รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์
มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด

ชื่อโครงการ การพัฒนาหัวเชื้อย่อยสลายฟางข้าวจากแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส
รหัสโครงการ 192925

โดย

สุรชัย รัตนสุข
รุจิเรข บุญกาพิมพ์
มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

เดือน กันยายน ปี พ.ศ. 2567

งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567
จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

รายงานโครงการวิจัยฉบับสมบูรณ์
มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด

ชื่อโครงการ การพัฒนาหัวเชื้อย่อยสลายฟางข้าวจากแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส
รหัสโครงการ 192925

โดย

สุรชัย รัตนสุข
รุจิเรข บุญกาพิมพ์
มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

เดือน กันยายน ปี พ.ศ. 2567

งบประมาณสนับสนุนงานมูลฐาน (Fundamental Fund)
ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2567
จากกองทุนส่งเสริมวิทยาศาสตร์ วิจัยและนวัตกรรม

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) : การพัฒนาหัวเชื้อย่อยสลายฟางข้าวจากแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส
หัวหน้าโครงการ สุรชัย รัตนสุข
ผู้ร่วมโครงการวิจัย รุจิเรข บุญกาพิมพ์
คณะ ศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์
ประจำปี 2567

บทคัดย่อ

ฟางข้าวเป็นวัสดุเซลลูโลสเหลือใช้ทางการเกษตรที่สามารถใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตน้ำตาลจากการย่อยสลายของเซลลูเลสได้ เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่มีความสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลสให้ได้น้ำตาลกลูโคส การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลสจากดิน และศึกษากิจกรรมของเซลลูเลสจากแบคทีเรียที่คัดแยกได้ โดยทำการเก็บตัวอย่างดินจากพื้นที่มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด คัดเลือกแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลสด้วยอาหาร Luria-Bertani (LB) ที่มีส่วนผสมของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC) และทดสอบกิจกรรมของเซลลูเลสที่ค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่แตกต่างกัน ผลการศึกษาพบว่าสามารถคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลสได้ 4 ไอโซเลท และตั้งชื่อว่า SL1, SL2, SL3 และ SL4 การศึกษากิจกรรมของเซลลูเลสที่ค่าความเป็นกรด-ด่างและอุณหภูมิที่แตกต่างกันพบว่า แบคทีเรียไอโซเลท SL4 มีค่ากิจกรรมสูงสุดเท่ากับ 0.178 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 7 การระบุชนิดของแบคทีเรียโดยใช้ลำดับเบสของยีน 16S rRNA พบว่า SL4 คือเชื้อ *Bacillus paranthracis* โดยมีค่าความเหมือน 90.38% จากการใช้โปรแกรม EzBioCloud

คำสำคัญ : แบคทีเรียผลิตเซลลูเลส ย่อยสลายฟางข้าว *Bacillus paranthracis*

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

Research Title: Development of Rice Straw Degrading Inoculum from Cellulase-producing Bacteria
Researcher: Surachai Rattanasuk
Rujirek Boongapim
Faculty Liberal Arts and Science
Year: 2024

ABSTRACT

Rice straw is an agricultural cellulose waste material that can be used as a substrate for sugar production through the breakdown of cellulase. Cellulase is an important enzyme that plays a crucial role in breaking down cellulose into glucose. This study aimed to isolate cellulase-producing bacteria from soil and to investigate the cellulase activity of the isolated bacteria. Soil samples were collected from the area of Roi Et Rajabhat University, and cellulase-producing bacteria were selected using Luria-Bertani (LB) medium supplemented with carboxymethyl cellulose (CMC). The cellulase activity was tested at different pH levels and temperatures. The results showed that four isolates of cellulase-producing bacteria were obtained, named SL1, SL2, SL3, and SL4. The study of cellulase activity at different pH levels and temperatures revealed that isolate SL4 had the highest activity at 0.178 units per milliliter, at a temperature of 100°C and a pH of 7. The bacterial species identification using the 16S rRNA gene sequence showed that SL4 is *Bacillus paranthracis*, with a similarity of 90.38% according to the EzBioCloud program.

Keywords : Cellulase-producing bacteria, rice straw degradation, *Bacillus paranthracis*

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณ ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยา ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี คณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด ที่เอื้ออำนวยสถานที่ เครื่องมือและอุปกรณ์สำหรับการปฏิบัติงาน สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้

ขอขอบคุณ นางสาวลัดดา เศิกศิริ และนางสาวสุดาพร คันทมาตร์ ที่เป็นผู้ช่วยวิจัยในการวิจัยโครงการนี้และขอขอบคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ดที่สนับสนุนงบประมาณในการวิจัยในครั้งนี้

สุรชัย รัตนสุข
รุจิเรข บุญกาพิมพ์

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

สารบัญ

		หน้า
บทคัดย่อ(ภาษาไทย)		i
บทคัดย่อ(ภาษาอังกฤษ)		ii
กิตติกรรมประกาศ		iii
สารบัญ		iv
สารบัญตาราง		vi
สารบัญภาพ		vii
บทที่		
1	**บทนำ**	1
	1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย	1
	1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	1.3 ขอบเขตของงานวิจัย	2
	1.4 สมมติฐานงานวิจัย	2
	1.5 ขอบเขตของการวิจัย	2
	1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
	1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ	3
2	**เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง**	4
	2.1 เซลลูโลส (cellulose)	4
	2.2 โครงสร้างของเซลลูโลส	5
	2.3 ชนิดของเซลลูโลส	5
	2.4 เทคโนโลยี Pre-treatment สำหรับวัสดุที่มีเซลลูโลสสูง	6
	2.5 คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส	9
	2.6 จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส	10
	2.7 แบคทีเรียเซลลูเลส	11
	2.8 เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)	12
	2.9 การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส	14
	2.10 การสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส	15
	2.11 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส	15
	2.12 การวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส	16
	2.13 ประโยชน์ของเซลลูเลส	17
	2.14 ฟางข้าว	18
	2.15 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	19
3	**วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย**	22
	3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	22
	3.2 วิธีการทดลอง	23

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 2/02/2025
โดย Choonaja Shabo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TUIR)

สารบัญ (ต่อ)

บทที่		หน้า
4	**ผลการวิจัย**	26
	4.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส	26
	4.2 การศึกษากิจกรรมความจำเพาะต่อ pH ของเซลลูเลส	26
	4.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเซลลูเลส	28
	4.4 การศึกษาการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลส	31
	4.5 การศึกษาการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรีย	33
	4.6 ผลการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอริเมอเรสที่จำเพาะของยีน *16S rRNA*	35
	4.7 ผลการเปรียบเทียบระดับดีเอ็นเอนกับเชื้อมาตรฐาน	37
	4.8 ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์การย่อยสลายฟางข้าว	37
5	**สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล**	39
	5.1 สรุปผลการวิจัย	39
	5.2 อภิปรายผล	39
บรรณานุกรม		41
ภาคผนวก		46
ภาคผนวก ก	การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย	47
ภาคผนวก ข	กราฟน้ำตาลกลูโคสมาตราฐาน	50
ประวัตินักวิจัย		51

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสในสารชีวมวล	6
2.2	จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้	11
2.3	ผลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย	12
2.4	การย่อยสลายสารตั้งต้นโดยเซลลูเลส	14
4.1	ผลการเปรียบเทียบระดับดีเอ็นเอกับเชื้อมาตรฐานในฐานข้อมูล EzBioCloud	37
4.2	ผลวัดน้ำตาลการย่อยสลายฟางข้าว	38

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	โครงสร้างเซลลูโลสของพืช	4
2.2	การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะ β-1,4 glycosidic	5
2.3	เส้นใยเซลลูโลสในผนังเซลล์พืชเซลลูโลส	6
2.4	โครงสร้างโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส	10
2.5	แสดงโครงสร้างโมเลกุลของเอนไซม์เซลลูเลส	13
2.6	การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส	15
2.7	การย่อย และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส	17
2.8	ลักษณะโครงสร้างพืชลิกโนเซลลูโลส	18
4.1	การเกิดวงใสบนอาหารแข็ง LB +1%CMC ที่ราดด้วยสารละลายไอโอดีน	26
4.2	กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL1 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	27
4.3	กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL2 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	27
4.4	กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL3 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	28
4.5	กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL4 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส	28
4.6	กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL1 ที่ค่า pH 7 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส	29
4.7	กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL2 ที่ค่า pH 8 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส	29
4.8	กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL3 ที่ค่า pH 8 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส	30
4.9	กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL4 ที่ค่า pH 7 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส	30
4.10	กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL1 ที่ pH 7 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส	31
4.11	กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL2 ที่ pH 8 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	32
4.12	กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL3 ที่ pH 7 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส	32
4.13	กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL4 ที่ pH 8 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส	33
4.14	ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL1	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่ 26/02/2025
โดย Chonnajar Sirabodee
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
4.15	ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL2	34
4.16	ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL3	35
4.17	ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL4	35
4.18	อะกาโลสเจลแสดงขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR เปรียบเทียบกับ 1 Kb DNA marker	35
4.19	การย่อยสลายฟางข้าววันที่ 9	

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาการวิจัย

ข้าวเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญของประเทศไทยซึ่งปลูกมากในทุกภูมิภาค โดยมีพื้นที่ปลูกข้าวรวมประมาณ 65 ล้านไร่ หรือประมาณร้อยละ 20 ของพื้นที่ทั้งหมดของประเทศ ให้ผลผลิตข้าวเฉลี่ยปีละประมาณ 24 ล้านตัน นอกจากนี้ยังมีการผลิตฟางข้าวเฉลี่ยประมาณ 25.45 ล้านตันต่อปี และตอซังข้าวที่เหลือในนาข้าวประมาณ 16.9 ล้านตันต่อปี โดยพบว่าภาคตะวันออกเฉียงเหนือมีปริมาณฟางข้าวและตอซังข้าวมากที่สุด จำนวน 13.7 และ 9.1 ล้านตันต่อปี ตามลำดับ รองลงมาคือภาคกลางและภาคตะวันออกซึ่งมีฟางข้าวและตอซังข้าวจำนวน 6.2 และ 4.1 ล้านตันต่อปี และในพื้นที่ปลูกข้าว 1 ไร่ จะมีฟางข้าวและตอซังข้าวเฉลี่ยปีละ 650 กิโลกรัม (บัณฑิต และคณะ, 2556)

ในปัจจุบัน ฟางข้าวและตอซังข้าวที่เหลือจากการเกษตรถูกนำมาอัดเป็นฟ่อนเพื่อใช้ประโยชน์ในด้านต่าง ๆ เช่น อาหารสัตว์ การทำปุ๋ยหมัก และการเพาะเห็ดฟาง อย่างไรก็ตาม เนื่องจากฟางข้าวมีคุณค่าทางโภชนาการต่ำ จึงไม่ค่อยถูกนำไปใช้เป็นอาหารสัตว์เท่าที่ควร เกษตรกรส่วนใหญ่จึงเลือกวิธีเผาฟางข้าวและตอซังข้าวทิ้งเพื่อเตรียมพื้นที่สำหรับการเพาะปลูกในฤดูกาลถัดไป (ณัฐวุฒิ และคณะ, 2560) อย่างไรก็ตาม การเผาฟางข้าวและตอซังข้าวได้สร้างปัญหาหมอกควันและฝุ่นละอองในประเทศไทยอย่างต่อเนื่อง ไม่เพียงแต่ส่งผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมและสุขภาพของประชาชนเท่านั้น แต่ยังส่งผลกระทบต่อคุณภาพของดินอีกด้วย การเผาฟางข้าวและตอซังข้าวหลังฤดูกาลเก็บเกี่ยวทำให้มีการปล่อยคาร์บอนไดออกไซด์จากพื้นดินสู่บรรยากาศเพิ่มขึ้น ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดภาวะโลกร้อน นอกจากนี้ยังทำให้ปริมาณไนโตรเจนในดินและจำนวนจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ลดลง ส่งผลให้สูญเสียธาตุอาหารที่ควรจะหมุนเวียนลงสู่ดิน (Kanittha et al., 2011)

ฟางข้าวเป็นชีวมวลประเภทลิกโนเซลลูโลสที่ประกอบด้วยสารสำคัญ ได้แก่ เซลลูโลส 32-47%, เฮมิเซลลูโลส 19-27%, และลิกนิน 5-24% (Yoswathana et al., 2010) โครงสร้างของเซลลูโลสสามารถถูกย่อยสลายได้ด้วยเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส ซึ่งผลิตโดยสิ่งมีชีวิตหลายชนิด เช่น ฟังไจ, แบคทีเรีย, และแอคติโนมัยซิท อย่างไรก็ตาม แบคทีเรียเป็นสิ่งมีชีวิตที่ถูกนำมาใช้ประโยชน์มากที่สุด เนื่องจากแบคทีเรียเจริญเติบโตได้ง่าย มีเวลาการแบ่งตัวสั้น ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาถูก และสามารถผลิตเอนไซม์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและเสถียร (Mawadza et al., 2000) ในธรรมชาติพบว่า มีแบคทีเรียหลายชนิดที่มีบทบาทสำคัญในการย่อยสลายเซลลูโลส ตัวอย่าง เช่น *Acetovibrio* sp., *Acidothermus* sp., *Anoxybacillus* sp., *Actinobacter* sp., *Butyrivibrio* sp., *Bacillus* sp., *Bacteriodes* sp., *Cellvibrio* sp., *Cytophaga* sp., *Clostridium* spp., *Vibrio* sp., *Corynebacterium* sp., *Eubacterium* sp., *Fibrobacter* sp., *Geobacillus* sp., *Microbispora* sp., *Paenibacillus* sp., *Polyangium* sp., *Pseudomonas* sp., *Rhodothermus* sp., และ *Ruminococcus* sp., และ *Kocuria* sp. เป็นต้น (Yung-Chung Lo et al., 2009) เอนไซม์เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายเซลลูโลสให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน เช่น การลดมลภาวะในสิ่งแวดล้อม เช่น การบำบัดน้ำเสียและการย่อยสลายพืชที่มีเซลลูโลส (ทิพวรรณ แตงสวน, 2554) ในงานวิจัยครั้งนี้ จึงมีการคัดแยกแบคทีเรียจากดินที่สามารถผลิตเซลลูเลสได้ เพื่อนำมาใช้พัฒนาเป็นหัวเชื้อสำหรับการย่อยสลายฟางข้าวที่เหลือหลังฤดูกาลเก็บเกี่ยว เพื่อลดปัญหาการเผาฟางข้าวซึ่งก่อให้เกิดมลภาวะทางอากาศ อีกทั้งยังช่วยปรับสภาพดินให้ดีขึ้น ซึ่งจะส่งผลให้การผลิตข้าวเพิ่มขึ้นได้

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในการศึกษาเท่านั้น เมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Chonlasi Sabo
จากระบบฐานข้อมูลงานวิจัยแห่งชาติ (TNR)

1.2 วัตถุประสงค์ของการวิจัย

1.2.1 เพื่อคัดแยกแบคทีเรียจากดินที่สามารถผลิตเซลลูเลสได้

1.2.2 เพื่อศึกษากิจกรรมเซลลูเลสจากแบคทีเรียที่คัดแยกได้

1.2.3 เพื่อพัฒนาหัวเชื้อที่ใช้ในการย่อยสลายฟางข้าวได้

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

กิจกรรม	ต.ค.	พ.ย.	ธ.ค.	ม.ค.	ก.พ.	มี.ค.	เม.ย.	พ.ค.	มิ.ย.	ก.ค.	ส.ค.	ก.ย.
กิจกรรมที่ 1 : การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส	✓	✓										
กิจกรรมที่ 2 : การศึกษากิจกรรมความจำเพาะต่อ pH ของเซลลูเลส			✓	✓								
กิจกรรมที่ 3 : การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเซลลูเลส					✓	✓						
กิจกรรมที่ 4 : การศึกษาการทนต่อความร้อนของเซลลูเลส							✓	✓				
กิจกรรมที่ 5 : วิธีการศึกษาการย้อมสีแกรมของแบคทีเรีย									✓	✓		
กิจกรรมที่ 6 : วิธีการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอริเมอเรสที่จำเพาะของยีน *16S rRNA*											✓	
กิจกรรมที่ 7: สรุปและจัดทำเล่มรายงาน											✓	✓

1.4 สมมติฐานงานวิจัย

สามารถคัดแยกแบคทีเรียจากดินที่ผลิตเซลลูเลสและพัฒนาเป็นหัวเชื้อที่ใช้ในการย่อยสลายฟางข้าวได้

1.5 ขอบเขตของการวิจัย

เก็บตัวอย่างดินจำนวน 3 ตัวอย่างจากบริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด ได้แก่ บริเวณตึกคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์, บ้านพักอาจารย์, และอาคารเทคโนโลยีและวัตกรรมการเกษตร เพื่อนำมาคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส โดยนำตัวอย่างดินมาผสมในอาหารเหลว LB จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส และเขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำมา streak ลงบนอาหารแข็ง LB และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนำมาคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูเลสได้ โดยการจุดเชื้อบนอาหารแข็ง LB+1% CMC และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นราดด้วยสารละลายไอโอดีนเพื่อตรวจสอบการผลิตเซลลูเลส ซึ่งจะพบวงใสรอบโคโลนีของเชื้อที่ผลิตเซลลูเลสได้ นำเชื้อที่ผลิตเซลลูเลสไป streak บนอาหารแข็ง LB และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำเชื้อไปเลี้ยงต่อในอาหารเหลว LB+1% CMC เขย่าที่ความเร็ว 150 รอบต่อนาที และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที เพื่อนำส่วนใสไปทดสอบกิจกรรมเซลลูเลส โดยทดสอบ

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Chaoalak Sraboo
สำนักงานกองทุนส่งเสริมงานวิจัยไทย (TNRR)

ความจำเพาะต่อ pH ของเซลลูเลสโดยใช้ CMC pH 4 – pH 8 และบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส รวมถึงทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเซลลูเลสโดยใช้อุณหภูมิ 50 – 100 องศาเซลเซียส นอกจากนี้ยังทดสอบความทนต่อความร้อนโดยบ่มส่วนใสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 50 – 100 องศาเซลเซียส ก่อนนำไปทดสอบกิจกรรม หลังจากนั้นจัดจำแนกสายพันธุ์แบคทีเรียที่คัดแยกได้โดยการวิเคราะห์ลำดับดีเอ็นเอของยีน 16S rRNA และนำเชื้อแบคทีเรียที่คัดแยกได้ไปพัฒนาเป็นหัวเชื้อสำหรับย่อยสลายฟางข้าว

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ทราบความหลากหลายของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลสและสามารถพัฒนาเป็นหัวเชื้อสำหรับการย่อยสลายฟางข้าวหรือวัสดุเซลลูโลสทางการเกษตรด้วยแบคทีเรียที่คัดแยกได้

1.7 นิยามศัพท์เฉพาะ

ฟางข้าว คือชีวมวลที่จัดเป็นวัตถุประเภทลิกโนเซลลูโลสมีส่วนประกอบหลัก ได้แก่ เซลลูโลส 32-47 เปอร์เซ็นต์ เฮมิเซลลูโลส 19-27 เปอร์เซ็นต์ และลิกนิน 5-24 เปอร์เซ็นต์(Yoswathana et al., 2010)

เซลลูโลส เป็นสารประกอบพอลิแซ็คคาไรค์ ($[C_6H_{12}O_6]_n$) ประกอบด้วยหน่วยย่อย คือ D-glucose หรือ anhydroglucopyranose เชื่อมต่อกันด้วยพันธะ β-1,4-glucosidic linkage มีจำนวนกลูโคส 2,000 – 14,000 หน่วย โครงสร้างของเซลลูโลสเรียกว่า ไฟบริล (สัญทัศน์ สินจรูญศักดิ์, 2554)

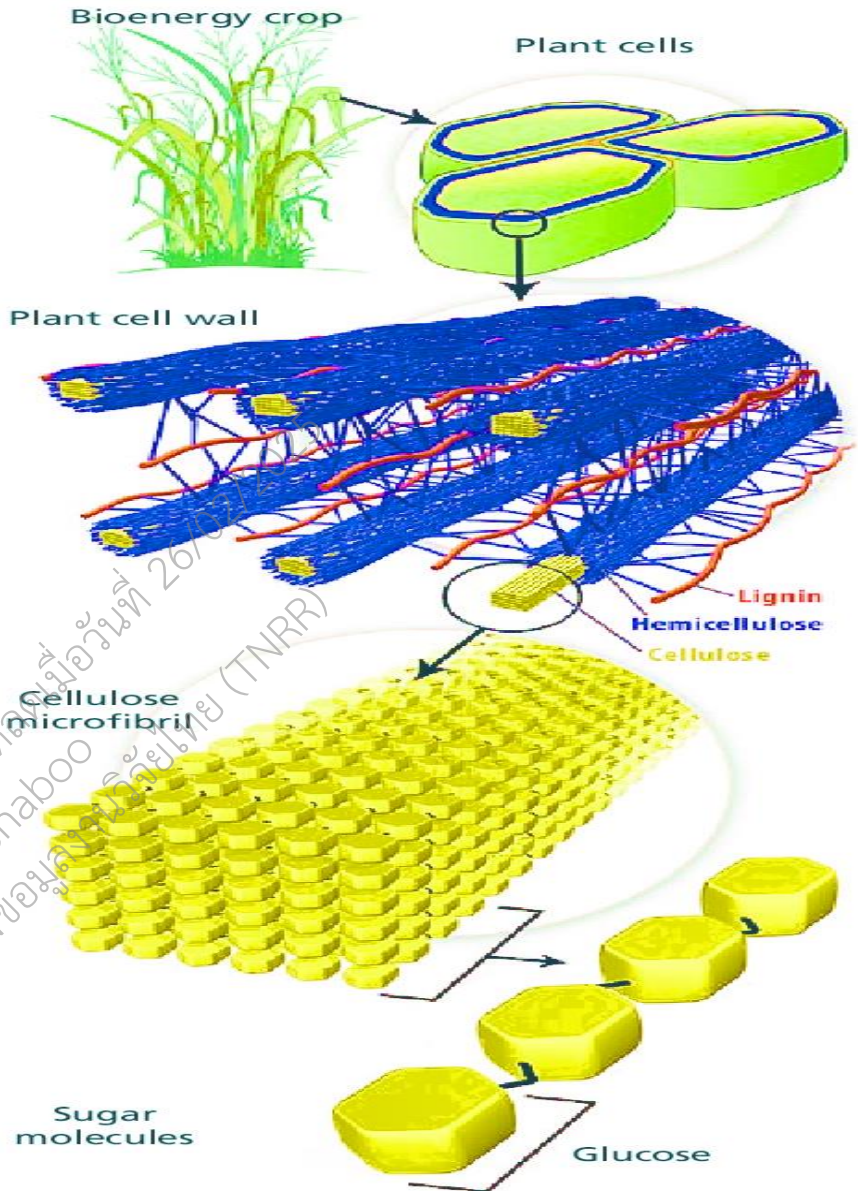
เซลลูเลส คือ เอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยเซลลูโลสทำหน้าที่ตัดพันธะไกลโคซิดิกในเซลลูโลส ทำให้เกิดการสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ผลิตได้โดยสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น ข้าวมอลต์ ข้าวบาร์เลย์ ใบยาสูบ ไส้เดือนดิน ปลวก หอยทาก แบคทีเรียและรา เป็นต้น (ณิษา และคณะ, 2561)

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เซลลูโลส (cellulose)

เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลักที่พบมากที่สุดในพืช คิดเป็นประมาณ 45% ของสารอินทรีย์ทั้งหมดในธรรมชาติ พบได้ในผนังเซลล์ของพืชทุกชนิด โดยเฉพาะในพืชชั้นสูงซึ่งผนังเซลล์มีเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลักกว่า 97-99% เซลลูโลสมีบทบาทสำคัญในการช่วยให้พืชมีโครงสร้างที่แข็งแรง ในธรรมชาติ เซลลูโลสมักไม่พบในรูปแบบอิสระ แต่จะพบรวมอยู่กับสารอื่น ๆ เช่น ลิกนิน, เฮมิเซลลูโลส, กัม, เพนโตแซน, แทนนิน, ไขมัน, และสารที่ให้สีในพืช (อรุณรัตน์ อุทัยคู, 2561) (ภาพที่ 2.1)

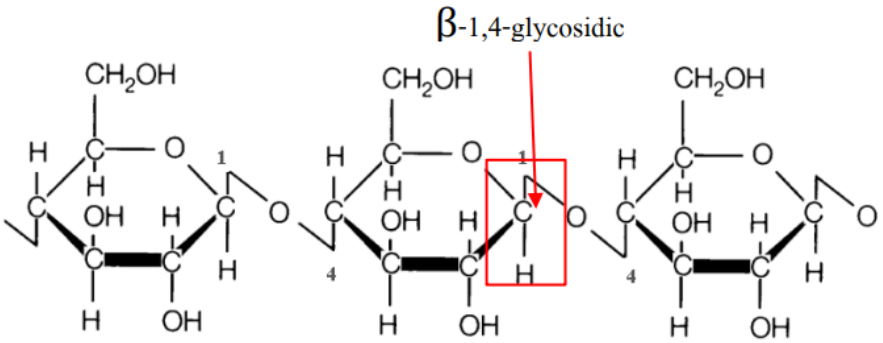


เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/07/2
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างเซลลูโลสของพืช
ที่มา : Lertwattanasakul N., 2012

2.2 โครงสร้างของเซลลูโลส

เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพ (Biopolymer) มีสูตรโมเลกุลคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ ประกอบด้วยสารคาร์โบไฮเดรต (Carbohydrate) ประเภทพอลิแซ็คคาไรด์ (Polysaccharide) ชนิดโฮโมพอลิแซ็คคาไรด์ (Homopolysaccharide) ที่มีน้ำหนักโมเลกุลสูง (สุภาวดี ผลประเสริฐ, 2557) มีการจัดเรียงตัวกันอย่างเป็นระเบียบ โดยเซลลูโลสจะมีหน่วยซ้ำที่เรียกว่าเซลโลไบโอส (Cellobiose) และทุก ๆ หน่วยที่สองของกลูโลสที่ต่อกันในโมเลกุลของเซลลูโลสเกิดเป็นพันธะไฮโดรเจนระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลในโมเลกุลกลูโคสดังภาพที่ 2.2 ทำให้เซลลูโลสมีความแข็งแรง มีอุณหภูมิการหลอมตัวสูงและไม่สามารถละลายได้ในสารละลายอินทรีย์ทั่วไป (อุษารัตน์ รัตนคำนวณ, 2557)



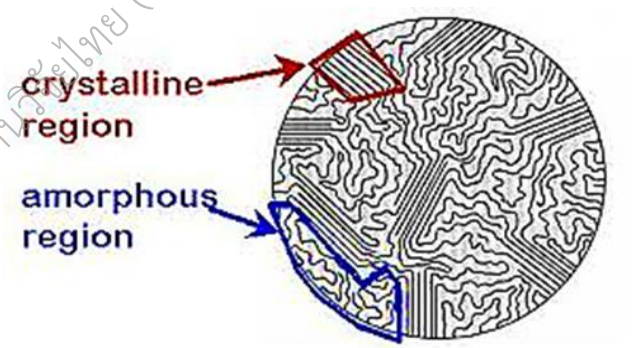
ภาพที่ 2.2 การเชื่อมต่อโมเลกุลของกลูโคสในสายเซลลูโลสด้วยพันธะ β-1,4 glycosidic
ที่มา : บัญญัติ เฉิดฉิ้ม, 2556

โครงสร้างของเซลลูโลส เรียกว่า ไฟบริล (Fibril) แบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ

- ส่วนของ crystalline โครงสร้างจัดเรียงกันอย่างเป็นระเบียบ มีจำนวนเซลลูโลส คิดเป็นร้อยละ 30-40 ของลิกโนเซลลูโลส

- ส่วนของ amorphous โครงสร้างจัดเรียงกันอย่างไม่เป็นระเบียบ เป็นส่วนที่ดูดซับน้ำได้ดี สามารถย่อยสลายได้ง่ายกว่า แสดงดังภาพที่ 2.3

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)



ภาพที่ 2.3 เส้นใยเซลลูโลสในผนังเซลล์พืชเซลลูโลส
ที่มา: Hans Walter., 2005

2.3 ชนิดของเซลลูโลส

ชนิดของเซลลูโลสแบ่งได้ตามความสามารถในการละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ได้เป็น 3 ชนิด คือ

- แอลฟา-เซลลูโลส (α-cellulose) คือ เซลลูโลสที่ไม่สามารถละลายในสารละลาย โซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์

- เบต้า-เซลลูโลส (β-cellulose) คือ เซลลูโลสที่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิห้องแต่สามารถตกตะกอนได้ง่ายในสารละลายที่มีสภาพ เป็นกรด

- แกรมม่า-เซลลูโลส (γ-cellulose) คือ เซลลูโลสที่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 17.5 เปอร์เซ็นต์ สารละลายกรด และสามารถตกตะกอนได้โดยใช้แอลกอฮอล์

เซลลูโลสสามารถพบได้ในเซลล์พืชและแบคทีเรีย สำหรับผนังเซลล์พืช (Plant cell wall structure) เช่น ผัก ผลไม้ เมล็ดธัญพืช หรือเส้นใยพืช (Vegetable fibers) ประกอบด้วยโครงสร้างพอลิเมอร์ 3 ชนิดคือ เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนิน หรือเรียกว่า ลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) (ตารางที่ 2.1) โดยปริมาณของเซลลูโลสในพืชขึ้นอยู่กับการเจริญเติบโต สายพันธุ์ของพืชและชนิดพืช เช่น ฟางข้าว ชานอ้อย ซังข้าวโพด ต้นมันสำปะหลัง มีปริมาณของเซลลูโลสเฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่แตกต่างกัน แสดงดังตารางที่ 1 เซลลูโลสอยู่รวมกับเฮมิเซลลูโลสและเพกทิน เพื่อทำหน้าที่เสริมสร้างโครงสร้างของลำต้นของพืชให้มีความแข็งแรงมากขึ้น นอกจากนี้เซลลูโลสจัดเป็น เส้นใยอาหาร (Dietary fiber) ชนิดที่ไม่ละลายในน้ำและไม่สามารถย่อยได้ด้วยเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ และสัตว์กระเพาะเดี่ยว (พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์, 2554)

ตารางที่ 2.1 องค์ประกอบของลิกโนเซลลูโลสในสารชีวมวล

ชีวมวล	ส่วนประกอบของลิกโนเซลลูโลสภายในพืช (%)		
	เซลลูโลส	เฮมิเซลลูโลส	ลิกนิน
ฟางข้าว	32.1	24.0	12.5
ฟางข้าวสาลี	30.5	28.4	18.0
ชานอ้อย	33.4	30.0	18.9
ซังข้าวโพด	45.0	35.0	15.0
ต้นปาล์ม	37.14	30.59	22.32
ต้นมันสำปะหลัง	32.2	13.85	26.96

ที่มา : พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์, 2554

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Chonnalai Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TUBR)

2.4 เทคโนโลยี Pre-treatment สำหรับวัสดุที่มีเซลลูโลสสูง

เซลลูโลสเป็นสารประกอบอินทรีย์ที่มีการนำมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน ได้แก่ การนำเซลลูโลสไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมทำเยื่อกระดาษและกระดาษ อุตสาหกรรมทอผ้า มีรายงานการใช้เซลลูโลสในการผลิตแอลกอฮอล์ เป็นต้น จึงมีความจำเป็นต้องมีการย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นสารที่มีโมเลกุลเล็กลง หรือในบางครั้งจำเป็นต้องให้ได้เป็นน้ำตาลกลูโคสการย่อยสลายเซลลูโลสทำได้หลายวิธี เช่น การย่อยสลายด้วยวิธีทางกายภาย การย่อยสลายด้วยวิธีทางเคมี และการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (คัทลียา ยุรยาตร์, 2556)

2.4.1 Mechanical pretreatment

เป็นการลดขนาดของวัตถุดิบหรือการเพิ่มพื้นที่ เพื่อให้เซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสที่อยู่ข้างในถูกย่อยสลายได้มากขึ้น โดยการหั่น การสับ การทุบ หรือการบดด้วยลูกบอลหรือลูกกลิ้ง จัดว่าเป็นวิธีการที่ให้ผลสำเร็จเป็นอย่างดีและมีต้นทุนต่ำ และยังช่วยลดปริมาณการใช้เอนไซม์ในการช่วยย่อยเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสให้เปลี่ยนไปเป็น กลูแคน และไซแลน ในขั้นตอนต่อไป

2.4.2 Physical pretreatment

การเพิ่มอุณหภูมิและการแผ่รังสีเป็นวิธีการทางกายภาพที่ประสบผลสำเร็จมากที่สุดวิธีหนึ่ง เรียกว่า Thermogravimeric treatment โดยเพิ่มอุณหภูมิเป็น 1,100 องศาเคลวิน ภายใต้สภาวะทั้งที่มีก๊าซเฉื่อยและตัวออกซิแดนท์สามารถทำให้เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินย่อยสลายได้ดี ส่วนวิธีการเผาแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Pyrolysis) พวกเปลือกถั่วชนิดต่าง ๆ ฟางข้าว หรือขี้เลื่อยที่อุณหภูมิ 600 - 1,200 องศาเคลวิน ให้ผลิตภัณฑ์ที่เป็นถ่าน ของเหลว และก๊าซมากกว่าวิธีธรรมดาทั่วไป 55 เปอร์เซ็นต์ สำหรับการแผ่รังสีด้วยคลื่นไมโครเวฟที่ 700 วัตต์ ด้วยเวลานานต่างกัน พบว่ามีการสูญเสียน้ำหนักของวัตถุดิบไป เนื่องจากมีการสลายตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินแต่ทำให้อัตราการย่อยสลายโดยใช้ด่างร่วมด้วยเพิ่มขึ้น นอกจากนี้การใช้รังสีแกรมม่าขนาด 500 กิโลเกรย์ ทำให้โครงสร้างของฟางข้าวสาลีที่ป่นเป็นผงขนาด 140 เบอร์เมช แตกตัวให้ผลผลิตน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นอีก 13.40 เปอร์เซ็นต์

2.4.3 Physicochemical pretreatment

การรวมกันระหว่างวิธี Chemical และ Physical treatment มีส่วนสำคัญในการละลายน้ำของเฮมิเซลลูโลส และลิกนินที่ถูกแปลงโครงสร้างแล้วเป็นผลทำให้การแตกตัวของเซลลูโลสในขั้นตอน hydrolysis เพิ่มขึ้น Physicochemical pretreatment ร่วมกับ Thermochemical treatment เช่นวิธี Steam explosion, ammonia fiber explosion, CO_2 explosion, SO_2 explosion อุณหภูมิที่ใช้อยู่ระหว่าง 160 - 260 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 0.69 - 4.83 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ที่มีไอน้ำ เป็นเวลา 2 - 3 นาที ก่อนที่จะปรับลดลงมาอยู่ที่ความดันปกติวิธี wet oxidation pretreatment ที่อุณหภูมิระหว่าง 200 - 210 องศาเซลเซียส และมีการเติมด่างหรือ Na_2CO_3 ทำให้การละลายของสารพวกลิกโนเซลลูโลสดีขึ้น และยังทำให้การผลิตผลิตภัณฑ์เพิ่มมูลค่า (value-added products) โดยการใช้เอนไซม์ต่าง ๆ ให้ผลดีขึ้นส่วนวิธี Liquid hot water (LHW) pretreatment โดยการใช้น้ำร้อนที่อุณหภูมิ 170 - 230 องศาเซลเซียส ความดัน 5 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลาหลายนาที จึงปรับคืนสู่ความดันปกติทำให้เฮมิเซลลูโลสในพวกชานอ้อย เส้นใยข้าวโพด และฟางข้าวต่าง ๆ แตกตัวเป็นไซโลสได้ถึง 45 - 65 เปอร์เซ็นต์

2.4.4 Chemical pretreatment

สารเคมีตั้งแต่พวก oxidizing agents พวกกรดต่าง ๆ ไปจนกระทั่งถึงด่าง หรือเกลือ สามารถย่อยสลายเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินได้และสามารถทำภายใต้ความดัน และอุณหภูมิปกติได้ ตัวอย่าง เช่น

- **Alkaline treatment;** sodium hydroxide, ammonia, ammonium sulfite
- **Acid treatment;** sulphuric acid, hydrochloric acid, phospholic acid
- **Gas treatment;** chlorine dioxide, nitrogen dioxide, Sulphur dioxide
- **Addition of oxidizing agents;** hydrogen peroxide, ozone
- **Solvent extraction of lignin;** ethanol-water extraction, benzene-water extraction, Ethylene glycol extraction, butanol-water extraction, swelling agents

การย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรด (acid hydrolysis) ได้ทำกันมานานแล้วด้วยวัตถุประสงค์ที่จะได้ผลิตภัณฑ์สุดท้าย คือ น้ำตาล แต่จากการย่อยเซลลูโลสด้วยกรดจะได้สารประกอบ

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดมาเมื่อ 27/09/2023
โดย Chonnanat Shabong
จากระบบคลังปัญญาดิจิทัล (NURA)

furfural และอนุพันธ์ของ furfural ซึ่งไม่พึงประสงค์เกิดขึ้น วิธีการย่อยสลายเซลลูโลสด้วยกรดประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกเป็นขั้นตอนการใช้กรดเข้าไปทำลายโครงสร้างของเซลลูโลส โดยกรดจะเป็น swelling agent คือทำให้เซลลูโลสพองตัว ขั้นที่สองเป็นการเติมน้ำ เพื่อลดความเป็นกรด จากนั้นให้ความร้อนซึ่งมีผลทำให้เซลลูโลสถูกตัดเป็นโมเลกุลเล็กลง คือ น้ำตาล ปัจจัยที่มีผลต่อการย่อยสลายเพื่อให้โครงสร้างประเภทผลึก ซึ่งทนต่อการย่อยด้วยกรดเกิดการแตกตัวให้หมดด้วยกรด กรดที่นิยมได้แก่ กรดซัลฟูริกเข้มข้น 72 เปอร์เซ็นต์ กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 41 เปอร์เซ็นต์ หรือกรดฟอสฟอริกเข้มข้น 80 เปอร์เซ็นต์ (คัทลียา ยุรยาตร์, 2556)

การย่อยสลายด้วยการใช้กรดจะไม่เป็นที่นิยมเนื่องจากปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยกรดไม่มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้นบางครั้งก่อให้เกิดปฏิกิริยาอื่น ๆ เช่น ปฏิกิริยาการดึงน้ำและปฏิกิริยาการย่อยสลายน้ำตาลที่เป็นผลิตภัณฑ์ เป็นต้น นอกจากนี้กรดที่ใช้อาจมีผลเกิดการกัดกร่อนอุปกรณ์ต่าง ๆ อีกด้วย การอาศัยปฏิกิริยาทางเคมีในการทำลายโครงสร้างของวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรซึ่งจะเป็นกระบวนการทำงานร่วมกันระหว่างการใช้สารเคมีและกระบวนการ pretreatment อื่น ๆ ร่วมด้วย

การย่อยด้วยกรดเจือจาง

การใช้กรดเจือจางในการย่อยเป็นอีกวิธีการหนึ่งที่นิยมใช้ในการปรับสภาพ โดยทั่วไปการใช้กรดเจือจางในการย่อยมี 2 ชนิด คือ การใช้อุณหภูมิสูงและอัตราการเติมตัวอย่าง ชนิดที่มีปริมาณของแข็งต่ำในกระบวนการต่อเนื่อง อุณหภูมิสูงกว่า 160 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสับสเตรท 5 - 10 ส่วน เปอร์เซ็นต์ อีกวิธีการหนึ่ง คือการใช้อุณหภูมิต่ำในกระบวนการแบบ batch สำหรับตัวอย่างที่มีปริมาณของแข็งสูง ใช้อุณหภูมิต่ำกว่า 160 องศาเซลเซียส และความเข้มข้นของสับสเตรท 10 - 40 เปอร์เซ็นต์ กรดเจือจางส่วนใหญ่เป็นกรดซัลฟิวริกที่นำไปฉีดพ่น ลงบนวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือผสมให้เข้ากันภายใต้อุณหภูมิ 160 - 220 องศาเซลเซียส ในระยะเวลาสั้นเมื่อเกิดกระบวนการย่อยเฮมิเซลลูโลสจะเกิดการปลดปล่อย monomeric sugars และ soluble oligomers จากผนังเซลล์เข้าสู่สารละลาย โดยการนำเฮมิเซลลูโลสออกนั้นจึงเป็น การเพิ่มรูพรุนแก่วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและยังช่วยให้เอนไซม์ทำงานได้ดีขึ้น (Chen *et al*., 2009) การย่อย จึงเป็นกระบวนการหนึ่งที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายน้ำตาลเฮมิเซลลูโลส แต่ข้อเสีย คือน้ำตาล เฮมิเซลลูโลสอาจถูกย่อยให้เปลี่ยนเป็น furfural และ hydroxymethyl furfural ได้ซึ่งจัดเป็นตัวยับยั้งการหมักของจุลินทรีย์ได้อย่างไรก็ตามการใช้กรดในการย่อยเหมาะกับวัตถุดิบที่มีปริมาณลิกนินต่ำ หรือมีการนำลิกนินออกจากวัตถุดิบแล้ว (คัทลียา ยุรยาตร์, 2556)

การย่อยด้วยกรดเข้มข้น

การใช้กรดเข้มข้น เช่น กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4) และกรดไฮโดรคลอริก (HCl) เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการย่อยวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร เนื่องจากเป็นสารที่มีประสิทธิภาพ ในการย่อยสลายเซลลูโลสได้ดี (Sun and Cheng., 2002) การย่อยด้วยกรดเข้มข้นจะได้ปริมาณผลิตภัณฑ์มากแต่จะไม่มีความจำเพาะต่อสารตั้งต้น

2.4.5 Biological pretreatment

เป็นการ pretreatment ที่ต้องพึ่งพาจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่เป็นแบคทีเรียและเชื้อรา รวมทั้งเอนไซม์ที่ผลิตจากจุลชีพเหล่านี้ เชื้อราทั้งชนิดที่เป็น white-rot, brown-rod และชนิดที่เป็น soft-rot สามารถย่อยสลายเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินได้ โดย brown-rod มีบทบาทสำคัญในการย่อยพวกเซลลูโลส ในขณะที่ white-rot และ soft-rot จะเข้าย่อยสลายพวกลิกนินและเฮมิเซลลูโลส จากการ

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น
โดย Khoonaja Sheboon เมื่อวันที่ 26/02/2023
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัย มหาวิทยาลัยนเรศวร (NUIR)

ทดลองเมื่อไม่นานมานี้ เมื่อนำลิกโนเซลลูโลสมาหมักกับเชื้อราเหล่านี้ ที่อุณหภูมิ 25 – 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 - 22 วันพบว่า เฮมิเซลลูโลสและลิกนินถูกย่อยสลายไปได้มากถึง 45 - 75 เปอร์เซ็นต์ และ 65 - 80 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ นอกจากนั้นยังพบว่าชีวมวลที่ผ่านการ pretreatment ด้วยวิธีนี้ยังให้ก๊าซชีวภาพได้มากกว่าเมื่อนำไป post-treat ต่อด้วยระบบ anaerobic digestion เชื้อราและแบคทีเรียเหล่านี้ ได้แก่ *Aspergillus terreus, Trichoderma* spp., *Cyathus stercoreus, Penicillium camemberti, Phanerochaete chrysosporium, Streptomyces griseus* เป็นต้น ส่วนเอนไซม์ที่ใช้ย่อยลิกโนเซลลูโลส ตัวอย่างเช่น cellulases, glucuronidase, acetylesterase, feruloylesterase, xylanese, β-xylosidase, lignin peroxidase, manganese peroxidase และ laccase เป็นต้น (อรุณี ศุภสินสาธิต, 2558)

การย่อยสลายเซลลูโลสเป็นน้ำตาลด้วยเอนไซม์ (enzymatic hydrolysis)

เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ที่ทำให้เกิดการสลายเซลลูโลสไปเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถผลิตได้จากพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น ข้าวมอลต์ ข้าวบาร์เลย์ ใบยาสูบ ไส้เดือนดิน ปลวก หอยทาก แบคทีเรีย และรา เป็นต้น (Klyosov A., 1990) ปฏิกิริยาการย่อยสลายด้วยเอนไซม์จะเกิดขึ้นอย่างช้า ๆ และเป็นกระบวนการย่อยสลายที่มีความจำเพาะสูง เอนไซม์จะไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่นที่ผสมจะได้ผลิตภัณฑ์ที่มีความบริสุทธิ์สูงเกิดปฏิกิริยาไม่รุนแรง ดังนั้นผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงไม่ถูกทำปฏิกิริยาต่อไป โดยเอนไซม์เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่ประกอบด้วยเอนไซม์หลายชนิดทางานร่วมกัน (คัทลียา ยุรยาตร์, 2556)

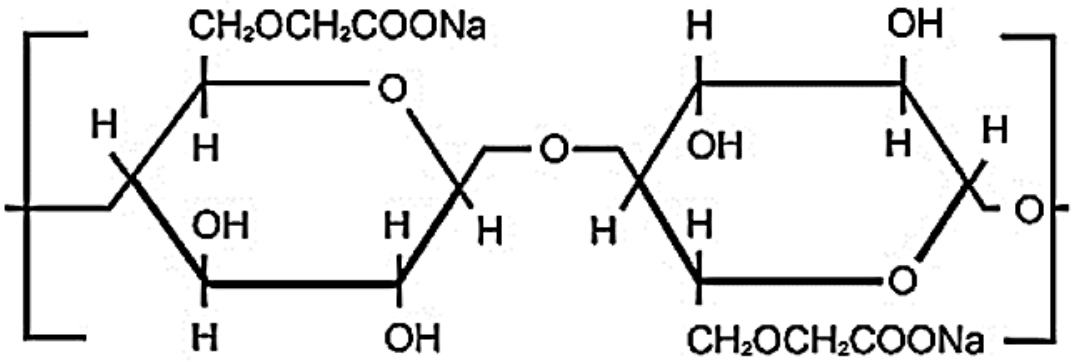
ข้อดีของการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ (ศศิธร ไกรฤทธิชัย, 2552)

- เอนไซม์สามารถทำงานได้ดีที่อุณหภูมิต่ำ จึงเร่งปฏิกิริยาได้โดยไม่ต้องให้ความร้อนทำให้ประหยัดต้นทุนในการผลิต
- ปฏิกิริยาที่มีเอนไซม์เป็นตัวเร่งจะเกิดได้เร็วกว่าปฏิกิริยาที่ไม่มีเอนไซม์
- เอนไซม์มีความจำเพาะกับสารตั้งต้น ดังนั้นผลผลิตที่ได้จะมีความบริสุทธิ์มาก
- ไม่เกิดปฏิกิริยาข้างเคียง เนื่องจากเอนไซม์มีความจำเพาะกับสารตั้งต้น
- เอนไซม์สามารถย่อยสลายสารที่มีโมเลกุลใหญ่ให้เล็กลงได้ตามที่ต้องการ
- ผลิตภัณฑ์ที่ได้ไม่เปลี่ยนเป็นสารอื่น และสามารถทำการหมักน้ำตาลที่เกิดขึ้นไปพร้อมกับการย่อยเซลลูโลสได้
- ไม่จำเป็นต้องใช้อุปกรณ์ที่ทนต่อการกัดกร่อน

2.5 คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส

คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสหรือซีเอ็มซี (Carboxymethyl cellulose, CMC) หรือโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (Sodium carboxymethyl cellulose) เป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ (Hydrocolloid) ประเภทพอลิเมอร์ชนิดชอบน้ำ (Hydrophilic) ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส โดยสารทั้งสองชนิดนี้เป็นสารไฮโดรคอลลอยด์ที่ได้จากการดัดแปรงหรือปรับปรุงคุณสมบัติของเซลลูโลสที่เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์พืช ทำให้มีหมู่เมทิลและหมู่คาร์บอกซีเมทิลเข้ามาแทนที่โครงสร้างเดิม ดังภาพที่ 2.4 (นิธิยา และพิมพ์เพ็ญ)

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในการศึกษาเท่านั้น
โดย Chonlada Sirabo เมื่อวันที่ 26/02/2025
จากระบบฐานข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)



ภาพที่ 2.4 โครงสร้างโมเลกุลของคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส
ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/vocab/ word/1439/CMC.

อนุพันธ์ของเซลลูโลสทั่วไปสามารถเตรียมได้จากเยื่อเซลลูโลสที่มีปริมาณเซลลูโลสคุณภาพสูงหรือแอลฟาเซลลูโลสโดยซีเอ็มซีจะถูกนำไปใช้เป็นสารคงสภาพ สารเพิ่มความหนืดเพื่อช่วยในการยึดติดหรือใช้เป็นสารเคลือบผิว ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ การซักฟอก กาว กระดาษ อาหารและยา เป็นต้น ซีเอ็มซีถูกนำมาใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างแพร่หลาย อาทิ อุตสาหกรรมการซักฟอกสี กาว สิ่งทอ กระดาษ เซรามิก อาหารและยา เนื่องจากซีเอ็มซีมีลักษณะเป็นของแข็งสีขาวไม่มีกลิ่น ไม่มีรส ไม่เป็นอันตราย ไม่มีผลเสียต่อสิ่งแวดล้อม ละลายน้ำได้ดี มีคุณสมบัติเป็นสารเพิ่มความหนืด ที่ช่วยในการยึดเกาะและเป็นสารคงสภาพสำหรับการใช้ประโยชน์คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส ในอุตสาหกรรมอาหารจะใช้เป็นสารให้ความหนืดในไอศกรีม ใช้เป็นสารเคลือบผิวแคปซูลยา หรือเป็นสารก่อให้เกิดการเป็นเจลทางด้านเภสัชกรรม เป็นต้น (ปิยพร และคณะ, 2555)

2.6 จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส

เนื่องจากเซลลูโลสมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีสายยาว จุลินทรีย์จำเป็นต้องสร้าง extracellular enzyme ออกมาย่อยเซลลูโลสให้เป็นสารประกอบอินทรีย์ที่ละลายน้ำได้และสามารถผ่านเข้าไปในเซลล์ได้ เอนไซม์ที่ย่อยสลายเซลลูโลสได้เรียกว่า เอนไซม์เซลลูเลส มีสิ่งมีชีวิตหลายชนิดสามารถสร้างเอนไซม์นี้ได้ (ทิพวรรณ แต่งสวน, 2554) จุลินทรีย์มีความสำคัญ ในการย่อยสลายเซลลูโลสมาก จุลินทรีย์หลายชนิดที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อย่อยสลายเซลลูโลสมักอยู่ในกลุ่มของเชื้อรา แบคทีเรีย และแอคติโนมัยซิท ดังตารางที่ 2.2 ในการผลิตเอนไซม์เซลลูเลส จากเชื้อจุลินทรีย์ ปัจจัยสำคัญที่ควบคุมการผลิตเอนไซม์นอกจากจะขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของจุลินทรีย์แล้วยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่น ๆ เช่น ชนิดความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนแหล่งไนโตรเจน ธาตุอาหารหลัก และธาตุอาหารรอง รวมไปถึงสภาพแวดล้อมการผลิตซึ่งได้แก่ อายุและปริมาณของเชื้อเริ่มต้น ความเป็นกรด - ด่าง (pH) อุณหภูมิ การให้อากาศ และอัตราการเขย่า (พรเทพ ถนนแก้ว, 2538)

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ถึงวันที่ 26/02/2025
โดย Chulalongkorn University Library
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (ENWR)

ตารางที่ 2.2 จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้

จุลินทรีย์ที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสได้		
เชื้อรา	**เชื้อแบคทีเรีย**	**เชื้อแอคติโนมัยซิท**
Alternaria sp.	*Bacillus* sp.	*Micrormonospora* sp.
Aspergillus sp.	*Cellulomonas* sp.	*Nocardia* sp.
Chaetomium sp.	*Clostridium* sp.	*Streptomyces* sp.
Corprinus sp.	*Corynebacterium* sp.	*Streotosporangium* sp.
Foames sp.	*Cytophaga* sp.	*Micromonospora* sp.
Fusarium sp.	*Polyangium* sp.	*Microtetraspora* sp.
Myrothecium sp.	*Pseudomonas* sp.	*Microbispora* sp.
Penicillium sp.	*Sporocytophaga* sp.	*Streptosporangium* sp.
Polyporus sp.	*Vibrio* sp.	*Actinomadura* sp.
Rhizoctonia sp.	*Clostridium cellobioparum*	*Nocardia* sp.
Sporotrichum sp.	*Bacteroides succinogenes*	*Dectylosporangium* sp.
Thielavia sp.	*Ruminococcus flavefaciens*	*Actinoplanes* sp.
Trametes sp.	*Pseudomonas fluorescens*	
Trichothecium sp.	*Pseudomonas cellulose*	
Trichoderma sp.		
Verticillium sp.		
Zygorhynchus sp.		

ที่มา: ปรับปรุงจาก พรเทพ ถนนแก้ว, 2538

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Chulalongkorn University
จากระบบฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย (TNRR)

2.7 แบคทีเรียเซลลูเลส

เป็นกลุ่มของแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูเลส แล้วจะหลั่งเอนไซม์ออกจากเซลล์เพื่อไปย่อยสลายเซลลูโลสให้มีโมเลกุลที่เล็กลงแล้วดูดซึมโมเลกุลเหล่านั้นไปใช้เป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป ตัวอย่างแบคทีเรียเซลลูเลส (ตารางที่ 1.3) เช่น *Actinobacter* sp., *Acidothermus* sp., *Anoxybacillus* sp., *Bacillus* sp., *Bacteriodes* sp., *Cellulomonas* sp., *Cellvibrio* sp., *Eubacterium* sp., *Geobacillus* sp., *Microbispora* sp., *Paenibacillus* sp., *Butyrivibrio* sp., *Pseudomonas* sp., *Salinivibrio* sp., *Rhodothermus* sp., *Acetivibrio* sp., *Clostridium* sp., *Fibrobacter* sp., *Ruminococcus* sp., *Kocuria* sp., และ *Stenotrophomonas* sp. เป็นต้น (Shajahan S. et al., 2018) แบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนจะสามารถย่อยสลายเซลลูโลสได้ผลิตภัณฑ์หลัก 2 ชนิด คือ CO_2 และสารอินทรีย์ที่เป็น

องค์ประกอบของเซลล์ อัตราการย่อยสลายเริ่มต้นจะถูกจำกัดด้วยกระบวนการ oxidation ของคาร์โบไฮเดรต เพื่อไม่ให้เกิดการสะสมของสารตัวกลางซึ่งจะเกิดขึ้นในขณะมีการใช้น้ำตาล (Lu Yulin Nathan et al., 2007) ส่วนแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิปานกลางที่เหมะสมกับการเจริญ และแบคทีเรียที่ชอบอุณหภูมิสูงไม่สามารถย่อยสารตั้งต้นอย่างสมบูรณ์ได้สารอินทรีย์หลายชนิดจึงถูกขับออกมาเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย ในสภาวะที่มีออกซิเจนจะเกิดการสะสมของ CO_2, H_2, ethanol และกรดอินทรีย์ เช่น acetic acid, lactic acid และ succinic acid เป็นต้น แสดงดังตารางที่ 2.3 (ชนิดาภา และคณะ, 2561)

การย่อยเซลลูโลสขั้นต้นเกิดจากการที่โมเลกุลถูกย่อยโดยเอนไซม์เซลลูเลส ซึ่งเอนไซม์จะทำการย่อยเซลลูโลสที่ไม่ละลายน้ำให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ แต่ข้อจำกัดในการทำงานของเอนไซม์เกิดจากการที่สารตั้งต้นละลายน้ำได้น้อย จากนั้น cellulose derivative ที่เกิดขึ้นก็จะถูกย่อยต่อได้เป็น monosaccharide หรือ disaccharide ผลผลิตขั้นตอนต่อมาของการย่อยจะแตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ และเนื่องจากโมเลกุลของเซลลูโลสไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องขับเอนไซม์ออกสู่นอกเซลล์เพื่อย่อยเซลลูโลสจนได้น้ำตาลที่ละลายน้ำ จากนั้นจึงดูดซึมเข้าสู่ภายในเซลล์เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป (นวรัตน์ นันทพงษ์, 2558)

ตารางที่ 2.3 ผลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย

แบคทีเรีย		**ผลิตภัณฑ์หลัก**
Mesophiles	*Clostridium cellobioparum*	CO_2, H_2, ethanol, acetic, lactic, formic acids
	Bacteroides succinogenes	acetic, succinic acid
	Ruminococcus flavefaciens	Acetic, formic, succinic acid
Thermophiles	*Clostridium thermocellum*	CO_2, H_2, ethanol, acetic, lactic, formic, succinic acid

ที่มา : ศศิธร และนฤมน, 2550

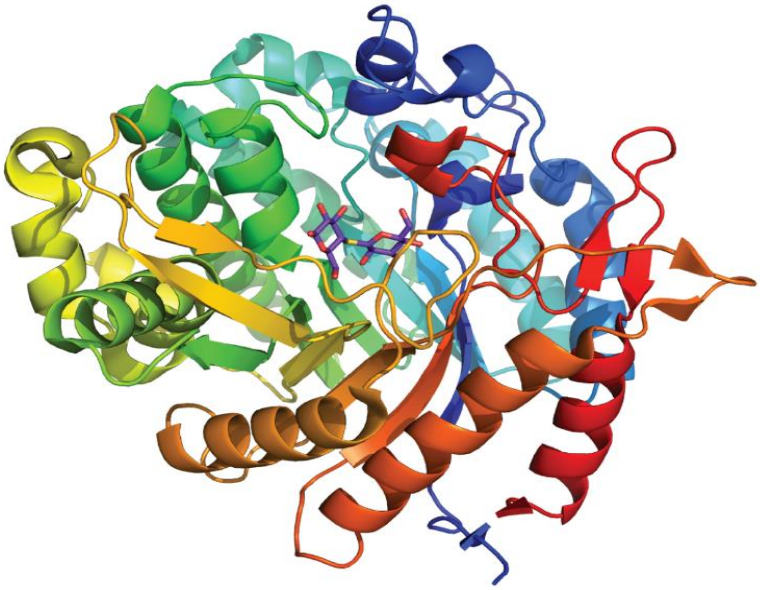
เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 25/02/2025
โดย ศิโรตม์ ศรีโพธิ์ทอง
สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (TNRR)

2.8 เอนไซม์เซลลูเลส (cellulase)

เซลลูเลส เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้มีขนาดโมเลกุลที่เล็กลง เช่น กลูโคส (glucose) โดยพบว่าเอนไซม์นี้สร้างได้โดยสิ่งมีชีวิตทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เช่น แบคทีเรีย และเชื้อรา เป็นต้น ส่วนใหญ่ถูกสร้างและหลั่งออกมานอกเซลล์ (extracellular enzyme) ซึ่งถูกเหนี่ยวนำให้สร้างโดยสิ่งแวดล้อม เนื่องจากโมเลกุลของเซลลูโลสไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้ ดังนั้นจุลินทรีย์จึงต้องขับเอนไซม์ออกสู่นอกเซลล์เพื่อย่อยเซลลูโลสจนได้น้ำตาลที่ละลายน้ำจากนั้นจึงดูดซึมเข้าสู่ภายในเซลล์เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนต่อไป (เสาวนิตย์ และคณะ, 2559)

จากการศึกษาโครงสร้างของเอนไซม์เซลลูเลสพบว่า เซลลูเลส (ภาพที่ 2.5) เป็น glycoprotein ประกอบด้วยโปรตีน และคาร์โบไฮเดรตในอัตราส่วน 1 ต่อ 1 มีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 30,000 - 60,000 ดาลตัน มีสมบัติละลายน้ำได้ดีไม่ต้องการ co-factor หรือโลหะอื่น ๆ ในการเข้าทำปฏิกิริยา โดยทั่วไปเอนไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์ จะมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานประมาณ 50

องศาเซลเซียส ยกเว้นจุลินทรีย์ทนร้อนบางชนิด นอกจากนี้เอนไซม์เซลลูเลสยังมีความทนต่ออุณหภูมิที่สูง ทนต่อความเป็นกรด - ด่าง ในช่วงกว้างประมาณ 4.8 ถึง 8.0 และคงทนต่อสารเคมีได้ดีสามารถเก็บที่อุณหภูมิที่ต่ำกว่า 0 และ 4.0 องศาเซลเซียส ได้เป็นเวลาหลายปี หรือเก็บโดยวิธี freeze dry หรือตกตะกอนด้วยอะซิโตน หรือเอทานอล โดยจะไม่สูญเสียคุณสมบัติไป อย่างไรก็ตามเอนไซม์ที่ได้จากจุลินทรีย์ต่างชนิดกันย่อมมีสมบัติแตกต่างกัน (พรเทพ ถนนแก้ว, 2538)



ภาพที่ 2.5 แสดงโครงสร้างโมเลกุลของเอนไซม์เซลลูเลส

ที่มา: Veeresh Juturu et al., 2014

- Endoglucanase (endo-β -1,4-glucanase) (E.C.3.2.1.4) ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลลูโลสในส่วนที่ไม่เป็นระเบียบ (amorphous) หรือย่อยอนุพันธ์ ของเซลลูโลส เช่น คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) เซลลูโลสที่ผ่านการทำปฏิกิริยากับกรดฟอสฟอริก (phosphoric swollen cellulose) ไฮดรอกซีเอทิลเซลลูโลส (hydroxyethyl cellulose) และเซลโลโอลิโกเมอร์ (cello-oligomers) โดยย่อยที่ตำแหน่งพันธะ β -1,4-ไกลโคซิดิกแบบสุ่ม (random) ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ผสมหลายชนิด คือ เซลโลโอลิโกแซ็คคาไรด์ (cellooligo-saccharides) เซลโลเพนธาโอส (cellopentaose) เซลโลไตรโอส (cellotriose) เซลโลไบโอส (cellobiose) และกลูโคส โดยจะได้ผลิตภัณฑ์หลักชนิดใดขึ้นอยู่กับสมบัติของแต่ละเอนไซม์ (พิจิตรา และคณะ, 2548)

- Exoglucosidase (exo-β-1,4-glucanase) หรือเอกโซบีต้า-1,4-กลูแคนกลูโคไฮโดรเนส หรือเอกโซ β-1,4-เซลโลไบโอไฮโดรเนส (E.C.3.2.1.91) พบว่าทำหน้าที่ร่วมกับเอนไซม์เอนโดกลูคาเนสในการย่อยโมเลกุลของเซลลูโลส โดยการย่อยสลายเซลลูโลสจากปลายด้านที่ไม่มีน้ำตาลรีดิวซ์ (non-reducing) ของเซลลูโลส ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการย่อยสลายส่วนใหญ่ คือ เซลโลไบโอส นอกจากนี้ยังพบว่าสามารถย่อยสลายเซลลูโลสที่จัดตัวอย่างเป็นระเบียบได้ (microcrystalline cellulose) โดยอาศัยการทำงานร่วมกับเอนโดกลูคาเนส (พิจิตรา และคณะ, 2548)

- β-glucosidase (E.C.3.2.1.21) เป็นเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ย่อยโมเลกุลของเซลโลไบโอสเซลโลโอลิโกแซ็คคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ให้เป็นน้ำตาลกลูโคส แต่ไม่สามารถย่อยสลายโมเลกุลซับซ้อนขนาดใหญ่ของ

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น 26/02/2025
โดย Choomnia Chaiboonchoe/TIARRA
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ระดับบัณฑิตศึกษา

เซลลูโลสได้โดยตรง กลไกการย่อยสลายโมเลกุลของเซลลูโลสทั้งในส่วนที่เป็นระเบียบ (crystalline) และไม่เป็นระเบียบ (amorphous) ให้เป็นน้ำตาล แสดงดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 การย่อยสลายสารตั้งต้นโดยเซลลูเลส

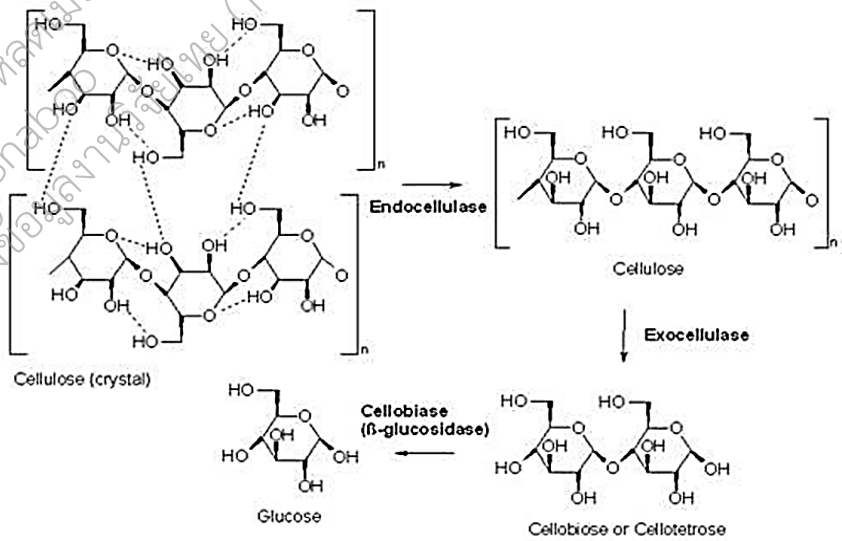
ชนิดของเอนไซม์	**ชนิดของสารตั้งต้น**				
	Crystalline cellulose	CMC	Amorphous cellulose	Cellotetraose	Cellobiose
Endo-β-glucanase	-	+	+	+	-
Exo- β -glucanase	+	-	+	+	-
β-glucosidase	-	-	-	+	+

ที่มา: สมรักษ์ และนิสา, 2553

2.9 การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

กลไกการสลายเซลลูโลสโดยเอนไซม์เซลลูเลสประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรก เป็น prohydrolytic step คือสายโซ่ anhydroglucose จะถูกทำให้บวมขึ้น ขั้นตอนที่สอง เกิด hydrolytic cleavage ของสายพอลิเมอร์ กลไกการทำงานเริ่มจากเซลลูโลส จะเกิดขยายตัวพร้อมกับมีการสลายพันธะไฮโดรเจน ซึ่งเกิดจากการทำงานร่วมกันของ endoglucanase และ exoglucanase จะย่อยสลายเซลลูโลสได้ปลายอิสระส่วน exoglucanase จะดึงโมเลกุลของ cellobiose ออกจากปลายซึ่งถูกย่อยสลายต่อไปโดย β-glucosidase จนได้น้ำตาลกลูโคสอิสระ (ชฎาพร หัตบูรณ์, 2556) แสดงในภาพที่ 2.6

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shabad
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)



ภาพที่ 2.6 การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส
ที่มา : Anoop Kumar V. *et al*., 2018

2.10 การสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส

กลไกการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส พบว่าเกิดบนไรโบโซมในไซโตพลาสซึม โดยมี mRNA ต้นแบบที่จำเพาะเจาะจงทำหน้าที่ถอดรหัสจากยีนเซลลูเลสแต่ละยีน จากนั้นจะผ่านเยื่อหุ้มเซลล์ มาเกาะที่ผนังเซลล์ก่อนหรือปล่อยออกสู่ภายนอกทันที เซลลูเลสเป็นเอนไซม์ที่เซลล์ผลิตขึ้นเพื่อตอบสนองต่อซับสเตรต ซึ่งจะมีการสังเคราะห์เมื่อใช้เซลลูโลสเป็นแหล่งคาร์บอน การควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสจะเกี่ยวข้องกับกระบวนการ induction และ catabolite repression ที่อาจเป็นอิสระแก่กันหรือเกิดขึ้นรวมกันถ้าการสังเคราะห์เซลลูโลสถูกควบคุม โดย induction เซลลูโลสจะไม่เป็นตัวชักนำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์ เนื่องจากไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ได้ ดังนั้นจะมีการสังเคราะห์เอนไซม์ในปริมาณน้อยทำให้เกิดการย่อยสลายได้ผลผลิตที่ละลายน้ำได้ และสามารถเข้าสู่เซลล์เพื่อชักนำให้เกิดการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสออกมาเป็น Cyclic adenosine 3',5' monophosphate (cAMP) มีความสำคัญต่อกระบวนการ catabolite repression เนื่องจากในการเพาะเลี้ยงเชื้อต้องมีการใช้กลูโคสเป็นแหล่งพลังงาน ทำให้ cAMP ภายในเซลล์มีความเข้มข้นต่ำ ดังนั้นในการสังเคราะห์เอนไซม์ที่ใช้แหล่งพลังงานอื่น จะถูกยับยั้งโดยโปรตีนจำเพาะกลไกการควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลส จึงอาจจะเกิดจากกลูโคสทำหน้าที่เป็น end product repression (ชฎาพร หัตบูรณ์, 2556)

2.11 การยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

- β-glucosidase จะถูกยับยั้งด้วยปริมาณกลูโคสที่เพิ่มปริมาณมากขึ้น ทำให้มีการสะสมของ cellobiose ซึ่งจะไปยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ endoglucanase และ exoglucanase ทำให้ปฏิกิริยาช้าลงและยุติในที่สุด เอนไซม์ทั้ง 3 ชนิดนี้ต้องทำงานร่วมกันจึงจะมีประสิทธิภาพในการย่อยสลายได้ดี แต่เมื่อแยกชนิดใดชนิดหนึ่งออกไปจะมีผลทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายลดลง

- สารที่มีองค์ประกอบคล้ายกับสารตั้งต้นจะยับยั้งการรวมตัวของเอนไซม์กับสารตั้งต้นได้ เช่น methyl cellulose และ gluconolactones โดยจะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ β-glucosidase ทำให้การย่อยเซลลูโลสเกิดขึ้นไม่สมบูรณ์

- สารพวก polyols และ erythritol จะยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ glucosidase และ galactosidase โดย erythritol จะรวมตัวกับเอนไซม์ตรงจุด C3 - C6 ของ D-glucose

- โปรตีนของเอนไซม์ ถูกทำให้เสียสภาพโดยสารที่สามารถทำปฏิกิริยากับ SH-group เช่น mercuric ions แต่อาจแก้ไขโดยใช้ cysteine และ chloride ions

- เอนไซม์ endopeptidase สามารถลดการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสได้แต่เอนไซม์ exopeptidase ไม่สามารถย่อยเอนไซม์ exocellulase ที่อยู่ในสภาพปกตินอกจากนี้ยังพบว่าเซลลูเลสสามารถคงทนต่อสภาพความเป็นกรด - ด่างและอุณหภูมิที่เปลี่ยนไป

- การทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสขึ้นกับโครงสร้างทางเคมีของเอนไซม์ ซึ่งแล้วแต่ชนิดของจุลินทรีย์ที่ผลิตเอนไซม์

- เอนไซม์เซลลูเลส อาจถูกยับยั้งโดย melanin ซึ่งเป็นส่วนประกอบในผนังเซลล์ของจุลินทรีย์บางชนิดและอาจถูกยับยั้งโดยสารประกอบอินทรีย์เชิงซ้อน หรือ คอลลอยด์ในดิน

- แร่ธาตุดิน อาจเป็นอุปสรรคต่อการย่อยเซลลูโลสในดินได้ สามารถดูดซับเซลลูโลสและสารผลิตภัณฑ์บางชนิดได้ ทำให้เอนไซม์เซลลูเลสที่สังเคราะห์ โดยจุลินทรีย์ไม่สามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ชฎาพร หัตบูรณ์, 2556)

เอกสารฉบับนี้ความรับผิดชอบ
โดย Chulalongkorn University
จากระบบคลังปัญญาจุฬาฯ (CUNRR)

2.12 การวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส

การทำงานของเอนไซม์มี 2 วิธี ตามความซับซ้อนของลักษณะเอนไซม์คือ

2.12.1. Physical assay เป็นการวัดความสามารถในการทำงานของ complex enzyme ที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ (culture filtrate) ประกอบด้วย 2 วิธี คือ

2.12.1.1 การสลายให้ได้น้ำตาล (saccharolytic method) เป็นการวัดปริมาณกลูโคสที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลสในอาหารเพาะเลี้ยง และรวบรวมวิธีการวัดน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายเซลลูโลส โดยใช้ dinitrosalicylic acid reagent (DNS reagent) เป็นสารทดสอบซึ่งแตกต่างกันไปตามชนิดของสารตั้งต้นดังนี้

- Filter paper assay เป็นวิธีที่นิยมใช้กันมากเนื่องจากกระดาษกรองสามารเตรียมได้ง่าย วิธีการ คือ ใช้กระดาษกรองขนาด 1×6 เซนติเมตร ปริมาณ 50 มิลลิกรัม ใส่ในหลอดทดลอง ที่มีส่วนผสมของเอนไซม์และบัฟเฟอร์ ทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เติม DNS reagent 3 มิลลิลิตร แล้วนำหลอดไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นจึง นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 550 นาโนเมตร เพื่อหาปริมาณของ reducing sugar

- Cotton assay คล้ายกับ filter paper assay แต่ใช้เส้นใยฝ้าย 50 มิลลิกรัม เป็นสารตั้งต้น ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์และบัฟเฟอร์เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเติม DNS reagent และหาปริมาณของ reducing sugar

- CMC assay เป็นวิธีที่นิยมใช้ในการวัดการทำงานของเซลลูเลส เนื่องจาก CMC เป็นสารที่สามารถละลายน้ำได้ดีจึงสะดวกต่อการทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ ในการวัดความสามารถ ในการทำงานของเอนไซม์เติม 1% CMC ใน 0.05 โมลาร์ ซิเตรทบัฟเฟอร์ pH 4.8 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที จากนั้นเติม DNS reagent เพื่อหาปริมาณของ reducing sugar

- Amorphous cellulose assay วิธีนี้จะวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์โดยเติม 1% walseth cellulose ใน 0.05 โมลาร์ ซิเตรท บัฟเฟอร์ pH 4.8 บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที นำไปปั่นเหวี่ยงเพื่อนำส่วนใส (supernatant) ไปหาปริมาณ reducing sugar โดยการทำปฏิกิริยากับ DNS reagent

2.12.1.2 การตรวจสอบโครงสร้างของเซลลูโลสที่เกิดการเปลี่ยนแปลง

หลังเกิดการย่อยสลายในกรณีที่การย่อยสลายเซลลูโลสไม่สมบูรณ์หรือไม่เกิดน้ำตาลขึ้น จะตรวจสอบลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเซลลูโลส วิธีการที่ใช้คือการวัดความเหนียว ของเส้นใยฝ้ายก่อนและหลังทำปฏิกิริยากับเอนไซม์ในเวลาที่กำหนด ซึ่งต้องใช้เครื่องมือและความละเอียดสูง นอกจากนี้ยังอาจตรวจสอบเส้นใยอิสระที่เกิดจากการย่อยสลายกระดาษกรอง และการหาน้ำหนักของสารตั้งต้นที่หายไป (ชฎาพร หัตบูรณ์, 2556)

2.12.2. Biochemical assay เป็นการวัดความสามารถในการทำงานของ complex cellulose เฉพาะแต่ละองค์ประกอบเท่านั้น (ภาพที่ 2.7)

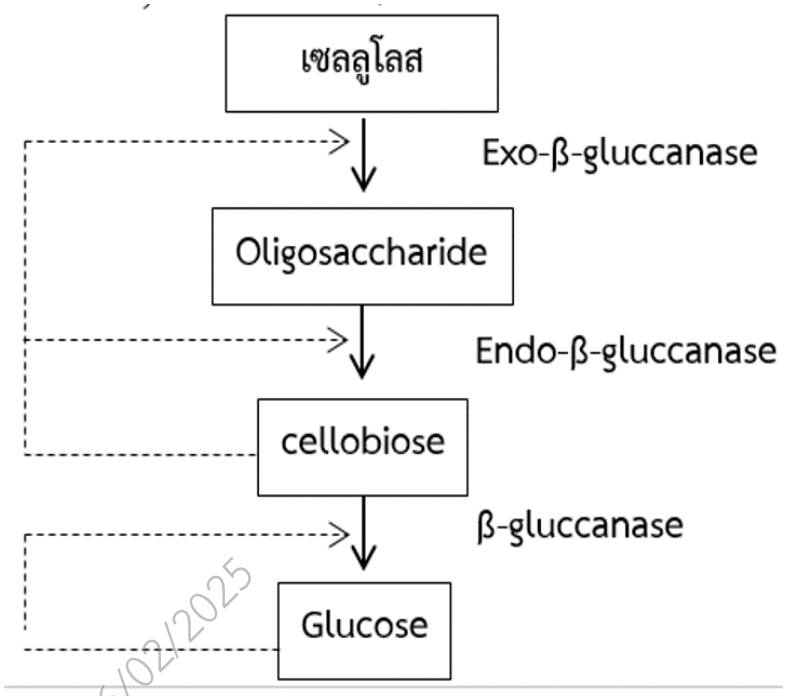
- Endoglucanase นิยมใช้ CMC และ hydroxyethyl cellulose เป็นสารตั้งต้น โดยจะวัดจากค่าความหนืดที่เปลี่ยนแปลงไป ซึ่งมีค่าลดลงเมื่อเวลาของปฏิกิริยาเปลี่ยนไปเป็นวิธีที่ยุ่งยาก จึงใช้วิธีวัดปริมาณ reducing sugar จากการทำปฏิกิริยากับ DNS reagent ที่เกิดขึ้นแทน

- Exoglucanase วิธีนี้ยังไม่มีสารตั้งต้นที่จำเพาะต่อ exoglucanase ดังนั้นการวัดความสามารถในการทำงานของเอนไซม์นี้จึงจำเป็นต้องสกัดให้ได้ exoglucanase ที่บริสุทธิ์ก่อนนำมาทำปฏิกิริยากับสาร

เอกสารนี้ดาวน์โหลดมาจาก 27/03/2023
โดย CMU Library (Chiang Mai University)
จากระบบเชื่อมโยงข้อมูลวิจัยไทย (TNRR)

ตั้งต้นซึ่งจะใช้เซลลูโลสที่มีอัตรา polymerization ต่ำ เช่น avicel หรือเซลลูโลส ที่ผ่านการแช่ด้วยกรดฟอสฟอริก

- β-glucosidase นิยมใช้ cellobiose และ *p*-nirophenyl-β-D-glucoside (*p*NPG) เป็นสารตั้งต้น โดยหากใช้ cellobiose เป็นสารตั้งต้น นิยมวัดปริมาณของกลูโคสที่ได้จากการย่อย แต่หากใช้ *p*NPG จะมีการเติมโซเดียมคาร์บอเนตหลังจากการบ่มกับเอนไซม์ จากนั้นวัดปริมาณ reducing sugar ที่ปลดปล่อยออกมา (วัฒนา และคณะ, 2561)



ภาพที่ 2.7 การย่อย และการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลส
ที่มา: ฉัตรชัย และคณะ, 2552

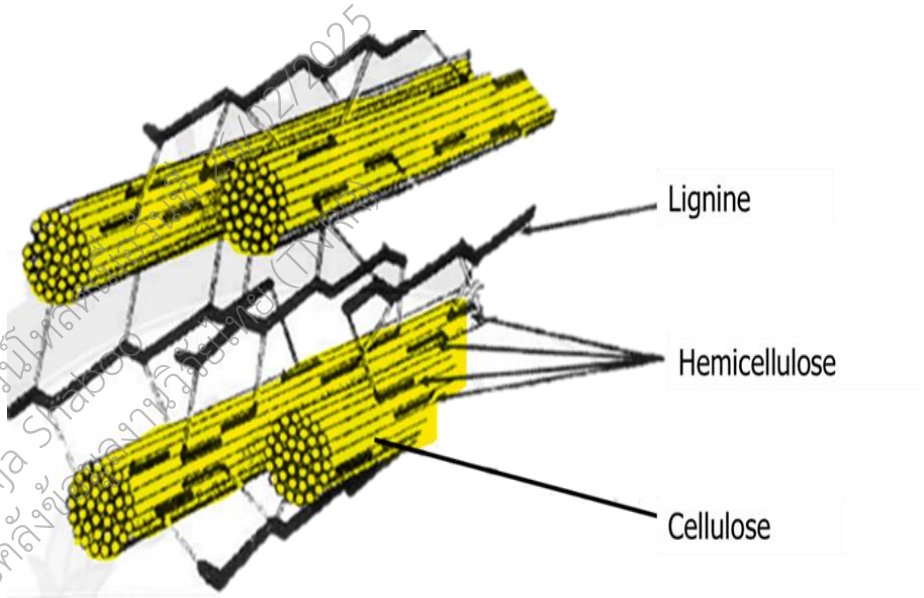
เอกสารฉบับนี้หมดอายุหลังเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Chonlatee Sirachai
จำกัดสิทธิ์ใช้งานสำหรับ มหาวิทยาลัยไทย (THAI)

2.13 ประโยชน์ของเซลลูเลส

ปัจจุบันมีการใช้เซลลูเลสในอุตสาหกรรมและเกษตรกรรมมากมาย เช่น การใช้ในการย่อยสลายพืชผักหรือกากเหลือจากการทำเกษตรกรรม การย่อยขยะเป็นปุ๋ยหมัก เป็นต้น ตัวอย่างการใช้ประโยชน์จากเซลลูเลส ได้แก่ การใช้เซลลูเลสในอุตสาหกรรมกระดาษ พบว่า เซลลูเลสบางชนิดมีส่วนช่วยลดเวลาในการตี (beating time) และช่วยต้านไข (grease resistance) ทำให้กระดาษมีคุณภาพดีมีการใช้เซลลูเลสเป็นส่วนประกอบในส้วมถังเกรอะ (septic tank) การนำเซลลูเลสจาก *Trichoderma reesei* เพื่อสลายผนังเซลล์พืชทำให้มีการเชื่อมโปรโตลาสต์ (protoplast) ของเซลล์พืชสองชนิด ซึ่งนับว่าเป็นประโยชน์ที่มีค่าต่อวงการเกษตรแผนใหม่ มีการใช้เซลลูเลสในอุตสาหกรรมอาหาร เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่ม เซลลูเลสถูกนำมาใช้ในการสกัดน้ำผลไม้เปรี้ยวและทำให้น้ำผลไม้ใสขึ้น และยังทำให้น้ำผลไม้ที่ได้เป็นเนื้อเดียวกัน เซลลูเลสใช้ในการเพิ่มอัตราการย่อยในอุตสาหกรรมอาหารสัตว์และใช้ในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากเมล็ดธัญพืช และอุตสาหกรรมการผลิตปุ๋ยหมัก นอกจากนี้มีการนำเซลลูเลสมาผลิตเป็นยา โดยใช้เซลลูเลสร่วมกับเอนไซม์ชนิดอื่น เพื่อช่วยเป็นยาขับลมในกระเพาะ และช่วยลดอาการแน่นท้องเนื่องจากเซลลูเลสสามารถย่อยเส้นใยได้ (พิจิตรา และคณะ, 2548)

2.14 ฟางข้าว

ฟางข้าวเป็นผลพลอยได้จากการทำนา ซึ่งในแต่ละปีประเทศไทยปลูกข้าวประมาณ 61 ล้านไร่ มีฟางข้าวรวมทั้งส่วนที่เป็นตอซังข้าวไม่น้อยกว่า 40 ล้านตัน นาในแต่ละไร่จะให้ฟางข้าวมากน้อย แตกต่างกันไป (นิตยา และคณะ, 2551) ขึ้นกับความอุดมสมบูรณ์ของดิน และลักษณะประจำพันธุ์ของพันธุ์ข้าว ซึ่งมีทั้งพันธุ์ต้นเตี้ยและพันธ์ต้นสูงรวมถึงปัจจัยอื่น ๆ เช่น น้ำ อากาศ และอุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นต้น แต่โดยทั่วไปจากการสำรวจนา 1 ไร่จะมีฟางข้าวประมาณ 0.32 - 1.6 ตัน ต่อ 1 ฤดูปลูก สำหรับองค์ประกอบของธาตุอาหารในฟางข้าวจะเปลี่ยนแปลงไปตามสภาพความอุดมสมบูรณ์ของดิน น้ำ ปริมาณปุ๋ยที่ใส่รวมและฤดูกาล แต่โดยเฉลี่ยฟางข้าวจะมี ไนโตรเจน 0.75 เปอร์เซ็นต์ ฟอสฟอรัส 0.15 เปอร์เซ็นต์ โพแทสเซียม 0.25 เปอร์เซ็นต์ ซิลิกา 11.0 เปอร์เซ็นต์ แมกนีเซียม 0.25 เปอร์เซ็นต์ และกำมะถัน 0.80 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเผาฟางข้าวแล้ว จะได้สารระเหย 74.4 เปอร์เซ็นต์ ถ่านคงตัว 18.3 เปอร์เซ็นต์ เถ้า 7.3 เปอร์เซ็นต์ และค่าความร้อน 4,300 กิโลแคลอรี่ต่อกิโลกรัม ซึ่งการเผาฟางข้าวเป็นปัญหาที่สำคัญปัญหาหนึ่งที่ก่อให้เกิด ผลกระทบต่อภาวะโลกร้อน ในปัจจุบันหน่วยงานภาครัฐได้พยายามรณรงค์ให้ลดการเผาตอซังข้าวและฟางข้าวพร้อมทั้งได้แนะนำ ส่งเสริมให้มีการนำฟางข้าวไปใช้ประโยชน์เพิ่มมากขึ้น (เทวรัตน์ และคณะ, 2558) โดยพืชชีวมวลแต่ละชนิดจะมีอัตราส่วนของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสและลิกนินไม่เท่ากันจะขึ้นอยู่กับชนิดและอายุของพืช ซึ่งพืชที่มีลิกนินมาก จะมีความแข็งแรงสูงและพืชที่มีอายุมากจะมีปริมาณลิกนินมากในการจัดเรียงตัวของเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนิน เซลลูโลสแต่ละโมเลกุล จะเกิดการรวมตัวเป็นมัด (Cellulose bundleds) โดยมีเฮมิเซลลูโลสทำหน้าที่เชื่อมต่อระหว่างเซลลูโลสกับลิกนินเข้าด้วยกันจึงทำให้ เส้นใยภายใน ผนังเซลล์มีความแข็งแรง (ระวีวรรณ แกล้วกล้า, 2538) ดังภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 ลักษณะโครงสร้างพืชลิกโนเซลลูโลส
ที่มา : Gnansounou E. et al., 2005

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อ 16/7/2025
โดย Choonaja Sitabut (TNRR)
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยของ TNRR

ประโยชน์ของฟางข้าวในนา

ฟางข้าวเป็นอินทรียวัตถุที่ได้มาหลังการเก็บเกี่ยวข้าวมีประโยชน์ต่อการปรับปรุงดิน ดังนี้

- การปรับปรุงสมบัติทางกายภาพของดิน ฟางข้าวทำให้ดินโปร่ง ร่วนซุยเพราะอินทรียวัตถุที่ได้จากการย่อยสลายของฟางข้าวจะเข้าไปแทรกอยู่ตามช่องว่างของดินไว้ ทำให้เกิดโครงสร้างของดินที่สามารถดูด

ซับน้ำได้ ซึ่งง่ายต่อการเตรียมดิน การปักดำและทำให้รากพืชเจริญเติบโตแพร่กระจายในดินได้มากขึ้น ดินมีการระบายอากาศมากขึ้น การซึมผ่านของน้ำและการอุ้มน้ำของดินดีขึ้น รวมทั้งรักษาความชื้นในดินให้อยู่ได้นาน

- การปรับปรุงสมบัติทางเคมีของดิน เมื่อฟางข้าวย่อยสลายจะปลดปล่อยให้ธาตุอาหารพืช แก่ดินโดยตรงมีทั้งธาตุอาหารหลักและธาตุอาหารรอง ได้แก่ ธาตุไนโตรเจน (N) ธาตุฟอสฟอรัส(P) ธาตุโพแทสเซียม (K) แคลเซียม (Ca) และแมกนีเซียม (Mg) ที่สำคัญมีธาตุซิลิกา (SiO) ซึ่งจะค่อย ๆ ปลดปล่อยให้เป็นประโยชน์ต่อพืชในระยะยาว ช่วยดูดยึดธาตุอาหารจากการใส่ปุ๋ยเคมีไม่ให้สูญเสียไปจากดินโดยง่าย ซึ่งพืชสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้เป็นการเพิ่มประสิทธิภาพและลดปริมาณการใช้ปุ๋ยเคมี (เสาวนิตย์ และคณะ, 2559)

- การปรับปรุงสมบัติทางชีวภาพของดิน ฟางข้าวช่วยทำให้ดินมีปริมาณอินทรียวัตถุเพิ่มขึ้น อินทรียวัตถุที่เพิ่มขึ้นเป็นแหล่งอาหารและพลังงานของจุลินทรีย์ในดิน ทำให้ปริมาณและกิจกรรมของจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนธาตุอาหารในดินให้อยู่ในรูปที่เป็นประโยชน์ต่อพืชเพิ่มขึ้น รวมทั้งสัตว์ชนิดอื่น เช่น ไส้เดือน เป็นต้น (ยงยุทธ และคณะ, 2551)

2.15 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ปรีชา และคณะ (2562) ได้คัดแยกแบคทีเรียที่ย่อยสลายเซลลูโลส โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 3 ซ้ำ และศึกษาประสิทธิภาพการผลิตของเอนไซม์เซลลูเลส โดยสังเกตจากโซนใสที่เกิดขึ้นบนอาหาร CMC ประเมินกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิ 30 และ 50 องศาเซลเซียส โดยใช้ซังข้าวโพดและผักตบชวาเป็นซับสเตรต โดยวิเคราะห์ข้อมูลและวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น ผลการทดลองพบว่าแบคทีเรียที่คัดแยกได้สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสที่อุณหภูมิสูง อัตราส่วนของโซนใสต่อความกว้างของโคโลนีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และทำการจัดจำแนกชนิดของแบคทีเรียที่คัดแยกโดยใช้ยีน *16S rRNA* ได้เป็น *Bacillus* sp. strain BDHGL04, *Bacillus* sp. strain ST - R7 และ *Alcaligenes* sp. BZC5 ที่ระดับความคล้ายคลึง 99, 99 และ 98 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ จากการทดสอบการย่อยสลายซังข้าวโพดและผักตบชวา พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสสูงโดยเฉพาะการใช้ซังข้าวโพดหรือผักตบชวาเป็นซับสเตรตร่วมกับ *Bacillus* sp. strain BDHGL04 โดยมีกิจกรรมของเอนไซม์เท่ากับ 132.44 และ 138.37 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อบ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส และแบคทีเรีย มีความขุ่นที่ความยาวคลื่น 600 นาโนเมตร เท่ากับ 0.49 คิดเป็นแบคทีเรียจำนวน 10^8 ซีเอฟยูต่อมิลลิลิตร นำแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลสทั้งสองชนิดมาผลิตเป็นผงเชื้อผสม และศึกษาอัตราการย่อยสลายของปุ๋ยหมักพบว่ามีอัตราการย่อยสลายสูงสุดเท่ากับ 27.22 มิลลิกรัมต่อวัน ในสัปดาห์ที่ 2 จะเห็นได้ว่าแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มีศักยภาพในการนำไปใช้เร่งการย่อยสลายของปุ๋ยหมักประเภทซังข้าวโพดและผักตบชวา

รวิสรา รื่นไวย์ (2561) ทำการคัดเลือกจุลินทรีย์ที่มีศักยภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส โดยได้ทำการคัดแยกเชื้อจุลินทรีย์ในดินบริเวณมหาวิทยาลัยพะเยา ผลการศึกษาพบว่าสามารถ คัดแยกได้เชื้อแบคทีเรีย 35 ไอโซเลท ยีสต์ 20 ไอโซเลท และรา 3 ไอโซเลท จากจุลินทรีย์ที่แยกได้ทั้งหมด พบแบคทีเรีย 5 ไอโซเลท ยีสต์ 7 ไอโซเลท และรา 3 ไอโซเลท ที่สามารถเจริญและแสดงการเกิดวงใสหลังจากการย้อมด้วย Congo Red ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบได้โดยมี 3 ไอโซเลทคือ PHC5R2S020, PHC5R2S01 และ FUP3 ที่ให้ผลการทดสอบของค่าประสิทธิภาพการย่อยสูงสุด มีค่าเท่ากับ 2.61 ± 0.08, 2.45 ± 0.07 และ 2.70 ± 0.08 ตามลำดับ ผลจากการวิเคราะห์ลำดับนิวคลีโอไทด์

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า โดยการคัดลอกเผยแพร่ ดาวน์โหลด ผ่านเว็บไซต์ (NUR) 27/09/2023

บางส่วนของยีน *16S rDNA* พบว่าไอโซเลท PHC5R2S020 มีความคล้ายกับ *Rhodococcus* sp. 96 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลท PHC5R2S01 มีความคล้ายกับ *Micrococcusluteus* 100 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในขณะที่ลำดับนิวคลีโอไทด์บางส่วนของบริเวณ internal transcribed spacer 2 (ITS2) ของไอโซเลท FUP3 มีความคล้ายกับ *Aspergillus oryzae* 100 เปอร์เซ็นต์

เสาวนิตย์ และคณะ (2559) ได้พัฒนาการผลิตปุ๋ยจากฟางข้าวจากสายพันธุ์จุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส ซึ่งคัดเลือกมาจากสิ่งแวดล้อมทางการเกษตร ผลการศึกษาพบว่า มีจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส บนอาหาร cellulose congo red agar 14 ไอโซเลท จากทั้งหมด 169 ไอโซเลท โดยจุลินทรีย์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส สามอันดับแรกบนอาหาร cellulose congo red agar คัดแยกได้มาจากดินคือ S - 12 *Aspergillus* sp. S - 41 และ *Actinomycetes* S - 15 บ่มที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง เท่ากับ 4.55 ± 0.12, 4.50 ± 0.08 และ 4.01 ± 0.02 ตามลำดับ

Surachai et al., (2020) ได้ศึกษาการคัดแยกแบคทีเรียทนร้อนจากดิน โดยเก็บตัวอย่างดินจากป่าไม้มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด ตัวอย่างดิน 1 กรัม เลี้ยงในอาหาร LB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่าที่ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง คัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส โดยใช้อาหาร LB+1%CMC ราดสารละลายไอโอดีน พบว่าเชื้อแบคทีเรีย 4 ไอโซเลท มีวงใสที่ชัดเจน คือ CM1, CM2, CM3 และ CM4 กิจกรรมเซลลูเลสของแบคทีเรียที่คัดแยกได้ 4 ไอโซเลท และศึกษากิจกรรมที่ pH ต่าง ๆ (pH 4 - 8) และอุณหภูมิ (50 - 100 องศาเซลเซียส) ผลการศึกษาพบว่า ไอโซเลท CM1 มีค่ากิจกรรมเซลลูเลสสูงสุดที่ 0.074 ยูนิตต่อมิลลิตร ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ที่ pH5 ศึกษาลำดับดีเอ็นเอโดยใช้ลำดับยีน *16S rRNA* พบว่าไอโซเลท CM1, CM3 และ CM4 คือ *Pseudomonas stutzeri* ไอโซเลท CM2 คือ *Bacillus subtilis*

Li ZhengFeng et al., (2020) ศึกษาแบคทีเรียที่สามารถสร้างเอนไซม์เซลลูเลส ที่มีประสิทธิภาพสูง โดยใช้โซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส เป็นแหล่งคาร์บอนในการแยกจุลินทรีย์ คัดแยกได้จากวัสดุธรรมชาติ คือ ยาสูบ และฟาง พบว่าแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส และแอคติโนมัยซิท ทั้งหมด 51 ไอโซเลท มี 9 ไอโซเลท ที่มีกิจกรรมเซลลูเลสสูง ในการทดสอบย้อม Congo Red วิเคราะห์โดยใช้ลำดับยีน *16S rRNA* ผลการศึกษาพบว่า *Luteibacter* sp. L43 มีกิจกรรม เซลลูเลสสูงสุดในการทดสอบการทำงานของเอนไซม์ มีปัจจัย ได้แก่ pH คาร์บอน และไนโตรเจน ที่มีผลต่อเอนไซม์ กระดาษกรองเอนโด-β-1,4-glucanases และ exo-β-1, 4-glucanases สำหรับ L43 ความเข้มข้นของโซเดียมคาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส 12.5 กรัมต่อลิตร ภายใต้สภาวะ pH 6 และ $NaNO_3$ ความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร กิจกรรมเซลลูเลสสูงสุดของ endo-β-1, 4-glucanases และ exo-β-1, 4-glucanases ของ L43 เท่ากับ 16.9 และ 39.62 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Phurt Harnvoravongchai et al., (2020) ศึกษาจุลินทรีย์ทนร้อนและการประยุกต์ใช้เอนไซม์ในงานอุตสาหกรรมต่าง ๆ โดยการศึกษานี้ได้คัดแยกแบคทีเรียไม่ใช้ออกซิเจนที่ทนร้อน และกิจกรรมย่อยสลายเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลส จากป่าเต็งรังในเขตร้อนชื้นภาคเหนือของประเทศไทยสามารถคัดแยกแบคทีเรียได้ทั้งหมด 502 ไอโซเลท มี 6 ไอโซเลทที่ระบุว่าเป็น *Thermoanaerobacterium* sp. แสดงกิจกรรมของเซลลูเลส และไซลาเนส ที่อุณหภูมิสูง 65 องศาเซลเซียส แสดงกิจกรรมของเอนไซม์ในช่วง pH 5 – 9 และกิจกรรมเซลลูเลสและไซลาเนสสูงสุด ที่ 1.15 ยูนิตต่อมิลลิกรัม และ 6.17 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ตามลำดับ

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
โดย Chulalongkorn University 24/03/2023
สำหรับบุคลากรจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย (TUR)

Hajiabadi Sarehet al., (2020) ศึกษาความสามารถของแบคทีเรียทนความร้อนในการผลิตเซลลูเลส การศึกษานี้ได้คัดการแยกและระบุโมเลกุลของแบคทีเรียทนความร้อนจากน้ำพุร้อน Dig Rostam ตรวจสอบการทำงานของเซลลูเลสโดยบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส คัดแยกแบคทีเรียทนความร้อนบนอาหารเลี้ยงเชื้อและทดสอบ Congo Red ได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลทคือ CDB1, CDB2, CDB3 และ CDB4 มีกิจกรรม endoglucanase, exoglucanase และ FPase ของไอโซเลท ผลการศึกษาพบว่า CDB1 มี endoglucanase สูงสุด 0.096 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ exoglucanase 0.156 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ศึกษาลำดับดีเอ็นเอโดยใช้ลำดับยีน *16S rRNA* พบว่า CDB1 คือ *Anoxybacillus* มีความคล้ายคลึงกัน 99 เปอร์เซ็นต์ และไอโซเลทอื่น ๆ มีความคล้ายคลึงกันมากที่สุดกับสกุล *Geobacillus*

Maidul Islam et al., (2019) ได้ศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์เซลลูเลสจาก *Bacillus* sp. สำหรับการผลิตเซลลูเลส จากการบ่ม 24 ชั่วโมงในอาหารหมักที่มี pH 3.5 ที่ 35 องศาเซลเซียส ปั่นเหวี่ยง 150 รอบต่อนาที การผลิตเอนไซม์สูงขึ้น 1.91 เท่า ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมของกิจกรรมเซลลูเลส พบว่ากิจกรรมของเซลลูเลสที่เหมาะสมอยู่ที่ pH 5.5 และ 50 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 50 นาที ประมาณ 6 เปอร์เซ็นต์

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

บทที่ 3
วัสดุอุปกรณ์และวิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- 5X PCR บัฟเฟอร์
- 1 Kb ดีเอ็นเอมาตรฐาน
- fD1/rP2
- น้ำกลั่น
- dNTPs
- TAE บัฟเฟอร์
- *Taq* polymerase
- 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS)
- คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (CMC)
- เอททิเดียมโบรไมด์
- ไตรโซเดียมซิเตรท
- โซเดียมคลอไรด์
- สีซาฟรานินโอ
- โซเดียมไฮดรอกไซด์
- โซเดียมโพแทสเซียมทราเทรท
- ทริปโตน
- โซเดียมฟอสเฟต
- แมกนีเซียมคลอไรด์
- โมโนโซเดียมฟอสเฟต
- สารสกัดยีสต์
- สารละลายไอโอดีน
- อะกาโลสเจล
- กากน้ำตาล
- เอทิลแอลกอฮอล์
- สีคริสตัลไวโอเลต

3.1.2 เครื่องมือที่ใช้ในการทดลอง

- กล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสง
- เข็มเขี่ยเชื้อ
- ขวดรูปชมพู่
- เครื่องผสมสาร
- เครื่องปั่นเหวี่ยง
- เครื่องถ่ายภาพเจล
- เครื่องเทอร์โมไซเคิล
- เครื่องอิเลคโตรโฟรีซิส
- เครื่องนึ่งความดันไอน้ำ
- เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง
- จานเพาะเชื้อ
- ตู้เขี่ยเชื้อ
- ตู้อบลมร้อน
- ตู้เย็น และตู้แช่แข็ง
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- อ่างควบคุมอุณหภูมิ
- ตู้บ่มเชื้อแบบเขย่าควบคุมอุณหภูมิ
- บีกเกอร์
- ไมโครปิเปต
- สไลด์
- หลอดทดลอง
- หลอดเลี้ยงเชื้อ

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/2/2025
โดย Choonaj อาจารย์ ดร.
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส

เก็บตัวอย่างดินบริเวณพื้นที่มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด จำนวน 3 ตัวอย่าง คือบริเวณตึกคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ บ้านพักอาจารย์ และอาคารเทคโนโลยีและวัตกรรมการเกษตร มาคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูเลส โดยนำดินมา 1 กรัม เติมลงในอาหารเหลว LB ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บ่มอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำอาหารเหลว LB ที่เพาะเลี้ยงแบคทีเรีย จากตัวอย่างดินมาทำ Cross streak บนเพลทอาหารแข็ง LB นำเพลทไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จนได้เชื้อที่มีความบริสุทธิ์ แล้วนำเชื้อที่มีความบริสุทธิ์ ที่คัดแยกได้มาจุดเชื้อลงบนเพลทอาหารแข็ง LB+1%CMC บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นตรวจสอบการสร้างเซลลูเลสและการเกิดวงใสหลังจากการเทสารละลายไอโอดีน ราดบนเพลทอาหารที่เลี้ยงเชื้อทิ้งไว้ 2 นาที แล้วเทสารละลายไอโอดีนทิ้ง ทำการคัดเลือก เชื้อแบคทีเรียที่มีวงใสไปใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.2 การศึกษากิจกรรมความจำเพาะต่อ pH ของเซลลูเลส

นำเชื้อที่เกิดวงใส มาเพาะเลี้ยงในอาหารเหลว LB ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บ่ม 37 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำเชื้อไปปรับค่าการดูดกลืนแสงที่ OD_{600} ให้ได้เท่ากับ 0.1 แล้วนำเชื้อปริมาณ 500 ไมโครลิตร ไปเลี้ยงในอาหารเหลว LB+1%CMC ปริมาณ 50 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ปริมาตร 250 มิลลิลิตร บ่ม 37 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยง 10,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 15 นาที นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงไปทดสอบกิจกรรม CMCase ที่ pH 4 – 8 โดย 1 ตัวอย่าง จะใช้ส่วนใส 250 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดแก้วขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วเติม 1%CMC (pH 4 - pH 8) 250 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS) ปริมาณ 500 ไมโครลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร แล้วผสมกันด้วยเครื่องผสมสาร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง OD_{540} แล้วนำค่าการดูดกลืนแสง ไปคำนวณค่ากิจกรรม CMCase จากกราฟน้ำตาลมาตรฐานและนำค่า pH ที่มีกิจกรรมสูงที่สุดไปศึกษาในกิจกรรมต่อไป โดยกิจกรรมของเซลลูเลส 1 ยูนิต หมายถึง ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ย่อยสลายเซลลูโลสให้เป็นกลูโคส 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมิที่ใช้บ่มในการทดลอง

3.2.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเซลลูเลส

นำส่วนใสที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงไปทดสอบกิจกรรม CMCase โดย 1 ตัวอย่าง จะใช้ส่วนใส 250 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดแก้วขนาด 25 มิลลิลิตร แล้วเติม 1%CMC ที่มีค่า pH ที่ทำให้กิจกรรมสูงที่สุดที่ได้จากขั้นตอน 3.2.2 ปริมาณ 250 ไมโครลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม DNS ปริมาณ 500 ไมโครลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร แล้วผสมกันด้วยเครื่องผสมสาร นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง OD_{540} แล้วนำค่าการดูดกลืนแสง ไปคำนวณค่ากิจกรรม CMCase จากกราฟน้ำตาลมาตรฐาน และนำอุณหภูมิที่สูงที่สุดไปศึกษาในกิจกรรมต่อไป

เอกสารฉบับนี้ได้รับการเผยแพร่ในคลังปัญญาบัณฑิตมหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด
โดย Khoonkaew Sharoonsiriwattanakul 26/02/2025
เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น

3.2.4 การศึกษาการทนต่อความร้อนของเซลลูเลส

นำส่วนใส 250 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที แล้วเติม 1% CMC จากการศึกษากิจกรรมความจำเพาะต่อ pH ของเซลลูเลส ขั้นตอน 3.2.2 ที่สูงที่สุด 250 ไมโครลิตร นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ให้ค่ากิจกรรมเซลลูเลสสูงที่สุด จากขั้นตอน 3.2.3 เป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม DNS ปริมาณ 500 ไมโครลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตรแล้วผสมกันด้วยเครื่อง ผสมสารนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง OD_{540} นำค่าการดูดกลืนแสง ไปคำนวณค่ากิจกรรม CMCase จากกราฟน้ำตาลมาตรฐาน

3.2.5 วิธีการศึกษาการย้อมสีแกรมของแบคทีเรีย

เตรียมตัวอย่างเชื้อแบคทีเรียที่คัดเลือกได้มาเพาะเลี้ยงในหลอดอาหาร LB บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 18 ชั่วโมง จากนั้นทำความสะอาด แผ่นสไลด์ด้วยแอลกอฮอล์แล้วเช็ดให้แห้ง แล้วใช้ลูปแตะเชื้อจากหลอดเพาะเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ ใช้ลูปกระจายเชื้อให้ทั่วแผ่นสไลด์แล้วนำแผ่นสไลด์ลนผ่านไฟเพื่อตรึงเชื้อให้ติดแน่นกับแผ่นสไลด์ หยดสีคริสตัลไวโอเลตลงบนรอยเกลี่ยเชื้อทิ้งไว้ 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำตามด้วยการหยดสารละลายไอโอดีนทิ้งไว้ 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ ทำการล้างสีด้วยการหยดเอทิลแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 2 ครั้ง แล้วล้างด้วยน้ำ หยดสีซาฟรานินโอ ลงบนบริเวณกระจายเชื้อ ทิ้งไว้ 1 นาที แล้วล้างด้วยน้ำ แล้วซับน้ำออกจากแผ่นสไลด์ให้หมด นำไปตรวจดูการติดสีแกรมของแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์แบบใช้แสงที่กำลังขยาย 1,000 เท่า

3.2.6 วิธีการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอริเมอเรสที่จำเพาะของยีน *16S rRNA*

การเตรียมตัวอย่างดีเอ็นเอ

นำแบคทีเรียที่ถูกเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ LB นำมาสกัด genomic DNA โดยต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที และนำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อไว้ใช้เป็นแม่แบบในการทำ PCR ต่อไป

การทำปฏิกิริยาลูกโซ่พอริเมอเรส

นำตัวอย่างดีเอ็นเอของแบคทีเรียมาเพิ่มปริมาณส่วนของยีน *16S rRNA* ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้ชุดไพรเมอร์ fD1 (5'-AGAGTTTGATCCTGGCTCAG-3'), และ rP2 (5'-AGGCTACCTT GGTTACGACTT-3') เตรียมปฏิกิริยา PCR ในปริมาตรรวม 50 ไมโครลิตร ประกอบไปด้วย 0.5 มิลลิโมลาร์ fD1 primer, 0.5 มิลลิโมลาร์ rP2 primer, 5X PCR บัฟเฟอร์, 0.2 มิลลิโมลาร์ dNTP, 2 มิลลิโมลาร์ $MgCl_2$, H_2O ปริมาตร 27.75 ไมโครลิตร 0.2 มิลลิโมลาร์ *Taq* polymerase และปิเปต DNA แม่แบบ ปริมาตร 2 ไมโครลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่อง PCR ขั้นตอนประกอบไปด้วย Initial denaturation อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 3 นาที ตามด้วยขั้นตอน Denaturation ใช้อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที Annealing ใช้อุณหภูมิ 55 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที Extension ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 30 วินาที ทั้งหมด 35 รอบ และ Final extension ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส เวลา 10 นาที นำผลิตภัณฑ์ PCR ไปแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน 1% อะกาโลสเจล จากนั้นย้อมดีเอนเอด้วยสีเอททิเดียมโบรไมด์และตรวจสอบขนาดของผลิตภัณฑ์ภายใต้รังสี UV โดยใช้เครื่องถ่ายภาพเจล ผลิตภัณฑ์ที่ได้นำมาเปรียบเทียบกับ 1 Kb DNA ladder จากนั้นนำผลผลิตจาก PCR ไปหาลำดับ DNA ที่บริษัท

เอกสารเผยแพร่ในหลอมเมื่อวันที่ 25/03/2023
โดยเป็นเอกสารที่ได้รับอนุญาตให้เผยแพร่ (เท่านั้น)
จากเจ้าของเอกสาร Shabon
การละเมิดลิขสิทธิ์ของข้อมูลสารสนเทศ

Macrogen ที่ประเทศเกาหลี แล้วนำลำดับดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบกับลำดับดีเอ็นเอมาตรฐานที่อยู่ในฐานข้อมูล EzBioCloud

3.2.7 วิธีการพัฒนาผลิตภัณฑ์การย่อยสลายฟางข้าว

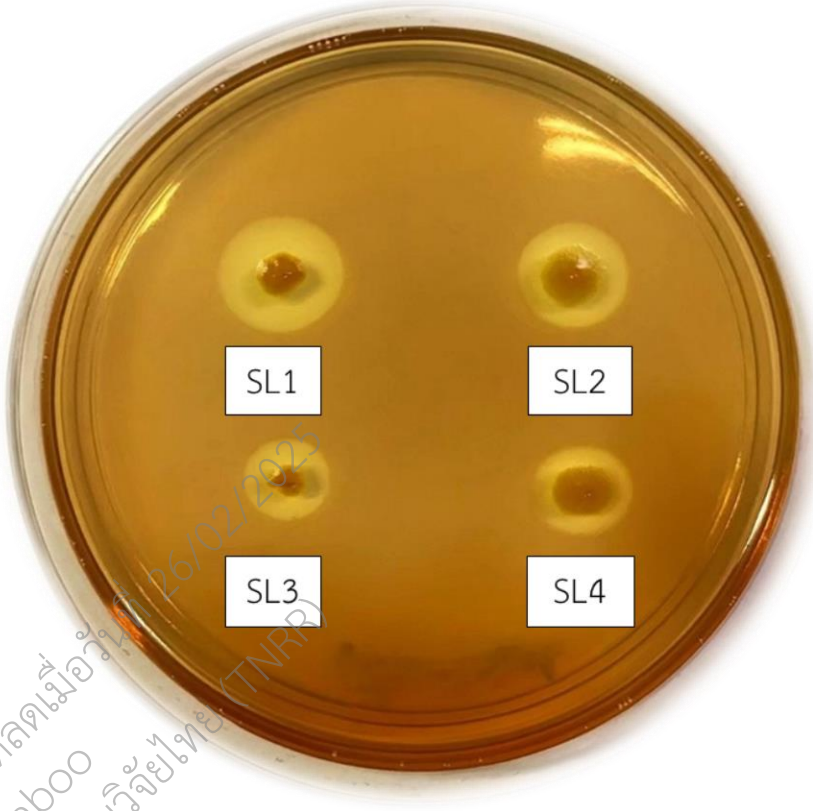
นำเชื้อที่เกิดวงใสมาเลี้ยงในอาหารเหลว LB ปริมาณ 5 มิลลิลิตร บ่ม 37 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำเชื้อปริมาณ 400 ไมโครลิตร ไปเลี้ยงในอาหารเหลว LB+กากน้ำตาล 1% 5% และ 10% ปริมาณ 40 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ 250 มิลลิลิตร บ่ม 37 องศาเซลเซียส เขย่า 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ตัดฟางเป็นชิ้นเล็ก ๆ แล้วใส่ลงในขวด อัตราส่วนฟาง 10 กรัมต่อน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที แล้วปล่อยให้เย็น แล้วเติมเชื้อลงในขวดที่ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ , 5 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักทั้งหมด 9 วัน ที่อุณหภูมิห้อง และเก็บตัวอย่างวันที่ 9 นำตัวอย่างไปวัดปริมาณน้ำตาล โดยใส่ตัวอย่างที่ได้จากการหมัก 500 ไมโครลิตร ใส่ในหลอดแก้วขนาด 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติม DNS ปริมาณ 500 ไมโครลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที แล้วนำไปแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เติมน้ำกลั่น 2.5 มิลลิลิตร แล้วผสมกันด้วยเครื่องผสมสารนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง OD_{540} แล้วนำค่าการดูดกลืนแสงไปคำนวณค่ากิจกรรม CMCase จากกราฟน้ำตาลมาตรฐาน

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

บทที่ 4
ผลการวิจัย

4.1 การคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส

เก็บตัวอย่างดินบริเวณพื้นที่มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด คือ บริเวณตึกคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ บ้านพักอาจารย์ และอาคารเทคโนโลยีและวัตกรรมการเกษตรถูกนำมาใช้ในการคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลส ผลการคัดแยกพบว่าสามารถคัดแยกเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูเลสได้ 4 ไอโซเลท โดยพบวงใสหลังจากราดไอโอดีน และตั้งชื่อว่า SL1, SL2, SL3 และ SL4 (ภาพที่ 4.1)

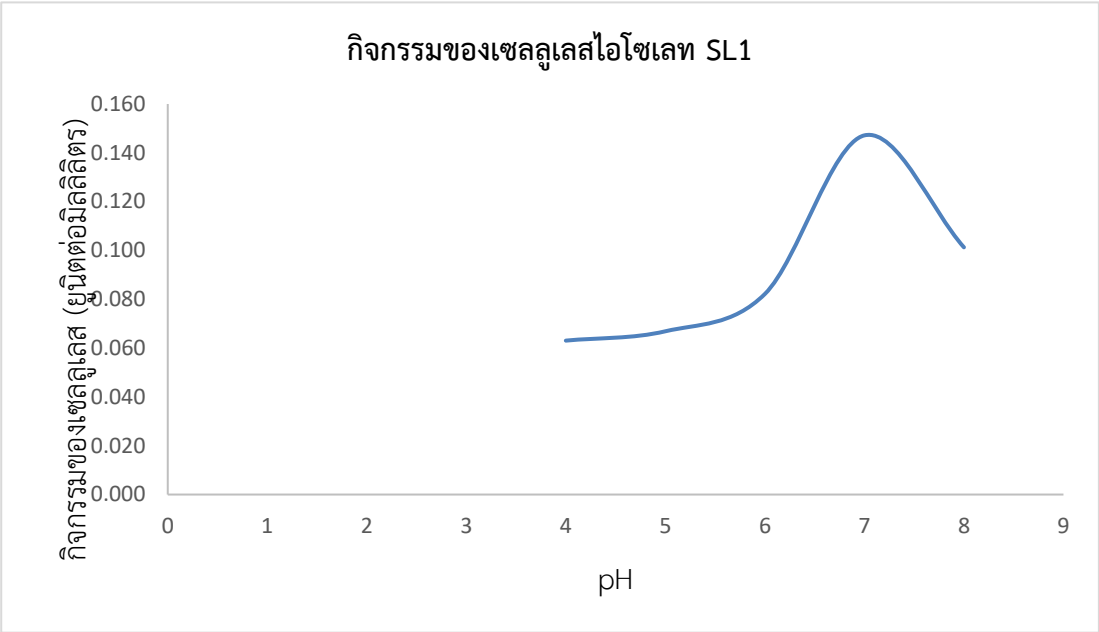


ภาพที่ 4.1 การเกิดวงใสบนอาหารแข็ง LB +1%CMC ที่ราดด้วยสารละลายไอโอดีน

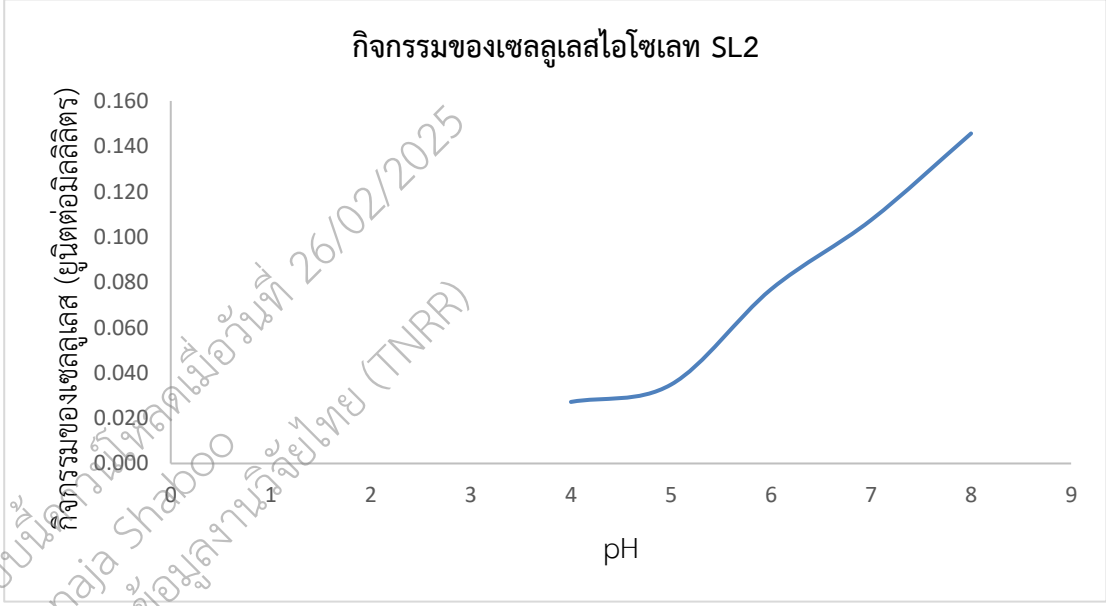
เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Chonnaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

4.2 การศึกษากิจกรรมความจำเพาะต่อ pH ของเซลลูเลส

การคัดแยกแบคทีเรียได้ 4 ไอโซเลท SL1, SL2, SL3 และ SL4 นำเชื้อทั้ง 4 ไอโซเลท ไปทดสอบกิจกรรม CMCase ที่ pH 4 – 8 บ่มที่ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ผลการศึกษากิจกรรมของเซลลูเลสต่อ pH พบว่าไอโซเลท SL1 มีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.147 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 7 ไอโซเลท SL2 มีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.147 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 8, ไอโซเลท SL3 มีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.044 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 8 และไอโซเลท SL4 มีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.182 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ที่ pH 7 (ภาพที่ 4.2 - 4.5)

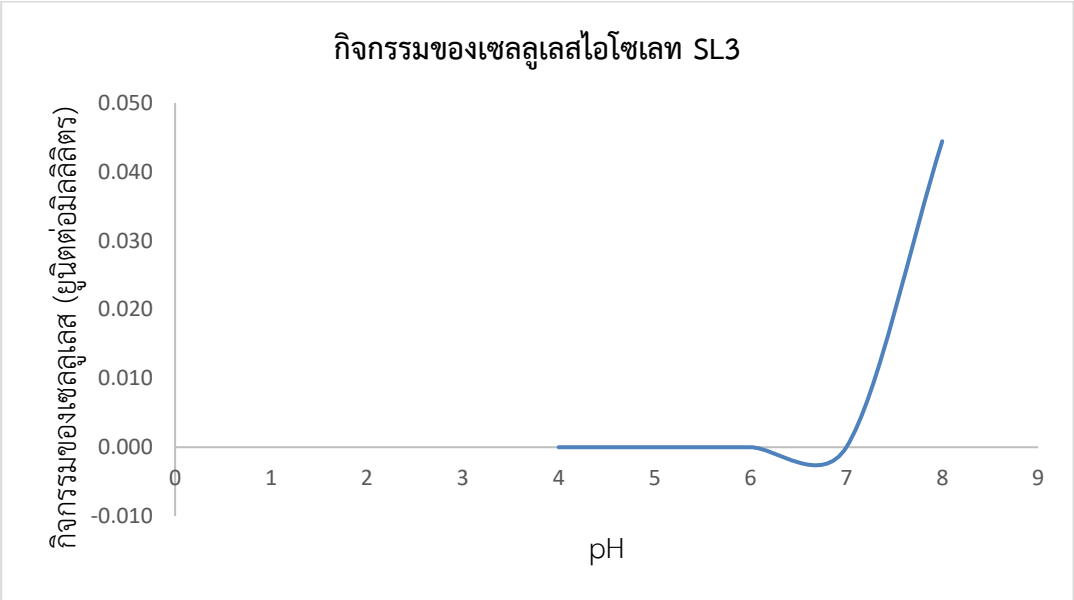


ภาพที่ 4.2 กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL1 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

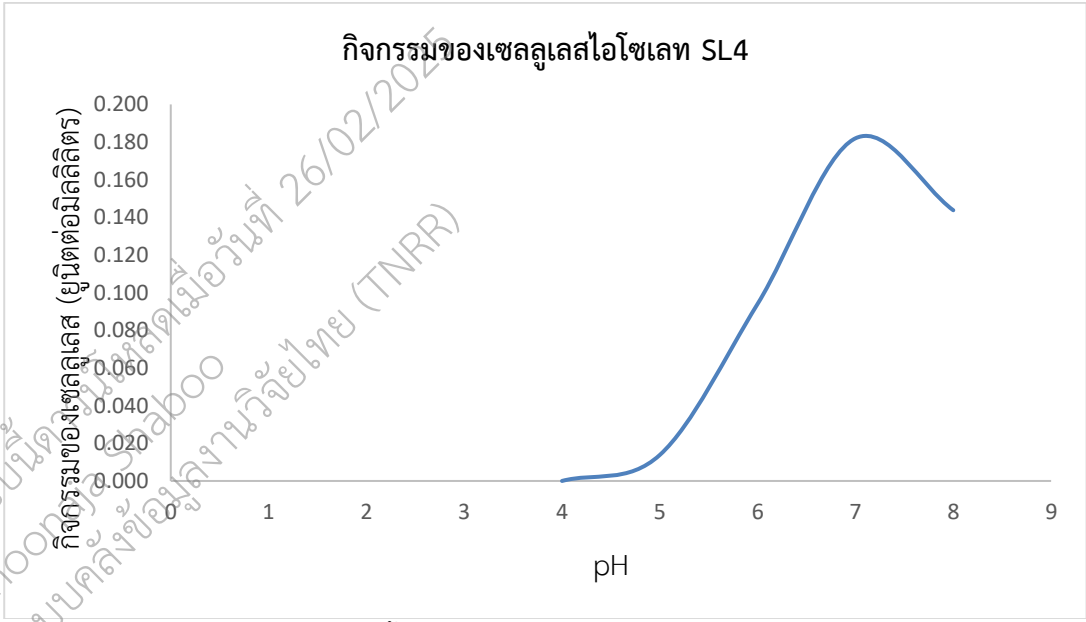


เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาพที่ 4.3 กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL2 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 4.4 กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL3 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส



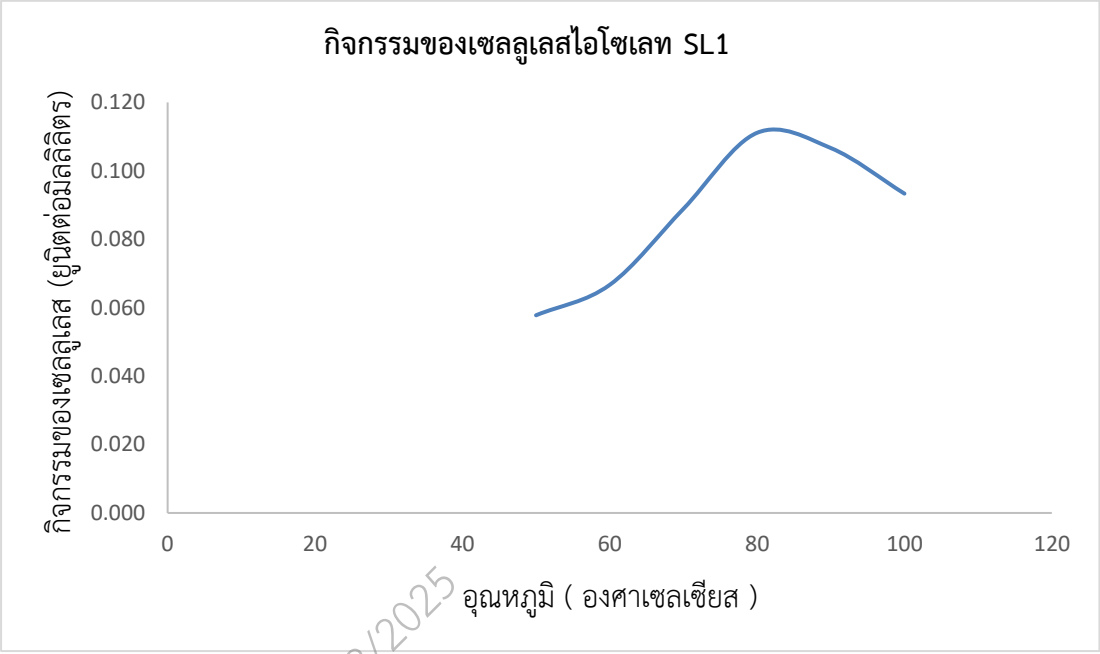
เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonya Saboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาพที่ 4.5 กิจกรรมเซลลูเลสของเชื้อไอโซเลท SL4 ที่ค่า pH 4 - pH 8 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

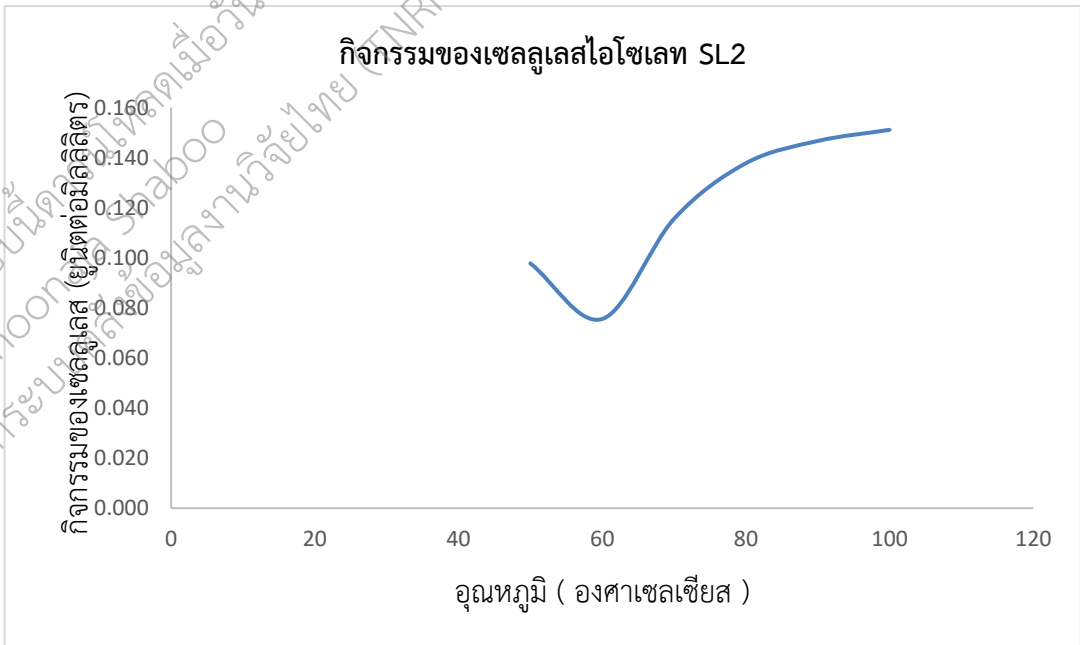
4.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเซลลูเลส

นำส่วนใสของเชื้อไอโซเลท SL1, SL2, SL3 และ SL4 ที่ได้จากการปั่นเหวี่ยงไปทดสอบกิจกรรม CMCase ที่อุณหภูมิ โดยใช้ 1%CMC ที่มีค่า pH ที่ให้ค่ากิจกรรมสูงสุดจากขั้นตอนที่ 4.2 ที่ 50 60 70 80 90 และ100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ผลการศึกษาพบว่าไอโซเลท SL1 มีค่ากิจกรรม CMCase เท่ากับ 0.111 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมของเซลลูเลสที่อุณหภูมิ 80

องศาเซลเซียส ไอโซเลท SL2 มีค่ากิจกรรม CMCase เท่ากับ 0.151 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมของเซลลูเลสที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ไอโซเลท SL3 มีค่ากิจกรรม CMCase เท่ากับ 0.151 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมของเซลลูเลสที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสและไอโซเลท SL4 มีค่ากิจกรรม CMCase เท่ากับ 0.178 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมของเซลลูเลสที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 4.6-4.9)

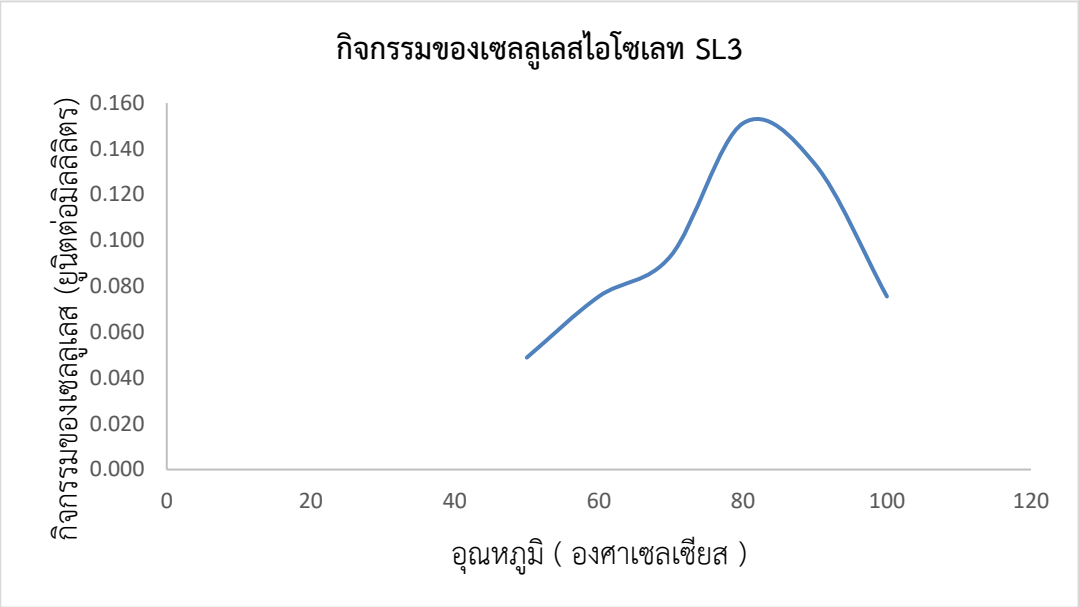


ภาพที่ 4.6 กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL1 ที่ค่า pH 7 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส

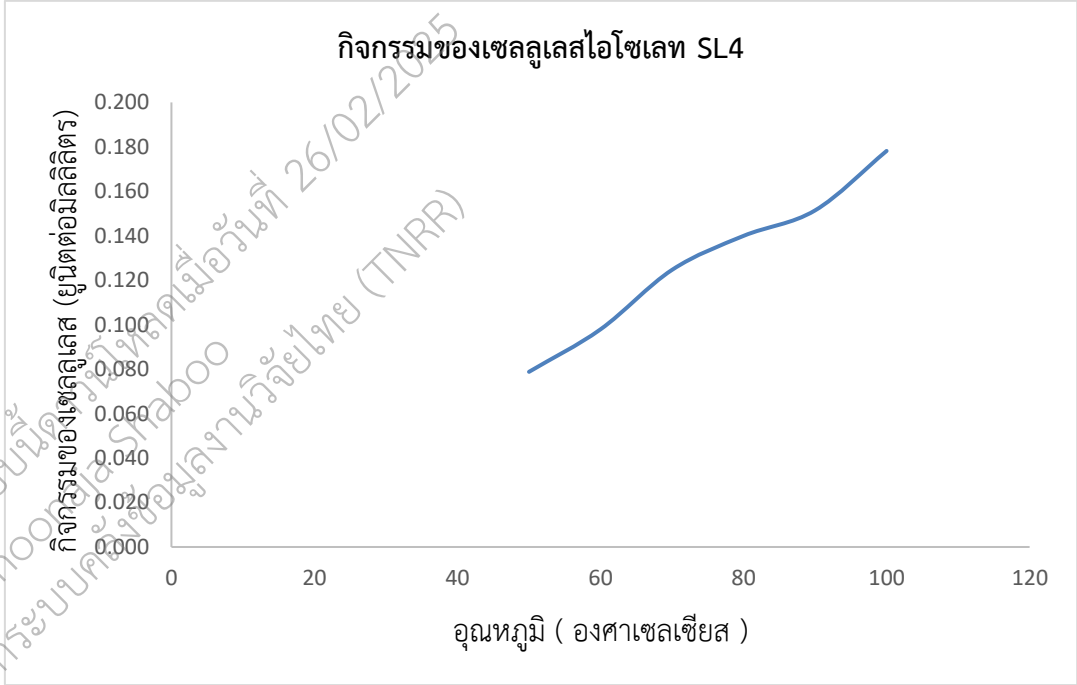


ภาพที่ 4.7 กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL2 ที่ค่า pH 8 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonsiri Sababoo
จากระบบฐานข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)



ภาพที่ 4.8 กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL3 ที่ค่า pH 8 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส

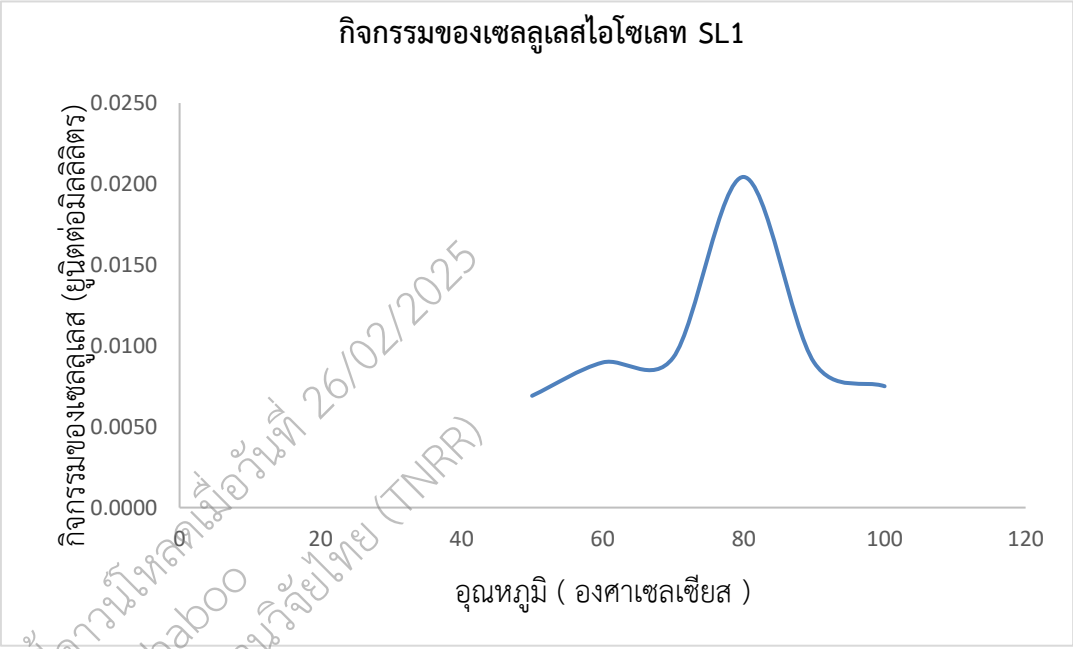


เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonsiri Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาพที่ 4.9 กิจกรรม CMCase ของไอโซเลท SL4 ที่ค่า pH 7 ที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ 100 องศาเซลเซียส

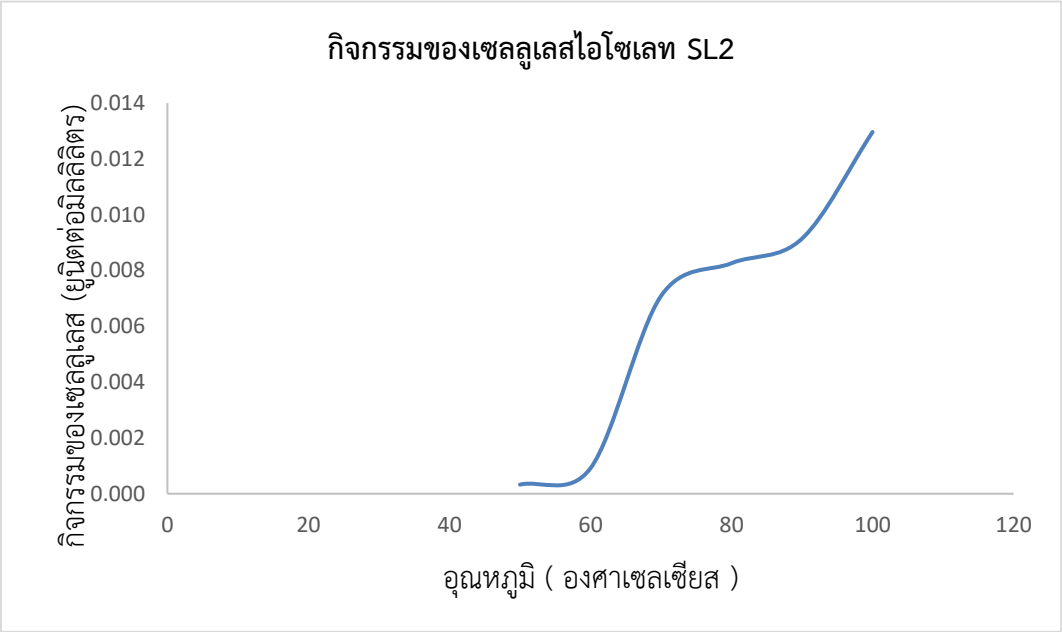
4.4 การศึกษาการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลส

นำส่วนใสของเชื้อไอโซเลท SL1, SL2, SL3 และ SL4 บ่มที่อุณหภูมิ 50 60 70 80 90 และ100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที โดยไอโซเลท SL1 เติม 1%CMC ที่ pH 7, ไอโซเลท SL2 เติม 1%CMC ที่ pH 8, ไอโซเลท SL3 เติม 1%CMC ที่ pH 7 และ ไอโซเลท SL4 เติม 1%CMC ที่ pH 8 และนำไอโซเลท SL1 บ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ไอโซเลท SL2 บ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ไอโซเลท SL3 บ่มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ไอโซเลท SL4 บ่มที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที และหาปริมาณน้ำตาลด้วยวิธี DNS ผลการศึกษาพบว่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของไอโซเลท SL1 มีการคงตัวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.022 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ไอโซเลท SL2 มีการคงตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.014 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ไอโซเลท SL3 มีการคงตัวที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.011 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ไอโซเลท SL4 มีการคงตัวที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.016 ยูนิตต่อมิลลิลิตร (ภาพที่ 4.10 - 4.13)

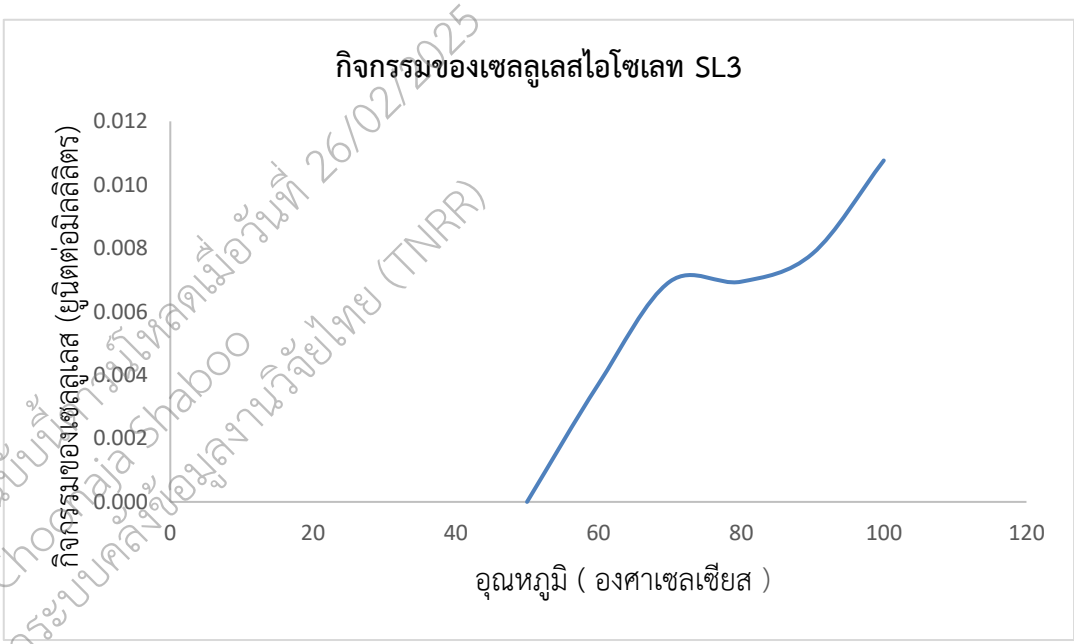


ภาพที่ 4.10 กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL1 ที่ pH 7 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choomnia Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

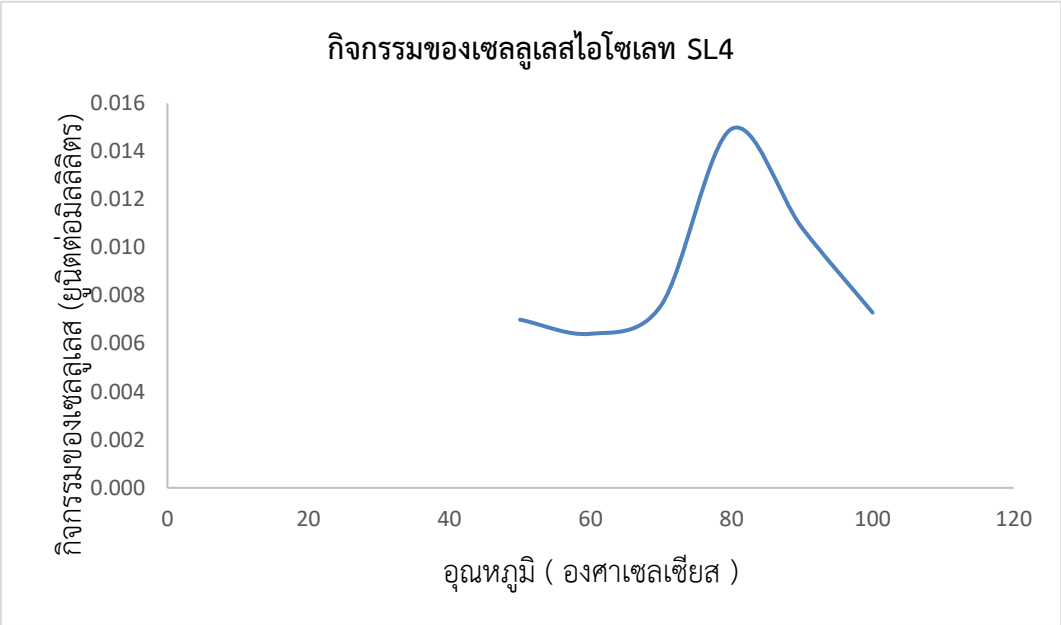


ภาพที่ 4.11 กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL2 ที่ pH 8 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส



เอกสารฉบับนี้ถูกดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Chonlaja Chaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาพที่ 4.12 กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL3 ที่ pH 7 อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส

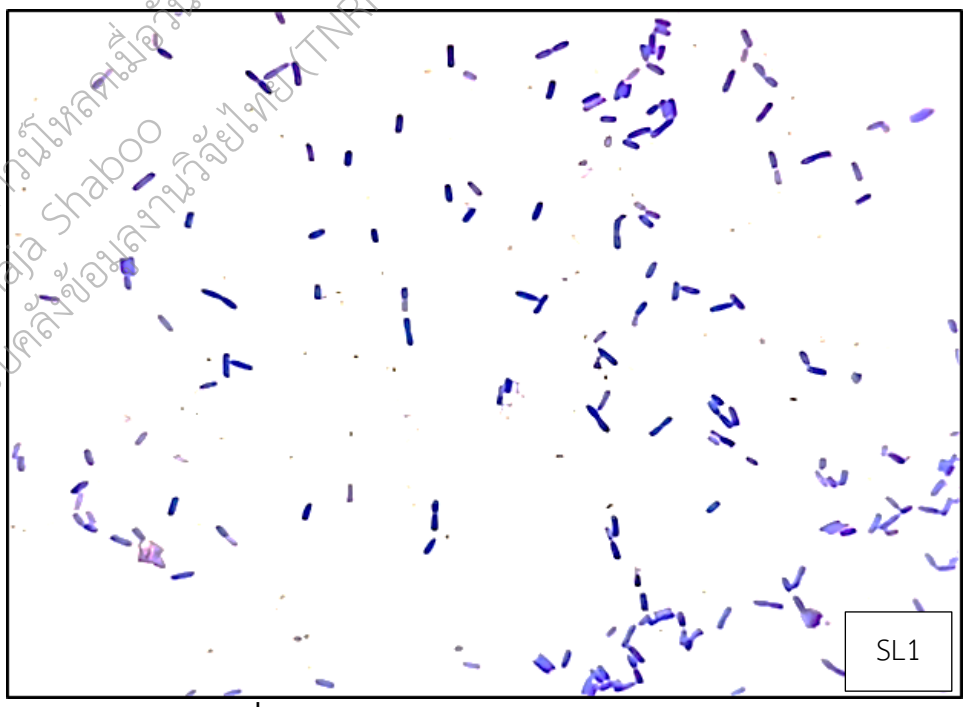


ภาพที่ 4.13 กิจกรรมการคงตัวต่อความร้อนของเซลลูเลสจากไอโซเลท SL4 ที่ pH 8 อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

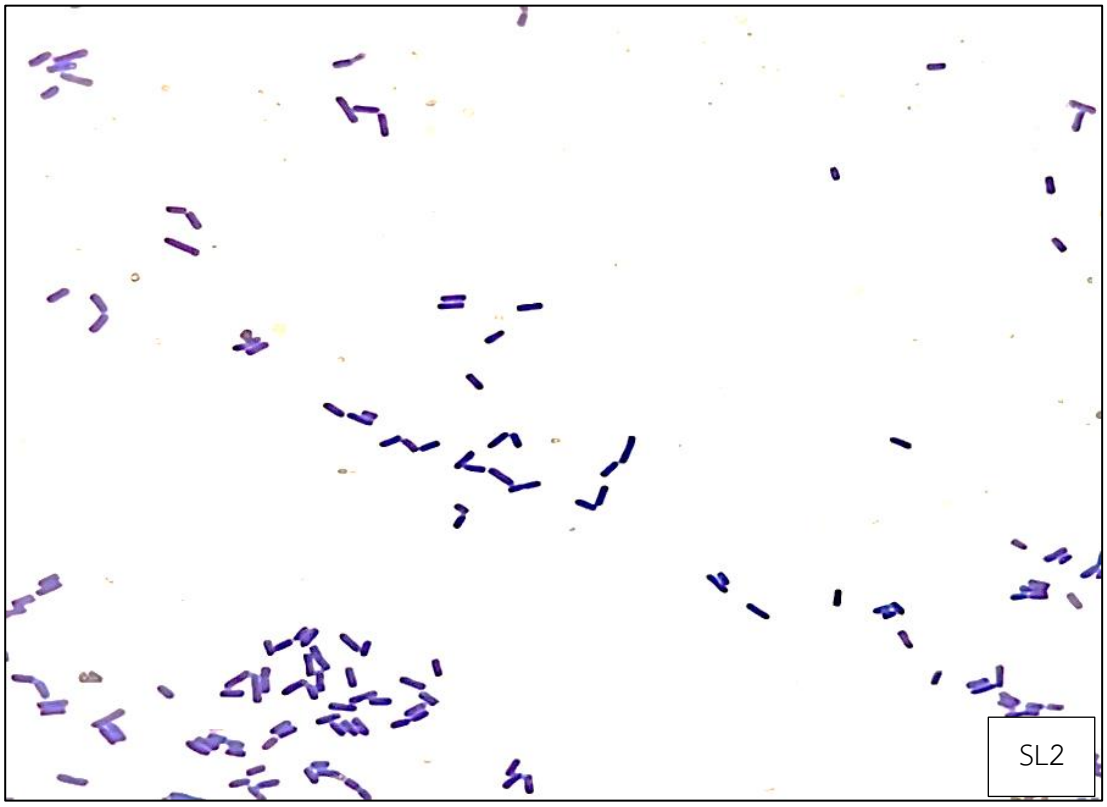
4.5 การศึกษาการย้อมติดสีแกรมของแบคทีเรีย

จากผลการศึกษาการย้อมสีแกรมแบคทีเรียที่คัดแยกได้ทั้งหมด 4 ไอโซเลท คือ SL1, SL2, SL3 และ SL4 พบว่าแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลท เป็นแบคทีเรียรูปร่างท่อนแกรมบวก (ภาพที่ 4.14 – 4.17)

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดมื่อวันที่ 24/6/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย(TNRR)

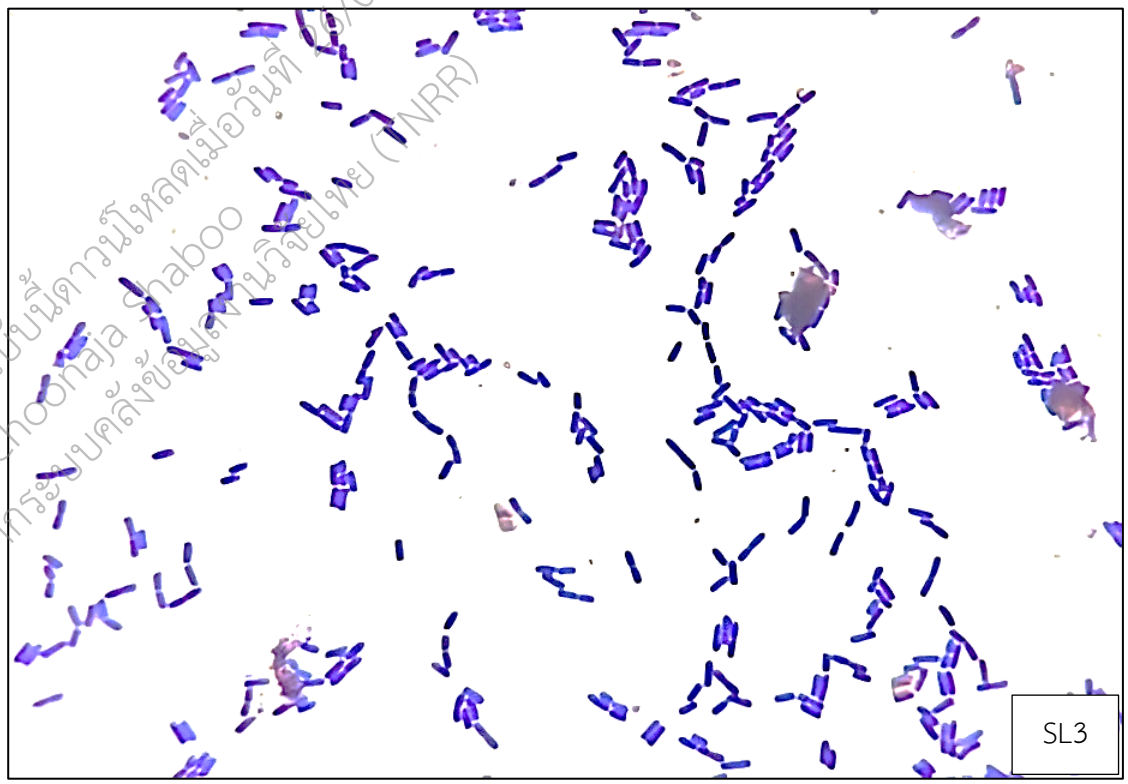


ภาพที่ 4.14 ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL1



ภาพที่ 4.15 ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL2

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 10/02/2023
โดย Choonaja Chaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)



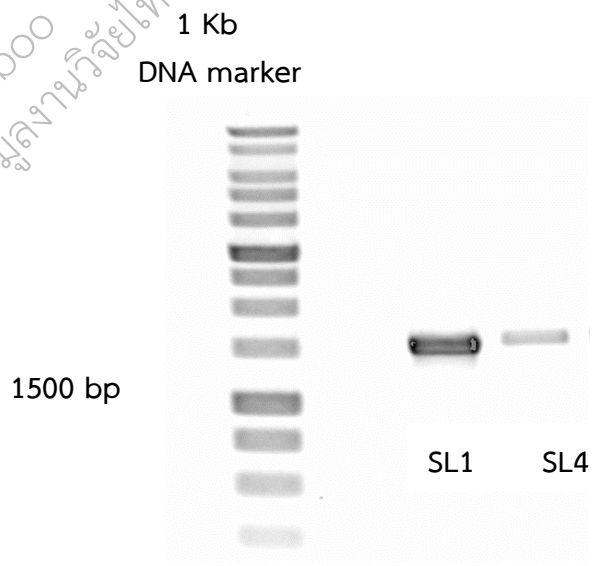
ภาพที่ 4.16 ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL3

ภาพที่ 4.17 ลักษณะการติดสีแกรมของไอโซเลท SL4

4.6 ผลการตรวจสอบชนิดของแบคทีเรียด้วยวิธีปฏิกิริยาลูกโซ่พอริเมอเรสที่จำเพาะของยีน *16S rRNA*

นำดีเอ็นเอที่สกัดได้จากไอโซเลท SL1 และ SL4 มาเป็นแม่แบบในการเพิ่มจำนวนของยีน *16S rRNA* ด้วยเทคนิค PCR โดยใช้องค์ประกอบและขั้นตอนดังกล่าวมาข้างต้น จากนั้นนำผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการทำ PCR ไปแยกด้วยกระแสไฟฟ้าใน 1 เปอร์เซ็นต์ อะกาโลสเจลจากนั้น ย้อมดีเอนเอด้วย ethidium bromide และตรวจสอบผลภายใต้รังสี UV โดยใช้เครื่องถ่ายภาพเจลนำผลิตภัณฑ์ที่ได้มาเปรียบเทียบกับ 1 Kb DNA marker พบว่าขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR มีขนาดประมาณ 1500 bp (ภาพที่ 4.18)

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 12/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)



ภาพที่ 4.18 อะกาโลสเจลแสดงขนาดของผลิตภัณฑ์ PCR เปรียบเทียบกับ 1 Kb DNA marker

จากนั้นนำตัวอย่างแบคทีเรียและผลิตภัณฑ์จากการทำ PCR ส่งไปหาลำดับ DNA ที่บริษัท Macrogen ที่ประเทศเกาหลี แล้วนำลำดับดีเอ็นเอที่ได้ไปตรวจสอบกับลำดับดีเอ็นเอมาตรฐานที่อยู่ในฐานข้อมูล EzBioCloud จากผลของการศึกษาทางพันธุกรรมโดยการหาลำดับเบสของยีน *16S rRNA* พบว่าเชื้อ SL1 และ SL4 ได้ถูกจัดจำแนก SL1 คือ *Bacillus paramycoides* มีค่าความเหมือน 96.50% และ SL4 คือ *Bacillus paranthracis* มีค่าความเหมือน 90.38%

ลำดับ DNA ของเชื้อไอโซเลท SL1

ACTCACATGCAGTTCGAGCGAATGGATGAAGAGCTTTGCTCTTATGAAGTTAGCGGCGGA
CGGGTGAGTAACACGTGGGTAACCTGCCCATAAGACTGGGATAACTCCGGGAAACCGGGG
CTAATACCGGATAACATTTTGAACCGCAAGGTTCGAAATTGAAAGGCGGCTTCGGCTGTC
ACTTATGGATGGACCCGCGTCGCATTAGCTAGTTGGTGAGGTAACGGCTCACCAAGGCAA
CGATGCGTAGCCAACCTGAGAGGGTGATCGGCCACACTGGGACTGAGACACGGCCCAGAC
TCCTACGGGAGGCAGCAGTAGGGAATCTTCCGCAATGGACGAAAGTCTGACGGAGCAACG
CCGCGTGAGTGATGAAGGCTTTCGGGTCGTAAAACTCTGTTGTTAGGGAAGAACAAGTGC
TAGTTGAATAAGCTGGCACCTTGACGGTACCTAACCAGAAAGCCACGGCTAACTACGTGC
CAGCAGCCGCGGTAATAAGTAGGTGGCAAGCGTTATCCGGAATTATTGGGCGTAAAGCGC
GCGCAGGTGGTTTCTTAAGTATGATGTGAAAGCCCACGGCTCAACCGTGGAGGGTCATTG
GAAACTGGGAGACTTGAGTGCAGAAGAGGAAAGTGGAATTCCATGTGTAGCGGTGAAATG
CGTAGAGATATGGAGGAACACCAGTGGCGAAGGCGACTTTCTGGTCGGTAAATGACACTG
AGGCGCGAAAGCGTGGGGAGCAAACAGGATTAGATACCCTGGTAGTCCACGCCGTAAACG
ATGAGTGCTAACTGTTAGAGGGTTTCCGCCCTTTAGTGCTGAAGTTAACGCATTAAGCAC
TCCGCCTGGCGAGTACGGCCGGCAAGGCTGAAACTCAAAGGAATTGACAGGCGCCCGCAC
CAGCGGTGCAGCATGTGGTTTAATTCAAAATCAACGCGAAGAAACTTAACAGGTCGTGAC
ATCCTCTGACAACCCTACACATAGGGCTTCTCCTTCCCCAGCAGAGGGACAAGTGAATAC
GTGCATGGTCGTCTGCTCAGCTCGTGTCCATGAAGATGTTGGGATTAACGTCGCCGCAAC
GAGCGCAACCCTTGATTTTAGTTGCCATCATTAAGTTGGGCACTCTAAGGTGACCGCCGG
TGACAAACCGGAGGAAGGTGGGGATGACGTCAAATCATCATGCCCCTTATGACCTGGGCT
ACACACGTGCTACAATGGACGGTACAAAGAGCTGCAAGACCGCGAGGTGGAGCTAATCTC
ATAAAACCGTTCTCAGTTCGGATTGTTGGCTGCAACTTGCCTACATGAAGCCGGAATCGC
TTGTAATCGCGGATCAGCATGCCGCGGTGAATACGTTCCCGGGCCTTGTACACACCGCCC
GTCACACCCCGAGAGTTTGTAACACCCGAAGTCGGTGGGGTAACCTTTTGGAGCCAGCCG
CCTCT

ลำดับ DNA ของเชื้อไอโซเลท SL4

ACCGGAAACCCACATAGGCTTACTCTTGTTTACGACTTACTGACTCCTAGATACATCTCT
ATATCTATATTGTTGTGATGTGACGAGCCTAGATGATACAATGTATCAGGTATATTATTC
ACCGCGGCATGCTGATCCGCGATTACAACCGATTCCACCTTCTTGTAGGCAATTTGCACC
CTACAATCCGAACTGAGAACGGTTTTATGAGATTAGCTCCACCTCGCGGTCTTGCAGCTC
TTTGTACCGTCCATTGTACCACGTGTGTAGCCCAGGTCATAAGGGGCATGATGATTTGAC
TTCTTCCCCACCTTCCTCCGGTTTGTCACCGGCAGTCACCTTAGATTGCCCAACTTAATG
ATGGCAACTAAAATCAAGGGTTGCGCTCTTTGCGGGACTTAACCCAACTTCTCACAACAC
GACCTGACAACAACCTTGCACCACCTGTCACTCTGCTCCCGAAGGAGAAGCCCTATCTCT
AGGGTTGTCAAAGGATGTCAAGACCTGTTAAGGTTCTTCGCGTTGCTTCAAATTAAACCA
CTTGCTCCACCGCTTGTGCGGGCCCCCTTCATTTCCTTTGATTTTCACCCTTGCGGCCGT
ACTCCCCAGGCGGATTGCTTAATGCTTTAACTTCACCACTAAAGGGCGAAAACCCTCTAA
CACTTAGCACTCTTCTTTTACGGCGTGAACTACCAGGGTATCTAATCCTGTTTGCTCCCC

เอกสารรับรองนิพนธ์ต้นฉบับ
โดย ผู้ช่วยศาสตราจารย์ Shahdan Sharif 26/02/2023
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ ลงนามรับรอง

ACGCTTTCGCGCCTCACTGTCATTTACCGACCAGAAATTCTCCTTCGCCACTGGTGTTCC
TCCATATCTCTACGCATTTCACCGCTACACATGGAATTCCACTTTCCTCTTCTGCACTCA
ATTCTCCCAGTTTCCAATGACCCTCCACGGTTGACCCGTGGGCTTTCACTTCATACTTAA
AAAACCACCTGCGCGCTCTTTACCCCCAATAATTCCGGATAACGCTTGCCACCTACTTAT
TACCGCGGCTGCTGGCACTTATTTAGCCCTGGCTTTCTGGTTAGGTACCTTCAAGGTGCC
ACCTTATTCAACTAGCACTTGTTCTTCCCTACCACCTAT

4.7 ผลการเปรียบเทียบระดับดีเอ็นเอนกับเชื้อมาตรฐาน

ตารางที่ 4.1 ผลการเปรียบเทียบระดับดีเอ็นเอกับเชื้อมาตรฐานในฐานข้อมูล EzBioCloud

EzBioCloud				
Name	Hit taxon name	Accession	Similarity (%)	Completeness (%)
SL1	*Bacillus paramycoides*	MAOI01000012	96.50	100
SL4	*Bacillus paranthracis*	MACE01000012	90.38	100

4.8 ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์การย่อยสลายฟางข้าว

ผลการวัดน้ำตาลจากการย่อยสลายฟางข้าว พบว่าเชื้อไอโซเลท SL1 มีค่าน้ำตาลสูงสุดที่ความเข้มข้น 10% (1 มิลลิลิตร) มีการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีที่สุด มีค่าน้ำตาล 1.926 ไอโซเลท SL3 มีค่าน้ำตาลสูงสุดที่ความเข้มข้น 10% (1 มิลลิลิตร) มีค่าน้ำตาล1.864 ไอโซเลท SL4 มีค่าน้ำตาลสูงสุดที่ความเข้มข้น 10% (1 มิลลิลิตร) มีค่าน้ำตาลที่ 1.794 และไอโซเลท SL2 มีค่าน้ำตาลสูงสุดที่ความเข้มข้น 10% (1 มิลลิลิตร) มีค่าน้ำตาลที่ 1.788 ตามลำดับ (ภาพที่ 4.19)

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/07/2025
โดย Choonaja Shabo
จากระบบคลังข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย (TNRR)

ภาพที่ 4.19 การย่อยสลายฟางข้าววันที่ 9

ตารางที่ 4.2 ผลวัดน้ำตาลการย่อยสลายฟางข้าว

ไอโซเลท	ปริมาณเชื้อที่เติม	ปริมาณความเข้มข้นของกากน้ำตาล(%)		
		1%	5%	10%
SL1	1 มิลลิลิตร	1.519	0.743	1.926
	5 มิลลิลิตร	0.877	1.531	0.824
	10 มิลลิลิตร	1.080	1.119	0.170
	20 มิลลิลิตร	0.955	0.806	0.065
SL2	1 มิลลิลิตร	1.468	0.651	1.788
	5 มิลลิลิตร	1.111	1.778	0.214
	10 มิลลิลิตร	1.709	1.046	0.190
	20 มิลลิลิตร	1.700	0.805	0.055
SL3	1 มิลลิลิตร	1.024	0.860	1.864
	5 มิลลิลิตร	1.127	1.754	0.649
	10 มิลลิลิตร	1.072	1.088	0.117
	20 มิลลิลิตร	1.016	0.774	0.024
SL4	1 มิลลิลิตร	1.438	1.348	1.794
	5 มิลลิลิตร	1.060	1.725	0.819
	10 มิลลิลิตร	0.716	1.132	0.417
	20 มิลลิลิตร	0.572	0.768	0.007

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/03/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย(TNMR)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและอภิปรายผล

5.1 สรุปผลการวิจัย

การศึกษาแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูเลสที่คัดแยกได้จากดินบริเวณมหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด คือ บริเวณตึกคณะศิลปศาสตร์และวิทยาศาสตร์ บ้านพักอาจารย์ และอาคารเทคโนโลยีและวัตกรรมการเกษตร พบแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูเลส 4 ไอโซเลท โดยใช้ชื่อว่า SL1, SL2, SL3 และ SL4 นำแบคทีเรียทั้ง 4 ไอโซเลท ไปทดสอบกิจกรรมของเซลลูเลส โดยใช้ 1%CMC (pH 4 - pH 8) บ่มที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที พบค่ากิจกรรม CMCase สูงสุดคือไอโซเลท SL4 มีค่ากิจกรรมเท่ากับ 0.182 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือไอโซเลท SL1 และ SL2 มีค่ากิจกรรมเท่ากันคือ 0.147 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และไอโซเลท SL3 มีค่ากิจกรรมน้อยที่สุดเท่ากับ 0.044 ยูนิตต่อมิลลิลิตรตามลำดับ

ผลการทดสอบนำไปทดสอบอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเซลลูเลส พบว่าไอโซเลท SL4 มีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.178 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสม ต่อการทำกิจกรรมที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส รองลงมาคือไอโซเลท SL2 และ SL3 มีค่ากิจกรรม CMCase เท่ากันคือ 0.151 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมของไอโซเลท SL2 ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมของไอโซเลท SL3 ที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ไอโซเลท SL1 มีค่ากิจกรรม CMCase น้อยที่สุด เท่ากับ 0.111 ยูนิตต่อมิลลิลิตร โดยพบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำกิจกรรมที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส

การทดสอบการทนต่อความร้อนของเซลลูเลส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์เซลลูเลสของไอโซเลท SL1 มีการทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดเท่ากับ 0.022 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือไอโซเลท SL4 มีการทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase เท่ากับ 0.016 ยูนิตต่อมิลลิลิตร รองลงมาคือไอโซเลท SL2 มีการทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase เท่ากับ 0.014 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ไอโซเลท SL3 มีการทนต่อความร้อนที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรม CMCase น้อยที่สุดเท่ากับ 0.011 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ทั้งนี้อุณหภูมิและความเป็น กรด-ด่าง เป็นปัจจัยที่สำคัญที่ส่งผลต่อการทำงานของเซลลูเลส

จากการศึกษาการจัดจำแนกสายพันธุ์ของแบคทีเรียจัดจำแนกโดยใช้ลำดับของยีน *16S rRNA* พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท SL1 คือ *Bacillus paramycoides* มีค่าความเหมือน 96.50 เปอร์เซ็นต์ และ SL4คือ *Bacillus paranthracis* มีค่าความเหมือน 90.38 เปอร์เซ็นต์ซึ่งยังไม่มีรายงานการศึกษาเชื้อ *Bacillus paramycoides* และ *Bacillus paranthracis* ในการผลิตเซลลูเลส

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
โดย Chulalongkorn University 2/10/2023
จากระบบคลังข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย (TUDC)

5.2 อภิปรายผล

ผลการพัฒนาผลิตภัณฑ์การย่อยสลายฟางข้าว พบว่าไอโซเลท SL1 ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ (1 มิลลิลิตร) มีค่ากิจกรรม CMCase สูงที่สุดคือ 1.926 สามารถนำไปพัฒนาเป็นหัวเชื้อในการย่อยสลายฟางข้าวได้ สอดคล้องกับการศึกษาของ เสาวนิตย์ และคณะ (2559) ที่พัฒนาการผลิตปุ๋ยจากฟางข้าวพบว่า *Aspergillus* sp. S – 41 มีประสิทธิภาพในการย่อยสลายฟางข้าวได้ดีกว่าสารเร่งพด 1 การศึกษาครั้งนี้ได้คัดแยกแบคทีเรียจากดิน มีค่ากิจกรรมเซลลูเลสสูงที่สุดคือ 0.044 – 0.182 ยูนิตต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าน้อยกว่าการศึกษาของ ชฎาพร และคณะ (2015) ได้ทำการคัดแยกแบคทีเรียทนร้อนที่ผลิตเซลลูเลสจาก

ตัวอย่างดินพบว่าเชื้อ LDP - 1.4 มีค่าการวัดค่ากิจกรรมได้ 0.218 ยูนิตต่อมิลลิลิตร แต่มีค่ากิจกรรมเซลลูเลสสูงกว่าการศึกษาของ ชนิดาภาและคณะ (2561) ที่คัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากดินบริเวณรอบรากพืช และเศษวัสดุ พบว่าแบคทีเรียไอโซเลท M008 เป็นแบคทีเรียที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเอนไซม์สูงสุดคือ 0.059 - 0.072 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และ Hajiabadi Sareh et al., (2020) ได้ศึกษาความสามารถของแบคทีเรียที่ทนความร้อนในการผลิตเซลลูเลสพบว่า CDB มีค่ากิจกรรมสูงสุด 0.096 ยูนิตต่อมิลลิลิตร

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

บรรณานุกรม

กุสุมาวดี ฐานเจริญ. 2557. การใช้ประโยชน์จากผักตบชวาในการผลิตเซลลูเลสจากแบคทีเรียทนร้อนและการนำมาผลิตไบโอเอทานอล. **วารสารเกษตรพระวรุณ**. 11(2): 159-166.

คัทลียา ยุรยาตร์. 2556. **การย่อยสลายวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรประเภทเซลลูโลสโดยเซลลูโลไลติกเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อราด้วยการหมักแบบแห้งเพื่อนำไปใช้ในการผลิตไบโอเอทานอล.** คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ฉัตรชัย สังข์ผุด, จีราภรณ์สังข์ผุด และจันทิรา วงศ์วิเชียร. 2552. **องค์ประกอบและการใช้ประโยชน์ของน้ำหวานจากในเขตพื้นที่ลุ่มน้ำปากพนัง**. มหาวิทยาลัยราชภัฏนครศรีธรรมราช

ชฎาพร หัตบูรณ์. 2556. **การสกัดแยกพลาสติกและอลูมิเนียมฟอยล์จากกล่องเครื่องดื่มด้วยกระบวนการทางชีวภาพ.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรบัณฑิต. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระนคร.

ชนิดาภา ธนะศรีรางกูร. 2561. การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและประสิทธิภาพในภาพย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลส. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 36(3) : 1-12.

ณัฐวุฒิ จันทร์แป้น, ธารวิมล ฟักสกุล และฐิติวัลค์ จันทรังษ์, 2560. **การจัดการด้านอาหารหยาบโดยการสับฟางข้าวสำหรับโคเนื้อและการดัดแปลงโรงเรือนโดยอ่านค่าจาก Infrared Thermometer**. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สาขาวิชาเกษตรศาสตร์ (เทคโนโลยีการผลิตสัตว์). มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

ณิษา สิรนนท์ธนา, จันทร์จรัส วัฒนะโชติ และ มะลิวัลย์ คุตะโค. 2561. **ประสิทธิภาพของแอคติโนมัยซีททะเลในการผลิตเอนไซม์เพื่อบำบัดน้ำเสีย**. โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้. สถาบันวิทยาศาสตร์ทางทะเล มหาวิทยาลัยบูรพา**.**

ทิพวรรณ แตงสวน. 2554. **การคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากมูลสุกร.** ปัญหาพิเศษปริญญาตรี. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เทวรัตน์ ตรีอำนรรค, วีรชัย อาจหาญ, กระวี ตรีอำนรรค, ธนากร แนวกลาง, เกียรติศักดิ์ ใจโต, เบญจวรรณ วานมนตรี และนาฏชนก ปรางปรุ. 2558. **การใช้ประโยชน์จากฟางข้าวกรณีศึกษาบรรจุภัณฑ์สำหรับผลผลิตทางการเกษตร.** มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นวรัตน์ นันทพงษ์. 2558. **การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อแบคทีเรีย *Corynebacterium glutamicum* สายพันธุ์ที่เจริญได้ดีที่อุณหภูมิสูง.** งานวิจัย. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

นิตยา รื่นสุข, ประนอม มงคลบรรจง, เฉลิมชาติ ถาไชยคาม และวาสนา อินแถลง. 2551. การจัดการฟางข้าวในพื้นที่ทำนาอย่างต่อเนื่อง. **ประชุมวิชาการข้าวและธัญพืชเมืองหนาวประจำปี2551**. 38-39

นิธิยา รัตนาปนนท์ และพิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. **carboxy methyl cellulose cmc**. แหล่งที่มา: http://www.foodnetworksolution.com/vocab/ word/1439/CMC.

บัญญัติ เฉิดฉิ้ม. 2556. **การผลิตไบโอเอทานอลจากต้นปาล์มน้ำมัน**. วิทยานิพนธ์. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพอุตสาหกรรม. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่ยังไม่ได้เผยแพร่ 26/02/2025
โดย Chonnanat Thanasomboon
สงวนลิขสิทธิ์ TTRRA

บัณฑิต เกิดมงคล, เบญจมาศ อยู่ประเสริฐ และภรณี ต่างวิวัฒน์. 2556. การไถกลบฟางและตอซังข้าวของเกษตรกร ตำบลตะคุ อำเภอปักธงชัย จังหวัดนครราชสีมา. **การประชุมวิชาการแห่งชาติ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วิทยาเขตกำแพงแสน ครั้งที่ 10**. 2894-2902.

ปรีชา ยอดยิ่ง, ศิริณา ทองดอนน้อย และ สิรินภา ช่วงโอภาส. 2562. การคัดแยกแบคทีเรียย่อยสลายเซลลูโลสและประสิทธิภาพของการย่อยสลายซังข้าวโพดและผักตบชวาที่ใช้เป็นซับสเตรท. **แก่นเกษตร**. 47(1): 177-186.

ปิยพร ร่มแสง, มัตติกา ไชยลังกา, รังสรรค์ กุนสะนา, วิชชากร กันทรัญ, อนุวัฒน์ โรจน์สินทรัพย์, และนพพล เล็กสวัสดิ์. 2555. **CMC biopolymer**. สำนักวิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

พรเทพ ถนนแก้ว. 2538. **ภาวะเหมาะสมของการผลิตเซลลูเลสจากเชื้อราที่คัดแยกจากบริเวณปลูกป่าศรนารายณ์.** วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พรรณวิไล กิ่งสุวรรณรัตน์. (2554). **การผลิตเอทานอลจากเหง้ามันสำปะหลัง**. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. ภาควิชาวิศวกรรมเคมีคณะวิศวกรรมศาสตร์. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

พิจิตรา ตั้งเขื่อนขันธ์, รสรินทร์ รุจนานนท์ และอัญชลี อานาทสมบูรณ์. 2548**. การคัดเลือกเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากวุ้นมะพร้าวที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากโรงงาน.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าคุณทหารลาดกระบัง.

ยงยุทธ โอสถสภา, อรรถศิษฐ์ วงศ์มณีโรจน์ และชวลิต ฮงประยูร. 2551. **ปุ๋ยเพื่อการเกษตรยั่งยืน.** ภาควิชาปฐพีวิทยา. คณะเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์วิทยาเขตกำแพงแสน.

รวิสรา รื่นไวย์. 2561. การคัดเลือกจุลินทรีย์ในดินบริเวณมหาวิทยาลัยพะเยาที่มีศักยภาพในการย่อยสลายเซลลูโลส. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 3(1): 33-44.

ระวีวรรณ แกล้วกล้า. 2538. **การผลิตเอทานอลจากฟางข้าว**. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

วัฒนา อัจฉริยะโพธา, ดวงเดือน วัฏฏานุรักษ์ และ พิมนารา นิลฤทธิ์. 2561. การศึกษาแอคติวิตีของเอนไซม์เซลลูเลสจากเห็ดราทำลายไม้ในการผลิตแอลกอฮอล์จากผักตบชวา ด้วยวิธีการย่อยสลายให้เกิดเป็นน้ำตาลแบบต่อเนื่องกับการหมัก. **วารสารวิจัยและพัฒนา วไลยอลงกรณ์ ในพระบรมราชูปถัมภ์.** 13(3): 23-33.

ศศิธร ไกรฤทธิชัย. 2552. **การแยกและการคัดกรองแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อการย่อยสลายใบไม้**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

ศศิธร ไกรฤทธิชัย และนฤมน ทองไว. 2550. **การแยกและการคัดกรองแบคทีเรียที่สามารถผลิตเอนไซม์เซลลูเลส.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สมรักษ์ พันธ์ผล และนิสา แส่หลี. 2553. **ฤทธิ์ต้านเชื้อราของ *Bacillus* spp. ที่สร้างเอนไซม์ไคติเนสที่คัดแยกจากสภาวะแวดล้อมทางทะเลในจังหวัดสงขลาและปัตตานี.** โครงงานวิจัย. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์วิทยาเขตปัตตานี.

สัญทัศน์ สินจรูญศักดิ์. 2554. **การผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและไซลาเนสโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* และการใช้ประโยชน์ในการแยกน้ำมันจากน้ำทิ้งโรงงานสกัดน้ำมันปาล์ม**. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

สุจัยพรรณ เข็มแก้ว. 2559. **ผลของกลีเซอรอล และเพค-10 ไดเมธิโคนต่อสมบัติของฟิล์มชีวภาพจากเปลือกทุเรียน พันธุ์หมอนทอง.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยบูรพา.

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ภายในเวลาที่ 26/02/2025
โดย Chonlada Chalaso
จากการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น (TNR)

สุภาวดี ผลประเสริฐ. 2557. การปรับสภาพวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล. **วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี**. 22(5): 641-649.

เสาวนิตย์ ชอบบุญ, พัชรี หลุ่งหม่าน และ ผจงสุข สุธารัตน์. 2559. **การพัฒนาการผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวของกลุ่มเกษตรกร ตำบลบาเขียด อำเภอสิงหนคร จังหวัดสงขลา.** โครงงานวิจัย. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏสงขลา.

อรุณรัตน์ อุทัยคู. 2561. **การศึกษาองค์ประกอบทางเคมี และการเตรียมฟิล์มเซลลูโลสจากธูปต้นธูปฤาษีในดินเค็ม.** วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.

อรุณี ศุภสินสาธิต. 2558. พลังงานจากชีวมวลที่มีลิกโนเซลลูโลสสูง. **วารสารสิ่งแวดล้อม.** 16(2): 36-43

อุษารัตน์ รัตนคำนวณ. 2557. **การเตรียมเซลลูโลสดัดแปรงที่ย่อยสลายได้ทางชีวภาพทางการเกษตรภายใต้พลังงานไมโครเวฟ.** โครงงานวิจัย. มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

Anoop Kumar V., Suresh Chandra Kurup R., Snishamol C. and Nagendra Prabhu G. 2018. Role of Cellulases in Food, Feed, and Beverage Industries. **Green Bio-processes.** 17(10): 323-343.

Bharathi M. J., Ramakrishnan R., Meenakshi R., Mittal S., Shivakumar C. and Srinivasan M. 2006. Microbiological diagnosis of infective keratitis: comparative evaluation of direct microscopy and culture results. **British Journal of Ophthalmology**. 90(10): 1215-1217.

Chen Y., Liu C., Chang P.R., Cao X. and Anderson D.P. 2009. Bionanocomposites based on pea starch and cellulose nano whiskers hydrolyzed from pea hull fibre : Effect of hydrolysis time. **Carbohydrate Polymers.** 76(4): 607–615.

Erik Eriksson. 1978. The atmospheric carbon dioxide problem. **Tellus** (30) :350-357.

Gnansounou E, Dauriat A, and Wyman C. E. 2005. Refining sweet sorghum to ethanol and sugar: economic trade-offs in the context of North China, **Biores. Technol**. 96: 985-1002.

Goksoyr J. and Eriksen J., 1980. Cellulases. In A. H. Rose (Ed), Economic Microbiolqpv. **Microbiology Enzymes and Bioconversions.** (5): 283-330.

Hajiabadi Sareh Mashreghi, Mansour Bahrami, Ahmad Reza Ghazvini, Kiarash Matin, Maryam M. 2020. Isolation and molecular identification of cellulolytic bacteria from Dig Rostam hot spring and study of their cellulase activity. **Biocell Mendoza**. 44 (1) : 63-71.

Hans Walter, 2005. **Plant Biochemistry.** 3rd ed. Elsevier Academic Press. Oxford.

Irfan Muhammad, Asma Safdar, Quratulain Syed and Muhammad Nadeem. 2012. Isolation and screening of cellulolytic bacteria from soil and optimization of cellulase production and activity. **Türk Biyokimya Dergisi [Turkish Journal of Biochemistry–Turk J Biochem]**. 37(3): 287–293.

Kanittha Kanokkanjana, Penwadee Cheewaphongphan and Savitri Garivait. 2011. Black Carbon Emission from Paddy Field Open Burning in Thailand. **2011 2nd International Conference on Environmental Science and Technology.** 6(1): 88-91.

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
โดย Choonlaya Chaokoon เมื่อวันที่ 26/02/2025
จากระบบคลังข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย (TNDR)

Karthika A., Seenivasagan R., Kasimani R., Babalola O., Vasanthy M., 2020**.** Cellulolytic bacteria isolation, screening and optimization of enzyme production from vermicompost of paper cup waste. **Waste Management**. 116: 58-65.

Klyosov, A. A. 1990. Trends in biochemistry and enzymology of cellulase Degradation. **Biochemistry**. 29: 10577-10585.

Lertwattanasakul N. **Bioethanol an alternative energy from yeast hybrids** Available Source: https://omnimicrobes.wordpress.com/page/3/. 9 July 2024.

Li ZhengFeng, Zhu Jie, Tang Li, Deng G., Wu Tao, Liao TouGen, Zhang Wei, Xia YuZhen, Wang YiQuan and Li Yan. 2020**.** Isolation, identification and cellulase enzyme activity determination of cellulase-producing bacteria from tobacco straw. **Southwest China Journal of Agricultural Sciences**. 33(3): 645-650.

Lu Yulin Nathan and Mosier S., 2007. Biomimetic Catalysis for Hemicellulose Hydrolysis in Corn Stover. **biotechnology progress.** 23(1): 116-123.

Maidul Islam, Palash Kumar Sarkar, A.K.M. Mohiuddin and Md. Suzauddula. 2019. Optimization of fermentation condition for cellulase enzyme production from *Bacillus* sp. **Malaysian Journal of Halal Research**. 2(2): 19-24.

Matheus Poletto, Vinícios Pistor and Ademir J. Zattera. 2013**. Structural Characteristics and Thermal Properties of Native Cellulose –** Fundamental Aspects, Theo van de Ven and Louis Godbout, Intech Open.

Mawadza, C., Rahni, H., Zvauya, R., Bo, M. 2000. Purification and characterization of cellulases produced by two *Bacillus* strains**. Journal of Biotechnology**. 83 :177-187.

Okonkwo IF. 2011.Optimal Media Conditions for the Detection of Extracellular Cellulase Activity in *Ganoderma neo-japonicum.* **Micrology**. 1(1): 129-132.

Phurt Harnvoravongchai, Ratiyakorn Singwisut, Puey Ounjai, Amornrat Aroonnual, Pahol Kosiyachinda, Tavan Janvilisri and Surang Chankhamhaengdecha. 2020. Isolation and characterization of thermophilic cellulose and hemicellulose degrading bacterium, *Thermoanaerobacterium* sp. R63 from tropical dry deciduous forest soil. **PLOS ONE**. 15(7): 1-16.

Shajahan S, Moorthy IG, Sivakumar N and Selvakumar G. 2018. Statistical modeling and optimization of cellulase production by *Bacillus licheniformis* NCIM 5556 isolated from the hot spring, Maharashtra, India. **Global Research & Development Services**. 4(1): 19-36.

Sun, Y. and Cheng, J. 2002. Hydroloysis of lignocellulosic materials for bioethanol production:review. **Bioresour Technol.** 83: 1-11.

Surachai Rattanasuk, Apisit Songsaeng and Thanatip Sriwarom. 2020. *Pseudomonas stutzeri* CM1, Novel Thermotolerant Cellulase- Producing Bacteria Isolated from Forest Soil. **Pakistan Journal of Biological Sciences.** 23(10): 345-1350.

เอกสารฉบับนี้ได้รับอนุญาตให้ใช้ได้ภายในวันที่ 26/02/2025
โดย Chodnalin Chaiboon
จากระบบคลังข้อมูลวิจัยไทย (TNRR)

Veeresh Juturu and Jin Chuan Wu. 2014. Microbial cellulases: Engineering, production and applications. **Renewable and Sustainable Energy Reviews**. 33: 188-203.

Virendra S. Bisariaa and Tarun K. Ghosea. 1981. Biodegradation of cellulosic materials substrate microorganism, enzyme and product. **Enzyme and Microbial Technology**. 3(2): 90-104.

William G. Weisburg, Suran M. Barns, Dale A. Pelletier and David J. Lane. 1991. 1*6S* Ribosomal DNA Amplification for Phylogenetic Study. **Journal of Bacteriology**. (173)2: 697-703.

Yoswathana N., Phuriphipat P., Treyawitthiwat P and Eshtiaghi MN. 2010. Bioethanol production from rice straw. **Energy** 1(1): 26-31.

Yung-Chung, L., Ganesh, D.S., Wen-Ming, C., Ming-Der, B. and Jo-Shu, C. 2009. Isolation of cellulose – hydrolytic bacteria and applications of the cellulolytic enzymes for cellulosic biohydrogen production. **Journal of Enzyme and Microbial Technology**. 44: 417–425.

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาคผนวก

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาคผนวก (ก)
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย

1.การเตรียมอาหาร

1.1 Luria-Bretani broth (LB broth)

Tryptone	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม
NaCl	10 กรัม
Distilled water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 Luria-Bretani agar (LB agar)

Tryptone	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม
NaCl	10 กรัม
Agar powder	15 กรัม
Distilled water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.3 Luria-Bretani broth + 1% carboxymethyl cellulose (LB broth + 1%CMC)

Tryptone	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม
NaCl	10 กรัม
Carboxymethyl cellulose	10 กรัม
Distilled water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.4 Luria-Bretani agar + 1% carboxymethyl cellulose (LB broth + 1%CMC)

Tryptone	10 กรัม
Yeast extract	5 กรัม
NaCl	10 กรัม
Agar powder	15 กรัม

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shabao
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

Carboxymethyl cellulose	10 กรัม
Distilled water	1,000 มิลลิลิตร

ละลายส่วนผสมทั้งหมดให้เข้ากัน แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2.การเตรียมน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

ชั่งน้ำตาลกลูโคส ($C_6H_{12}O_6$) 100 มิลลิกรัม จากนั้นเติมน้ำให้ครบ 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสเข้มข้น 10 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร (Stock solution) จากนั้นเจือจางที่ความเข้มข้น 0, 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

3.การเตรียมสารละลายกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (DNS)

ชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 4 กรัม ละลายในน้ำปริมาตร 50 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียส ด้วย Hot plate จากนั้นชั่งโซเดียมโพเทสเซียมทาเทรท ($C_4H_4KNaO_6.4H_2O$) 75 กรัม ชั่ง 3,5-Dinitrosalicylic acid ($C_7H_4N_2O_7$) 2.5 กรัม ผสมให้เข้ากัน และปรับปริมาตร ด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 500 มิลลิลิตร เก็บในขวดทึบแสงที่อุณหภูมิห้อง

4.การเตรียม Carboxymethyl cellulose pH buffer 4,5,6,7 และ 8

4.1 การเตรียม CMC pH 4

Carboxymethyl cellulose	1 กรัม
Citrate buffer pH 4	100 มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มให้เดือดด้วย Hot plate เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.2 การเตรียม CMC pH 5

Carboxymethyl cellulose	1 กรัม
Citrate buffer pH 5	100 มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มให้เดือดด้วย Hot plate เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

4.3 การเตรียม CMC pH 6

Carboxymethyl cellulose	1 กรัม
Citrate buffer pH 6	100 มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มให้เดือดด้วย Hot plate เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/03/2025
โดย Phoonaja Shabbo
จากระบบคลังข้อมูลวิทยานิพนธ์ไทย (TNRR)

4.4 การเตรียม CMC pH 7

Carboxymethyl cellulose	1 กรัม
Phosphate buffer pH 7	100 มิลลิลิตร

ละลายให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มให้เดือดด้วย Hot plate เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4.5 การเตรียม CMC pH 8

Carboxymethyl cellulose	1 กรัม
Phosphate buffer pH 8	100 มิลลิลิตร

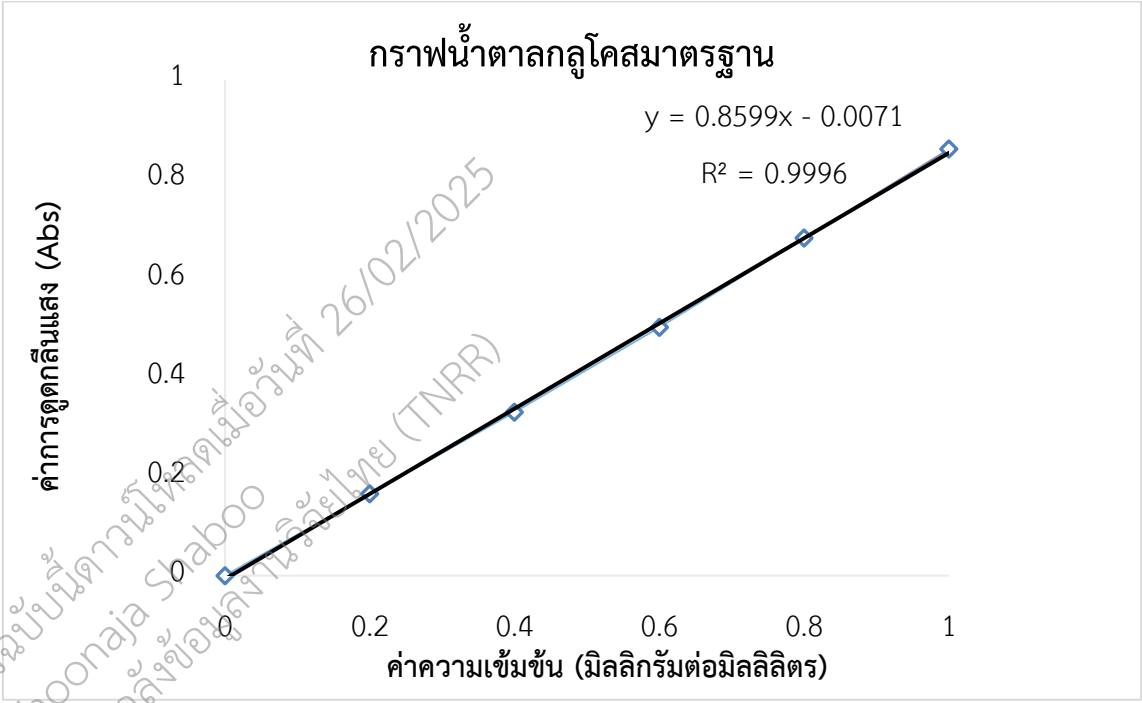
ละลายให้เข้ากัน แล้วนำไปต้มให้เดือดด้วย Hot plate เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ภาคผนวก (ข)
กราฟน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

1. การทำกราฟน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (Abs)
0	0
0.2	0.165
0.4	0.330
0.6	0.501
0.8	0.681
1	0.860



เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Sbaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

2.การคำนวณยูนิตของเอนไซม์

การคำนวณหาปริมาณน้ำตาล (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

คำนวณจากสมการเส้นตรงของกราฟน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

$$y = 0.8599x - 0.0071$$

$$\text{การคำนวณหายูนิตของเอนไซม์} = \frac{\text{ปริมาณน้ำตาล} \times 1{,}000 \times 4}{180 \times \text{เวลาที่ใช้ในการบ่ม}}$$

ข้อมูลประวัติคณะผู้วิจัย

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.สุรชัย รัตนสุข

เพศ ☑ ชาย ☐ หญิง วันเดือนปีเกิด.....อายุ.....ปี

สถานภาพ ☑โสด ☐ สมรส

ตำแหน่งปัจจุบัน

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.ด.	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี	2554
วท.บ.	เทคโนโลยีชีวภาพ	มหาวิทยาลัยมหาสารคาม	2545

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ

กิจกรรมการต้านเชื้อก่อโรคจากสารสกัดสมุนไพร

การคดดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์

International Publication:

1. Srisuwan, Y., Srihanam, P., Rattanasuk, S., & Baimark, Y. (2024). Preparation of Poly(L-lactide)-b-poly(ethylene glycol)-b-poly(L-lactide)/Zinc Oxide Nanocomposite Bioplastics for Potential Use as Flexible and Antibacterial Food Packaging. **Polymers**, 16(12), 1660. https://www.mdpi.com/2073-4360/16/12/1660
2. Surachai Rattanasuk and Duanpen Wongsorn. (2024). Effect of *Cordyceps militaris* hydrolysate on probiotic growth. **Suranaree Journal of Science and Technology. 31(2);** 030174(1-6). https://doi.org/10.55766/sujst-2024-02-e02936
3. Nipaporn Amassa, Duanpen Wongsorn, Benya Saenmahayakln, Somsak Rayan, **and Surachai Rattanasuk.** (2024). In vitro antibacterial activity of ethanolic Tanao Si Kan Dang RD1(Cannabis sativa L.) extracts against human antibiotic-resistant bacteria. **Pakistan Journal of Biological Sciences,** 27(3): 119-124 (SCOPUS and Pubmed)
4. **Surachai Rattanasuk,** Kitipong Wechgama, Theeraphan Chumroenphat, Orn Anong Chaiyachet and Kanlayani Charoensopharat, (2023). Potential Antibacterial Activity of Ethanolic *Curcuma longa* L. Rhizome Extract Against Antibiotic-Resistant Bacteria. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 26: 119-123. **(SCOPUS and Pubmed)**
5. Pitiwittayakul, N., Wongsorn, D., & **Rattanasuk, S**. (2023). Potential utilization of edible insects as nitrogen sources on growth characteristics and bioactive compound production in *Isaria tenuipes*. **Agriculture and Natural Resources**, 57(2), 301–308. **(SCOPUS)**

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonlada Chaloo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TUDC)

6. **Surachai Rattanasuk**, Rujirek Boongapim, Tannatorn Phiwthong, Satchawan Phuangsriken and Nuntiput Putthanachote. (2021). Antibacterial profile of *Cissus quadrangularis* extracts against human pathogenic bacteria isolated from Clinical Specimens of Patients at Roi Et Hospital. **International Journal of Pharmacology**, 17(2); 97-102. **(SCIE)**
7. Duanpen Wongsorn, Thanai Surasilp and **Surachai Rattanasuk.** (2021). The effects of edible insects as the nitrogen source in Potato dextrose agar on the mycelium formation of *Cordyceps militaris*. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 24(8); 881-887. **(SCOPUS and PubMed).**
8. **Surachai Rattanasuk**, Rujirek Boongapim and Tannatorn Phiwthong. (2021). Antibacterial activity of *Cathormion umbellatum*. **Bangladesh Journal of Pharmacology**, 16 (3), 91-95 **(SCIE and SCOPUS).**
9. **Rattanasuk, S**. & Phiwthong, T. (2021). A New Potential Source of Anti-pathogenic Bacterial Substances from *Zamioculcas zamiifolia* (Lodd.) Engl. Extracts. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 24: 235-240. (15 January 2021) **(SCOPUS and PubMed)**
10. Boongapim, R., Ponyaim, D., Phiwthong, T. & **Rattanasuk, S.** (2021). *In vitro* Antibacterial Activity of *Capparis sepiaria* L. Against Human Pathogenic Bacteria. **Asian Journal of Plant Sciences**, 20: 102-108. **(SCOPUS)**
11. Seesatat, A., **Rattanasuk, S.,** Bunnakit, K., Maneechot, P., Sriprapakhan, P., & Artkla, R. (2021). Biological degradation of rice straw with thermophilic lignocellulolytic bacterial isolates and biogas production from total broth by rumen microorganisms. **Journal of Environmental Chemical Engineering**, 9(1);104499. **(SCIE and SCOPUS)**
12. **Rattanasuk, S.,** Songsaeng, A. & Sriwarom, T. (2020). *Pseudomonas stutzeri* CM1, Novel Thermotolerant Cellulase-Producing Bacteria Isolated from Forest Soil. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 23(10): 1345-1350. (15 September 2020) **(SCOPUS and PubMed)**
13. **Rattanasuk, S.** & Phiwthong, T. (2020). Evaluation of the Antibacterial Activity of *Spathiphyllum wallisii* Extracts Against Human Pathogenic Bacteria. **Pakistan Journal of Biological Sciences**, 23(11): 1436-1441. (5 June 2020) **(SCOPUS and PubMed)**
14. **Rattanasuk, S**., Parnpai, R. and Ketudat-Cairns. (2011). Multiplex polymerase chain reaction used for bovine embryo sex determination. J. Reprod. Dev. 57:539-542
15. **Rattanasuk, S.** and Ketudat-Cairns, M. (2009). *Chryseobacterium indologenes*, novel mannanase producing-bacteria. Songklanakarin J. Sci. Technol, 31(4): 395-399.
16. **Rattanasuk, S.** and Ketudat-Cairns, M. (2009). Genetic diversity of felids' cytochrome *b*. Suranaree J. Sci. Technol. 16(4):283-290.

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่ได้รับอนุญาตให้ใช้ในการศึกษาวิจัยเท่านั้น 26/02/2025
โดย Chochalat Suakoon
จากระบบคลังปัญญาไทย (TNRR)

National publication

1. Kanok-orn Kidtakhu, Benya Sanmahayak, Nipaporn Armussa, Surachai Rattanasuk, Duanpen Wongsorn. (2023). Larvicidal Activity of Herb Plants Extracts Against House Fly Larvae (*Musca domestica* L.). Journal of Roi Et Rajabhat University: Science and Technology. 4(2), 47-55.
2. Phuseerit, O., Najan, C., Pangsri, Y. and **Rattanasuk, S**. (2019). Effect of Yeast Isolated from Sugarcane Juice on Quality of Jambolan Plum (*Syzygium cumini*) Wine. The Science Journal of Phetchaburi Rajabhat University. 16(1), 35-41.
3. **Surachai Rattanasuk.** (2014) Isolation of ß-Mannanase-producing Bacteria from Roi Et Rajabhat. KHON KAEN AGR. J. 42 SUPPL. 4 : 191-195
4. **Surachai Rattanasuk**, Pikulthong Paewlueng, Sasithon Sompasoing, Mathuros Jandang, Petcharin Gaewla, Wanida Wattanaphayapkul and Rungruang Bunsong. Screening of antibacterial and antifungal herbs used for treatment in traditional medicine. (2014). KHON KAEN AGR. J. 42 SUPPL. 4 : 191-195
5. **สุรชัย รัตนสุข**, นภศูล ศิริจันทร์, รุจิเรข บุญกาพิมพ์, เดือนเพ็ญ วงค์สอนและนิตยา ปิติวิทยากุล. (2565). การประเมินกิจกรรมการต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดต้นก้นครกต่อเชื้อ *Klebsiella pneumoniae* TISTR 1383 ในหลอดทดลอง. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม. 5(2):1-9. (TCI2)
6. ณัชชา วารีรัตน์, ปาริชาติ ประเสริฐสังข์ และ**สุรชัย รัตนสุข**. (2565) การพัฒนาความสามารถในการคิดวิเคราะห์ โดยใช้การจัดการเรียนรู้ตามแนวทางสะเต็มศึกษา เรื่องวัฏจักรน้ำ ของนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 5. วารสารศึกษาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหาสารคาม, 16(1); 49-61. (TCI2)
7. สมัธญา อภัยสอน, ปาริชาติ ประเสริฐสังข์ และ**สุรชัย รัตนสุข.** (2565). การพัฒนากิจกรรมการเรียนรู้วิทยาศาสตร์ตามแนวคิดทฤษฎีคอนสตรัคติวิสต์ เรื่อง การเปลี่ยนแปลงของสาร ของนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 5 โรงเรียนบ้านเหล่าขาม (มูลสารศึกษาสงเคราะห์) อำเภอเมือง จังหวัดร้อยเอ็ด. วารสารมหาวิทยาลัยมหามกุฏราชวิทยาลัย วิทยาเขตร้อยเอ็ด, 11(2);391-404. (TCI2)
8. จุฑารัตน์ วรณิต, ปาริชาติ ประเสริฐสังข์ และ สุรชัย รัตนสุข. (2563). การพัฒนาความสามารถในการคิดแก้ปัญหาทางวิทยาศาสตร์ของนักเรียนชั้นประถมศึกษาปีที่ 6 ตามแนวทางสะเต็มศึกษา. วารสารครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม. 18(3); 169-178. (TCI2)
9. **สุรชัย รัตนสุข**, ดุจฤทัย พลเยี่ยม, พุธิตา หลักใหล และไกรเทพ ชัยกิจ. (2563). กิจกรรมการต้านเชื้อแบคทีเรียในหลอดทดลองจากสารสกัดเห็ดแครง. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัย ราชภัฏอุดรธานี. 8(2):65-73. (TCI 2)
10. **สุรชัย รัตนสุข**, เพ็ญนภา ชูศรีเมือง, สุวรรณี เข็มเพชร และรุจิเรข บุญกาพิมพ์. (2560). ความหลากหลายระดับชนิดพันธุ์ของเห็ดป่ากินได้ในป่ามหาวิทยาลับราชภัฏร้อยเอ็ด. วารสารการเกษตรราชภัฏ. 16(2): 27-32 (TCI2)
11. จตุพร หงส์ทองคำ, รชยา พรมวงศ์ และ**สุรชัย รัตนสุข.** (2560). การขยายพันธุ์และการเก็บรักษาพันธ์กล้วยไม้เอื้องกุหลาบกระเป๋าเปิดโดยเทคนิคเมล็ดเทียม. วารสาร มสด สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. 10(3): 187-201. (TCI1)

เอกสารฉบับนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
โดย Chonthan Suwabot วันที่ 25/02/2025
จากระบบฐานข้อมูลวิทยานิพนธ์ (TNRR)

12. จตุพร หงส์ทองคำ, **สุรชัย รัตนสุข** และรชยา พรมวงศ์ (2560). การงอกของเมล็ดและการเจริญเป็นต้นของกล้วยไม้เขาแกะ (*Rhynchostylis coelestis* Rchb.f) ในสภาพปลอดเชื้อ. วารสารวิทยาศาสตร์ คชสาส์น. 39(1): 1-12. (TCI2)
13. จตุพร หงส์ทองคำ, สุฑารัตน์ คนขยัน, สุรชัย รัตนสุข และ รชยา พรมวงศ์. (2560). การ ขยาย พันธุ์ กล้วยไม้ ป่า กุหลาบ กระเป๋า ปิด ใน สภาพ ปลอด เชื้อ เพื่อ การ อนุรักษ์ อย่าง ยั่งยืน ใน จังหวัด ร้อยเอ็ด. วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 6(2): 1-9. (TCI2)
14. **สุรชัย รัตนสุข** และ อานนท์ ผลานาถ. (2560) การคัดแยกแบคทีเรียที่ผลิตเอนไซม์อะไมเลสทนร้อนจากแหล่งดิน. สักทอง : วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.) 4(1):35-42. (TCI2)
15. **สุรชัย รัตนสุข**, (2557). ประสิทธิภาพของสมุนไพรพื้นบ้านในการยับยั้งการเจริญของ *Candida albicans*. สักทอง : วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (สทวท.) 1(2):33-40. (TCI2)

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)

ผู้ร่วมวิจัย

ประวัติส่วนตัว

ชื่อ-สกุล นางสาว รุจิเรข บุญกาพิมพ์

เพศ ☐ ชาย ☑ หญิง วันเดือนปีเกิด.....อายุ.....ปี

สถานภาพ ☑โสด ☐ สมรส

ตำแหน่งปัจจุบัน

ประวัติการศึกษา

ชื่อย่อปริญญา	สาขา	สถาบันที่จบ	ปีที่จบ
วท.ด.	วิทยาศาสตร์การแพทย์	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2546
วท.บ.	วิทยาศาสตร์ทั่วไป	จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย	2540

สาขาวิจัยที่มีความชำนาญพิเศษ

Environmental technology, Medical biology, Medical Herbs, Pharmacology, Molecular biology,

ผลงานตีพิมพ์

1. Surachai Rattanasuk, Rujirek Boongapim and Tannatorn Phiwthong (2021). Antibacterial activity of Cathormion umbellatum. Bangladesh J Pharmacol, 16 ;91-95. (SCOPUS)
2. Surachai Rattanasuk, Rujirek Boongapim, Tannatorn Phiwthong, Satchawan Phuangsriken and Nuntiput Putthanachote. (2021). Antibacterial profile of Cissus quadrangularis extracts against human pathogenic bacteria isolated from Clinical Specimens of Patients at Roi Et Hospital. International Journal of Pharmacology, 17(2); 97-102 (ISI and SCOPUS)
3. Boongapim, R., Ponyaim, D., Phiwthong, T. & Rattanasuk, S. (2020). In vitro Antibacterial Activity of Capparis sepiaria L. Against Human Pathogenic Bacteria. Asian Journal of Plant Sciences, 20: 102-108. (3 September 2020) (SCOPUS)
4. Ampol Chayomchai, Wilaiwan Phonsiri, Arnon Junjit, Rujirek Boongapim and Ubonwan Suwannapusit. (2020). “Factors Affecting Acceptance and use of Online Technology in Thai People During COVID-19 Quarantine Time.” Management Science Letters. 10(2020) : 3009-3016.
5. สุรชัย รัตนสุข ,นภศูล ศิริจันทร์, รุจิเรข บุญกาพิมพ์ , เดือนเพ็ญ วงค์สอน และนิตยา ปิติวิทยากุล (2565).การประเมินกิจกรรมการต้านเชื้อแบคทีเรียจากสารสกัดต้นก้นครกต่อเชื้อ Klebsiella pneumoniae TISTR 1383 ในหลอดทดลอง.วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยราชภัฏมหาสารคาม.5 (2), 1-9.

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonlada Chaboo
จากระบบคลังปัญญาของมหาวิทยาลัยฯ (TUIR)

6. พิสิฐ พินิจสกุล, รุจิเรข บุญกาพิมพ์, นฤมล แสงพรหม , คันธทรัพธ์ ชมพูพาทย์ และอัจจนา น้อยบุดดี (2564).การวิเคราะห์อภิมานงานวิจัยทักษะการฟังภาษาอังกฤษวารสาร.มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด.15(3) ,197-206.
7. สุรชัย รัตนสุข, เพ็ญนภา ชูศรีเมือง, สุวรรณี เข็มเพชร และรุจิเรข บุญกาพิมพ์. (2560). ความหลากหลายระดับชนิดพันธุ์ของเห็ดป่ากินได้ในป่ามหาวิทยาลับราชภัฏร้อยเอ็ด. วารสารการเกษตรราชภัฏ. 16(2): 27-32
8. เฉลิมวุฒิ ศุภสุข, รุจิเรข บุญกาพิมพ์, (2560). ผลการเรียนการสอนวิทยาศาสตร์โดยใช้แนวทางการจัดการเรียนการสอนแบบสืบสอบร่วมกับการ ประเมินโดยกลุ่มเพื่อนที่มีต่อความสามารถในการผลิตสื่อการสอนและการใช้สื่อการสอนวิทยาศาสตร์ ของนักศึกษาสาขาวิชาวิทยาศาสตร์ทั่วไป คณะครุศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด. มหาวิทยาลัยราชภัฏร้อยเอ็ด.11(1) ,98-108.

เอกสารฉบับนี้ดาวน์โหลดเมื่อวันที่ 26/02/2025
โดย Choonaja Shaboo
จากระบบคลังข้อมูลงานวิจัยไทย (TNRR)