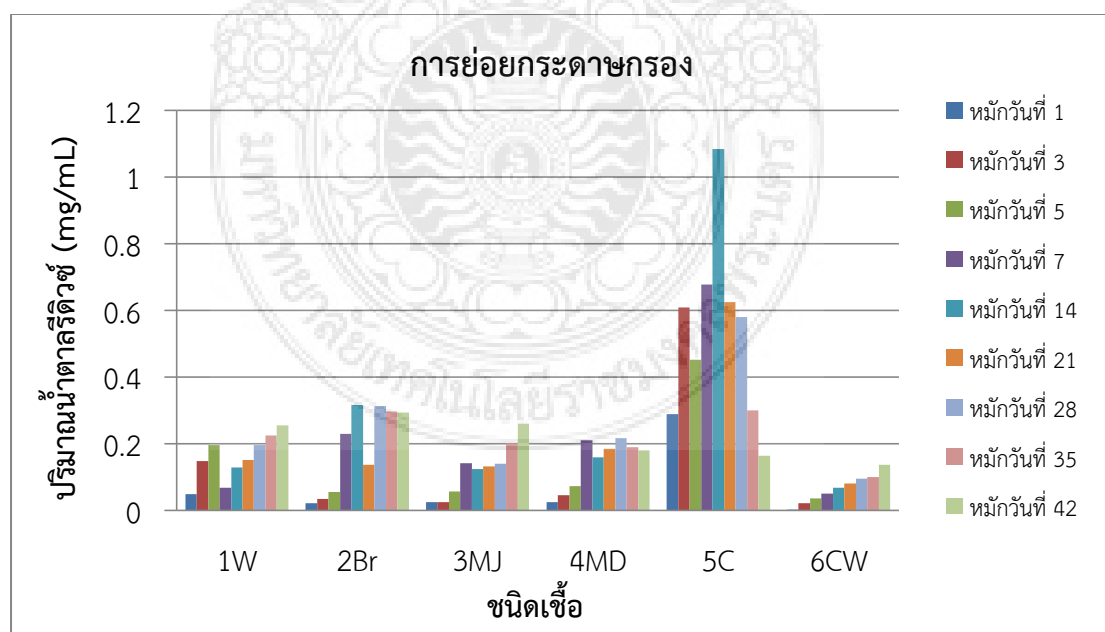
4.1.1.2 ลักษณะการย่อยทางเคมี-ทางชีวภาพ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.4 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลส (จากกระดาษ) ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในระยะเวลาการหมักที่แตกต่างกัน ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเริ่มต้นได้ดีในระยะเวลาการหมัก 7 วัน และเริ่มมีการพัฒนาการย่อยดีขึ้นเรื่อยๆ แสดงในภาพที่ 4.1

จากการย่อยสลายเซลลูโลสจะเห็นได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยได้ดีที่สุดคือเชื้อรา น้ำตาล (Br) รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักขุ่น (MJ) เชื้อราขาว (W) และแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) ตามลำดับ

ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)					
	เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อย				ตัวควบคุม	
	ราชว (W)	ราน้ำตาล (Br)	น้ำหมัก ขนุน (MJ)	น้ำหมัก ทุเรียน (MD)	ต่าง (C)	น้ำ (CW)
1	8.967	4.026	4.575	4.758	52.887	0.549
3	27.267	6.405	4.758	8.601	111.447	4.026
5	35.868	10.248	10.431	13.359	82.716	6.771
7	12.627	42.273	25.986	38.613	124.074	9.333
14	23.79	58.011	22.875	29.28	198.372	9.333
21	27.816	25.254	24.339	33.855	114.375	14.823
28	36.051	57.462	25.803	339.711	106.323	17.568
35	41.358	54.351	36.783	34.77	55.083	18.483
42	46.848	53.802	47.763	33.123	30.012	25.071



ภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการย่อยสลายเซลลูโลสจากกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์ (W Br MJ MD) ที่แตกต่างกัน ต่าง (C) และน้ำ (CW)

4.1.2 กระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่ม

การคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายกระดาษกล่องเครื่องดื่มในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมของการย่อย ดังแสดงในตารางที่ 4.5-4.7 โดยหมักกล่องเครื่องดื่ม 14 กรัมต่อน้ำ 300 มิลลิลิตร ในขวดปริมาตร 600 มิลลิลิตร ขนาดของกล่องเครื่องดื่มถูกตัดให้มีขนาดกว้าง x ยาว เท่ากับ 0.2 x 1 เซนติเมตร

4.1.2.1 ลักษณะการย่อยทางกายภาพ

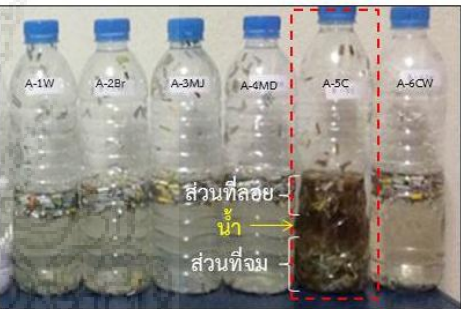


จากผลการทดลองในตารางที่ 4.5-4.7 พบว่าการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในระยะเวลาการหมักที่แตกต่างกัน กล่องเครื่องดื่มจะละลายตัวอยู่บนผิวน้ำ เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปเรื่อยๆ กล่องเครื่องดื่มจะดูดซับน้ำ เกิดการยุบ เปื่อย จนตกลงสู่ก้นขวด ภาชนะอย่างซ้ำๆ จนแยกองค์ประกอบระหว่างกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์ออกจากกัน

ตารางที่ 4.5 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรอง	
	เชื้อจุลินทรีย์	ภาพแสดง
1-10	กล่องเครื่องดื่มจะลอยตัวอยู่บนผิวน้ำ เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปเรื่อยๆ กล่องเครื่องดื่มจะดูดซับน้ำ เกิดการยุบ เปื่อย จนตกลงสู่ก้นขวดภาชนะอย่างซ้ำๆ	
11-20	เมื่อระยะเวลาผ่านไปเรื่อยๆ กล่องเครื่องดื่มถูกย่อยจนแยกองค์ประกอบระหว่างกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์	

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรอง	
	เชื้อจุลินทรีย์	ภาพแสดง
21-30	กล่องเครื่องต้มถูกจุลินทรีย์ย่อยจนจมลงสู่ก้นขวด รวมทั้งเกิดการแยกตัวระหว่างกระดาษที่เปื่อยยุ่ย พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์	

ตารางที่ 4.6 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกล่องเครื่องต้มด้วยต่าง

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรอง	
	เชื้อจุลินทรีย์	ภาพแสดง
1-10	ในวันแรกเมื่อใส่กล่องเครื่องต้มลงไปเกิดการยุบจนไม่เป็นแผ่น กลายเป็นเนื้อเดียวกัน เกิดการแยกส่วนประกอบต่างๆ ออกจากกัน ทั้งกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์ น้ำเกิดการขุ่นอย่างเห็นได้ชัด จึงทำให้มีสีน้ำตาล เมื่อระยะเวลาผ่านไปเรื่อยๆ มีแก๊สเกิดขึ้นภายในขวด	
11-20	เกิดการแยกส่วนประกอบต่างๆ ออกจากกัน ทั้งกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์มากยิ่งขึ้น	
21-30	เกิดการแยกส่วนประกอบต่างๆ ออกจากกัน ทั้งกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์ จนกระดาษถูกย่อยจนกลายเป็นขุย	

ตารางที่ 4.7 ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกล่องเครื่องต้มด้วยน้ำ

ระยะเวลา (วัน)	ลักษณะทางกายภาพของการย่อยกระดาษกรอง	
	เชื้อจุลินทรีย์	ภาพแสดง
1-10	กล่องเครื่องต้มจะค่อยๆ ดูดซับน้ำจึงทำให้กล่องเครื่องต้มค่อยๆ ตกตะกอนลงสู่ก้นขวดภาชนะอย่างช้าๆ ลักษณะกล่องเครื่องต้มยังเป็นแผ่นคงเดิม ไม่มีการแยกส่วนประกอบใดๆ ทั้งสิ้น และแยกชั้นตะกอนอย่างเห็นได้ชัดระหว่างกล่องเครื่องต้มกับน้ำ	
11-20	กล่องเครื่องต้มจะค่อยๆ ดูดซับน้ำจึงทำให้กล่องเครื่องต้มค่อยๆ ตกตะกอนลงสู่ก้นขวด ลักษณะกล่องเครื่องต้มยังเป็นแผ่นคงเดิม และแยกชั้นตะกอนอย่างเห็นได้ชัด	
21-30	กล่องเครื่องต้มดูดซับน้ำจนอิมตัว แยกชั้นระหว่างกล่องเครื่องต้มที่จมลงสู่ก้นขวดและน้ำ	

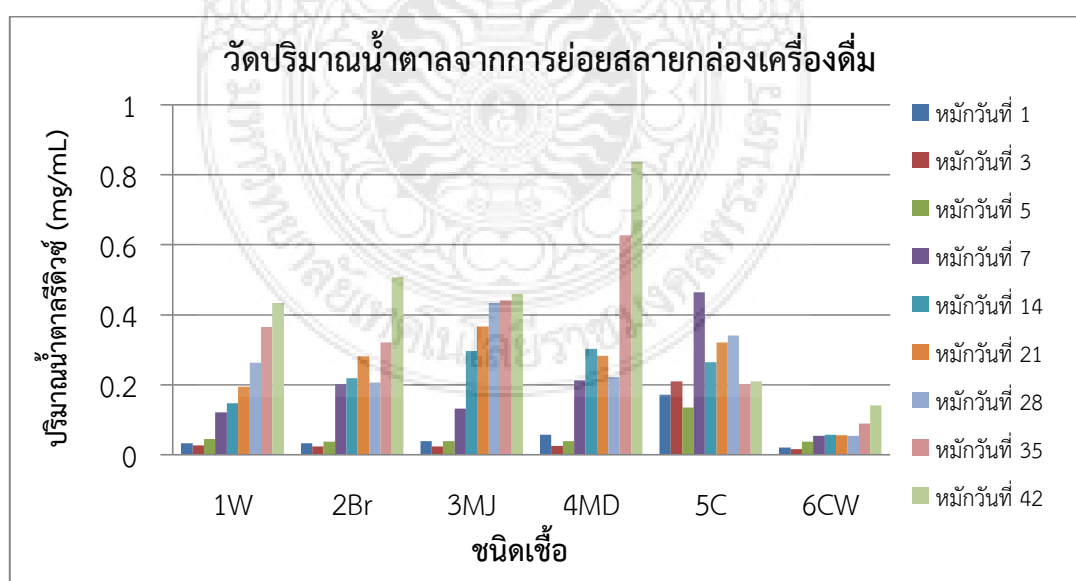
4.1.2.2 ลักษณะการย่อยทางเคมี-ทางชีวภาพ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.8 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องต้มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเริ่มต้นได้ดีในระยะเวลาการหมัก 14 วัน และเริ่มมีการพัฒนาการย่อยดีขึ้นเรื่อยๆ แสดงในภาพที่ 4.2

จากการย่อยสลายกล่องเครื่องต้มจะเห็นได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยได้ดีที่สุดคือเชื้อแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) รองลงมาคือ เชื้อราน้ำตาล (Br) เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักขนุน (MJ) และเชื้อราขาว (W) ตามลำดับ

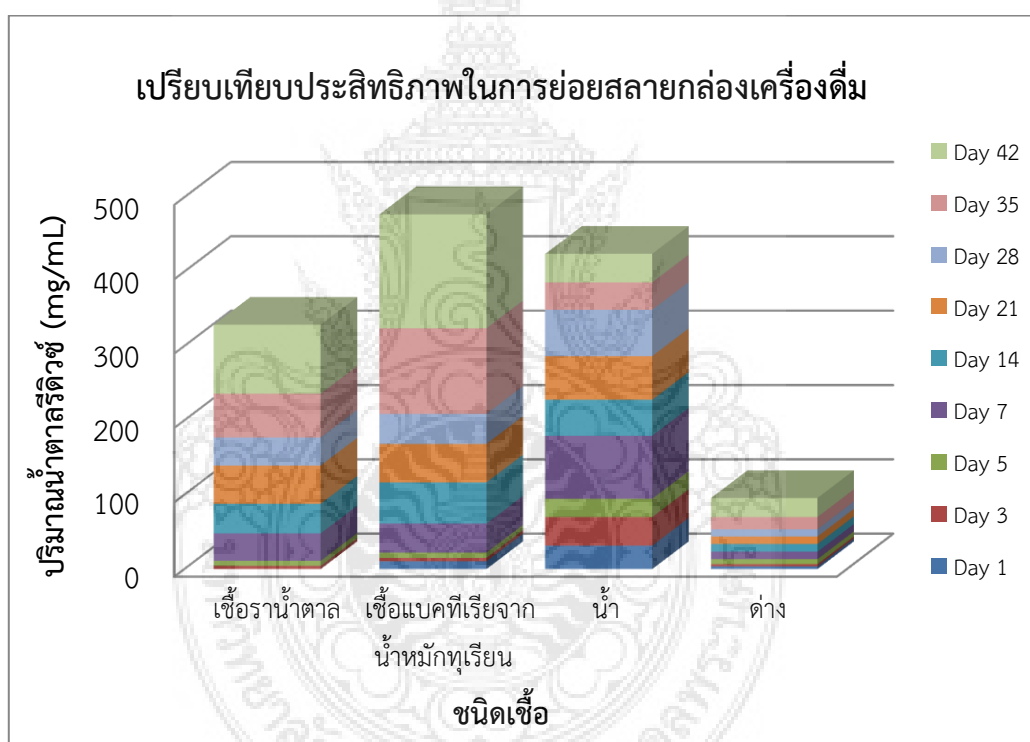
ตารางที่ 4.8 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)					
	เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการย่อย				ตัวควบคุม	
	ราขาว (W)	ราน้ำตาล (Br)	น้ำหมัก ขนุน (MJ)	น้ำหมัก ทุเรียน (MD)	ต่าง (C)	น้ำ (CW)
1	5.856	6.039	7.137	10.431	31.476	3.66
3	4.758	4.209	4.209	4.575	38.43	2.928
5	8.235	6.771	7.137	7.137	24.522	6.771
7	22.143	36.966	23.973	38.979	84.312	9.882
14	26.901	39.894	54.168	55.449	48.312	10.431
21	35.502	51.423	67.161	51.789	58.743	10.065
28	48.129	37.698	79.239	40.443	62.403	9.882
35	66.795	58.743	80.886	114.924	36.783	16.287
42	79.422	92.781	84.18	153.354	38.247	25.62



ภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ (W Br MJ MD) ที่แตกต่างกัน ต่าง (C) และน้ำ (CW)

การหมักขั้นต่อไปเป็นการย่อยขนาดกลาง (โดยหมักกล่องเครื่องดื่ม 140 กรัมต่อน้ำ 3 ลิตร) ผู้วิจัยเลือกใช้เชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการหมักทุเรียน (MD) และเชื้อราน้ำตาล (Br) เพื่อนำมาใช้ในการหมัก เพราะเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์ถูกคัดเลือกมาจากกระบวนการย่อยขนาดเล็ก แม้พบว่าการย่อยสลายทางชีวภาพใช้เวลานานกว่าการย่อยสลายทางเคมี (14 วัน และ 1 วัน ตามลำดับ) การย่อยสลายทางชีวภาพไม่ก่อสารพิษให้กับสิ่งแวดล้อม เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ประสิทธิภาพของน้ำตาลที่ดิวซ์ที่ได้ไม่เสื่อมสภาพเมื่อเทียบกับการย่อยสลายทางเคมีที่พบว่ามีไฮโดรไลซิสของน้ำตาลที่ดิวซ์ ทำให้ตรวจสอบได้ค่าน้ำตาลลดลงเมื่อทำการย่อยเป็นเวลานานมากขึ้น และยังพบว่าจุลินทรีย์ทนในสภาวะที่รุนแรง หรือมีพิษได้ดี ซึ่งในขั้นนี้กล่องเครื่องดื่มมีพอยล์ พลาสติก และกาวตัวยึดติดระหว่างชั้นที่พบว่าเป็นพิษ แสดงในภาพที่ 4.3



ภาพที่ 4.3 แสดงประสิทธิภาพในการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มด้วยวิธีทางชีวภาพ โดยเปรียบเทียบเชื้อราน้ำตาล เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียน ตัวควบคุม 2 ชนิด คือ น้ำ และต่าง

4.2 ผลการหมักขนาดกลางในห้องปฏิบัติการ

4.2.1 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม

4.2.1.1 ลักษณะการย่อยทางกายภาพ

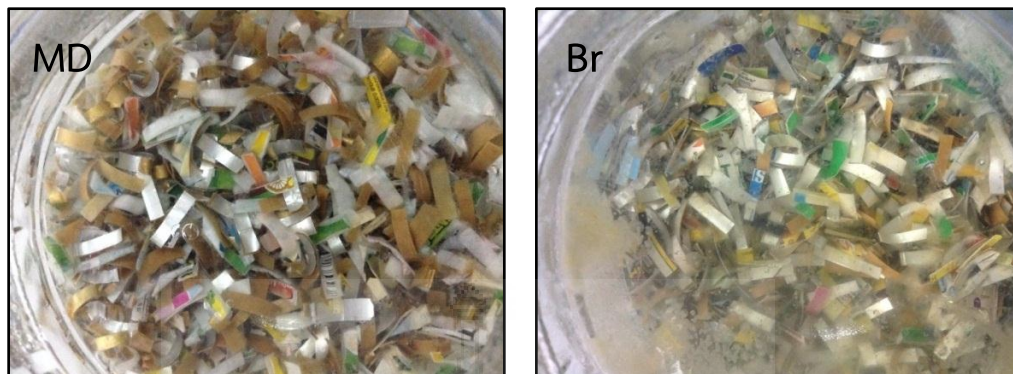
จากผลการทดลองเมื่อดูจากลักษณะทางกายภาพ พบว่ากล่องเครื่องดื่มที่ย่อยด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในระยะแรกของการหมักทั้ง 2 สายพันธุ์ กล่องเครื่องดื่มจะลอยตัวอยู่บนผิวน้ำ เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปเรื่อยๆ กล่องเครื่องดื่มจะดูดซับน้ำ เกิดการยุบเปื่อย จนตกลงสู่ก้นขวดภาชนะอย่างช้าๆ ซึ่งต่างจากการหมักด้วยต่าง (0.5 N NaOH) พบว่าเมื่อใส่กล่องเครื่องดื่มลงไป กล่องเครื่องดื่มจะค่อยๆ เกิดการยุบจนไม่เป็นแผ่น จนกลายเป็นเนื้อเดียวกัน เกิดการแยกส่วนประกอบต่างๆ ออกจากกัน ทั้งกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์ สีของน้ำขุ่นอย่างเห็นได้ชัด (แสดงในภาพที่ 4.4–4.6)



ภาพที่ 4.4 แสดงลักษณะทางกายภาพในวันที่ 1 ด้วยกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย (MD) เชื้อรา (Br) และต่าง (C) เป็นเวลานาน 30 วัน



ภาพที่ 4.5 แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย (MD) เชื้อรา (Br) และย่อยด้วยต่าง (C) เป็นเวลานาน 30 วัน



ภาพที่ 4.6 แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้หลังกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่อง
เครื่องดื่มโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย (MD) และเชื้อรา (Br) เป็นเวลานาน 30 วัน

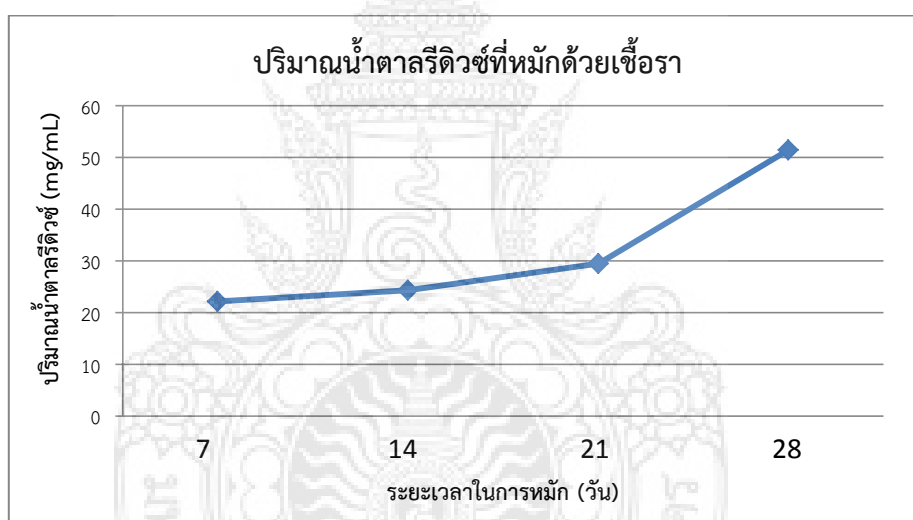
4.2.1.2 ลักษณะการย่อยทางเคมี-ทางชีวภาพ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.9 พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ถึงหมักที่ 1 เป็นการย่อยกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อราน้ำตาล (Br) และหมักในสภาวะที่ไร้อากาศ พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตน้ำตาลเริ่มต้นได้ดีในช่วงการหมัก 14 วัน และเริ่มมีการพัฒนาการย่อยดีขึ้นเรื่อยๆ แสดงในภาพที่ 4.7 พบลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ในถังหมักรูปร่างกลมๆ รีๆ มีการเรียงตัวอยู่เดี่ยวๆ หรือเป็นคู่ๆ แสดงในภาพที่ 4.8 ส่วนถึงหมักที่ 2 เป็นการย่อยกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อแบคทีเรียแยกได้มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) และหมักในสภาวะที่ไร้อากาศ พบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตน้ำตาลได้ เริ่มต้นได้ดีในระยะเวลาการหมัก 14 วัน และเริ่มมีการพัฒนาการย่อยดีขึ้นเรื่อยๆ แสดงในภาพที่ 4.9 พบลักษณะของเชื้อจุลินทรีย์ในถังหมักรูปร่างเป็นแบบท่อนๆ มีการเรียงตัวเป็นสายยาว แสดงในภาพที่ 4.10

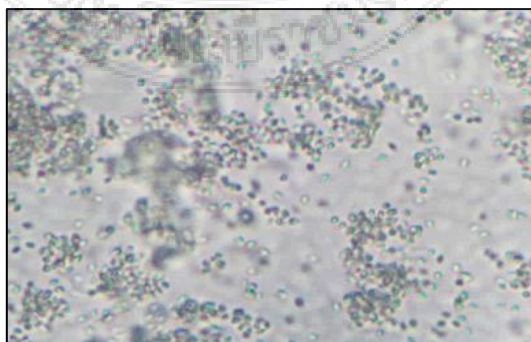
จากการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มจะเห็นได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยได้ดีที่สุดคือเชื้อแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) รองลงมาคือ เชื้อราน้ำตาล (Br)

ตารางที่ 4.9 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ แสดงในภาพที่ 4.7-4.10

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)		
	ราน้ำตาล (Br)	น้ำหมักทุเรียน (MD)	ต่าง (C)
7	22.143	25.071	39.894
14	24.339	34.953	97.356
21	29.463	33.306	91.866
28	51.423	52.704	97.173



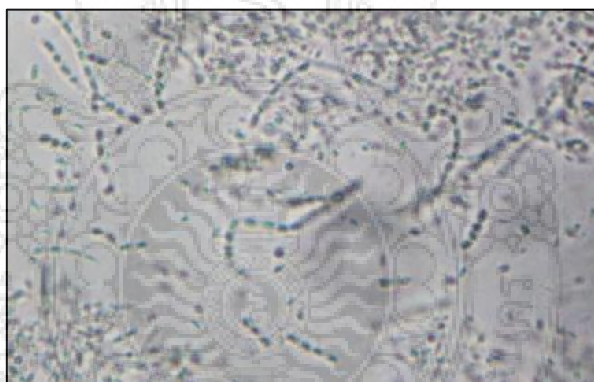
ภาพที่ 4.7 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยเชื้อรา (Br) ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



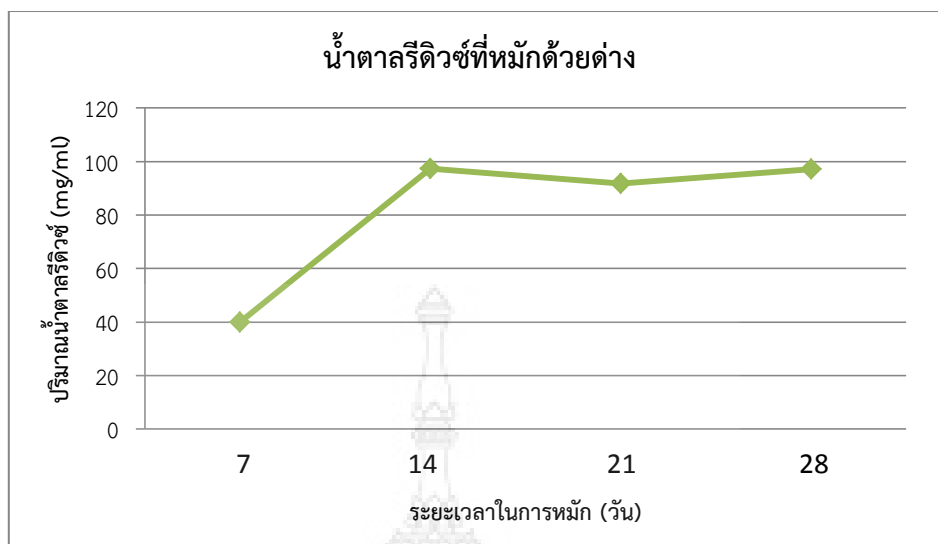
ภาพที่ 4.8 แสดงลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ในถังหมักเชื้อราน้ำตาลในถังหมักเป็นเวลานาน 7 วัน



ภาพที่ 4.9 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย (MD) ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



ภาพที่ 4.10 ลักษณะเชื้อจุลินทรีย์ในถังหมักแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียนในถังหมักเป็นเวลา 7 วัน

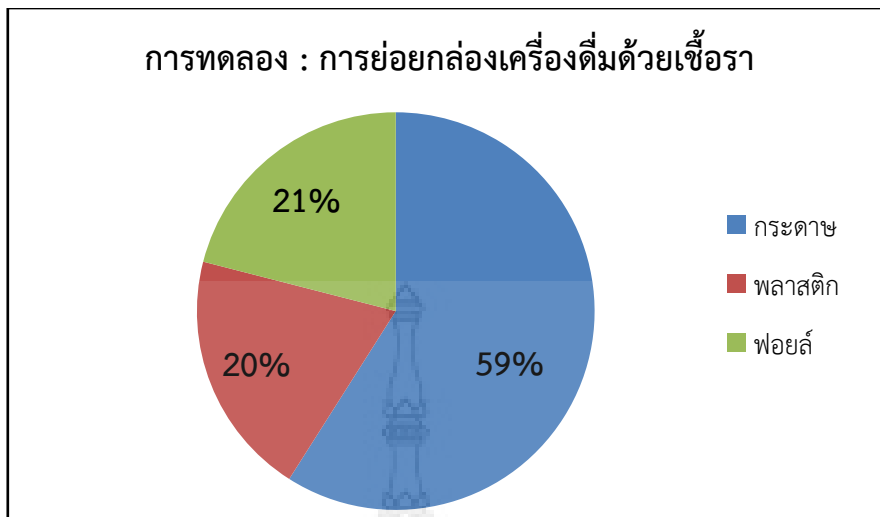


ภาพที่ 4.11 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยต่าง (0.5 N NaOH) ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง

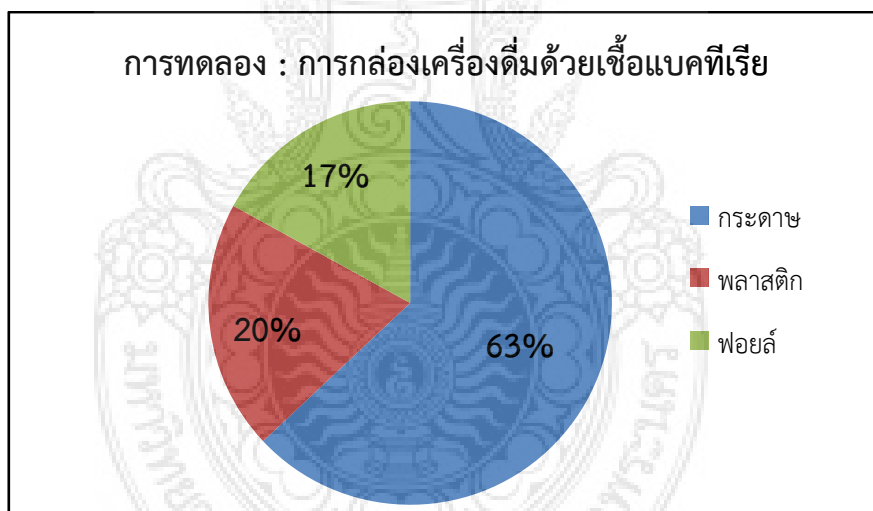
4.2.2 ประสิทธิภาพในการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม

จากผลการทดลองเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม พบว่าเมื่อทำการแยกส่วนประกอบทั้ง 3 ส่วนออกจากกันด้วยกระบวนการหมักที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ต่างกัน โดยใช้เชื้อราน้ำตาล (Br) เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียน (MD) เทียบกับตัวควบคุมที่ใช้ต่าง (C) และน้ำ (CW) สามารถแยกกระดาษออกจากพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ได้ในปริมาณที่แตกต่างกัน บ้างมีส่วนกระดาษติดอยู่ที่ฟอยล์เยาะ ซึ่งพบในรายละเอียดได้ดังนี้

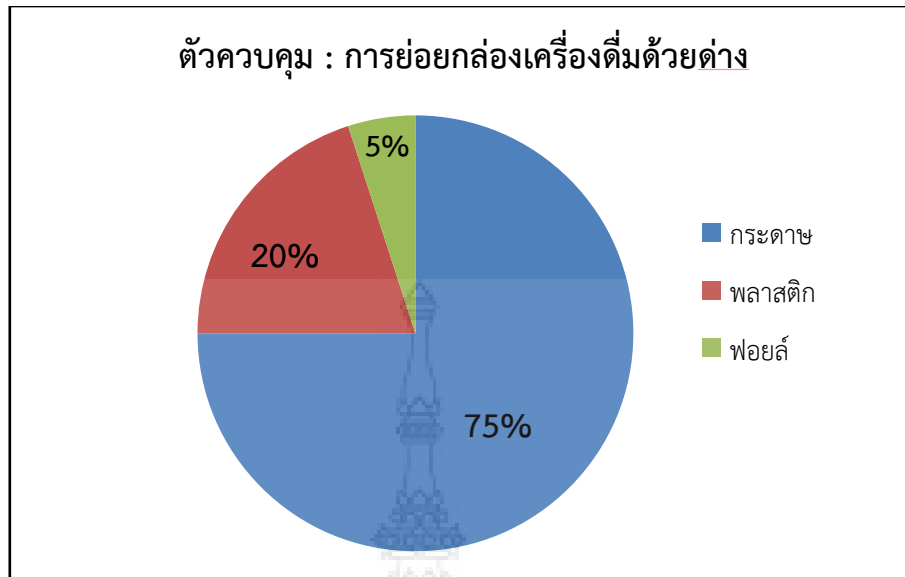
การใช้เชื้อราน้ำตาลในการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มสามารถแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์แยกกระดาษได้ร้อยละ 59 พลาสติกได้ร้อยละ 20 และอลูมิเนียมฟอยล์ได้ร้อยละ 21 (ภาพที่ 4.12) ในขณะที่การหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียนสามารถแยกกระดาษออกได้ร้อยละ 63 จากพลาสติกร้อยละ 20 และอลูมิเนียมฟอยล์ร้อยละ 17 (ภาพที่ 4.13) โดยที่ตัวควบคุมใช้ต่างซึ่งทำการย่อยได้ดีที่สุด พบว่ามีกระดาษอยู่ร้อยละ 75 พลาสติกอยู่ร้อยละ 20 และอลูมิเนียมฟอยล์ร้อยละ 5 (ภาพที่ 4.14) และตัวควบคุมมีการย่อยโดยใช้น้ำแช่กล่องเครื่องดื่มสามารถทำการแยกกระดาษออกได้ร้อยละ 51 จากพลาสติกร้อยละ 20 และได้อลูมิเนียมฟอยล์ร้อยละ 29 (ภาพที่ 4.15) ที่พบว่ามีการกระดาษติดปนอยู่ในปริมาณมาก



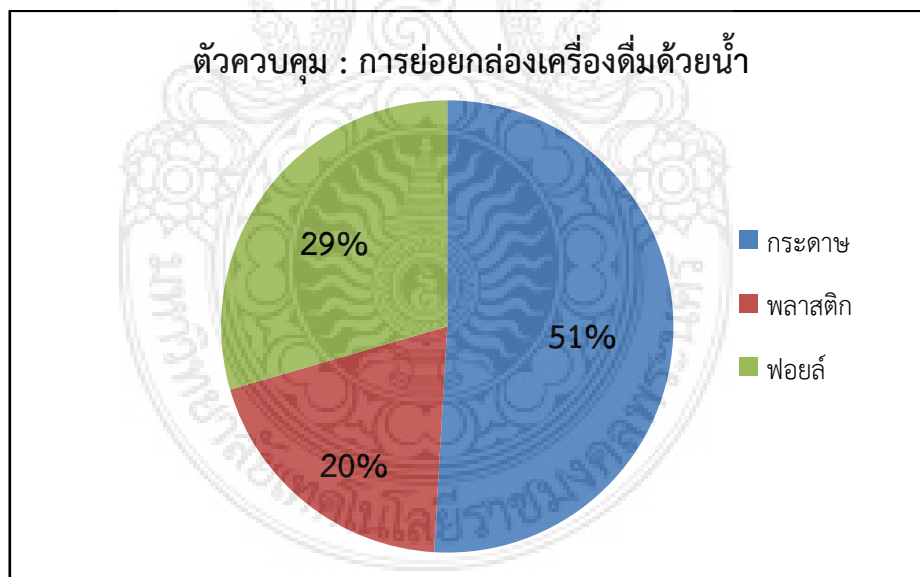
ภาพที่ 4.12 แผนภูมิแสดงร้อยละองค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อราที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



ภาพที่ 4.13 แผนภูมิแสดงร้อยละรีไซเคิลขององค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มที่ผ่านการย่อยด้วยแบคทีเรียที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



ภาพที่ 4.14 แผนภูมิแสดงร้อยละใช้เคลขององค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มที่ผ่านการย่อยด้วยต่าง ที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



ภาพที่ 4.15 แผนภูมิแสดงร้อยละใช้เคลขององค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มที่ผ่านการย่อยด้วยน้ำ ที่สามารถนำกลับมารีไซเคิลได้ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง

4.3 ผลการหมักขนาดใหญ่ในห้องปฏิบัติการ

4.3.1 ชนิดเชื้อจุลินทรีย์ที่มีผลต่อการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม

4.3.1.1 ลักษณะการย่อยทางกายภาพ

จากผลการทดลองเมื่อดูจากลักษณะทางกายภาพ พบว่ากระบวนการหมักให้ได้ปริมาณเซลล์สูงที่สุดโดยการปรับกระบวนการย่อยด้วยการใช้ความร้อนเข้ามาช่วย โดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ 2 กลุ่มสายพันธุ์ คือ เชื้อราน้ำตาล (Br) เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียน (MD) พบว่ามีเชื้อเจริญเติบโตในน้ำหมักแตกต่างกัน เนื้อกระดาษถูกย่อยได้ต่างกันไป โดยกล่องเครื่องดื่มที่หมักด้วยเชื้อรา จะมีเมือกเป็นแผ่นๆ อยู่บริเวณบนผิวน้ำ เมื่อระยะเวลาการหมักผ่านไปเรื่อยๆ กล่องเครื่องดื่มจะดูดซับน้ำ เกิดการยุบ เปื่อย เกิดการแยกส่วนประกอบต่างๆ ออกจากกัน ทั้งกระดาษพลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์ (ภาพที่ 4.16) แต่จากเชื้อแบคทีเรียพบว่าสามารถย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มได้ดีกว่าการย่อยเชื้อรา เพราะกล่องเครื่องดื่มจะแยกส่วนประกอบต่างๆ ทั้งกระดาษพลาสติก และอลูมิเนียมฟอยล์ออกจากกันอย่างเห็นได้ชัด ในระยะเวลาที่เท่ากัน (ภาพที่ 4.17)



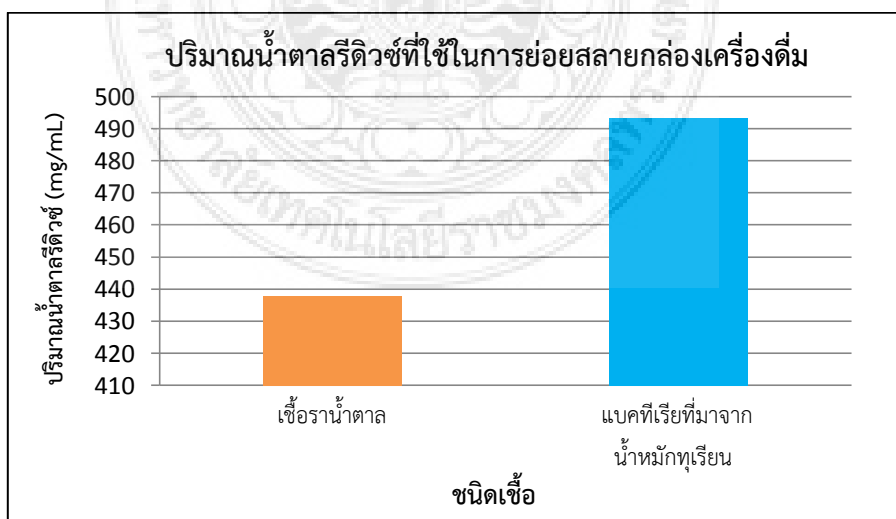
ภาพที่ 4.16 แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มโดยใช้เชื้อราเป็นเวลานาน 30 วัน



ภาพที่ 4.17 แสดงลักษณะทางกายภาพที่ย่อยได้ในระหว่างกระบวนการย่อยสลายกระดาษ จากกล่องเครื่องดื่มโดยใช้เชื้อแบคทีเรียเป็นเวลานาน 30 วัน

4.3.1.2 ลักษณะการย่อยทางชีวภาพ

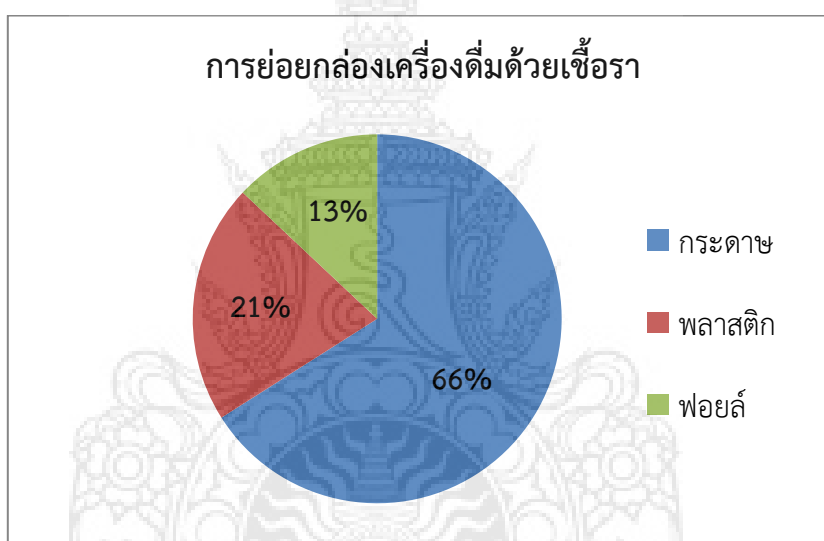
จากผลการทดลองเมื่อดูจากการย่อยทางชีวภาพ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่แตกต่างกัน สามารถได้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยด้วยเชื้อราความเข้มข้น 437.919 mg/mL ในวันที่ 15 และการย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) ที่ความเข้มข้น คือ 493.185 mg/mL ในวันที่ 15 ของการย่อย เชื้อแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) มีความสามารถย่อยได้ดีที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.18



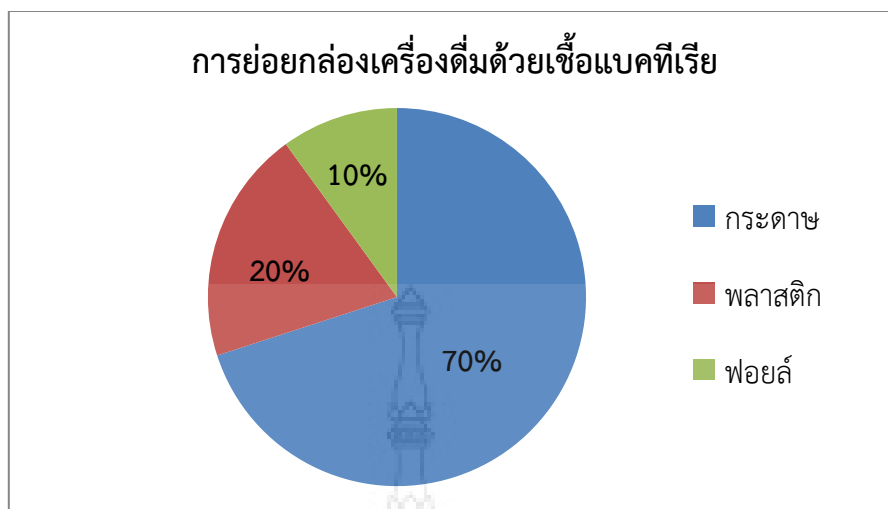
ภาพที่ 4.18 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่หมักด้วยเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย

4.2.2 ประสิทธิภาพในการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม

จากผลการทดลองเพื่อศึกษาประสิทธิภาพการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม พบว่าเมื่อทำการแยกส่วนประกอบทั้ง 3 ส่วนออกจากกัน ด้วยกระบวนการหมักที่ต่างวิธีกัน โดยใช้เชื้อราน้ำตาล (Br) และเชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียน (MD) เปอร์เซ็นต์ของการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม พบว่าการหมักด้วยเชื้อราน้ำตาลมีกระดาษอยู่ร้อยละ 66 พลาสติกอยู่ร้อยละ 21 และอลูมิเนียมพอยล์ร้อยละ 13 (ภาพที่ 4.19) การหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียนมีกระดาษอยู่ร้อยละ 70 พลาสติกอยู่ร้อยละ 20 และอลูมิเนียมพอยล์ร้อยละ 10 (ภาพที่ 4.20)



ภาพที่ 4.19 แผนภูมิแสดงร้อยละขององค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มรีไซเคิลที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อรา ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



ภาพที่ 4.20 แผนภูมิแสดงร้อยละขององค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มรีไซเคิลที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรีย ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง

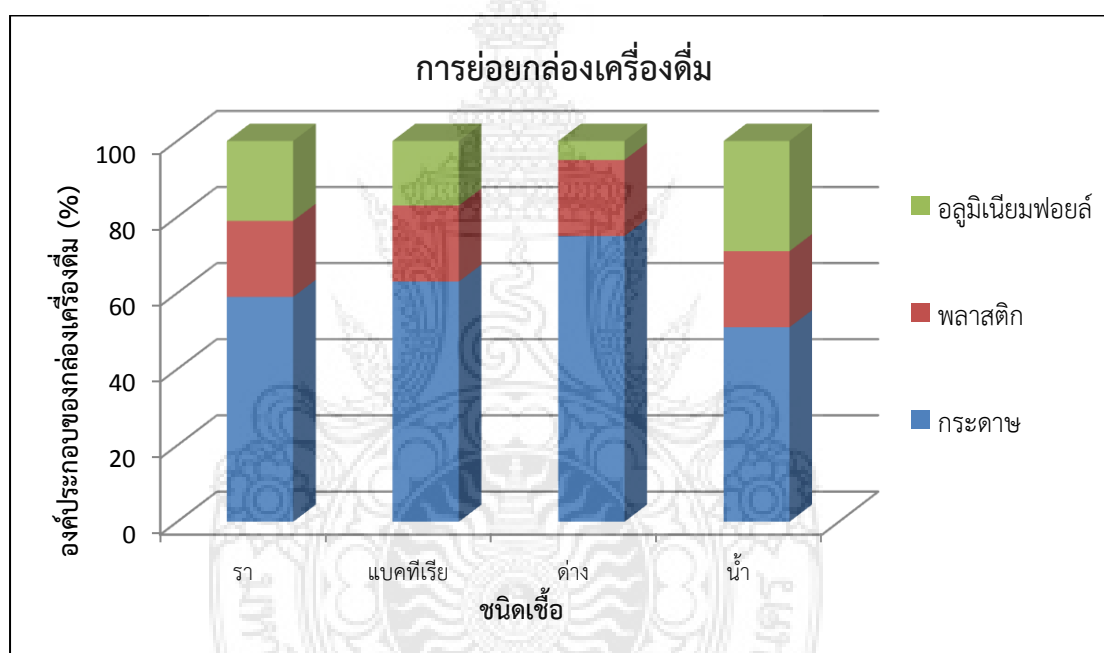
4.4 ประสิทธิภาพขบวนการแยกกระดาษ พลาสติก และอลูมิเนียมพอยล์

จากผลการทดลองในตารางที่ 4.10 พบว่าร้อยละการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ทั้งเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย รวมทั้งตัวควบคุมต่าง และน้ำ จะเห็นได้ว่าร้อยละการแยกส่วนประกอบต่างๆ ของกล่องเครื่องดื่มออกจากกัน ตัวควบคุมต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกรย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรียแล้ว พบว่ามีกระดาษแตกต่างกันอยู่ร้อยละ 12 และอลูมิเนียมพอยล์ร้อยละ 12 จะเห็นได้ว่ายังคงมีกระดาษติดอยู่ที่อลูมิเนียมพอยล์ถึงร้อยละ 7 เพราะว่าการย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการย่อยที่ต้องใช้เวลานานกว่าการย่อยด้วยต่าง แต่เมื่อเปรียบระหว่างตัวควบคุมต่าง และน้ำแล้ว พบว่ามีกระดาษแตกต่างกันอยู่ร้อยละ 24 และอลูมิเนียมพอยล์ร้อยละ 24 จะเห็นได้ว่ายังคงมีกระดาษติดอยู่ที่อลูมิเนียมพอยล์ถึงร้อยละ 19 ดังแสดงในภาพที่ 4.21 ลักษณะองค์ประกอบของกล่องเครื่องดื่มย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรียที่แยกออกจากกันด้วยตะแกรงกรอง ดังแสดงในภาพที่ 4.22

นอกจากนั้นจะเห็นได้ว่า กล่องเครื่องดื่มที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรีย และน้ำ พบว่ากระดาษที่ติดอยู่กับอลูมิเนียมพอยล์ถึงร้อยละ 7 และร้อยละ 19 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการย่อยด้วยต่าง เพราะฉะนั้นการย่อยด้วยเชื้อจุลินทรีย์มีประสิทธิภาพการย่อยดีกว่าน้ำ และสามารถเทียบเท่ากับการย่อยด้วยต่างได้ ถึงแม้ว่าจะใช้ระยะเวลาในการย่อยที่นานกว่าก็ตาม เพราะการย่อยด้วยเชื้อจุลินทรีย์ไม่ก่อให้เกิดมลพิษ เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ปฏิกริยาที่เกิดขึ้นไม่รุนแรงทำให้ไม่จำเป็นต้องใช้ภาชนะที่ทนทานต่อการกัดกร่อน และต้นทุนจึงต่ำกว่า

ตารางที่ 4.10 ร้อยละองค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มที่สามารถรีไซเคิลได้ จากกระบวนการย่อยขนาดกลาง ด้วยเชื้อรา แบคทีเรีย ตัวควบคุมต่าง และน้ำ แสดงในภาพที่ 4.21

การย่อย กล่องเครื่องดื่ม	องค์ประกอบของกล่องเครื่องดื่ม (%)		
	กระดาษ	พลาสติก	อลูมิเนียมฟอยล์
เชื้อรา	59	20	21
เชื้อแบคทีเรีย	63	20	17
ต่าง	75	20	5
น้ำ	51	20	29



ภาพที่ 4.21 แผนภูมิแสดงร้อยละขององค์ประกอบในกล่องเครื่องดื่มรีไซเคิลที่ผ่านการย่อยด้วยรา แบคทีเรีย ตัวควบคุมต่าง และน้ำ ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



กระดาศ



พลาสติก



อลูมิเนียมฟอยล์

ภาพที่ 4.22 ตัวอย่างองค์ประกอบในกล่องเครื่องตีมีรีไซเคิลที่ได้ผ่านการย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรีย
ในกระบวนการย่อยขนาดกลาง



บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาวิจัยเรื่องการสกัดแยกพลาสติกและออลูมิเนียมพอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยกระบวนการทางชีวภาพ ผู้วิจัยมีจุดประสงค์ดังนี้คือ เพื่อพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลสจากกระดาษและกล่องเครื่องดื่มทั้งหมด 4 กลุ่มสายพันธุ์ที่เลือกมาจากการวิจัยการหมักแอลกอฮอล์จากเปลือกทุเรียนและขนุน เชื้อเหล่านี้มีคุณสมบัติสร้างเอนไซม์เซลลูเลส คือ เชื้อราขาว (W) เชื้อราน้ำตาล (Br) Bacteria Mixtures จากเปลือกขนุน (MJ) Bacteria Mixtures จากเปลือกทุเรียน (MD) และเพื่อศึกษาพัฒนากระบวนการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่มด้วยวิธีทางชีวภาพจากระดับขนาดเล็กไปเป็นขนาดกลางและขนาดใหญ่ โดยใช้เชื้อที่ผ่านการกระตุ้นให้สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลสได้สูง และพัฒนากระบวนการหมักให้ได้พลาสติกและออลูมิเนียมพอยล์ถูกคัดแยกออกจากกระดาษได้อย่างมีประสิทธิภาพและยังได้กระดาษที่สามารถนำไปรีไซเคิลได้

ผู้วิจัยได้สรุปและเสนอข้อเสนอแนะแบ่งได้ดังนี้

5.1 สรุปการวิจัย

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปการวิจัย

5.1.1 ความมุ่งหมายของงานวิจัย

5.1.1.1 เพื่อพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ธรรมชาติที่ได้จากเปลือกผลทุเรียนและขนุนที่มีศักยภาพในการย่อยเซลลูโลสให้สามารถย่อยกระดาษได้ดี

5.1.1.2 เพื่อพัฒนาเชื้อจุลินทรีย์ให้มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม โดยเน้นความสามารถในการแยกให้ได้แผ่นเยื่อกระดาษออกจากกล่องเครื่องดื่ม

5.1.1.3 เพื่อพัฒนากระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่ม โดยเน้นการได้พลาสติกและออลูมิเนียมพอยล์ กลับมา และแยกออกจากกระดาษได้ดี

5.1.2 ผลการวิจัย

5.1.2.1 กระบวนการย่อยขนาดเล็ก

จากการศึกษาการหมักขนาดเล็กมีจุดประสงค์เพื่อคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่มีความสามารถในการย่อยสลายเซลลูโลสจากกระดาษกรองและการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มในช่วงระยะเวลาที่เหมาะสมของการย่อย พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลส (จากกระดาษ) ด้วยเชื้อจุลินทรีย์ในระยะเวลาการหมักที่แตกต่างกัน การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเริ่มต้นได้ดีในระยะเวลาการหมัก 7 วัน และเริ่มมีการพัฒนาการย่อยดีขึ้นเรื่อยๆ จากการย่อยสลายเซลลูโลสจะเห็นได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยได้ดีที่สุดคือเชื้อราน้ำตาล (Br) รองลงมาคือ เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักขนุน (MJ) เชื้อราขาว (W) และแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) ตามลำดับ ส่วนปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจะเริ่มต้นได้ดีในระยะเวลาการหมัก 14 วัน และเริ่มมีการพัฒนาการย่อยดีขึ้นเรื่อยๆ จะเห็นได้ว่า เชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยได้ดีที่สุดคือเชื้อแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) รองลงมาคือ เชื้อราน้ำตาล (Br) เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักขนุน (MJ) และเชื้อราขาว (W) ตามลำดับ

5.1.2.2 การพัฒนากระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่มขนาดกลาง

จากการศึกษาการหมักขนาดกลาง ในการย่อยกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อราน้ำตาล (Br) และเชื้อแบคทีเรียที่จากน้ำหมักทุเรียน (MD) พบว่าเชื้อจุลินทรีย์ทั้ง 2 สายพันธุ์สามารถผลิตน้ำตาลรีดิวซ์ได้ เริ่มต้นได้ดีในระยะเวลาการหมัก 14 วัน และเริ่มมีการพัฒนาการย่อยดีขึ้นเรื่อยๆ แต่เมื่อเทียบจากประสิทธิภาพการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดาษจากกล่องเครื่องดื่ม พบว่าเมื่อทำการแยกส่วนประกอบทั้ง 3 ส่วนออกจากกันด้วยกระบวนการหมักที่ต่างวิธีกัน โดยใช้เชื้อราน้ำตาล (Br) เชื้อแบคทีเรียจากน้ำหมักทุเรียน (MD) ตัวควบคุมโดยใช้ต่าง (C) และน้ำ (CW) จะเห็นได้ว่าร้อยละการแยกส่วนประกอบต่างๆ ของกล่องเครื่องดื่ม ตัวควบคุมต่างเมื่อเปรียบเทียบกับกรย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรีย พบว่ามีกระดาษแตกต่างกันอยู่ร้อยละ 12 และอลูมิเนียมพอยล์ร้อยละ 12 จะเห็นได้ว่ายังคงมีกระดาษติดอยู่ที่พอยล์ถึงร้อยละ 7 เพราะว่าการย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการย่อยที่ต้องใช้เวลานานกว่าการย่อยด้วยต่าง แต่เมื่อเปรียบเทียบระหว่างตัวควบคุมต่าง และน้ำแล้ว พบว่ามีกระดาษแตกต่างกันอยู่ร้อยละ 24 และพอยล์ร้อยละ 24 จะเห็นได้ว่ายังคงมีกระดาษติดอยู่ที่อลูมิเนียมพอยล์ถึงร้อยละ 19

จากการศึกษาจะเห็นได้ว่ากล่องเครื่องดื่มที่ย่อยด้วยเชื้อแบคทีเรียและน้ำ พบกระดาษที่ติดอยู่กับอลูมิเนียมพอยล์ถึงร้อยละ 7 และร้อยละ 19 ตามลำดับ เมื่อเทียบกับการย่อยด้วยต่าง ประสิทธิภาพของกระบวนการย่อยกล่องเครื่องดื่ม เชื้อแบคทีเรียย่อยได้ดีกว่าเชื้อรา เมื่อนำเชื้อจุลินทรีย์มาเปรียบเทียบกับกรย่อยด้วยต่าง และน้ำแล้ว พบว่าต่างใช้ระยะเวลาการย่อยน้อยกว่า

เชื้อจุลินทรีย์ เพราะการย่อยทางชีวภาพจะมีลักษณะการย่อยเกิดขึ้นช้าๆ และปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นก็ไม่รุนแรง แต่เชื้อจุลินทรีย์สามารถย่อยได้ดีกว่าน้ำ เพราะน้ำปฏิกิริยาเกิดขึ้นช้ามากกว่า เชื้อจุลินทรีย์มีตัวกระตุ้นที่ทำให้กระดากจากกล่องเครื่องต้มย่อยได้ง่ายขึ้น ทำให้มีประสิทธิภาพเพิ่มมากขึ้น

5.1.2.3 การพัฒนากระบวนการย่อยกล่องเครื่องต้มขนาดใหญ่

จากการศึกษาการหมักขนาดใหญ่ จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดากจากกล่องเครื่องต้มด้วยเชื้อจุลินทรีย์ ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้ระหว่างการหมักด้วยเชื้อรา และเชื้อแบคทีเรีย คือ 437.919 และ 493.185 mg/mL ตามลำดับ ดังนั้นเชื้อที่สามารถย่อยได้ดีที่สุดคือเชื้อแบคทีเรียที่มาจากน้ำหมักทุเรียน (MD) เพราะเชื้อแบคทีเรียมีความสามารถในการปรับตัวได้ดี สามารถย่อยกระดากภายใน 14 วัน และแยกแผ่นกระดากออกจากพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ได้โดยง่าย ด้วยการใช้ความร้อนในการช่วยแยก แต่เมื่อเทียบจากประสิทธิภาพการแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์ที่ได้จากการย่อยกระดากจากกล่องเครื่องต้ม พบว่าเมื่อทำการแยกส่วนประกอบทั้ง 3 ส่วนออกจากกันด้วยกระบวนการหมักที่ต่างวิธีกัน จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายกล่องเครื่องต้มดีกว่าเชื้อรา ได้กระดากแยกออกจากฟอยล์ และพลาสติกร้อยละ 70 และร้อยละ 66 ตามลำดับ

จากผลการวิจัยสามารถนำมาสรุปได้ดังนี้ เชื้อจุลินทรีย์ที่ผู้วิจัยเลือกใช้ คือเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากการหมักทุเรียน (MD) และเชื้อราน้ำตาล (Br) เพื่อนำมาใช้ในการหมัก เพราะฉะนั้นในการย่อยสลายทางชีวภาพถึงจะใช้เวลานานกว่าการย่อยสลายทางเคมี แต่การย่อยสลายทางชีวภาพเป็นสิ่งที่ดีที่จะนำมาประยุกต์ใช้เพราะเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม ประสิทธิภาพของน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จะไม่เสื่อมสภาพเมื่อเทียบกับการย่อยสลายทางเคมี เพราะฉะนั้นเชื้อแบคทีเรียสามารถปรับตัวได้ดีและย่อยได้ดี ในเรื่องของขั้นตอนการหมักไม่ยุ่งยาก เป็นขั้นตอนง่ายๆ สามารถนำไปประยุกต์ใช้ในภาคอุตสาหกรรมได้

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 อุณหภูมิที่ใช้ในการย่อย

ในการวิจัยครั้งนี้ใช้อุณหภูมิห้องในการย่อย ถ้าหากมีการเพิ่มอุณหภูมิในการย่อยให้เป็น 40 องศาเซลเซียส ตามความเหมาะสมของเชื้อจุลินทรีย์ (จากการวิจัยเรื่องการหมักแอลกอฮอล์จากเปลือกทุเรียน) จะทำให้การย่อยมีประสิทธิภาพสูงขึ้น แต่ทั้งนี้จะมีความยุ่งยากในการจัดการ และค่าใช้จ่ายในการติดตั้งและค่าไฟฟ้า

5.2.2 เวลาที่ใช้ในการย่อย

ในระยะเวลาของการหมักกล่องเครื่องดื่ม เราสามารถปรับให้เหมาะสมตามความต้องการ เช่นหากต้องการเยื่อกระดาษเพื่อการนำไปใช้รีไซเคิล จะย่อยในระยะเวลาสั้น และใช้ความร้อนมาช่วย ในระยะแรกก่อนการย่อย แต่หากต้องการให้น้ำตาลปริมาณมาก เพื่อการนำไปเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ หรือหมักแอลกอฮอล์ ควรเพิ่มระยะเวลาในการหมักขึ้นเป็น 60 วัน และการใช้อุณหภูมิ พร้อมทั้งการ ทดลองปรับ และเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูเลสที่หลากหลายไป เพื่อให้ได้การย่อยสลายตาม ที่ต้องการ และได้ดีที่สุด

5.2.3 เชื้อจุลินทรีย์และคุณลักษณะของกล่องเครื่องดื่มที่ใช้ในการหมัก

ในการย่อยสลายกล่องเครื่องดื่ม อาจจะมีมากขึ้นหากใช้เชื้อจุลินทรีย์หลากหลายสายพันธุ์ หรือมากกว่า 4 สายพันธุ์ เช่น กลุ่ม community ที่มีศักยภาพในการช่วยย่อยเซลลูโลสจากกระดาษ จนได้น้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว และอาจได้ผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์เพื่อใช้ประโยชน์ต่อไปได้ เชื้อเหล่านี้ อาจจะมีการปรับสภาวะให้เหมาะสม เพื่อให้มีประสิทธิภาพสูงสุดในการย่อยสลายเซลลูโลสจาก กระดาษที่อยู่ในกล่องเครื่องดื่ม ให้สามารถทน และปรับตัวกับลักษณะของกระดาษที่แตกต่างกัน มีสี หมึกพิมพ์ปนเปื้อนมีความเป็นพิษแตกต่างกันไปได้ดี

5.2.4 วิธีที่ใช้ในการวัดปริมาณน้ำตาล

การตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพื่อใช้บ่งบอกถึงประสิทธิภาพของเชื้อจุลินทรีย์ และ ความสามารถในการย่อยกระดาษ สามารถใช้วิธีอื่นมาใช้ร่วม (นอกจากวิธี Bradford) เช่น วิธี DNS เพื่อช่วยในการบ่งบอกชนิด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดได้แม่นยำยิ่งขึ้น

5.2.5 กระบวนการย่อยเพื่อพัฒนาใช้ในระบบอุตสาหกรรม

ในการย่อยครั้งนี้เป็นวิธีการย่อยขนาดกลางและขนาดใหญ่ ที่มีขั้นตอนแบบ Static Batch ซึ่งไม่ยุ่งยากในการจัดการ เพื่อการพัฒนาการย่อยขนาดใหญ่ที่มีประสิทธิภาพมากขึ้น จำเป็นต้องเพิ่มขั้นตอนการกวน เพื่อให้มีการสัมผัสกันระหว่างเชื้อ และกล่องนมได้ดี อีกทั้งยังช่วยให้ พลาสติกและอลูมิเนียมพอยล์แยกออกจากกระดาษได้ดีขึ้น ใช้เวลาในการย่อยและแยกส่วนต่างๆ ออกจากกันในระยะเวลาสั้นขึ้น แต่ทั้งนี้ต้องมีการออกแบบใบพัดและอัตราการกวนให้เหมาะสมด้วย

เอกสารอ้างอิง

- กลอยตา ณ ถลาง. 2551. **กล่องเครื่องดื่ม**. สืบค้นได้จาก <http://www.greenroof.in.th>.
เมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน 2556.
- เครื่องดื่มอินูลินผสมคลอโรฟิลล์อัลฟา**. สืบค้นได้จาก
<http://www.Teamsumret.com/product.htm>. เมื่อวันที่ 15 พฤศจิกายน 2551.
- จิตตเสน อรุณศรี. 2529. **การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสโดยเชื้อราที่เจริญที่อุณหภูมิสูง**. วิทยานิพนธ์
วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- ชริดา ปุกหุด จุฑามาส จิตต์เจริญ และอรัญญา พิมพ์มงคล. 2549. **การย่อยสลายแกลบข้าวเจ้า
โดยวิธีชีวภาพด้วยเชื้อราที่สามารถย่อยเซลลูโลสได้**. การประชุมวิชาการวิทยาศาสตร์และ
เทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 32, 10-12 ตุลาคม 2549, กรุงเทพมหานคร.
- ซูโครส**. สืบค้นได้จาก <http://th.wikipedia.org/wiki/ซูโครส>. เมื่อวันที่ 15 พฤศจิกายน 2556.
- นฤมล นະธรรมโม. 2544. **สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรียทนร้อน**
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- น้อย เกษมสุขสกุล. 2539. **การผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อราที่ขอบอุณหภูมิสูงบนวัสดุที่เป็นของแข็ง**
วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, สาขาวิชาจุลชีววิทยา, บัณฑิตวิทยาลัย
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.
- นิวัติ มณีชัย. 2556. **ประเภทกล่องนม**. สืบค้นได้จาก
<http://www.greenboardthailand.co.th/index.php/home/45-articles/66-milkbox>.
เมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน 2556.
- นุศรา จักขุทิพย์ และกิงกาญจน์ ม่วงไหมทอง. 2547. **การผลิตแอลกอฮอล์จากกระต๊ากเหลือใช้**.
สืบค้นได้จาก <http://www.rsu.ac.th/./11.47%20นุศรา,กิงกาญจน์>,
เมื่อวันที่ 14 พฤศจิกายน 2556.
- ประภัสสร สุรวฒนาวรรณ. 2551. **เรื่องน้ำรู้โคติน-โคโตซาน**. สืบค้นได้จาก
http://poodangparoy.com/citin_citozane.html. เมื่อวันที่ 17 พฤศจิกายน 2556.
- พรเทพ ถนนแก้ว. 2538. **สภาวะเหมาะสมของการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อราที่คัดแยกจาก
บริเวณปลูกป่านครนารายณ์ *Agave sisalana***. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร
มหาบัณฑิต, สาขาจุลชีววิทยา, บัณฑิตวิทยาลัย, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย,
กรุงเทพมหานคร.
- ระพีพรรณ อินปั้นแก้ว. 2536. **แบคทีเรียในกระเพาะหมักของโคพื้นเมืองและการผลิตเอนไซม์
เซลลูเลส**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเชียงใหม่, เชียงใหม่.
- วิเชียร สีสุข. 2532. **การย่อยสลายวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรด้วยเอนไซม์จาก *Aspergillus
fumigatus*. Fresenius รหัส 4-45-1F**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต,
สาขาวิชาจุลชีววิทยา, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพมหานคร.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- สมรัักษ์ พันธุ์ผล. 2535. การทำเอนไซม์ให้บริสุทธิ์และคุณสมบัติของเอนไซม์และไซแลนเนส จาก *Aspergillus sp.* ATCC6275. รายงานสัมมนา สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ, บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ .
- อารักัสสรา ชมิดท์. 2537. **ชีวเคมี**. โรงพิมพ์ สหมิตรออฟเซต, กรุงเทพมหานคร. หน้า 91- 236
- อินูลิน**. สืบค้นได้จาก <http://th.wikipedia.org/wiki/อินูลิน>. เมื่อวันที่ 15 พฤศจิกายน 2556.
- Ahsan, M. M., Matsumoto, M., Karita, S., Kimura, T., Sakka, K. and Ohmiya, K. 1997. Purification and characterization of the family J catalytic domain derived from the *Clostridium thermocellum* endoglucanase CeU. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 61(3) : 427-431.
- Ali, S., Sayed, A., Sarker, T. I. and Alam, R. 1991. Factors affecting cellulase production by *Aspergillus terreus* using water hyacinth. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 43 : 518-520.
- Alexander, M. 1967. Introduction to soil microbiology. Toppan Printing Co(S) Pte. Ltd, Singapore : 169-181.
- Amadioha, A.C. 1993. Production of cellulolytic enzymes by *Rhizopus oryzae* in culture and *Rhizopus* – infection tissues of potato tubers. *Mycologia*, 85 : 574 – 578.
- Asha, C. and Prema, P. 2007. Production of cellulose-free endoxylanase from novel Alkalophikic themotolerent *Bacillus pumilus* by solid-state fermentation an its Application in wastepaper recycling. *Bioresoures Technology* : 485 – 490.
- Bisaria, V. S. and Ghose, T. K. 1981. Biodegradation of cellulosic materials: substrate, microorganism, enzyme and product. *Enzyme and Microbial Technology*, 3(2) : 90-140.
- Chirio, W. J. and Brown, Jr R. D. 1987. Purification and characterization of a beta-glucosidase from *Trichoderma reesei*. *European Journal of Biochemistry*, 165 : 333-341.
- Eriksson, K. E. 1978. Enzyme mechanism involved in cellulose hydrolysis by rot-Fungus *Sporotrichum pulverulentum*. *Biotechnology Bioengineering*, 20 : 317.
- Fan, L. T., Gharpuray, M. M., Lee, Y-H. 1987. Cellulose hydrolysis. Springer-Verlag berlin Heidelberg, London.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Ferchak, D.J. and E.k. 1983. **Effect of cellobiose, glucose, ethanol, and metal ions on the Cellulose enzyme complex of *Thermomonospora fusca*.** *Biotechnology and Bioengineering*, 25 : 2865–2872
- Fergus, C. L. 1969. **The cellulolytic activity of themophilic fungi and Actinomycetes.** *Mycologia*, 61 : 120-129.
- Forsberg, C. W. and Groleau, D. 1982. **Stability of the endo- β -1, 4-glucosidase from *Bacteroides succinogenes*.** *Canadian Journal of Microbiology*, 28 : 144-148.
- Fungsin, B., Suttikul, S., Akaracharany, A. and Srinorakutara, T. 2008. **Conversion of cassava waste into sugar using *Aspergillus niger* and *Trichoderma reesei* for ethanol production.** Poster of Fourth Biomass-Asia Workshop. November 20-23, Selangor Darul Ehsan, Malaysia.
- Goksoyr, J. and Eriksen, J. 1980. **Cellulase in economic microbiology.** Academic Press, New York.
- Haq, K., Hameed, U., Shahzadi, K., Javed, M. M., Ail, S. and Qadeer, M. A. 2005. **Cotton sacchrarifying activity of cellulase by *Trichoderma harzianum* UM-11 in shake flask.** *International Journal of Botany*, 1(1) : 19-22.
- Haward, G. T. and Elliott, L. G. 1988. **Effects of cellulolytic ruminal bacteria and cell extracts on germination of *Euonymus americanus* L. seeds.** *Applied and Environment Microbiology*, 54(1) : 218-224.
- Immanuel, G., Bhagavath, C. M. A., Raj, P. I., Esakkiraj, P. and Palavesam, A. 2007. **Production and partial purification of cellulase by *Aspergillus niger* and *A. fumigatus* fermented in coir waste and sawdust.** *The Internet Journal of Microbiology*, 3(1) : 1-12
- Juhasz, T., Szengyel, Z., Reczey, K., Suka-Aho, M. amd Viikari, L. 2005. **Characterizayion Of Cellulose and hemicellulases produced by *Trichoderma reesei* oon various carbon sourses.** *Process Biochemistry* (3519 - 3525)
- Julliand, V., Vaux, A., Millet, L. and Fonty, G. 1999. **Identification of *Ruminococcus Flavefaciens* as the predominant cellulolytic bacterial species of the equine cecum.** *Applied and Environmental Microbiology*, 65(8) : 3738-3741.
- Kathiresan, K. and Manivannan, S. 2006. **Cellulase production by *Penicillium fellutanum* Isolated from costal mangrove rhizosphere soil.** *Research Journal of Microbiology*, 1(5) : 438-442.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Keskar, S. S. 1992. **Cellulase production by *Penicillium janthinellum***. *World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 8 : 534-535.
- Klyosov, A. A. 1990. **Trends in biochemistry and enzymology of cellulase Degradation**. *Biochemistry*, 29 : 10577-10585.
- Larry, T., Bernard, H., Pedro, C., Nathan, E., Steven, H. and Ronald, W. 2006. **Complete cellulase system in the marine bacterium *Saccharophaus degradans* strain 2-40T**. *Journal of Bacteriology*, 188(11) : 3849-3861.
- Lee, Y. J., Kim, B. K., Lee, B. H., Jo, K. I. and Lee, N. K. 2008. **Purification and characterization of cellulase produced by *Bacillus amyloliquefaciens* DL-3 utilizing rice hull**. *Bioresource Technology*, 99 : 378-386.
- Liu, J. and Yang, J. 2006. **Cellulase producing by *Trichoderma koningii* AS3.4262 in solid-state fermentation using lignocellulosic waste from the vinegar industry**. *Food Technology and Biotechnology*, 45(4) : 420-425.
- Mackenzie, C. R., Bilous, D. and Johnson, K.G. 1984. **Purification and characterization of an exoglucanase from *Streptomyces flavogriseus***. *Canadian of Journal Microbiology*, 30 : 1171-1178.
- Magnelli., Ramos, M.A. and Forchianssin, F. **Factors influencing cellulase Production *Sacchobolus saccoboloides***. *Mycologia*, 88 (1996) : 249 – 253.
- Mandels, M. 1977. **Laboratory procedures in growth, enzyme measurement and related Analytical procedure**. Unpublished papers, International Course-Cum-symposium.
- Mandels, M. and Reese, E. T. 1957. **Introduction of cellulase in *Trichoderma viridae* as influenced by carbon source and metals**. *Journal of Bacteriology*, 73 : 269-278.
- Milala, M. A., Shugaba, A., Gudado, A., Ene, A. C. and Wafar, J. A. 2005. **Studies on the use of agricultural wastes for cellulase enzyme production by *Aspergillus niger***. *Journal of Agriculture and Biological Scinences*, 1(4) : 325-328.
- Nisizawa, T., Suzuki, H. and Nisizawa, K. **Catabolite repression of cellulose formation In *Trichoderma viride***. *J. Biochem*, 71 (1972) : 999 – 1007.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Oh, K. B., Hamada, K., Saito, M., Lee, H. J. and Matsuoka, H. 1999. Isolation and properties of an extracellular β -glucanase from a filamentous fungus, *Cladosporium resinae*, isolate from kerosene. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 63(2) : 281-287.
- Oikawa, T., Takagi, M. and Ameyama, M. 1994. Detection of carboxymethyl cellulase activity in *Acetobacter xylinum* KU-1. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 58(11) : 2102-2103.
- Ozaki, K., Hayashi, Y., Sumitomo, N., Kawai, S. and Ito, S. 1995. Construction, purification, and properties of a truncated alkaline endoglucanase from *Bacillus* sp. KSM-635. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 59(9) : 1613-1618.
- Pothiraj, C., Balaji, P. and Eyini, M. 2006. Enhanced production of cellulases by various fungal cultures in solid state fermentation of cassava waste. *African Journal of Biotechnology*, 5(20) : 1882-1885.
- Prasertsan, P. and Doelle, W.H. 1986. Separation and characterization of endoglucanases From culture filtrate of *Cellulomonas* sp. *Appli. Microbiol, Biotechnol*, 24 : 326-333.
- Rao, M.N.A., Mithal, B.M., Thakkur, R.N. and Sastray, K.S.M. 1983. Solid state fermentation For cellulose production by *Peatalotiopsis versicolor*. *Biotechnology and Bioengineering*, 25 : 869-872.
- Ray, A. K., Bairagi, A., Sarkar ghosh, K. and Sen, S. K. 2007. Optimization of fermentation condition for cellulase production by *Bacillus subtilis* CY5 and *Bacillus circulans* TP3 isolated from fish gut. *Acta Ichthyologica ET Piscatoria*, 37(1) : 47-53.
- Riou, C., Simon, J. M., V, M. J., Gunata, Z. and Barre, P. 1998. Purification, characterization, and substrate specificity of a novel highly glucose-tolerant β -glucosidase from *Aspergillus oryzae*. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 64(10) : 3607-3614.
- Shahidi, F., Arachchi, J. K. V. and Jeon Y-J. 1999. Food applications of chitin and Chitosans. *Trends in Food Sciences and Technology*, 10 : 37-51.
- Singh, A., Agrawal, A.K., Abisi, A.B. and DarmWal, N.S. 1990. Properties of cellobiase from *Aspergillus niger*. *Appli. Microbiol. Biotechnol*, 34 : 356 - 358.
- Sigh, V. K. and Kumar, A. 1998. Production and purification of an extracellular cellulase from *Bacillus brevis* VS-1. *Biochemistry and Molecular Biology International*, 45(3) : 443-452.

เอกสารอ้างอิง (ต่อ)

- Stryer, L. 1988. **Biochemistry, 3rd edition.** W. H. Freeman and Company, New York.
- Stutzenberger, F. J. 1971. **Cellulase production by *Thermomonospora curvata* isolated from municipal solid waste compost.** *Applied Microbiology*, 22(2) : 147-152.
- Thomas, K. and Zeikus, J. G. 1981. **Comparison of extracellular cellulase activities Of *Clostridium thermocellum* LQRI and *Trichoderma reesei* QM9414.** *Applied and Environmental Microbiology*, 42(2) : 231-240.
- Yan, T. R. and Lin, C. L. 1997. **Purification and characterization of a glucose-tolerant β -glucosidase from *Aspergillus niger* CCRC 31494.** *Bioscience Biotechnology Biochemistry*, 61(6) : 965-970.



ภาคผนวก

ภาคผนวก ก ผลการทดลอง



ภาคผนวก ก

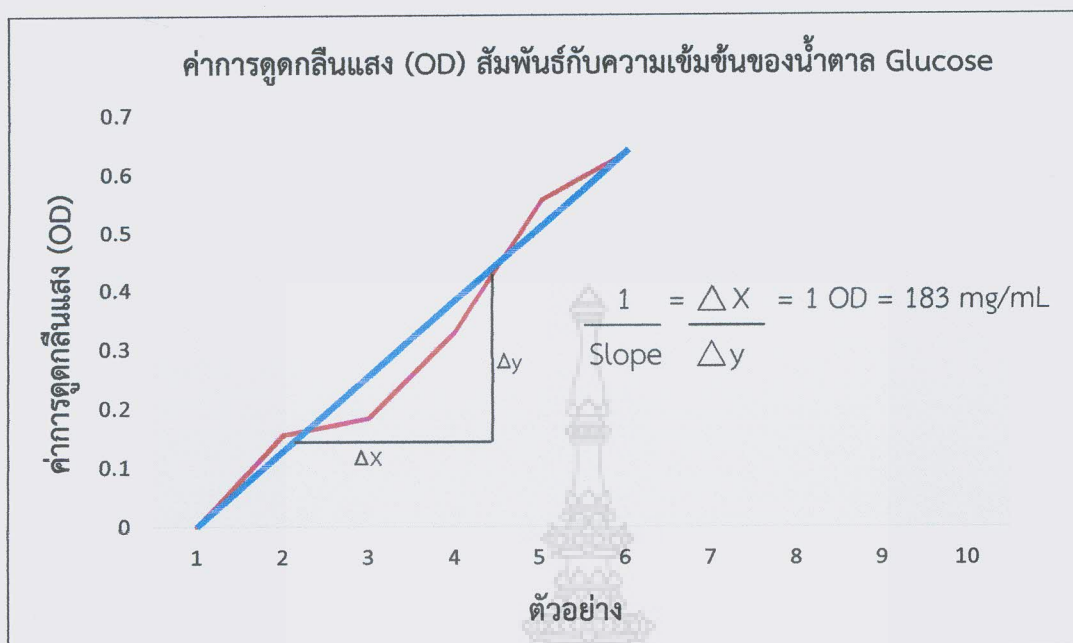
ผลการทดลอง

1. Standard Glucose

การเตรียม Standard Glucose โดยอาศัยหลักการค่าการดูดกลืนแสง (OD) สัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำตาล Glucose

ตาราง ก.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) สัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำตาล Glucose

ตัวอย่าง	ปริมาตร	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)
1	0 μ l + 5 ml	0
2	10 μ l + 5 ml	0.052
3	50 μ l + 5 ml	0.06
4	100 μ l + 4.9 ml	0.086
5	200 μ l + 4.8 ml	0.156
6	300 μ l + 4.7 ml	0.24
7	500 μ l + 4.5 ml	0.521
8	600 μ l + 4.4 ml	0.679
9	800 μ l + 4.2 ml	1.231
10	1,000 μ l + 4 ml	1.591



ภาพที่ ก.1 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) สัมพันธ์กับความเข้มข้นของน้ำตาล Glucose

2. ผลการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดเล็ก

2.1 ค่าการดูดกลืนแสง (OD) เพื่อบ่งบอกปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์จากการย่อยกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ตาราง ก.2 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) จากการย่อยกระดาษกรองด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)			
	ราชว (W)	ราน้ำตาล (Br)	น้ำหมักขนุน (MJ)	น้ำหมักทุเรียน (MD)
1	0.049	0.022	0.025	0.026
3	0.149	0.035	0.026	0.047
5	0.196	0.056	0.057	0.073
7	0.069	0.231	0.142	0.211
14	0.13	0.317	0.125	0.16
21	0.152	0.138	0.133	0.185
28	0.197	0.314	0.141	0.217
35	0.226	0.297	0.201	0.19
42	0.256	0.294	0.261	0.181

ตัวอย่างการคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ระยะเวลาการหมัก 1 วัน

ราขาว (W) $0.049 \text{ OD} = 0.049 \times 183 = 8.967 \text{ mg/mL}$

ราน้ำตาล (Br) $0.002 \text{ OD} = 0.002 \times 183 = 0.366 \text{ mg/mL}$

น้ำหมักขุ่น (MJ) $0.025 \text{ OD} = 0.025 \times 183 = 4.575 \text{ mg/mL}$

น้ำหมักทุเรียน (MD) $0.026 \text{ OD} = 0.026 \times 183 = 4.758 \text{ mg/mL}$

ระยะเวลาการหมัก 3 วัน

ราขาว (W) $0.149 \text{ OD} = 0.149 \times 183 = 27.267 \text{ mg/mL}$

ราน้ำตาล (Br) $0.035 \text{ OD} = 0.035 \times 183 = 6.405 \text{ mg/mL}$

น้ำหมักขุ่น (MJ) $0.026 \text{ OD} = 0.026 \times 183 = 4.758 \text{ mg/mL}$

น้ำหมักทุเรียน (MD) $0.047 \text{ OD} = 0.047 \times 183 = 8.601 \text{ mg/mL}$

ตาราง ก.3 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)			
	ราขาว (W)	ราน้ำตาล (Br)	น้ำหมักขุ่น (MJ)	น้ำหมักทุเรียน (MD)
1	8.967	4.026	4.575	4.758
3	27.267	6.405	4.758	8.601
5	35.868	10.248	10.431	13.359
7	12.627	42.273	25.986	38.613
14	23.79	58.011	22.875	29.28
21	27.816	25.254	24.339	33.855
28	36.051	57.462	25.803	339.711
35	41.358	54.351	36.783	34.77
42	46.848	53.802	47.763	33.123

ตาราง ก.4 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) จากการย่อยกระดาษกรองของตัวควบคุมต่างและน้ำ

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)	
	ต่าง (C)	น้ำ (CW)
1	0.289	0.003
3	0.609	0.022
5	0.452	0.037
7	0.678	0.051
14	1.084	0.068
21	0.625	0.081
28	0.581	0.096
35	0.301	0.101
42	0.164	0.137

ตาราง ก.5 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกล่องเครื่องดื่มด้วย
ตัวควบคุมต่างและน้ำ

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)	
	ต่าง (C)	น้ำ (CW)
1	52.887	0.549
3	111.447	4.026
5	82.716	6.771
7	124.074	9.333
14	198.372	9.333
21	114.375	14.823
28	106.323	17.568
35	55.083	18.483
42	30.012	25.071

2.2 ค่าการดูดกลืนแสง (OD) จากการย่อยกลองเครื่องตีด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ตาราง ก.6 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) จากการย่อยกลองเครื่องตีด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)			
	ราชว (W)	ราน้ำตาล (Br)	น้ำหมักขุ่น (MJ)	น้ำหมักทุเรียน (MD)
1	0.032	0.033	0.039	0.057
3	0.026	0.023	0.023	0.025
5	0.045	0.037	0.039	0.039
7	0.121	0.202	0.131	0.213
14	0.147	0.218	0.296	0.303
21	0.194	0.281	0.367	0.283
28	0.263	0.206	0.433	0.221
35	0.365	0.321	0.442	0.628
42	0.434	0.507	0.46	0.838

ตาราง ก.7 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกลองเครื่องตีด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)			
	ราชว (W)	ราน้ำตาล (Br)	น้ำหมักขุ่น (MJ)	น้ำหมักทุเรียน (MD)
1	5.856	6.039	7.137	10.431
3	4.758	4.209	4.209	4.575
5	8.235	6.771	7.137	7.137
7	22.143	36.966	23.973	38.979
14	26.901	39.894	54.168	55.449
21	35.502	51.423	67.161	51.789
28	48.129	37.698	79.239	40.443
35	66.795	58.743	80.886	114.924
42	79.422	92.781	84.18	153.354

ตาราง ก.8 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) จากการย่อยกลองเครื่องต้มของตัวควบคุมต่างและน้ำ

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)	
	ต่าง (C)	น้ำ (CW)
1	0.172	0.02
3	0.21	0.016
5	0.134	0.037
7	0.464	0.054
14	0.264	0.057
21	0.321	0.055
28	0.341	0.054
35	0.201	0.089
42	0.209	0.14

ตาราง ก.9 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกลองเครื่องต้มด้วยตัวควบคุมต่างและน้ำ

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)	
	ต่าง (C)	น้ำ (CW)
1	31.476	3.66
3	38.43	2.928
5	24.522	6.771
7	84.312	9.882
14	48.312	10.431
21	58.743	10.065
28	62.403	9.882
35	36.783	16.287
42	38.247	25.62

3. ผลการทดลองขั้นตอนการหมักขนาดกลาง

3.1 ค่าการดูดกลืนแสง (OD) จากการย่อยกลองเครื่องต้มด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ตาราง ก.10 แสดงค่าการดูดกลืนแสง (OD) จากการย่อยกลองเครื่องต้มด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)	
	รำน้าตาล (Br)	น้ำหมักทุเรียน (MD)
7	0.121	0.137
14	0.133	0.191
21	0.161	0.182
28	0.281	0.288

ตารางที่ ก.11 แสดงปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้จากการย่อยสลายกระดาษจากกลองเครื่องต้มด้วยเชื้อจุลินทรีย์

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (mg/mL)	
	รำน้าตาล (Br)	น้ำหมักทุเรียน (MD)
7	22.143	25.071
14	24.339	34.953
21	29.463	33.306
28	51.423	52.704

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวชฎาพร หัตถบุรณ์
วัน เดือน ปีเกิด	1 มีนาคม 2535
ภูมิลำเนา	อำเภอเมืองสมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ
ประวัติการศึกษา	
ระดับมัธยมศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนเทพศิรินทร์ สมุทรปราการ จังหวัดสมุทรปราการ
ระดับปริญญาตรี	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สาขาวิชาวิทยาการสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลพระนคร พ.ศ. 2556

