



ใบรับรองวิทยานิพนธ์
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

ปริญญญา

เทคโนโลยีชีวภาพ

เทคโนโลยีชีวภาพ

สาขา

ภาควิชา

เรื่อง เห็ดลมเจริญบนเหง้ามันสำปะหลังสำหรับการบำบัดน้ำปนเปื้อนสีย้อมสังเคราะห์

Lentinus polychrous Lev. Grown on the Lower Part of Cassava Stems for the
Decolourisation of Aqueous Solutions of Dyes

นามผู้วิจัย นางสาวจิรัชยา บุญญฤทธิ์

ได้พิจารณาเห็นชอบโดย

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ณัฐกานต์ นิตยพันธ์, Ph.D.)

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์อมรรัตน์ พรหมบุญ, Ph.D.)

หัวหน้าภาควิชา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์สุทธิพันธุ์ แก้วสมพงษ์, Ph.D.)

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์กัญญา ชีระกุล, D.Agr.)

คณบดีบัณฑิตวิทยาลัย

วันที่ เดือน พ.ศ.

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

เห็ดลมเจริญบนเหง้ามันสำปะหลังสำหรับการบำบัดน้ำปนเปื้อนสีข้อมสักระยะ

Lentinus polychrous Lev. Grown on the Lower Part of Cassava Stems for the Decolourisation of
Aqueous Solutions of Dyes

โดย

นางสาวจิรัชยา บุญญฤทธิ

เสนอ

บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)

พ.ศ. 2557

ลิขสิทธิ์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

จิรัชยา บุญญฤทธิ์ 2557: เหน้ดลมเจริญบนเหง้ามันสำปะหลังสำหรับการบำบัดน้ำปนเปื้อนสีข้อม
สังเคราะห์ ปริญญาวิตยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภควิทยเทคโนโลยีชีวภาพ อคจรยที่ปริญญาวิตยานิพนธ์หลัก: ผู้ช่วยศาสตรคจรยณัฐกนต์
นิตยพัชนี, Ph.D. 130 หน้า

เหง้ามันสำปะหลังเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรที่ถูกทิ้งไปโดยเปล่าประโยชน์เป็นปริมาณสูงในแต่ละปี เนื่องจากองค์ประกอบหลักของเหง้ามันคือลิกนินและลิกโนเซลลูโลส จึงมีความสนใจนำเหง้ามันมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อเมือง *Lentinus polychrous* Lev. เพื่อใช้ในการกำจัดสีข้อมสังเคราะห์ โดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามัน และปัจจัยที่ส่งผลต่อการกำจัดสีข้อมโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันด้วยการออกแบบการทดลองแบบ Box – Behnken Design พบว่าเหง้ามันขนาด 0.85 – 1.88 มิลลิเมตร ที่มีค่าความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 - 70 ภายใต้อุณหภูมิการบ่มที่ 34.1 – 37 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของราชินี โดยความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเป็นปัจจัยเดียวที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) การวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติกของ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน พบเพียงเอนไซม์แลคเคส ซึ่งเมื่อวิเคราะห์ด้วยสารละลายบัพเฟอร์ McIlvaine พบค่ากิจกรรมสูงสุดที่พีเอช 3 แต่กลับมีเสถียรภาพต่ำที่สุดที่พีเอชเดียวกัน ในขณะที่อุณหภูมิที่ก่อให้เกิดค่ากิจกรรมที่สูงที่สุดคือ 50 องศาเซลเซียส

การกำจัดสีข้อม Novacron Blue, Navy Blue และ Telon Blue ด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันได้รับอิทธิพลจากความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงรา โดยความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ทำให้ประสิทธิภาพในการกำจัดสีข้อมทั้ง 3 ชนิดมีค่าสูงสุด ส่วนความเข้มข้นเริ่มต้นของ Novacron Blue และ Telon Blue สูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ไม่มีผลกระทบต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีข้อมทั้ง 2 ชนิด ในทำนองเดียวกับที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียสไม่ก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของประสิทธิภาพการกำจัดสีข้อมทุกชนิด พีเอชของสารละลายสีข้อม Novacron Blue และ Telon Blue ที่สูงขึ้นส่งผลให้ประสิทธิภาพการบำบัดโดย *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันลดลงเนื่องจากค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสที่แปรผกผันกับค่าพีเอช อย่างไรก็ตามในกรณีของสารละลาย Navy Blue ไม่พบอิทธิพลของพีเอชในลักษณะดังกล่าว เนื่องจากการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์โดยสารละลายบัพเฟอร์ McIlvaine และความยากต่อการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ของโมเลกุลสีชนิดนี้ แต่พบเพียงอิทธิพลของพีเอชที่มีต่อการดูดซับโดยเส้นใย *L. polychrous* Lev. และเหง้ามัน ประสิทธิภาพในการกำจัดสีทั้ง 3 ชนิดโดย *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันในสภาวะที่เหมาะสมมีค่าสูงมากกว่าร้อยละ 77 จึงมีความเป็นไปได้ในการนำ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันสำปะหลังมาใช้ประโยชน์ในการกำจัดสีข้อมในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ

Jirachaya Boonyarit 2014: *Lentinus polychrous* Lev. Grown on the Lower Part of Cassava Stems for the Decolourisation of Aqueous Solutions of Dyes. Master of Science (Biotechnology), Major Field: Biotechnology, Department of Biotechnology. Thesis Advisor: Assistant Professor Nuttakan Nitayapat, Ph.D. 130 pages.

The lower part of cassava stems is an agricultural waste which is discarded in large amount each year. As the major components of the waste are lignin and lignocellulose, the cultivation of *Lentinus polychrous* Lev., a local mushroom variety, on the lower part of cassava stems and utilization of the fungus for the decolorisation of dyes were studied. This study includes the determination of optimum conditions for the cultivation of *L. polychrous* Lev. and factors affecting the decolourisation of dye solutions by *L. polychrous* Lev. grown on this solid material. Box-Behnken Design was used to devise the experiments to determine the optimum conditions for cultivation. It was found that pieces of the lower part of cassava stems of 0.85 – 1.88 mm in diameter containing 50 - 70% initial moisture content and an incubation temperature of 34.1°C - 37°C were optimal for the growth of *L. polychrous* Lev. The initial moisture content of the lower part of the stems was the only significant factor that influenced fungal growth. Among the three fungal ligninolytic enzymes examined, only the activity of laccase was found in crude extracts of the culture. The highest enzyme activity observed using McIlvaine buffer was noted at 50°C and pH 3; however, the lowest stability of laccase was observed at this pH.

The extents of decolourisation of aqueous solution of Novacron Blue, Navy Blue and Telon Blue were influenced by the initial moisture content of the lower part of cassava stems used for the cultivation of the fungus. The most extensive decolourisation of all the dye solutions was observed when the initial moisture content was 70%. Concentrations of Novacron Blue and Telon Blue as high as 500 mg/L did not affect the extent of decolourisation. Similar extents of decolourisation of the dye solutions were observed at incubation temperatures of 30°C, 37°C and 45°C. The higher the pH of solutions of Novacron Blue and Telon Blue, the lower extent of decolourisation. This effect appears to be caused by decreased laccase activity at increased pH. However, this effect was not observed when solutions of Navy Blue were decolorised. Laccase was inhibited by the buffer used and the molecule of Navy Blue seemed to be resistant to degradation. However, it was observed that pH influenced the extent of adsorption of this dye onto the solid growth medium. The dye was adsorbed most extensively at pH 3 and 7 and only a small amount was adsorbed at pH 5. The highest extent of decolourisation of the aqueous solutions of dyes used in this study was greater than 77%. Consequently, *L. polychrous* Lev. grown on the lower part of cassava stems has the potential of being applied to the decolourisation of waste water from textile industries.

Student's signature

Thesis Adviser's signature

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณประธานกรรมการที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ณัฐกานต์ นิตยพันธ์ ที่เมตตาช่วยเหลือข้าพเจ้าเป็นอย่างยิ่ง ทั้งในเรื่องของการวางแผนงานวิจัย การให้คำปรึกษาแนะนำและให้ความช่วยเหลือตลอดเวลาหากมีปัญหาใดๆ เรื่อง สนับสนุนเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัยตลอดการทำวิทยานิพนธ์เล่มนี้ เปิดโอกาสให้ข้าพเจ้าได้เรียนรู้สิ่งใหม่ในสังคมใหม่ๆ ขณะที่กำลังศึกษาอยู่ รวมทั้งเสียสละเวลาช่วยตรวจแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆ เป็นอย่างยิ่ง วิทยานิพนธ์ฉบับนี้จะสำเร็จไม่ได้หากไม่ได้รับความช่วยเหลือจากอาจารย์

ขอขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อมรรัตน์ พรหมบุญ อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ดร. จุฬารักษ์ กำเนิดเพชร อาจารย์ผู้ทรงคุณวุฒิ รองศาสตราจารย์ ดร. สุณีย์ นิธิสินประเสริฐ ประธานในการสอบวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้ความช่วยเหลือ ปรึกษาแนะนำ และตรวจแก้ไขข้อบกพร่องในการทำวิทยานิพนธ์ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยแห่งมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้กรุณาเอื้อเฟื้อทุนสนับสนุนการวิจัยในวิทยานิพนธ์เรื่องนี้ เจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพทุกท่าน ที่คอยช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกทุกอย่างจนวิทยานิพนธ์เล่มนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ น้องๆ ทุกคนในภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ เพื่อนๆ ทุกคนที่รู้จัก ที่คอยช่วยเหลือทั้งทางด้านกำลังใจ กำลังใจ ให้คำปรึกษา คำแนะนำที่เป็นประโยชน์ต่างๆ ตลอดการศึกษาและการทำวิจัย รวมทั้งมิตรภาพที่ดีเสมอมา

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ สำหรับการอบรมเลี้ยงดู ให้การศึกษาตั้งแต่เล็กจนโต ให้ที่อยู่อาศัย ลงทุนลงแรงจัดหาเงินล้านสำหรับหลังจากบ้านเกิด และสนับสนุนทุกๆ อย่างในชีวิตของข้าพเจ้าที่คงกล่าวถึงได้ไม่หมด คุณย่า คุณป้า คุณลุง คุณอา พี่น้องทุกคน ที่คอยเสียสละ ให้ความรัก ความเอ็นดู คำสั่งสอน สนับสนุนทุนทรัพย์ กำลังใจ ดูแลช่วยเหลือและให้ความสะดวกสบายในทุกเรื่อง จนทำให้มีวันนี้ได้

จิรัชยา บุญญฤทธิ

กรกฎาคม 2557

สารบัญ

หน้า

สารบัญ	(1)
สารบัญตาราง	(2)
สารบัญภาพ	(3)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	3
การตรวจเอกสาร	4
อุปกรณ์และวิธีการ	25
อุปกรณ์	25
วิธีการ	27
ผลและวิจารณ์	36
สรุปและข้อเสนอแนะ	111
สรุป	111
ข้อเสนอแนะ	113
เอกสารและสิ่งอ้างอิง	114
ภาคผนวก	125
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	126
ภาคผนวก ข สารละลายบัฟเฟอร์	128
ประวัติการศึกษาและการทำงาน	130

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แผนการทดลองแสดงปัจจัยและระดับที่ใช้ในการศึกษาการเจริญของ <i>L. polychrous</i> Lev. บนเหง้ามัน	29
2 ค่าประมาณและการทดสอบสัมประสิทธิ์เกรสชันของสมการการเจริญของ <i>L. polychrous</i> Lev. บนเหง้ามัน	38
3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของสมการแสดงเปอร์เซ็นต์การลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันที่มี <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญอยู่	39
ตารางผนวกที่	
ข1 สกัดส่วนของสารละลาย Citric acid ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และสารละลาย Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ที่ทำให้เกิดสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอชต่างๆ	129

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
1	5
2	6
3	7
4	9
5	10
6	11
7	37
8	42
9	42
10	43
11	43

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	เนื้อหา	หน้า
12	กิจกรรมสัมพัทธ์ของเอนไซม์แลคเคสในน้ำสกัดจาก <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันขนาด 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร อุณหภูมิขณะบ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 โมลาร์ ค่าพีเอช 4.5 ที่อุณหภูมิ 25 – 55 องศาเซลเซียส	46
13	กิจกรรมสัมพัทธ์ของเอนไซม์แลคเคส ในน้ำสกัดปริมาตร 250 มิลลิลิตรจาก <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันขนาด 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร อุณหภูมิขณะบ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 – 7 อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยา 37 องศาเซลเซียส	47
14	เสถียรภาพของเอนไซม์แลคเคสที่พบในน้ำสกัดจาก <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายหลังการบ่มในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 ควบคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส	48
15	ปริมาณการลดลงของสารละลายสี Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 580 นาโนเมตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	51
16	สีของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนทำการทดลอง และภายหลังการกำจัดด้วย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 30, 50 และ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ณ ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลอง	52

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
17 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	53
18 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30, 50 และ 70	55
19 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการกำจัดโดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	57
20 ปริมาณการลดลงของสีข้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max 600}$ นาโนเมตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	59
21 สีของสารละลาย Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนทำการทดลอง และภายหลังจากกำจัดด้วย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30, 50 และ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ณ ชั่วโมงที่ 8 ของการทดลอง	60
22 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	61

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
23 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ความขึ้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	62
24 ปริมาณการลดลงของสีของ Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 640 นาโนเมตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความขึ้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	64
25 สีของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนทำการทดลอง และภายหลังการกำจัดด้วย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำหรับหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความขึ้นเริ่มต้นร้อยละ 30, 50 และ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ณ ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลอง	65
26 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความขึ้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	66
27 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ความขึ้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับ 30, 50 และร้อยละ 70	67

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
28	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการกำจัดโดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	68
29	การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามัน เมื่อมี <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญอยู่ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ในระหว่างการเจริญ 3 สัปดาห์ ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30, 50 และ 70	69
30	ปริมาณการลดลงของ Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ λ_{max} 580 นาโนเมตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำหรับหลังจากที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	72
31	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน สำหรับหลังจากที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	74
32	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน สำหรับหลังจากที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	75
33	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน สำหรับหลังจากที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	76

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
34	สีของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆ ภายหลังจากกำจัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์	77
35	ปริมาณการลดลงของ Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 640 นาโนเมตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน สำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	80
36	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	81
37	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน สำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	82
38	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน สำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	83
39	สีของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 100, 200, 300, 400 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ภายหลังจากกำจัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้น 70% เป็นเวลา 3 สัปดาห์	84

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
40	ปริมาณการลดลงของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ λ_{max} 580 นาโนเมตร, Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ λ_{max} 600 นาโนเมตร และ Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ λ_{max} 640 นาโนเมตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกักจัดอยู่ที่ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส
41	ปริมาณการลดลงของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ λ_{max} 580 นาโนเมตร, Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ λ_{max} 600 นาโนเมตร และ Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ λ_{max} 640 นาโนเมตร โดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกักจัดอยู่ที่ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส
42	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังถูกกำจัดโดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกักจัดอยู่ที่ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส
43	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังถูกกำจัดโดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกักจัดอยู่ที่ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า
44 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีข้อม Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังถูกกำจัดโดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส	91
45 ปริมาณการลดลงของ Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	95
46 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) สีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) และสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายสีข้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 ระหว่างการกำจัด โดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส	96
47 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) สีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) และสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายสีข้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 ระหว่างการดูดซับ โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส	97

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	หน้า	
48	สีของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 ภายหลังการกำจัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงด้วย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญ บนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้น ร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์	98
49	ปริมาณการลดลงของ Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้น ร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตรเป็นเวลา 3 สัปดาห์	101
50	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) สี แดง (λ_{525} นาโนเมตร) และสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายสีข้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 ระหว่างถูกกำจัดโดย <i>L.</i> <i>polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูป ชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส	102
51	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) สี แดง (λ_{525} นาโนเมตร) และสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายสีข้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 ระหว่างการดูดซับ โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศา เซลเซียส	103

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่	เนื้อหา	หน้า
52	ปริมาณการลดลงของ Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้น ร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์	104
53	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) สี แดง (λ_{525} นาโนเมตร) และสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายสีข้อม Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่พีเอช 3, 5 และ 7 ระหว่างการถูกกำจัดโดย <i>L. polychrous</i> Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูป ชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส	106
54	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) สี แดง (λ_{525} นาโนเมตร) และสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายสีข้อม Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 ระหว่างการดูดซับ โดย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศา เซลเซียส	107
55	สีของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลาย ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 3, 5 และ 7 ภายหลังจากกำจัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วย <i>L. polychrous</i> Lev. เจริญบนเหง้ามัน สำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์	108

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่

หน้า

- 56 สีของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 3, 5 และ 7 ภายหลังการกำจัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์

109

เห็ดลมเจริญบนเหง้ามันสำปะหลังสำหรับการบำบัดน้ำปนเปื้อนสีย้อมสังเคราะห์

Lentinus polychrous Lev. Grown on the Lower Part of Cassava Stems for the Decolourisation of Aqueous Solutions of Dyes

คำนำ

ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ สิ่งหนึ่งที่ก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อมคือ การปนเปื้อนของสีย้อมสังเคราะห์ที่ตกค้างจากระบวนการฟอกย้อมออกสู่แหล่งน้ำธรรมชาติ โดยสีย้อมในปริมาณเพียงเล็กน้อยก็สามารถทำให้เกิดความเข้มของสีในน้ำในปริมาณที่สูงจนบดบังการส่องผ่านของแสงอาทิตย์ลงสู่ด้านล่างของแหล่งน้ำได้ ส่งผลให้กิจกรรมการสังเคราะห์แสงของพืชน้ำมีปริมาณลดน้อยลง และทำให้ปริมาณออกซิเจนในน้ำมีค่าต่ำลง นำไปสู่การเน่าเสียของแหล่งน้ำได้ รวมทั้งทำให้เกิดความเสื่อมเสียทางทัศนียภาพและเป็นที่น่ารังเกียจแก่ผู้พบเห็น (รัชนิย์, ม.ป.ป.) นอกจากนี้วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตและตัวสีย้อมสังเคราะห์บางชนิดเองก็มีคุณสมบัติเป็นสารก่อมะเร็ง (Hamedani, *et al.*, 2007) ด้วยเหตุผลนี้ จึงมีความจำเป็นต้องทำการบำบัดสีย้อมสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้ง

การกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ในน้ำทิ้งโดยทั่วไปแล้วจะอาศัยกระบวนการทางเคมีหรือกระบวนการทางกายภาพ ตัวอย่างเช่น ปฏิกิริยาออกซิเดชัน (Oxidation) (Kusvuran *et al.*, 2004) การทำให้ตกตะกอน (Precipitation) หรือเกิดการรวมตัวกันของสีย้อมสังเคราะห์ (Coagulation / Flocculation) (Verma *et al.*, 2012) การกรองผ่านเยื่อกรอง (Membrane filtration) (Huang and Zhang, 2011) และการดูดซับไว้บนตัวกลางต่างๆ (Adsorption) (Gupta and Suhas, 2009) หรืออาจใช้กระบวนการบำบัดตั้งแต่ 2 กระบวนการร่วมกัน อย่างไรก็ตามการบำบัดด้วยวิธีการเหล่านี้ยังมีข้อจำกัดหลายประการ เช่น มีค่าใช้จ่ายสูง อาศัยเทคโนโลยีขั้นสูง และอาจเกิดของเสียสะสมขึ้น ซึ่งต้องหาวิธีในการกำจัดต่อไป นักวิทยาศาสตร์จึงมีความสนใจนำกระบวนการทางชีวภาพมาใช้ในการบำบัดแทนที่กระบวนการทางเคมีและกายภาพ วิธีการชีวภาพวิธีหนึ่งที่มีการศึกษาอย่างแพร่หลายคือการใช้รากลุ่มไทรออท (White rot fungi) เนื่องจากสามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติก (Ligninolytic enzyme) ที่มีความสามารถในการย่อยสลายโครงสร้างสีย้อมสังเคราะห์ การเพาะเลี้ยงรากลุ่มไทรออท เพื่อผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติกนั้น สามารถใช้ได้ทั้งอาหารเหลวและอาหารแข็งในการเพาะเลี้ยง อย่างไรก็ตาม Couto and Sanroman (2005a) กล่าวว่า องค์ประกอบที่มี

อยู่ในวัสดุอาหารแข็งสามารถชักนำให้เกิดการผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆ ได้ ดังนั้น จึงควรต้องมีการคัดเลือกชนิดของวัสดุอาหารแข็งให้เหมาะสมต่อชนิดของเอนไซม์ที่ต้องการในการผลิต นอกจากนี้ การเจริญของรากลุ่มไวท์รอตภายใต้สภาวะการเลี้ยงบนวัสดุอาหารแข็งยังเป็นปัจจัยหนึ่งที่ส่งเสริมประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ได้ เนื่องจากสภาวะดังกล่าวเหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างกิจกรรมการดำรงชีวิตต่างๆ ของรากลุ่มไวท์รอต รวมทั้งการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินไลติกที่ใช้ในการย่อยสลายโครงสร้างของสีย้อมสังเคราะห์ ซึ่งจะผลิตได้ดีกว่าสภาวะการเลี้ยงราดังกล่าวในอาหารเหลว (Murugesan *et al.*, 2006)

พืชเศรษฐกิจที่มีการเพาะปลูกมากเป็นอันดับต้นๆ ของประเทศไทย คือ มันสำปะหลัง การเพาะปลูกมันสำปะหลังจะมีส่วนเหง้ามันเป็นวัสดุเศษเหลือทางการเกษตร ที่เกิดขึ้นหลังจากการเก็บเกี่ยวหัวมันสำปะหลัง ซึ่งไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ในการบริโภคของมนุษย์และสัตว์ได้ เหง้ามันจึงถูกทิ้งหรือถูกกำจัดไปโดยปราศจากการใช้ให้เกิดคุณประโยชน์ใดๆ ทั้งที่อุดมไปด้วยสารประกอบประเภทคาร์โบไฮเดรต เช่น เซลลูโลส (Cellulose) และลิกโนเซลลูโลส (Lignocellulose) ซึ่งเป็นสารประกอบที่รากลุ่มไวท์รอตสามารถใช้เป็นแหล่งอาหารเพื่อการเจริญและผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินไลติกได้

รากลุ่มไวท์รอตที่พบได้ในท้องถิ่นของเมืองไทยชนิดหนึ่งคือเห็ดลม หรือเห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.) ซึ่งมีเส้นใยที่เหนียวแข็งแรง เติบโตได้ดีในสภาพอากาศที่ร้อนอย่างประเทศไทย งานวิจัยนี้จึงเกิดความสนใจศึกษาการนำเหง้ามันสำปะหลังมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยเห็ดลม และศึกษาความสามารถของเส้นใยเห็ดลมที่เจริญบนเหง้ามันในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนอยู่ในน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ รวมถึงอิทธิพลของปัจจัยต่างๆ ที่อาจส่งผลกระทบต่อความสามารถในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์เหล่านั้น หากงานวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จ นอกจากจะเป็นแนวทางในการลดปัญหามลพิษต่อสิ่งแวดล้อมแล้ว ยังเป็นการใช้ประโยชน์จากความหลากหลายทางชีวภาพ และใช้วัสดุเศษเหลือจากการเกษตรของประเทศไทยให้เกิดความคุ้มค่าอีกด้วย

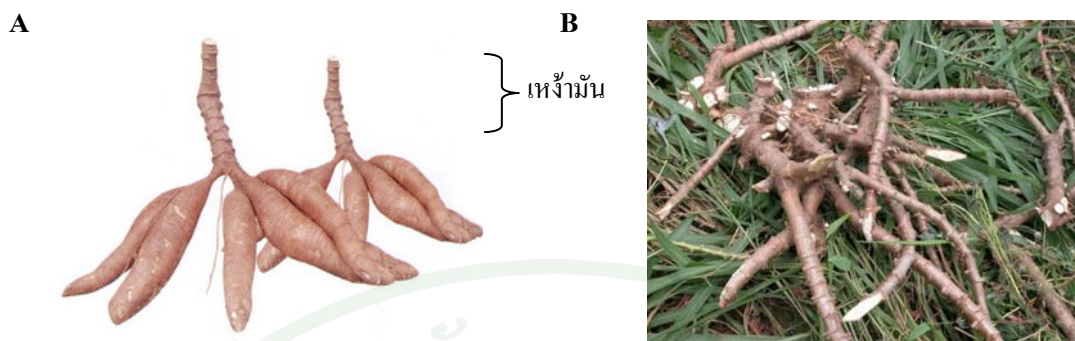
วัตถุประสงค์

1. ศึกษาความสามารถในการใช้เหง้ามันเป็นวัสดุเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. รวมถึงอิทธิพลของขนาดชิ้นเหง้ามัน ความชื้น และอุณหภูมิ ที่มีต่อการเจริญของรา
2. ศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโกลิดิกที่ผลิตโดย *L. polychrous* Lev. เมื่อใช้เหง้ามันเป็นวัสดุอาหารแข็งในการเพาะเลี้ยง
3. ศึกษาอิทธิพลของความสามารถในการเจริญของเส้นใย *L. polychrous* Lev. ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม โดยแปรผันความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. ซึ่งส่งผลโดยตรงต่อความสามารถในการเจริญของเส้นใย
4. ศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม อุณหภูมิขณะกำจัดสีย้อม และความเป็นกรด – ด่างของน้ำสี ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมของเส้นใย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน

การตรวจเอกสาร

1. เหง้ามันสำปะหลัง (The lower part of cassava stem)

เหง้ามันสำปะหลัง (ภาพที่ 1) คือ ส่วนของต้นมันสำปะหลังที่อยู่ระหว่างลำต้นและผลของ มันสำปะหลัง (จุฑามาศ, 2547) และเป็นวัสดุเศษเหลือจากกระบวนการเก็บเกี่ยวมันสำปะหลัง โดย ในปี พ.ศ. 2546 พบว่ามีเหง้ามันสำปะหลังอยู่ถึง 49,500 ตัน หรือ คิดเป็นสัดส่วนของเหง้ามันต่อมัน สำปะหลัง 1 ตัน เท่ากับ 10 กิโลกรัมต่อตัน (นิรนาม, 2548) ซึ่งหากเปรียบเทียบสัดส่วนกับปริมาณ มันสำปะหลังที่ผลิตได้ในปี พ.ศ. 2554 ที่มีปริมาณ 21.9 ล้านตัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2555) จะมีปริมาณเหง้ามันสำปะหลังสูงถึง 219,000 ตัน นอกจากนี้ในปัจจุบันยังมีความต้องการ ผลิตเอทานอลซึ่งเป็นแหล่งพลังงานทดแทนจากมันสำปะหลังทั้งในรูปแบบมันเส้นและแป้งเพิ่ม มากขึ้น จึงมีความต้องการเพิ่มพื้นที่การเพาะปลูกมันสำปะหลังให้สูงขึ้น (สำนักงานคณะกรรมการ พัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ, 2551) จากแนวโน้มดังกล่าวจึงมีความเป็นไปได้ที่เหง้ามันจะมี ปริมาณเพิ่มขึ้น ซึ่งในอดีต เหง้ามันเหล่านี้ไม่สามารถนำมาใช้ประโยชน์ได้ จึงถูกทิ้งโดยไม่ ก่อให้เกิดประโยชน์ใดๆ ต่อมาโรงงานผลิตปูนซีเมนต์ได้รับซื้อเหง้ามันเหล่านี้ เพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิง ชีวมวลในการผลิตกระแสไฟฟ้าใช้ภายในโรงงานเอง ซึ่งเป็นการลดค่าใช้จ่ายด้านกระแสไฟฟ้า เบื้องต้น (วิระพล, 2549) ราคาของเหง้ามันมีค่าประมาณ 800 บาทต่อ 1 ตัน เมื่อเปรียบเทียบกับ ราคาวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรอื่นๆ ที่นำมาใช้เพาะเห็ด ถือว่ามีราคาค่าต่ำกว่าฟางข้าวซึ่งมีราคา ประมาณ 1,000 บาทต่อตัน และมีราคาใกล้เคียงกับไม้ยางพาราและซังข้าวโพด ซึ่งมีราคา 750 บาท ต่อตัน (กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน, 2551) เหง้ามัน ประกอบด้วยคาร์บอน (Carbon) ร้อยละ 51.6 ไฮโดรเจน (Hydrogen) ร้อยละ 6.7 ไนโตรเจน (Nitrogen) ร้อยละ 1.3 ออกซิเจน (Oxygen) ร้อยละ 40.5 และซัลเฟอร์ (Sulfur) น้อยกว่าร้อยละ 0.1 นอกจากนี้ยังมีองค์ประกอบของ เซลลูโลส (Cellulose) ร้อยละ 27.8 เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ร้อยละ 39.8 และลิกนิน (Lignin) ร้อยละ 21.1 (Pattiya *et al.*, 2010) ดังนั้นเหง้ามันจึงน่าจะมี ความสามารถในการเป็นแหล่งอาหารและวัสดุยัดเกาะให้แก่เส้นใยของเห็ดลม ซึ่งเป็นเห็ดพื้นเมือง และเจริญได้ดีในสภาพภูมิอากาศร้อนชื้นแบบประเทศไทยได้



ภาพที่ 1 เหง้ามันสำปะหลัง ก่อนการเก็บเกี่ยวผลมันสำปะหลัง (A) และหลังจากเก็บเกี่ยวผลมันสำปะหลังออก (B)

ที่มา: บัณฑิต และวิชชากร (2547) (A); นิรนาม (2556) (B)

2. *Lentinus polychrous* Lev. และรากลุ่มไวกัรท

L. polychrous Lev. เป็นเห็ดพื้นเมืองของประเทศไทย ทางภาคเหนือเรียกเห็ดชนิดนี้ว่าเห็ดกลม ส่วนในภาคตะวันออกเฉียงเหนือเรียกว่าเห็ดบด หรือเห็ดกระด้าง มักเจริญเติบโตบนขอนไม้เนื้อแข็งประเภทเต็งรังหรือไม้ไผ่กว้าง ดอกเห็ดมีขนาดความกว้างประมาณ 5 – 12 เซนติเมตร ลักษณะการขึ้นของดอกอาจขึ้นเป็นดอกเดี่ยว หรือขึ้นซ้อนกันบนขอนไม้ก็ได้ ดอกเห็ดมีสีน้ำตาลหรือสีน้ำตาลอมเทา เมื่อแห้งจะมีลักษณะเหนียวและแข็ง มักพบในช่วงฤดูร้อนต่อฤดูฝน หรือฤดูฝนต่อฤดูหนาว หรือในช่วงฤดูที่อุณหภูมิในตอนกลางวันแตกต่างจากอุณหภูมิในตอนกลางคืนมาก (อัญชลี, 2540) กรรณิการ์ (2547) พบว่าเส้นใยของเห็ดลมเจริญในอาหารมันฝรั่งเด็กซ์โตรสได้ดีที่อุณหภูมิ 30 – 35 องศาเซลเซียส

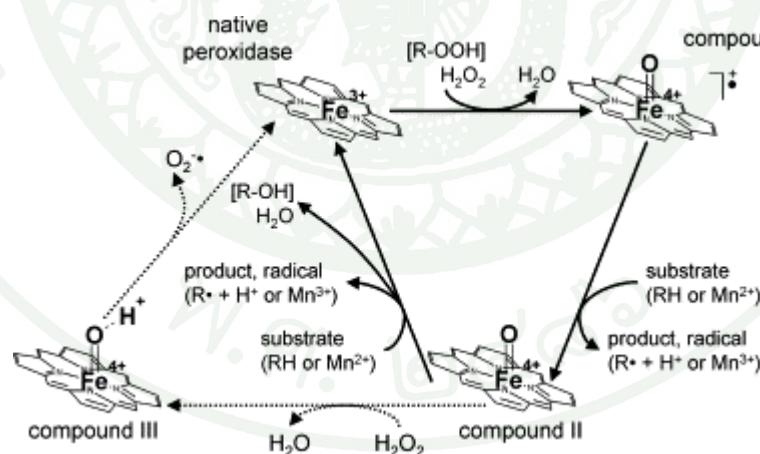
L. polychrous Lev. ถูกจัดอยู่ในประเภทของรากลุ่มไวกัรทซึ่งเป็นราที่มีระบบของเอนไซม์ที่สามารถย่อยสลายสารประกอบลิกนินและลิกโนเซลลูโลสซึ่งมีโครงสร้างโมเลกุลที่ใหญ่และซับซ้อนได้ จึงทำให้ราเหล่านี้ สามารถเจริญบนวัสดุประเภทไม้หรือวัสดุที่มีลิกนินหรือลิกโนเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบได้ดี ระบบของเอนไซม์นี้เรียกว่าเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติก ซึ่งประกอบด้วยแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส (Manganese peroxidase) ลิกนินเปอร์ออกซิเดส (Lignin peroxidase) และแลคเคส (Laccase) เอนไซม์ในกลุ่มนี้เป็นเอนไซม์ประเภทออกซิโดรีดักเทส

(Oxidoreductase) ซึ่งเกี่ยวข้องกับการส่งถ่ายอิเล็กตรอนในระหว่างการเกิดปฏิกิริยาเคมี เลอติคณ (2544) ได้อธิบายกลไกการทำงานของเอนไซม์กลุ่มลิกนินโพลิดิกดังต่อไปนี้

แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส เอนไซม์ชนิดนี้มี Mn^{2+} เป็นองค์ประกอบภายในโมเลกุล ซึ่งจะเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชัน Mn^{2+} ให้อยู่ในรูปของ Mn^{3+} ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) เป็นตัวช่วยในการส่งถ่ายอิเล็กตรอน ต่อจากนั้น Mn^{3+} ที่เกิดขึ้นจะออกซิไดซ์ Phenolic units ที่มีอยู่ในโมเลกุลของลิกนินต่อไป

ลิกนินเปอร์ออกซิเดส สามารถเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของ Non-phenolic units ของลิกนินไปเป็นอนุภาคที่มีประจุบวก (Cation radicals) ในสภาวะที่มีไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

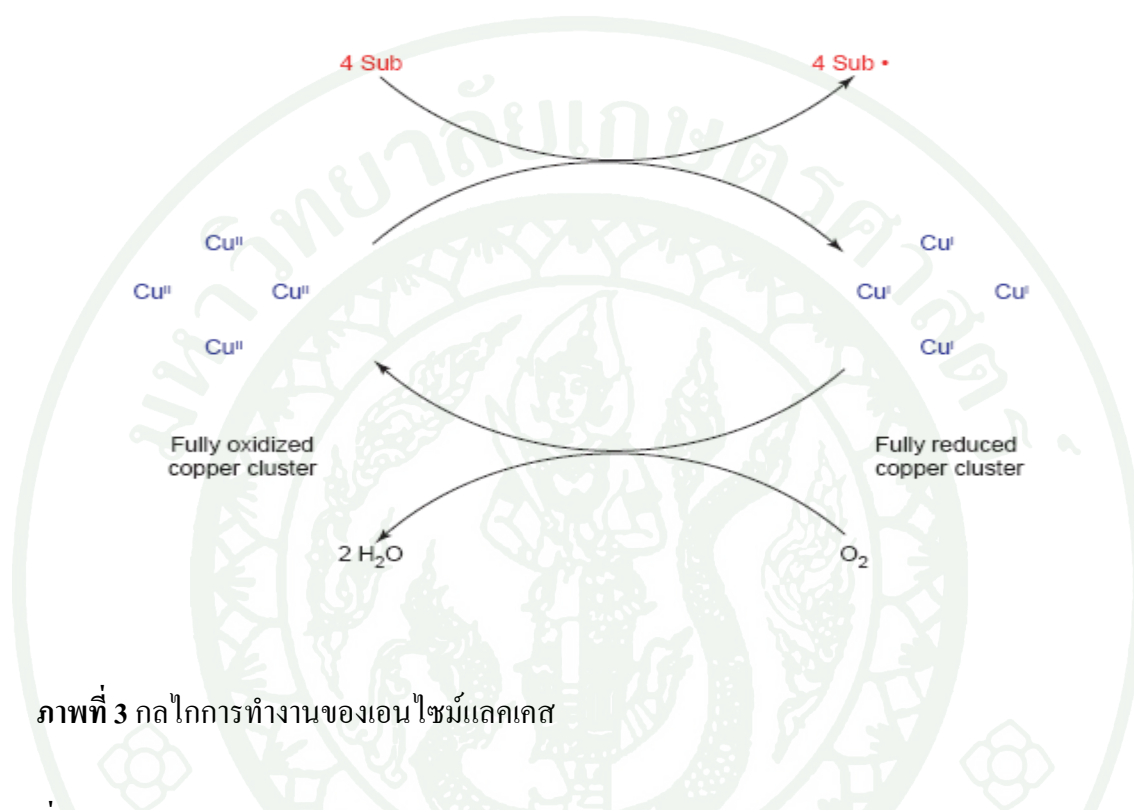
กลไกการย่อยสลายสารประกอบลิกนินด้วยเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส จะมีลักษณะคล้ายคลึงกับกลไกการย่อยสลายสารประกอบลิกนินด้วยเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส แต่ต่างกันที่แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสอาศัยการส่งถ่ายอิเล็กตรอนผ่านโมเลกุลของ Mn^{2+} , Mn^{3+} และไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ส่วนลิกนินเปอร์ออกซิเดส อาศัยการส่งผ่านอิเล็กตรอนผ่านโมเลกุลของลิกนินและไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ได้โดยตรง (ภาพที่ 2)



ภาพที่ 2 กลไกการทำงานของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสและลิกนินเปอร์ออกซิเดส

ที่มา: Wesenberg *et al.* (2003)

แลคเคส เอนไซม์ชนิดนี้มีโมเลกุลของคอปเปอร์ (Cu) 4 โมเลกุล เป็นองค์ประกอบอยู่ที่ core site ของเอนไซม์ จะอาศัยออกซิเจน (O_2) เป็น Co-substrate โดยเอนไซม์จะทำการออกซิไดซ์ที่ หมู่ฟีนอลิก (Phenolic unit) ของลิกนินและกระตุ้นให้เกิดการเหนียวน้ำ เพื่อเปลี่ยนออกซิเจนให้เป็น น้ำ โดยอาศัยโมเลกุลของคอปเปอร์ช่วยในการส่งถ่ายอิเล็กตรอน (ภาพที่ 3)



ภาพที่ 3 กลไกการทำงานของเอนไซม์แลคเคส

ที่มา: Riva (2006)

รากลุ่มไว้ร่ร่ร่แต่ละสายพันธุ์ จะมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกได้แตกต่างกัน บางสายพันธุ์อาจสามารถผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติกได้ทั้ง 3 ชนิด บางสายพันธุ์อาจผลิตได้ 2 ชนิด หรือผลิตได้เพียงชนิดเดียว (Wesenberg *et al.*, 2003) จากการศึกษาการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกของเห็ดสายพันธุ์ทางการค้าในประเทศตุรกีโดย Kalmis *et al.* (2008) พบว่า *Pleurotus ostreatus* ผลิตเอนไซม์เมังกานีสเปอร์ออกซิเดสและแลคเคสได้ในปริมาณที่สูง แต่ผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสได้ต่ำมากจนเกือบไม่พบกิจกรรมของเอนไซม์ ในขณะที่ *Pleurotus sajor-caju* ผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกได้ทั้ง 3 ชนิด ส่วน Robinson *et al.* (2001a) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกของ *Bjerkandera adusta*, *Phlebia tremellosa*, *Pleurotus ostreatus* และ *Coriolus versicolor* พบว่ารากลุ่มไว้ร่ร่ทั้ง 4 สายพันธุ์สามารถผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสได้ในปริมาณสูงที่สุด รองลงมาคือเอนไซม์แลคเคส ส่วนเอนไซม์

แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสถูกผลิตขึ้นในปริมาณที่ต่ำมาก โดยอาจถือว่าไม่มีการผลิตเกิดขึ้นได้ ทั้งนี้ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกและปริมาณเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นได้ในรากลุ่มไวทรัพชนิดเดียวกัน ยังขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของอาหาร และสภาพที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงอีกด้วย

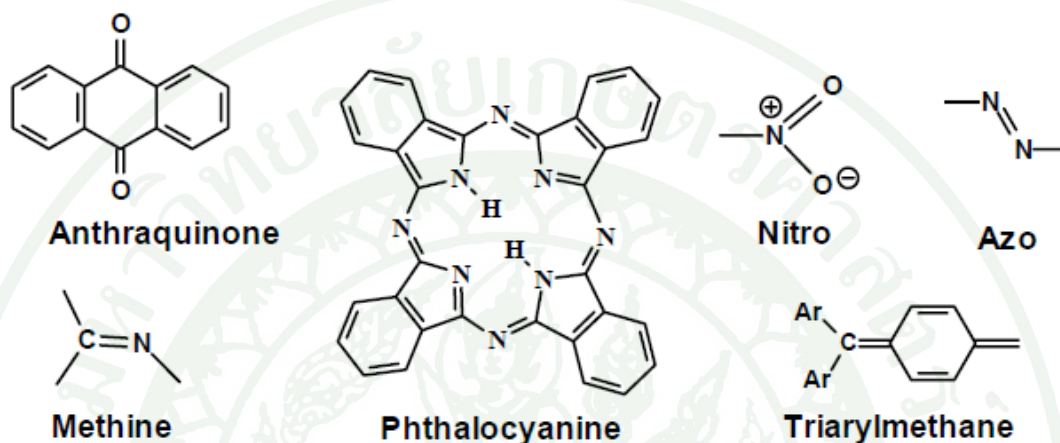
สำหรับการผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติกของ *Lentinus* sp. พบรายงานของ Buswell *et al.* (1995) ที่เพาะเลี้ยง *Lentinus edodes* ในอาหารเหลว Defined medium และพบว่า *L. edodes* สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสได้ แต่ไม่ผลิตเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส เช่นเดียวกับ Hatvani and Mecs (2002) และ Silva *et al.* (2005) ที่เพาะเลี้ยง *L. edodes* ในจานเลี้ยงเชื้อที่มีอาหารวุ้นผสมกับจี้เลื่อยจากต้นโอ๊กและวัสดุที่ได้มาจากส่วนต่างๆ ของต้นยูคาลิปตัสผสมกับรำข้าวเจ้า พบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสเกิดขึ้น ส่วน Lechner and Papinutti (2006) ใช้รำข้าวสาลีเพาะเลี้ยง *L. tigrinus* พบว่ามีการผลิตเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสขึ้น นอกจากนี้ Nariso *et al.* (N.D.) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกโดย *L. polychrous* Lev. ซึ่งเพาะเลี้ยงบนจี้เลื่อยจากไม้ยาง 3 สูตร พบว่ามีการผลิตเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดสและแลคเคสเช่นกัน

นอกจากสารประกอบลิกนินและลิกโนเซลลูโลสแล้ว ระบบเอนไซม์ลิกนินโอไลติกที่ผลิตโดยรากลุ่มไวทรัพยังสามารถย่อยสลายสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งมีโครงสร้างที่ซับซ้อน คงทนต่อการกำจัดได้หลายชนิด ยกตัวอย่างเช่น Polyaromatic hydrocarbon, Cyanides, Polychlorinated biphenyls, Azide, Carbon tetrachloride, Pentachlorophenol รวมทั้งสารเคมีที่มีฤทธิ์ในการฆ่าแมลง เช่น Dichloro-diphenyl-trichloroethane (DDT) และสารที่มีคุณสมบัติในการระเบิด เช่น Trinitrotoluene (TNT) นอกจากนี้ยังมีสีย้อมสังเคราะห์ (Synthetic dyes) ที่ถูกย่อยสลายได้โดยระบบเอนไซม์ลิกนินโอไลติกของรากลุ่มไวทรัพอีกด้วย (Aust and Benson, 1998)

3. สีย้อมสังเคราะห์

สีย้อม (Dye stuffs) คือ สารมีสีที่ละลายน้ำได้ หรืออาจอยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ เวลาใช้มักจะถูกลดซึมเข้าไปในวัสดุที่ต้องการย้อมสีโดยอาศัยการเคลื่อนที่ของน้ำที่เป็นตัวทำละลาย ประโยชน์ที่สำคัญของสีย้อมคือ การให้สีแก่วัสดุสิ่งทอ โดยทั่วไปแล้วสีย้อมถูกจัดจำแนกประเภทตามดัชนีของสีย้อม (Color index) โดยแบ่งตามโครงสร้างทางเคมีที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในโมเลกุลของสีย้อม และลักษณะการใช้งาน (Vigo, 1994)

การแบ่งชนิดตามโครงสร้างทางเคมี โดยปกติแล้วจะแบ่งตามโครงสร้างของหมู่ที่ให้สี (Chromophore) แก่สีย้อม ตัวอย่างหมู่ที่ทำให้เกิดสีได้แก่ Anthraquinone, Methine, Phthalocyanine, Nitro, Azo และ Triarylmethane (ภาพที่ 4) การจำแนกประเภทสีย้อมด้วยวิธีนี้จะเรียกชื่อตามชนิดของหมู่ที่ให้สี



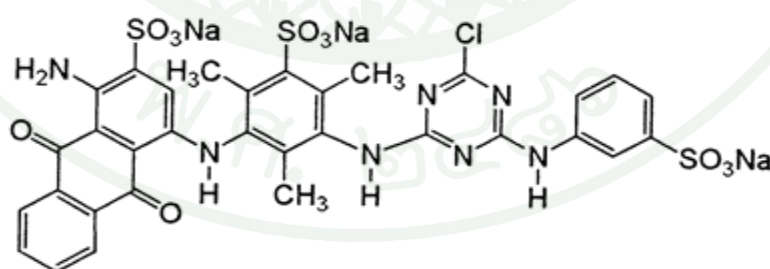
ภาพที่ 4 ชนิดและโครงสร้างทางเคมีของหมู่ที่ทำให้เกิดสี (Chromophoric group) ที่ใช้ในการจำแนกประเภทของสีย้อม

ที่มา: IARC (2010)

ส่วนการแบ่งชนิดตามลักษณะการใช้งานนั้น เกิดจากการออกแบบสีให้เหมาะสมต่อการเกาะติดบนเส้นใยผ้าแต่ละประเภทที่เป็นกลุ่มเป้าหมายในการย้อมสี เช่น สีย้อมดีสเพอร์ส (Disperse dyes) ใช้ย้อมเส้นใยประเภทพอลิเอสเทอร์ สีย้อมแอซิด (Acid dyes) มีคุณสมบัติเป็นประจุลบ ละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นกรด เกาะติดกับเส้นใยที่มีประจุบวก เช่น พอลิเอไมด์หรือไนลอน และเส้นใยโปรตีนประเภท ผ้าไหม ผ้าขนแกะ ด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุ ส่วนสีย้อมเบสิก (Basic dyes) มีคุณสมบัติที่ตรงข้ามกับสีย้อมแอซิด กล่าวคือ โมเลกุลของสีย้อมมีประจุบวก และละลายได้ดีในสารละลายที่เป็นด่าง ยึดเกาะกับเส้นใยอะคริลิก หรือเส้นใยโปรตีนที่หมู่คาร์บอกซิลิก (COO^-) ซึ่งมีประจุลบ ด้วยแรงดึงดูดระหว่างประจุ ในขณะที่สีย้อมไดเรกต์ (Direct dyes) สีอะโซอิก (Azoic dyes) สีแว็ต (Vat dyes) สีซัลเฟอร์ (Sulphur dyes) และสีรีแอคทีฟ (Reactive dyes) เป็นกลุ่มของสีที่ได้รับการออกแบบมาเพื่อการย้อมเส้นใยเซลลูโลส เช่น ผ้าฝ้าย ผ้าเรยอน ผ้าลินิน เซลโลเฟน หรือแม้กระทั่งกระดาษ ซึ่งมีคุณสมบัติดูดซับน้ำได้ดี (Hydrophilic fiber) ทำให้มีหลักในการออกแบบ

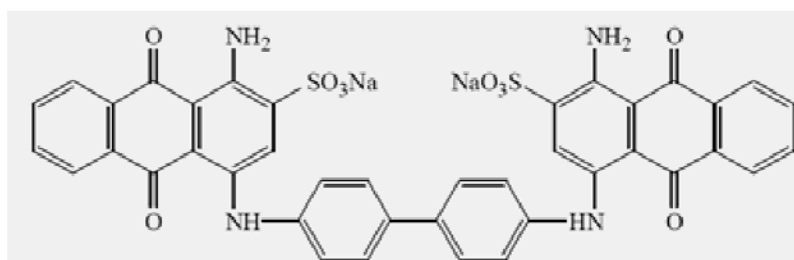
สีย้อมให้มีคุณสมบัติละลายน้ำซึ่งเป็นตัวกลางในกระบวนการฟอกย้อมได้ นอกจากนี้ ข้อที่คำนึงถึงอีกประการคือเสถียรภาพความคงทนของสีย้อมภายหลังการซักล้าง โดยสีใดเรีกที่เป็สีที่ละลายน้ำได้ดี มีโมเลกุลเป็นเส้นตรง เพื่อให้เกาะติดกับเส้นใยเซลลูโลสด้วยพันธะไฮโดรเจนได้อย่างแนบแน่น ส่วนสีแ้วตและสีซัลเฟอร์ ถูกออกแบบมาให้มีโครงสร้างที่ไม่ละลายน้ำ แต่เมื่อนำมาใช้งานจะถูกทำปฏิกิริยาทางเคมีให้อยู่ในรูปที่ละลายน้ำได้ เพื่อให้เกาะยึดกับเส้นใยเซลลูโลส จากนั้นจะถูกทำให้กลับปออยู่ในรูปที่ไม่ละลายน้ำ ทำให้ไม่หลุดจากเส้นใยเมื่อเกิดการชะล้าง ในกรณีของสีอะโซ-อิก เกิดขึ้นจากการทำปฏิกิริยาขององค์ประกอบ 2 ชนิด ภายในเส้นใยเซลลูโลส เกิดเป็นสีที่มีคุณสมบัติไม่ละลายน้ำ

ในการศึกษาของวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ได้เลือกใช้สีย้อมสังเคราะห์ 3 ชนิด ซึ่งมีเจตสึเดียวกันคือสีน้ำเงิน ได้แก่ Novacron Blue P-3R (Reactive Blue 49) ที่มีโครงสร้างสีย้อมจัดอยู่ในกลุ่มแอนทราควิโนน (Anthraquinone) (ภาพที่ 5) และอยู่ในกลุ่มการใช้งานของสีย้อมแบบรีแอคทีฟ (Reactive dyes) เช่นเดียวกับสีย้อม Cibacron Navy WBT crude ที่มีโครงสร้างทางเคมีจัดอยู่ในกลุ่มของอะโซ (Azo) สีย้อมแบบรีแอคทีฟนี้มีหมู่ฟังก์ชันที่สามารถสร้างพันธะโควาเลนต์ (Covalent bonding) กับเส้นใยประเภทเซลลูโลสได้ ทำให้ตัวสียึดติดกับเส้นใย (Zollinger, 2003) สีย้อมชนิดสุดท้ายที่ใช้ในการศึกษาคือ Telon Blue RR 01 (Acid Blue 150) ซึ่งมีกลุ่มของแอนทราควิโนนอยู่ในโมเลกุล (ภาพที่ 6) และมีการใช้งานอยู่ในกลุ่มของสีย้อมแอซิด มีคุณสมบัติให้ประจุลบบนโมเลกุลของสี และจะเกาะติดเส้นใยผ้าบริเวณที่มีประจุบวกเนื่องจากแรงดึงดูดระหว่างขั้ว มักใช้ย้อมเส้นใยโปรตีนและไนลอน (อัจฉราพร, 2517)



ภาพที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Novacron Blue P-3R (Reactive blue 49)

ที่มา: Anonymous (2012a)



ภาพที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของสีย้อม Telon Blue RR 01 (Acid blue 150)

ที่มา: Anonymous (2012b)

การย้อมสีในปัจจุบันจะต้องพิจารณาองค์ประกอบในเรื่องของความปลอดภัยต่อผู้บริโภค และการปลดปล่อยน้ำย้อมทิ้งลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาติในระดับที่ไม่สามารถยอมรับได้ ซึ่งสีย้อมที่ปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำธรรมชาตินั้นจะมีวิธีการกำจัดที่ค่อนข้างยาก เพราะสีย้อมส่วนใหญ่มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี ดังนั้น จึงควรมีการเลือกใช้ประเภทของสีย้อมให้เหมาะสมกับงาน รวมถึงต้องมีการวางแผนการบำบัดสีย้อมที่ปนเปื้อนในน้ำเสียอย่างรอบคอบ

3.1 ความเป็นพิษของสีย้อม

สีย้อมอาจเข้าสู่ร่างกายของมนุษย์ได้ 3 ทาง คือ ทางจมูก โดยการสูดดมสีที่ฟุ้งกระจายอยู่ในอากาศ การสัมผัสทางผิวหนัง และการปะปนกับอาหาร โดยทั่วไปสีย้อมเป็นสารเคมีที่มีความเป็นพิษต่ำ ไม่มีการพบว่าผู้ที่ทำงานในโรงงานฟอกย้อมพิมพ์ มีอัตราการตายหรือเจ็บป่วยสูงกว่าบุคคลในอาชีพอื่นแต่อย่างใด (รัชนิย์, ม.ป.ป.) แต่สีย้อมบางชนิดอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของโครงสร้างกลายเป็นสารพิษได้ เช่น สีย้อมที่มีโครงสร้างแบบอะโซ ที่หมู่อะโซจะถูกทำลายด้วยสารรีดิวซ์ (Reducing agent) ในสภาวะไร้ออกซิเจน ก่อให้เกิดการแตกตัวของพันธะอะโซได้เป็นสารอะโรมาติกอะมีน ซึ่งเป็นสารที่มีฤทธิ์ก่อมะเร็งขึ้นได้ (Hamedani *et al.*, 2007)

นอกจากนี้ เมื่อสีย้อมปนเปื้อนลงสู่แหล่งน้ำตามธรรมชาติอาจก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำ เนื่องจากความเข้มข้นของสีได้บดบังการส่งผ่านของแสงอาทิตย์ลงสู่แหล่งน้ำ ทำให้พืชน้ำไม่สามารถสังเคราะห์แสงได้ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำจึงต่ำลง ส่งผลกระทบต่อสิ่งมีชีวิตในระบบนิเวศนั้นๆ และยังทำให้ทัศนียภาพในบริเวณนั้นเกิดความเสื่อมเสีย (Chagas and Durrant,

2001) ด้วยเหตุนี้ จึงมีความจำเป็นต้องมีการบำบัดสีย้อมที่ปนเปื้อนในน้ำเสียที่มีประสิทธิภาพ และเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อมขึ้น

3.2 การบำบัดสีย้อมที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย

ในการบำบัดสีย้อมสังเคราะห์ที่ปนเปื้อนในน้ำเสีย ได้มีการนำกระบวนการทางเคมี และกระบวนการทางกายภาพมาประยุกต์ใช้อย่างแพร่หลาย ตัวอย่างของกระบวนการทางเคมีที่นำมาใช้ในการบำบัดสีย้อม ได้แก่ กระบวนการออกซิเดชันโครงสร้างของสีย้อมด้วยสารตัวกลางชนิดต่างๆ เช่น โอโซน (Ozone) หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่ถูกกระตุ้นด้วยแสงอัลตราไวโอเล็ต (Ultra violet light) รวมทั้งการใช้กระบวนการไฟฟ้าเคมี (Electrochemical) เพื่อทำลายโครงสร้างของสีย้อม ส่วนกระบวนการทางกายภาพที่มีการนำมาใช้ในการบำบัดสีย้อม จะอาศัยหลักของการดูดซับโมเลกุลของสีย้อมให้ติดอยู่บนอนุภาคของสารตัวกลางที่มีรูพรุนสูง มีพื้นที่ผิวมาก และมีประจุเพื่อให้โมเลกุลของสีย้อมถูกดึงดูดได้ เช่น ถ่านหิน ขี้เลื่อย ถ่านกัมมันต์ (Activated carbon) และดินพีท (Peat) หรือทำการแยกโมเลกุลของสีย้อมออกจากน้ำทิ้งโดยอาศัยการกรองผ่านเมมเบรน (Membrane filtration) และการตกตะกอนโมเลกุลสีย้อมด้วยเกลือเฟอร์รัสซัลเฟต (Ferrous sulfate) หรือเกลือเฟอร์ริกคลอไรด์ (Ferric chloride)

เนื่องจากการบำบัดสีย้อมในน้ำเสียด้วยกระบวนการทางเคมีและกายภาพ มีข้อเสียหลายประการ เช่น มีค่าใช้จ่ายในการดำเนินการสูง ต้องอาศัยอุปกรณ์ที่มีราคาสูงและเทคโนโลยีขั้นสูง และอาจเกิดตะกอนหรือของเสียสะสมขึ้นได้ ซึ่งต้องหาวิธีในการกำจัดต่อไป การนำกระบวนการทางชีวภาพมาใช้ในการบำบัดสีย้อมที่ปนเปื้อนในน้ำเสียจึงได้รับความสนใจมากขึ้น หนึ่งในนั้นคือ การใช้รากลุ่มไวท์รอต และเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกที่ผลิตขึ้นโดยรากลุ่มไวท์รอต ซึ่งมีคุณสมบัติในการทำลายโครงสร้างโมเลกุลของสีย้อมได้ วิธีนี้เป็นกระบวนการที่ดำเนินงานได้ง่ายและมีค่าใช้จ่ายที่ค่อนข้างต่ำ และเกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อย เนื่องจากไม่เกิดของเสียที่สะสมอยู่ในสภาพแวดล้อมต่อไป (Robinson *et al.* 2001b) จากการตรวจเอกสารพบว่าเห็ดลมมีความสามารถในการย่อยสลายสีย้อมได้ไม่ดีเท่า *Phanerochaete chrysosporium* (Wesenberg *et al.*, 2003) และมีงานวิจัยเพียงเล็กน้อยที่ศึกษาการย่อยสลายสีย้อมโดยเห็ดชนิดนี้ แต่เนื่องจากเห็ดชนิดนี้เป็นเห็ดพื้นเมืองของประเทศ จึงมีความสนใจนำมาศึกษาในงานวิทยานิพนธ์นี้ และในการศึกษาความสามารถของรากลุ่มไวท์รอตในการบำบัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วยเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติก ส่วนใหญ่จะทำการเลี้ยงรากลุ่มไวท์รอตภายใต้สภาวะอาหารเหลว (Liquid state fermentation) ซึ่งเป็นสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติก

ของรากลุ่มไวท์รอต งานวิจัยนี้จึงเลือกทำการศึกษาการเจริญของเห็ดลมบนวัสดุอาหารแข็ง (Solid state culture) ซึ่งเป็นสถานะที่ใกล้เคียงกับธรรมชาติในการเจริญและดำรงชีพของเห็ดลมและรากลุ่มไวท์รอตชนิดอื่นๆ

4. การเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารแข็ง (Solid state culture)

ความหมายของกระบวนการเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารแข็งคือ กระบวนการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนวัสดุภายใต้สภาวะที่ปราศจากกระแสน้ำไหลผ่าน มีปริมาณความชื้นในวัสดุต่ำ โดยที่มีวัสดุของแข็ง (Solid material) เป็นแหล่งยึดเกาะของเซลล์จุลินทรีย์ และเป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นต่อการดำรงชีวิตของจุลินทรีย์ได้ (Couto and Sanroman, 2005a) ชนิดของวัสดุของแข็งที่เป็นแหล่งยึดเกาะของเซลล์จุลินทรีย์ มี 2 ชนิด ได้แก่

- 1) Inert support เป็นวัสดุที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น เช่น ฟองน้ำ มีเฉพาะพื้นที่ผิวสำหรับให้จุลินทรีย์ยึดเกาะ การเลี้ยงจุลินทรีย์บนวัสดุของแข็งประเภทนี้ จำเป็นต้องมีการเติมสารอาหารเพื่อให้จุลินทรีย์ใช้ในการเจริญ
- 2) Non inert support หรือ Support-substrate วัสดุชนิดนี้ นอกจากจะมีพื้นที่สำหรับให้จุลินทรีย์ได้ยึดเกาะในการเจริญแล้ว ยังมีองค์ประกอบที่สามารถเป็นแหล่งอาหารให้แก่จุลินทรีย์ได้อีกด้วย วัสดุประเภทนี้ มักเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการเกษตรกรรมหรือมีแหล่งมาจากอุตสาหกรรมเกษตร ซึ่งมีองค์ประกอบที่เป็น แป้ง หรือ เซลลูโลส หรือ ลิกโนเซลลูโลส

อาจกล่าวได้ว่า การเลี้ยงจุลินทรีย์บนวัสดุอาหารแข็งนี้ เหมาะสำหรับการเลี้ยงจุลินทรีย์ประเภทรา เนื่องจากมีสภาวะที่มีความชื้นต่ำ ซึ่งเหมาะกับการเจริญของราที่ไม่ต้องการความชื้นในปริมาณที่สูงมากนัก และยังเป็นสภาวะที่อากาศสามารถถ่ายเทได้สะดวก เนื่องจากมีความชื้นและน้ำที่จะเป็นอุปสรรคต่อการส่งผ่านก๊าซออกซิเจนในปริมาณที่ต่ำ จึงเหมาะสมกับการเจริญและกิจกรรมทางด้านเมแทบอลิซึมของรา ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการก๊าซออกซิเจนในการดำรงชีวิต นอกจากนี้ยังเป็นแหล่งของสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการดำรงชีวิตของราและมีความเข้มข้นที่สูงกว่าในระบบการเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยอาหารเหลวอีกด้วย (Pandey, 2003) ดังนั้น การเลี้ยงเส้นใยเห็ดลมซึ่งจัดอยู่ในรากลุ่มไวท์รอตบนอาหารแข็งเช่นนี้ น่าจะเป็นสภาวะที่ส่งเสริมกิจกรรมการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกของเส้นใย *L. polychrous* Lev.

5. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงรากลุ่มไว้ร่อบทบนวัสดุอาหารแข็ง

การเจริญเติบโตของเส้นใยและกิจกรรมการสร้างเอนไซม์ในกลุ่มลินินโนไลติกของรากลุ่มไว้ร่อบทขณะที่มีการเจริญบนวัสดุอาหารแข็งนั้น ขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ ดังต่อไปนี้

5.1 ชนิดและองค์ประกอบของวัสดุอาหารแข็งที่ใช้เลี้ยงเส้นใยรากลุ่มไว้ร่อบท

ในการเจริญของจุลินทรีย์ จำเป็นต้องมีแหล่งอาหารที่สำคัญได้แก่ ธาตุคาร์บอน ธาตุไนโตรเจน และวิตามินหรือแร่ธาตุอื่นๆ เพื่อใช้ในการสร้างเซลล์ใหม่ให้แก่จุลินทรีย์ ซึ่งวัสดุที่เหลือทางการเกษตรต่างชนิดกัน จะมีองค์ประกอบของธาตุคาร์บอนและธาตุไนโตรเจนในปริมาณที่แตกต่างกัน และยังมีสารที่เป็นพิษต่อสิ่งมีชีวิตเป็นองค์ประกอบอยู่ด้วย ส่งผลให้อัตราการเจริญของเส้นใยรากลุ่มไว้ร่อบทมีความแตกต่างกันเมื่อใช้วัสดุอาหารแข็งต่างชนิดกันในการเลี้ยง ดังรายงานของ Nyochembeng *et al.* (2008) ที่ศึกษาการเจริญของเส้นใยของเห็ดหรือรากลุ่มไว้ร่อบทที่รับประทานได้ 2 สายพันธุ์คือ *Lentinus edodes* และ *Pleurotus ostreatus* ด้วยการวัดความยาวของเส้นใย เมื่อใช้เศษต้นมะเขือเทศ ฟางข้าวจ้าว ฟางข้าวสาเลี เศษต้นโหระพา เศษมันฝรั่งหวาน และเศษต้นถั่วเหลืองเป็นวัสดุเพาะเลี้ยง ผู้ทดลองพบว่าเส้นใยของ *L. edodes* และ *P. ostreatus* เจริญได้ดีบนเศษฟางข้าวสาเลี เศษต้นถั่วเหลือง ฟางข้าวจ้าว แต่เจริญได้ค่อนข้างต่ำเมื่อใช้เศษต้นมะเขือเทศ เศษต้นโหระพา และเศษมันฝรั่งหวานเป็นวัสดุในการเลี้ยงร่าทั้ง 2 ชนิด

โดยปกติแล้วรากลุ่มไว้ร่อบทมีระบบของเอนไซม์ลินินโนไลติกที่สามารถย่อยสลายลิกนินและลิกโนเซลลูโลสเพื่อใช้เป็นแหล่งอาหารในการดำรงชีวิต ซึ่งสารประกอบทั้ง 2 ชนิดนี้สามารถพบได้ในไม้เนื้ออ่อนและไม้เนื้อแข็ง รวมทั้งเศษวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรชนิดต่างๆ Couto and Sanroman (2005a) กล่าวว่า องค์ประกอบที่มีอยู่ในวัสดุอาหารแข็งสามารถชักนำให้เกิดการผลิตเอนไซม์ชนิดต่างๆ ได้ ดังนั้น จึงควรต้องมีการคัดเลือกชนิดของวัสดุอาหารแข็งให้เหมาะสมต่อชนิดของเอนไซม์ที่ต้องการในการผลิต และโดยปกติแล้ววัสดุที่อุดมไปด้วยสารประกอบลิกนินจะสามารถกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดสโดยรากลุ่มไว้ร่อบทได้ดี ส่วนวัสดุที่มีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบอยู่สูง จะกระตุ้นการสร้างเอนไซม์แลคเคสได้ ดังนั้น ชนิดของวัสดุที่จะนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใยของรากลุ่มไว้ร่อบทจึงเป็นปัจจัยสำคัญที่มีอิทธิพลต่อการเจริญและการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลินินโนไลติกเนื่องจากวัสดุที่มาจากแหล่งต่างกัน ก็จะมีองค์ประกอบของลิกนินและลิกโนเซลลูโลสในปริมาณที่แตกต่างกันด้วย ดังตัวอย่างการศึกษาของ Gomez *et al.* (2005) ที่ทำการเลี้ยง *Coriolopsis rigida* ด้วยเปลือกของลูกเกาลัด (ประกอบด้วย

ลิกนินร้อยละ 59.4 และโฮโลเซลลูโลส (Holocellulose) ซึ่งเป็นส่วนประกอบรวมของเซลลูโลสและเฮมิเซลลูโลสในปริมาณร้อยละ 48.5) และรำข้าวสาลี (ประกอบด้วยลิกนินร้อยละ 21.4 เซลลูโลสร้อยละ 23 และเฮมิเซลลูโลสร้อยละ 32.7) พบว่า *C. rigida* ที่เจริญในอาหารที่มีรำข้าวสาลีเป็นส่วนประกอบ และใช้คอปเปอร์ซัลเฟต (CuSO_4) เป็นตัวกระตุ้นการสร้างเอนไซม์ สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ในปริมาณที่สูงกว่า *C. rigida* ที่เจริญในอาหารที่มีเปลือกถั่วลิสงเป็นส่วนประกอบ

5.2 ปริมาณความชื้นของวัสดุ

ระบบการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนวัสดุอาหารแข็ง เป็นระบบที่มีน้ำอิสระอยู่ในปริมาณต่ำ จึงเหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยงราหรือยีสต์มากกว่าแบคทีเรีย น้ำในระบบการเพาะเลี้ยงบนวัสดุอาหารแข็งนี้อาจอยู่ภายในช่องว่างของวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยงรา หรือเกาะจับกับตัววัสดุเป็นชั้นบางๆ รวมทั้งยังสามารถถูกดูดซับไว้บนพื้นผิวของอนุภาควัสดุ และอาจเกาะกับชั้นวัสดุด้วยแรงดึงดูดแบบอ่อนๆ ได้ น้ำอิสระจะเกิดขึ้นเมื่อวัสดุอิ่มตัวไปด้วยน้ำแล้ว วัสดุอาหารแข็งต่างชนิดกันจะมีระดับความชื้นที่ก่อให้เกิดน้ำอิสระได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับลักษณะโครงสร้างและความสามารถในการอุ้มน้ำของวัสดุแต่ละชนิด ยกตัวอย่างเช่น มีน้ำอิสระเกิดขึ้นบนเปลือกไม้เมเปิล เมื่อระดับความชื้นอยู่ที่ร้อยละ 40 ในขณะที่ความชื้นของฟางข้าวและเปลือกมันสำปะหลังที่มีน้ำอิสระมีค่าเท่ากับร้อยละ 50-55 ด้วยเหตุนี้จึงทำให้มีความแตกต่างของระดับความชื้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์บนวัสดุอาหารแข็งต่างชนิดกัน เช่น *Aspergillus niger* เจริญได้ดีบนฟางข้าวที่ระดับความชื้นร้อยละ 40 แต่เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงบนกากกาแฟจะเจริญได้ดีที่ระดับความชื้นร้อยละ 80 (Raimbault, 1998)

โดยปกติแล้วระดับความชื้นที่ใช้ในกระบวนการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์บนวัสดุอาหารแข็งจะมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 35 – 80 และความชื้นในช่วงร้อยละ 40 – 70 จะเหมาะสมต่อการใช้วัสดุอาหารแข็งและการเจริญของจุลินทรีย์ ในการดำเนินกิจกรรมต่างๆ ของจุลินทรีย์จะมีความแตกต่างกันของระดับความชื้นที่เหมาะสมด้วย ส่วนใหญ่แล้วในกิจกรรมการผลิตสารเมแทบอไลต์จะต้องการความชื้นในระดับที่สูงกว่าการเจริญของจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตาม หากค่าความชื้นอยู่ในระดับที่ต่ำเกินไป สารอาหารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในวัสดุอาหารแข็งจะไม่สามารถละลายน้ำออกมาได้ จุลินทรีย์จะเจริญได้ไม่ดี และเป็นการกระตุ้นการสร้างสปอร์ของจุลินทรีย์ขึ้นมาได้ แต่หากระดับความชื้นสูงเกินไป จะมีปริมาณน้ำอิสระแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างอนุภาควัสดุอาหารแข็งสูง ทำให้ช่องว่างระหว่างวัสดุอาหารแข็งมีปริมาณน้อยลง จึงก่อให้เกิดปัญหาในการถ่ายเท

อากาศซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญของรา และเพิ่มโอกาสให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียด้วย (Guerra *et al.*, 2003)

Habijanac and Berovic (2000) ได้ทำการเพาะเลี้ยง *Ganoderma lucidum* บนจีเลี่ยจากไม้บีช (Beech) ภายในถังหมักแบบ Horizontal stirred tank reactor (HSTR) พบว่า ที่ระดับความชื้นสูงกว่าร้อยละ 70 ช่วยทำให้การเจริญและการผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ (Polysaccharide) ของ *G. lucidum* มีค่าสูงขึ้น ส่วนในระดับความชื้นที่ต่ำกว่าร้อยละ 70 การเจริญของเส้นใย *G. lucidum* มีอัตราที่ช้าลง และผลิตพอลิแซ็กคาไรด์ได้ในระดับที่ต่ำลง และในระดับความชื้นที่ต่ำกว่าร้อยละ 55 *G. lucidum* จะหยุดการเจริญ

5.3 อุณหภูมิขณะทำการเพาะเลี้ยง

จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตสารเมแทบอไลต์แตกต่างกัน ตัวอย่างเช่น เส้นใยของ *Lentinus polychrous* Lev. หรือเห็ดลม เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 28 - 32 องศาเซลเซียส และในช่วงของการพัฒนาเป็นดอกเห็ดอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 33 - 36 องศาเซลเซียส (สัจจะ, 2551) นอกจากนี้ Snajdr and Baldrian (2007) ได้ศึกษาการผลิตเอนไซม์แลคเคสและแมงกานีสเปอร์ออกซิเดสโดย *Pleurotus ostreatus* และ *Trametes versicolor* พบว่า อุณหภูมิที่ *P. ostreatus* และ *T. versicolor* ผลิตเอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดได้ปริมาณสูงที่สุดอยู่ในช่วง 25 - 30 องศาเซลเซียสและ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

ในระหว่างที่ราเจริญบนวัสดุอาหารแข็ง อุณหภูมิภายในระบบการเลี้ยงจะมีค่าสูงขึ้น เนื่องจากความร้อนที่เกิดขึ้นในระหว่างกิจกรรมทางด้านเมแทบอลิซึมของราซึ่งไม่สามารถถ่ายเทสู่สถานะแวดล้อมได้อย่างเต็มที่ เพราะวัสดุอาหารแข็งมีข้อจำกัดในการถ่ายเทความร้อน โดยอัตราการระบายความร้อนออกจากระบบการเพาะเลี้ยงขึ้นอยู่กับความสามารถในการส่งผ่านความร้อนเข้าและออกจากระบบของอนุภาควัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง การส่งผ่านความร้อนนี้จะส่งระหว่างผิวหน้าของอนุภาควัสดู่ออกสู่อากาศที่อยู่บริเวณรอบๆ นอกจากนี้ ระดับความชื้นที่ต่ำก็อาจส่งผลทำให้การถ่ายเทความร้อนออกจากวัสดุเกิดขึ้นได้ไม่ฉับใน ระบบการเลี้ยงราบนวัสดุอาหารแข็ง บางครั้งจึงต้องมีการเขย่าหรือกวนวัสดุอาหารแข็ง เพื่อให้อากาศถ่ายเทเข้าสู่ระบบได้ดีขึ้น และอากาศก็จะช่วยพาความร้อนออกจากระบบการเพาะเลี้ยงได้ (Guerra *et al.*, 2003)

5.4 ขนาดของวัสดุที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง

ในการเพาะเลี้ยงราบนวัสดุอาหารแข็ง ขนาดของวัสดุเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการเจริญและกิจกรรมทางด้านเมแทบอลิซึมของรา วัสดุที่มีขนาดใหญ่ มีพื้นที่ผิวสัมผัสต่อปริมาตรซึ่งเป็นแหล่งยึดเกาะของเส้นใยราในปริมาณน้อย โอกาสในการใช้อาหารที่มีอยู่ในวัสดุจึงน้อย และมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำ แต่อาจมีช่องว่างระหว่างอนุภาคอยู่สูง การถ่ายเทอากาศและความร้อนเข้าและออกจากระบบจะมีความสะดวก ส่วนวัสดุที่มีขนาดอนุภาคที่เล็ก จะมีพื้นที่ผิวสัมผัสต่อปริมาตรสูง ราจึงสามารถใช้อาหารที่มีอยู่ในวัสดุได้มากขึ้น นอกจากนี้ยังสามารถอุ้มน้ำในปริมาณที่สูงขึ้นได้ เนื่องจากเกิดแรงยึดเกาะระหว่างผิวหน้าของวัสดุกับน้ำมาก อย่างไรก็ตามความสามารถในการอุ้มน้ำนี้อาจก่อให้เกิดผลเสียต่อการถ่ายเทอากาศและความร้อนได้หากวัสดุมีขนาดเล็กเกินไป เนื่องจากมีน้ำซึ่งเป็นอุปสรรคต่อการถ่ายเทอากาศอยู่ภายในช่องว่างระหว่างอนุภาคของวัสดุมากเกินไป (เลอลักษณ์, 2544) การเลือกใช้ขนาดของวัสดุในการเพาะเลี้ยงจึงขึ้นอยู่กับคุณลักษณะเฉพาะของวัสดุและธรรมชาติของราที่เพาะเลี้ยง

Oriol *et al.* (1988) วัดอัตราการเจริญของ *Aspergillus niger* บนชานอ้อยที่มีขนาดอนุภาค 0.1 – 2.5 มิลลิเมตร โดยมีสารละลายกลูโคสเป็นแหล่งอาหาร พบว่าเมื่อขนาดอนุภาคของชานอ้อยมีค่าเพิ่มขึ้น อัตราการเจริญของ *A. niger* จะมีค่าลดลง และในการเพาะเลี้ยงบนชานอ้อยขนาดใหญ่ที่สุดคือ 2.5 มิลลิเมตร มวลของ *A. niger* ที่เกิดขึ้นระหว่างการเจริญก็มีค่าต่ำด้วย

Gomez *et al.* (2012) ศึกษาขนาดของฟางข้าวโพด (4.76 และ 2.30 มิลลิเมตร) ต่อความสามารถในการกำจัดลิกนิน และการผลิตเอนไซม์ของ *Trametes* sp. 44 พบว่า เมื่อใช้ฟางข้าวโพดขนาด 2.30 มิลลิเมตรในการเพาะเลี้ยง *Trametes* sp. 44 ทำให้เกิดการผลิตเอนไซม์ในกลุ่มเซลลูเลส (Cellulase) และเฮมิเซลลูเลส (Hemicellulase) ที่สูงกว่า ในขณะที่การกำจัดลิกนินจะเกิดขึ้นได้ดีกว่าเมื่อใช้ฟางข้าวโพดที่มีขนาด 4.76 มิลลิเมตรในการเพาะเลี้ยง

Royse and Vazquez (2001) เพาะเลี้ยงดอกเห็ด *L. edodes* บนขี้เลื่อยจากไม้เนื้อแข็ง ขนาดอนุภาค 2.8 – 4.0, 1.7 – 2.8, 0.85 – 1.4 และเล็กกว่า 0.85 มิลลิเมตร พบว่าผลได้และประสิทธิภาพในการเกิดดอกเห็ด *L. edodes* ต่ำที่สุดเมื่อเพาะเลี้ยงบนขี้เลื่อยที่มีขนาดเล็กกว่า 0.85 มิลลิเมตร ส่วนขี้เลื่อยขนาด 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร ทำให้ประสิทธิภาพในการเกิดดอกเห็ดมีค่าสูงที่สุด แต่ไม่แตกต่างจากประสิทธิภาพในการเกิดดอกเห็ดเมื่อใช้ขี้เลื่อยขนาด 1.7 – 2.8 และ 2.8 – 4.0 มิลลิเมตรในการเพาะเลี้ยง *L. edodes* มากนัก

Zadrazil and Puniya (1995) ใช้ขานอ้อยที่มีขนาดเล็กกว่า 1, 1 – 3, 3 – 5 และ 5 – 10 มิลลิเมตร เป็นวัสดุในการเพาะเลี้ยงรากลุ่มไวท์รอฟได้แก่ *Pleurotus* sp. P7, *Agrocybe aegerita* A1, *Pleurotus eryngii*, *Pleurotus* sp. P1 และ *Kuehneromyces mutabilis* เพื่อเปลี่ยนขานอ้อยให้เป็นอาหารเลี้ยงสัตว์ เนื่องจากรากลุ่มไวท์รอฟสามารถย่อยสลายลิกนินซึ่งเป็นองค์ประกอบในขานอ้อยให้กลายเป็นสารประกอบที่ย่อยสลายได้ง่ายขึ้น ผู้ศึกษาได้วิเคราะห์ค่าสารอินทรีย์ที่ลดลง และปริมาณลิกนินที่ลดลง พบว่าราทั้ง 5 สายพันธุ์ ทำให้ขานอ้อยที่มีขนาดเล็กกว่า 1 มิลลิเมตร มีการสูญเสียสารประกอบอินทรีย์และลิกนินสูงที่สุด ส่วนขานอ้อยขนาด 3 – 5 มิลลิเมตร มีการสูญเสียสารประกอบอินทรีย์และลิกนินต่ำที่สุด

จากปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการเพาะเลี้ยงราบนวัสดุอาหารแข็ง จึงจำเป็นต้องมีการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง ซึ่งวิธีหนึ่งที่ใช้ในการคัดเลือกคือการวิเคราะห์การเจริญของราบนวัสดุอาหารแข็ง

6. การวิเคราะห์การเจริญของราบนวัสดุอาหารแข็ง

ในระหว่างการเจริญของราบนวัสดุอาหารแข็ง เส้นใยของราจะเข้ายึดเกาะวัสดุอาหารแข็งอย่างแน่นหนา ทำให้การแยกรารอกจากวัสดุมีความยากลำบากมาก การวัดมวลของราโดยตรงจึงเป็นไปด้วยความไม่สะดวก จึงนิยมวิเคราะห์การเจริญของราโดยทางอ้อม ซึ่งสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การวัดปริมาณโปรตีน กรดนิวคลีอิก หรือกลูโคซามีนที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการเพิ่มจำนวนเซลล์

ราจะใช้คาร์บอนที่เป็นองค์ประกอบในวัสดุอาหารแข็งในกิจกรรมเมแทบอลิซึมเปลี่ยนเป็นเซลล์ของราและก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นนี้เป็นสาเหตุทำให้น้ำหนักของวัสดุอาหารแข็งมีค่าลดลง การเจริญของราจึงสามารถวิเคราะห์ได้จากปริมาณน้ำหนักแห้งของวัสดุอาหารแข็งที่ลดลง (Raimbault, 1998) วิธีนี้เป็นวิธีที่ค่อนข้างสะดวกและรวดเร็ว Boyle and Kropp (1992) ได้ใช้การวิเคราะห์น้ำหนักแห้งที่ลดลงนี้ ในการวิเคราะห์การเจริญของ *Phanerochaete chrysosporium*, *Flammulina velutipes*, *Lentinus edodes* และ *Pleurotus sajor-caju* บนชิ้นไม้ผสมระหว่างไม้เบิร์ชและไม้เมเปิล พบว่าวิธีนี้เหมาะสมต่อการวิเคราะห์การเจริญของราที่เจริญเติบโตได้ดีบนวัสดุอาหารแข็ง ส่วน Cruz et al. (1999) ได้วิเคราะห์หาอัตราส่วนของฟางข้าวไ้ด รำข้าวไ้ด และเนื้อมะพร้าวแก่ ที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *P. ostreatus* โดยวิเคราะห์จากน้ำหนักแห้งของวัสดุผสมที่ลดลงไปภายหลังที่มี *P. ostreatus* เจริญอยู่ นอกจากนี้

Terebiznik and Pilosof (1999) ได้สร้างแบบจำลองการเจริญของราบนวัสดุอาหารแข็งโดยอาศัยน้ำหนักแห้งของวัสดุอาหารแข็งที่หายไปหลังจากนำไปเพาะเลี้ยงราแล้ว ในการศึกษาครั้งนี้จึงเลือกใช้การลดลงของน้ำหนักแห้งของวัสดุอาหารแข็งในการติดตามการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเห้งงำมันสำปะหลัง

เมื่อได้วิธีการวิเคราะห์การเจริญของราบนวัสดุอาหารแข็งแล้ว เราจึงสามารถศึกษาการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเห้งงำมัน โดยอาศัยการออกแบบการทดลองและการวิเคราะห์ผลทางสถิติเข้ามาช่วยในการศึกษา เนื่องจากปัจจัยที่ส่งผลต่อการเจริญของราบนวัสดุอาหารแข็ง เช่น ความชื้นเริ่มต้นของวัสดุ อุณหภูมิขณะทำการเพาะเลี้ยง และขนาดของวัสดุ อาจมีอิทธิพลต่อการเจริญร่วมกัน ซึ่งการศึกษาที่ละปัจจัยอาจก่อให้เกิดความคลาดเคลื่อนของข้อมูล วิธีการทางสถิติที่นำมาใช้อย่างแพร่หลายวิธีหนึ่งคือการวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง

7. การวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface methodology)

การวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนองเป็นกระบวนการทางสถิติที่อาศัยการวางแผนการทดลองและการวิเคราะห์ผลการทดลองที่ได้ซึ่งเป็นข้อมูลเชิงปริมาณ ด้วยการวิเคราะห์เชิงถดถอย (Regression analysis) วิธีการนี้จะทำให้ได้สมการทางคณิตศาสตร์ที่อธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษากับค่าตอบสนองที่สนใจ โดยสมการที่ได้อาจอยู่ในรูปของสมการกำลังหนึ่ง (First order model) หรือสมการกำลังสอง (Second order model) ซึ่งสามารถนำมาสร้างกราฟสามมิติหรือ Response surface plot ที่แสดงระดับของตัวแปรในแนวระนาบและแสดงค่าตอบสนองในแนวแกนตั้ง หรือสร้างกราฟสองมิติที่เรียกว่า Control plot ที่แสดงค่าตอบสนองในแนวระนาบด้วยเส้นกราฟหลายเส้น กราฟทั้งสองชนิดนี้สามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษาด้วยกัน ผลของตัวแปรต่อค่าตอบสนอง รวมถึงอิทธิพลร่วมระหว่างตัวแปรที่มีต่อค่าตอบสนอง และยังสามารถแก้ปัญหาสมการหลายตัวแปรซึ่งมีความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรตอบสนอง (Dependent variable) กับปริมาณของผลิตภัณฑ์ที่สนใจและพารามิเตอร์ที่ออกแบบ ดังนั้น การสร้างพื้นที่ผิวตอบสนองจึงสามารถแสดงแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของค่าการตอบสนองที่มีต่อปัจจัยหรือตัวแปรที่ศึกษาในเชิงปริมาณ ซึ่งจะทำให้ได้ผลการตอบสนองที่ดีที่สุดเมื่อตัวแปรที่ศึกษามีค่าเหมาะสมที่สุด (ศิริวัฒนา, 2547)

7.1 การออกแบบการทดลอง (มลนพรรย, 2551 และ จันทิมา, 2554)

ก่อนที่จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรที่ศึกษากับค่าตอบสนองซึ่งแสดงในรูปของสมการเชิงถดถอย (Regression equation) จำเป็นต้องมีการวางแผนการทดลองให้ครอบคลุมช่วงที่เหมาะสมของตัวแปรที่สนใจศึกษาหรือตัวแปรอิสระ (Independent variable) ซึ่งเป็นช่วงที่ส่งผลทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของค่าตอบสนองของตัวแปรตาม (Dependent variable) ในบางครั้งจำเป็นต้องมีการทดลองเบื้องต้นเพื่อช่วยในการกำหนดตัวแปรเริ่มต้นและช่วงระดับค่าที่เหมาะสมต่อการวางแผนการทดลอง การวางแผนการทดลองจะขึ้นกับลักษณะของสมการที่ใช้ในการ Fit ข้อมูลของการทดลองอีกด้วย โดยทั่วไปมักจะแสดงในรูปของสมการกำลังสอง ซึ่งแผนการทดลองที่รู้จักกันดี เช่น การออกแบบเชิงแฟคทอเรียล 3 ระดับ (3^k Factorial) หรือบ็อกซ์ – เบห์นเคน ดีไซน์ (Box – Behnken Design) ค่าของตัวแปรเริ่มต้นในแผนการทดลองประเภทนี้จะมี 3 ระดับ ซึ่งนับเอาค่าจุดกึ่งกลางของตัวแปรไว้ในแผนการทดลองด้วย รูปแบบของสมการลำดับที่สองหรือสมการกำลังสองสำหรับ k ตัวแปร มีรูปแบบดังแสดงในสมการ (1)

$$Y = \beta_0 + \sum \beta_i x_i + \sum \beta_{ii} x_i^2 + \sum \beta_{ij} x_i x_j + \varepsilon \quad (1)$$

เมื่อ Y คือ ตัวแปรตอบสนอง
 β คือ สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอย
 x_i, x_j คือ ตัวแปรอิสระ
 ε คือ ความคลาดเคลื่อน

7.2 การนำเสนอผลในรูปของกราฟ

เป็นการอธิบายความสำคัญของสมการเชิงถดถอยและค่านัยสำคัญของตัวแปรอิสระที่มีความสัมพันธ์กับค่าตอบสนองของตัวแปรตาม ผลที่ได้จะแสดงในรูปของเส้นกราฟหรือพื้นที่ผิวตอบสนอง (Response surface) ของตัวแปรตาม ซึ่งจะอธิบายด้วยภาพความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยอิสระ 2 ชนิด ในขณะที่กำหนดให้ปัจจัยอิสระอื่นๆ มีค่าคงที่ รูปร่างของพื้นที่ผิวตอบสนองที่ใช้โปรแกรมการพลอตแบบกราฟสามมิติ (Response surface plot) หรือกราฟสองมิติ (Contour plot) จะทำให้คาดการณ์ถึงผลตอบสนองที่ดีที่สุดภายใต้ช่วงของค่าตัวแปรอิสระที่เหมาะสมได้ อย่างไรก็ตาม การอธิบายด้วยภาพอาจไม่เหมาะสมเมื่อมีตัวแปรอิสระในการศึกษามากกว่า 21 ชนิด และมี

ความยุ่งยากในการแปลผลยิ่งขึ้นเมื่อมีจำนวนผลการตอบสนองเพิ่มขึ้น ดังนั้นจึงไม่นิยมใช้ภาพกราฟอธิบายสำหรับการแก้ปัญหาที่มีผลการตอบสนองหลายชนิด (มลินพรรษ, 2551)

วิธีพื้นที่ผิวตอบสนองมักนำมาใช้ในการกำหนดปัจจัยที่มีผลต่อสภาวะการผลิตผลิตภัณฑ์ที่ต้องการให้ได้ค่าตอบสนองที่ดีที่สุดและมีความเฉพาะต่อกระบวนการผลิตหรือต่อตัวผลิตภัณฑ์ และยังสามารถวิเคราะห์ถึงอิทธิพลร่วมระหว่างปัจจัยต่างๆ ที่มีต่อผลตอบสนองในกระบวนการที่สนใจได้ ดังที่ Inglet *et al.* (2006) และ Bhak *et al.* (2005) ได้ประยุกต์ใช้พื้นที่ผิวตอบสนองในการวิเคราะห์การเจริญของ *Lentinus edodes* และ *Pleurotus ostreatus* ตามลำดับ บนอาหารที่มี Whey permeate powder เป็นองค์ประกอบ Inglet *et al.* (2006) พบว่า *L. edodes* มีการเจริญได้ดีที่สุดในภายใต้สภาวะที่มีองค์ประกอบของแลคโทสที่ได้มาจาก Whey powder เท่ากับ 40 กรัมต่อลิตร อุณหภูมิ 23.6 องศาเซลเซียส และค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 และพบว่าความเข้มข้นของแลคโทสกับอุณหภูมิขณะบ่มมีความสัมพันธ์ร่วมกันและมีอิทธิพลต่อการเจริญของ *L. edodes* ในขณะที่ Bhak *et al.* (2005) พบว่าความเข้มข้นของแลคโทสที่ได้จาก Whey permeate เท่ากับ 44 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชของอาหารเท่ากับ 6.0 และอุณหภูมิ 24.2 องศาเซลเซียส ส่งผลทำให้ *P. ostreatus* มีการเจริญของเส้นใยสูงที่สุด โดยได้รับอิทธิพลจากอุณหภูมิขณะบ่มมากที่สุด นอกจากนี้อุณหภูมียังมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นของแลคโทส ซึ่งส่งผลต่อการเจริญของ *P. ostreatus* อีกด้วย

Lee *et al.* (2008) ได้เพาะเลี้ยง *L. edodes* บนอาหารวุ้นที่มีซังข้าวโพดเป็นส่วนประกอบ และวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเส้นใยด้วยวิธีวิเคราะห์พื้นที่ผิวตอบสนอง พบว่าที่ความเข้มข้นของซังข้าวโพด 44.3 กรัมต่อลิตร ค่าพีเอชของอาหารเท่ากับ 4.7 และอุณหภูมิขณะบ่มเท่ากับ 24.7 องศาเซลเซียส ทำให้การเจริญของ *L. edodes* มีค่าสูงที่สุด โดยที่อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของ *L. edodes* นอกจากนี้อิทธิพลร่วมระหว่างอุณหภูมิและปริมาณของซังข้าวโพดก็มีผลต่อการเติบโตของ *L. edodes*

ในการศึกษาครั้งนี้เลือกใช้วิธีพื้นที่ผิวตอบสนองเพื่อช่วยในการวิเคราะห์อิทธิพลของความชื้นเริ่มต้นของวัสดุเห้งม้น อุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง และขนาดของวัสดุเห้งม้น ที่มีต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนวัสดุเห้งม้น รวมทั้งวิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. มากที่สุด เพื่อประโยชน์ต่อการนำมาประยุกต์ใช้ในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ให้มีประสิทธิภาพที่ดีต่อไป

8. การประยุกต์ใช้สภาวะการเจริญบนวัสดุอาหารแข็งในการเพาะเลี้ยงรากลุ่มไวท์รอตเพื่อกำจัดสี ย้อมสังเคราะห์

ปัจจุบันมีความสนใจเพาะเลี้ยงรากลุ่มไวท์รอตบนวัสดุอาหารแข็งเพื่อประโยชน์ในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์มากขึ้น เนื่องจากเป็นสภาวะที่ใกล้เคียงกับสภาพธรรมชาติของการเจริญและการสร้างเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลติกของรากลุ่มไวท์รอตมาก นอกจากนี้ยังเป็นการนำวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์สูงสุด อีกทั้งช่วยลดค่าใช้จ่ายในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ได้มาก การประยุกต์ใช้สภาวะการเจริญบนวัสดุอาหารแข็งในการเพาะเลี้ยงรากลุ่มไวท์รอตเพื่อกำจัดสีย้อมสังเคราะห์สามารถแบ่งได้ 2 ลักษณะ คือ

8.1 การกำจัดสีย้อมด้วยเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลติกที่สกัดได้จากรากลุ่มไวท์รอตที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็ง (In vitro decolourisation)

การกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้ เป็นการนำเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโกลติกที่รากลุ่มไวท์รอตผลิตขึ้นในระหว่างที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็งมาใช้ในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ โดยเอนไซม์นี้อาจละลายอยู่ในส่วนของอาหารเหลวหรือของเหลวที่ใช้ในการปรับค่าความเข้มข้นวัสดุอาหารแข็ง หรือถูกแยกออกมาจากรากลุ่มไวท์รอตที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็ง โดยการสกัดด้วยของเหลวที่ช่วยรักษาความคงตัวและค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโกลติก แล้วจึงนำของเหลวที่มีเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลติกผสมอยู่นั้น มาทำการย่อยสลายสีย้อมภายหลัง หรืออาจทำการแยกเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโกลติกให้บริสุทธิ์ก่อนนำมาใช้ย่อยสลายสีย้อม ตัวอย่างของการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วยวิธีการนี้ได้แก่งานวิจัยของ Couto *et al.* (2004) ที่ได้นำรำข้าวบาร์เลย์ซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากการผลิตเบียร์ มาใช้ในการเลี้ยงรากลุ่มไวท์รอตสายพันธุ์ *Trametes* เพื่อผลิตเอนไซม์แลคเคสและพบว่าของเหลวซึ่งสกัดได้จาก *Trametes* sp. ซึ่งมีเอนไซม์แลคเคสเป็นส่วนประกอบอยู่สามารถย่อยสลายสีย้อม Bromophenol Blue, Indigo Carmin และ Methyl Orange ได้ภายในระยะเวลา 2 - 7 ชั่วโมง แต่สำหรับสี Poly R-478 จะมีความคงทนต่อการย่อยสลายมากกว่า นอกจากนี้ Couto and Sanroman (2006) ยังใช้เปลือกถั่วลิสงและเมล็ดถั่วลิสง ในการเพาะเลี้ยง *T. hirsuta* เพื่อผลิตเอนไซม์แลคเคสซึ่ง *T. hirsuta* ที่เจริญบนเมล็ดถั่วลิสงสามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ในปริมาณที่สูงกว่าเมื่อเจริญบนเปลือกถั่วลิสง และของเหลวที่สกัดได้จาก *T. hirsuta* ที่เจริญบนเมล็ดถั่วลิสงซึ่งมีเอนไซม์แลคเคสผสมอยู่นั้นมีความสามารถในการย่อยสลายสีย้อม Nickel (II) Phthalocyanine, Lissamine Green B และ Acid Black 48 ได้ดี ในขณะที่ของเหลวที่สกัดจาก *T. hirsuta* ที่เจริญบนเปลือกถั่วลิสงสามารถย่อยสลายสีย้อม Acid Black 48 ได้เพียงชนิดเดียวเท่านั้น

Deveci *et al.* (2004) ใช้วัสดุผสมระหว่างรำข้าวสาลีและเปลือกถั่วเหลืองในการเพาะเลี้ยง *Funalia trogii* ATCC 200800 และทำการสกัดเอนไซม์ออกจาก *F. trogii* ATCC 200800 พบกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสในของเหลวที่ได้จากการสกัด ซึ่งมีความสามารถในการย่อยสลายสีย้อมสังเคราะห์ Remazol Brilliant Blue R

8.2 การกำจัดสีย้อมด้วยรากกลุ่มไทรออปที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็ง (In vivo decolourisation)

การกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้ เป็นการใช้รากกลุ่มไทรออปที่มีการเจริญและมีกิจกรรมการดำรงชีวิตอยู่บนวัสดุอาหารแข็งในการกำจัดสีย้อม โดยมีกระบวนการที่เกี่ยวข้องอยู่ 2 กระบวนการ คือ การดูดซับสีย้อมเข้าสู่เซลล์รากกลุ่มไทรออปและวัสดุอาหารแข็ง และการกำจัดสีย้อมด้วยเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโกลิดิกที่รากไทรออปผลิตขึ้นมาในระหว่างที่มีกิจกรรมการดำรงชีวิตอยู่ ข้อดีของการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วยวิธีนี้คือ การกำจัดสีย้อมจะเกิดขึ้นได้พร้อมๆ กับการดำรงชีวิตอยู่ของรากกลุ่มไทรออป เนื่องจากรากไทรออปสามารถผลิตเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโกลิดิกได้ขณะที่มีชีวิต ตัวอย่างของการใช้กระบวนการนี้ในการกำจัดสีย้อมคือการศึกษาของ Boer *et al.* (2004) ที่เพาะเลี้ยง *Lentinus edodes* บนซังข้าวโพด เพื่อกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ซึ่งมีโครงสร้างต่างกัน 10 ชนิด ที่ถูกผสมลงในซังข้าวโพด ให้ความเข้มข้นของสีย้อมสังเคราะห์ในข้าวโพด มีค่าเท่ากับ 200 ส่วนในล้านส่วน พบว่าสีที่ถูกย่อยได้อย่างสมบูรณ์คือ Remazol Brilliant Blue R, Methyl Violet, Ethyl Violet และ Poly R 478 หลังผ่านการเลี้ยงไปได้ 18 วัน ส่วน Brilliant Cresol Blue และ Methylene Blue พบว่าถูกย่อยสลายได้เพียงบางส่วน โดยพบว่าเอนไซม์ที่มีบทบาทต่อการย่อยสลายสีย้อมสังเคราะห์โดย *Lentinus edodes* คือแมงกานีสเปอร์ออกซิเดส

Couto *et al.* (2002) ใช้ฟางข้าวสาลี ฟางข้าวบาร์เลย์ จีเลื้อย และรำข้าวบาร์เลย์ ในการเพาะเลี้ยง *Trametes versicolor* พบว่ารำข้าวบาร์เลย์ทำให้เกิดการผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ดีที่สุด และเมื่อเติมสีย้อม Acid Fuchsin, Congo Red และ Indigo Carmine ลงในขวดรูปชมพู่ที่มี *T. versicolor* อายุ 3 วัน ที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็งในสถานะที่มีการผลิตเอนไซม์แลคเคสได้ดีที่สุด พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป 6 วัน สามารถกำจัดสีย้อม Acid Fuchsin, Congo Red และ Indigo Carmine ได้ร้อยละ 85, 90 และ 96 ตามลำดับ

นอกจากนี้ Couto and Sanroman (2005b) ยังได้เพาะเลี้ยง *Trametes hirsuta* บนเนื้อมะพร้าวแก่ เพื่อผลิตเอนไซม์แลคเคสและได้เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยสลายสีของสังเคราะห์ Lissamine Green B ระหว่างเนื้อมะพร้าวแก่ที่มี *T. hirsuta* เจริญอยู่ และของเหลวที่มีเอนไซม์แลคเคสซึ่งสกัดมาจาก *T. hirsuta* ที่โตบนเนื้อมะพร้าวแก่ พบว่าสีของเหลวย่อยสลายโดย *T. hirsuta* ที่เจริญบนเนื้อมะพร้าวแก่ได้ถึงร้อยละ 96 ภายในระยะเวลา 2.5 ชั่วโมง ในขณะที่เมื่อใช้ของเหลวที่ *T. hirsuta* ผลิตขึ้นสามารถย่อยสลายสีของได้ร้อยละ 42 – 66 ภายในระยะเวลา 12 ชั่วโมง

จะเห็นว่าการย่อยสลายสีของสังเคราะห์โดยการใช้รากกลุ่มไวทรัทที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็งมีความสะดวกกว่าการใช้เอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโไลติกที่รากไวทรัทผลิตขึ้น เนื่องจากไม่มีขั้นตอนของการสกัดเอนไซม์เพื่อนำมาใช้ย่อยสลายสีของสังเคราะห์ต่อไป และการย่อยสลายด้วยวิธีการนี้อาศัยเอนไซม์กลุ่มลิกนินโไลติกที่รากไวทรัทผลิตขึ้นมาตลอดเวลาที่มีกิจกรรมการดำรงชีวิตอยู่ ทำให้เกิดประสิทธิภาพของการย่อยสลายที่สูงกว่าการใช้เอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโไลติกเพียงอย่างเดียว ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการย่อยสลายสีของสังเคราะห์ขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆ ด้วย เช่น อุณหภูมิขณะที่ดำเนินกิจกรรม หรือค่าพีเอชของสารละลายสีของ ซึ่งมีผลต่อกิจกรรมการดำรงชีวิตของเชื้อรากกลุ่มไวทรัทและประสิทธิภาพการทำงานของเอนไซม์ เนื่องจากหากมีอุณหภูมิหรือค่าพีเอชที่สูงหรือต่ำเกินไปอาจส่งผลทำให้รากกลุ่มไวทรัทไม่สามารถดำรงชีวิตอยู่ได้ และอาจส่งผลทำให้เอนไซม์กลุ่มลิกนินโไลติกเกิดการเสถียรภาพ ไม่สามารถทำการย่อยสลายสีของได้

อุปกรณ์และวิธีการ

อุปกรณ์

1. อุปกรณ์และเครื่องมือ

- 1.1 เครื่องปั่นแบบแห้ง (Blender) รุ่น Taran Tura บริษัท Nesco ประเทศสเปน
- 1.2 เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter) รุ่น FE20/EL20 บริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ ต่อกับ pH electrode รุ่น LE407 บริษัท Mettler Toledo ประเทศสวิตเซอร์แลนด์
- 1.3 เครื่องหมุนเหวี่ยงควบคุมอุณหภูมิต่ำ (Refrigerated Centrifuge) รุ่น Universal 16R บริษัท Hettich ประเทศเยอรมัน
- 1.4 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-VIS Spectrophotometer) รุ่น Helios Gamma 9423 UVG 1002 E บริษัท Thermospectronic ประเทศอังกฤษ

2. สีย้อมสังเคราะห์

Novacron Blue P-3R (Novacron Blue) หรือ Reactive Blue 49 ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทอันท์แมน ประเทศไทย จำกัด

Cibacron Navy Blue WBT crude (Navy Blue) ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัท Ciba Specialty Chemicals Industries, Ltd.

Telon Blue RR 01 (Telon Blue) หรือ Acid Blue 151 ได้รับความอนุเคราะห์จากบริษัทไคสตาร์ไทย จำกัด

3. วัสดุ

เหง้ามันสำปะหลัง จากจังหวัดบุรีรัมย์ ทำการผึ่งแดดให้แห้งเพื่อลดปริมาณความชื้น ซึ่งเป็นปัจจัยก่อให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ ก่อนทำการเก็บในถุงพลาสติกปิดสนิท ณ อุณหภูมิห้อง

4. จุลินทรีย์

Lentinus polychrous Lev. ได้รับการอนุเคราะห์จากศูนย์รวบรวมเชื้อพันธุ์เห็ด กรมวิชาการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์ โดยทำการเก็บรักษานอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA ของบริษัท Himedia ประเทศอินเดีย) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และทำการถ่ายเชื้อทุกๆ 1 เดือน

5. สารเคมี

Glucose, $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$, KH_2PO_4 , K_2HPO_4 , $\text{CH}_3\text{COONa} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$, Citric acid และ $\text{MnSO}_4 \cdot \text{H}_2\text{O}$ จากบริษัท Univar ประเทศออสเตรเลีย (Analytical grade)

Yeast extract จากบริษัท AES Laboratoire ประเทศฝรั่งเศส (Laboratory grade)

Peptone จากบริษัท Himedia ประเทศอินเดีย (Laboratory grade)

Acetic acid จากบริษัท J.T. Baker ประเทศสหรัฐอเมริกา (Analytical grade)

H_2O_2 จากบริษัท Merck ประเทศเยอรมนี (Analytical grade)

2,2-azino-bis(3-ethylthiazoline-6-sulfonate) (TLC grade) และ 3-(dimethylamino)-benzoic acid (HPLC grade) จากบริษัท Sigma ประเทศสหรัฐอเมริกา

3-methyl-2-benzothiazolinone hydrozone จากบริษัท Fluka ประเทศสวิตเซอร์แลนด์ (HPLC grade)

วิธีการ

1. การเพาะเลี้ยง *Lentinus polychrous* Lev. บนอาหาร MCM (Mushroom complete medium)

ตัดเส้นใย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนอาหาร PDA บริเวณขอบนอกสุดของจานเพาะเชื้อ ด้วย Cork borer เบอร์ 6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.2 เซนติเมตร แล้ววางชิ้นวุ้นลงบนจุดศูนย์กลางของจานเพาะเชื้อที่มีอาหาร MCM (ภาคผนวก ก) บรรจุอยู่ ทำการบ่มที่อุณหภูมิ 28 – 33 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 5 วัน ก่อนนำมาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

2. การเตรียมเห็มน้ำตาลสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev.

เตรียมเห็มน้ำตาลสำหรับใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. โดยทำการบดเห็มน้ำตาลให้มีขนาดเล็กลง ด้วยเครื่องปั่นแบบแห้ง แล้วทำการคัดขนาดด้วยตะแกรงร่อน ให้ได้เห็มน้ำตาลที่มีขนาด 10 – 15, 2 – 5 และ 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร หาค่าความชื้นเริ่มต้นของเห็มน้ำตาล ตามวิธีการของ AOAC (2000)

3. การศึกษาความสามารถในการใช้เห็มน้ำตาลเป็นวัสดุเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. รวมถึงอิทธิพลของความชื้น อุณหภูมิ และขนาดชิ้นเห็มน้ำตาล ที่มีต่อการเจริญของรา

บรรจุเห็มน้ำตาลขนาด 10 – 15, 2 – 2.5 และ 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร ลงในจานเลี้ยงเชื้อขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 9 เซนติเมตร ที่ทราบน้ำหนักแห้งแล้ว ในปริมาณ 8 กรัม น้ำหนักแห้งต่อจานเลี้ยงเชื้อ 1 คู่ จากนั้นปรับความชื้นของเห็มน้ำตาลด้วยน้ำกลั่นให้มีค่าตามที่ต้องการ นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 30 นาที แล้วจึงเพาะเลี้ยงเส้นใย *L. polychrous* Lev. บนเห็มน้ำตาล โดยตัดบริเวณปลายเส้นใย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนอาหารวุ้น MCM ด้วย Cork borer เบอร์ 6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 เซนติเมตร วางลงบนเห็มน้ำตาลบริเวณจุดศูนย์กลางของจานเลี้ยงเชื้อ นำจานเลี้ยงเชื้อไปบ่มในอุณหภูมิที่กำหนด และมีชุดควบคุมเป็นจานเลี้ยงเชื้อที่บรรจุเห็มน้ำตาลที่มีขนาดและความชื้นเริ่มต้น และอุณหภูมิที่ถูกบ่มเหมือนกับชุดทดลองแต่ไม่มีการวางชิ้นเส้นใย *L. polychrous* Lev. ลงไป ติดตามการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งของเห็มน้ำตาลที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ ตามวิธีการของ AOAC (2000) เป็นเวลา 0, 7, 14, 21 และ 28 วัน ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

ปัจจัยที่ทำการศึกษา ได้แก่ ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามัน อุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง และขนาดของเหง้ามันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. โดยมีรหัสของปัจจัย คือ X_1 , X_2 และ X_3 ตามลำดับ วางแผนการทดลองแบบ Box - Behnken Design และจัดลำดับการทดลองแบบสุ่ม (ตารางที่ 1) จากนั้นนำค่าร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันในแต่ละชุดการทดลองมาวิเคราะห์ค่าทางสถิติโดยใช้ Multiple regression analysis (SPSS 11.5) นำค่าทางสถิติที่ได้มาสร้างรูปแบบสมการลำดับที่ 2 (Second order model) แสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งที่ลดลงของเหง้ามันหลังจากที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ กับปัจจัยที่ศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย จากนั้นวิเคราะห์สถานะที่เหมาะสมต่อการเจริญด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง (Response surface methodology) ด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป (STATISTICA 5)

ตารางที่ 1 แผนการทดลองแสดงปัจจัยและระดับที่ใช้ในการศึกษาการเจริญของ *L. polychrous* Lev.
บนเห้งม้น

ชุดการ ทดลอง	ค่ารหัสของปัจจัย			ค่าของการทดลอง		
	X ₁ (ความชื้น)	X ₂ (อุณหภูมิ)	X ₃ (ขนาด)	ความชื้นเริ่มต้น (ร้อยละ)	อุณหภูมิ (องศา เซลเซียส)	ขนาด (มิลลิเมตร)
1	+1	+1	+1	70	37	10.0 - 15.0
2	-1	-1	+1	30	20	10.0 - 15.0
3	-1	-1	-1	30	20	0.85 - 1.4
4	0	0	0	50	28.5	2.0 - 2.5
5	0	0	0	50	28.5	2.0 - 2.5
6	+1	-1	-1	70	20	0.85 - 1.4
7	+1	-1	+1	70	20	10.0 - 15.0
8	0	0	0	50	28.5	2.0 - 2.5
9	-1	+1	+1	30	37	10.0 - 15.0
10	0	0	0	50	28.5	2.0 - 2.5
11	-1	+1	-1	30	37	0.85 - 1.4
12	+1	+1	-1	70	37	0.85 - 1.4
13	0	0	0	50	28.5	2.0 - 2.5

4. การศึกษากิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติก ที่ผลิตโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน

4.1 การสกัดเอนไซม์

สกัดเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกที่ผลิตโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันในสภาวะที่เหมาะสม (จากผลการทดลองในข้อ 3) ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ โดยเติมน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิลิตร บ่มในเครื่องเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง (บดเหง้ามันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ภายในขวดรูปชมพู่ด้วยแท่งแก้วคนที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วก่อนทำการสกัดเอนไซม์) จากนั้นกรองแยกน้ำสกัดออกจากเหง้ามันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ เหยียงแยกสิ่งเจือปนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,416 g เป็นระยะเวลา 15 นาที นำน้ำสกัดที่ได้ไปทำการศึกษาต่อไป

4.2 การวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติก

4.2.1 เอนไซม์แลคเคส

กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส วัดได้จากการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงที่ 490 นาโนเมตร ของ Cation radical (2,2'-azino-bis(3-ethylthiazoline-6-sulfonate), ABTS^{•+}) ที่เกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ ABTS ตามวิธีของ Johannes and Majcherczyk (2000) โดยส่วนผสมที่ใช้ทำปฏิกิริยาปริมาตรรวม 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วยสารละลายเอนไซม์สกัด 50 ไมโครลิตร สารละลาย ABTS ความเข้มข้น 0.59 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 850 ไมโครลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 1 โมลาร์ (ภาคผนวก ข) ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิที่ต้องการศึกษาเป็นเวลา 5 นาที แล้ววัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 420 นาโนเมตร และคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์จากค่า Molar absorption coefficient ของ ABTS ซึ่งเท่ากับ 36,000 ลิตรต่อโมลต่อเซนติเมตร โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถออกซิไดซ์ ABTS ให้ได้เป็น ABTS^{•+} ปริมาณ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที

4.2.2 เอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส

กิจกรรมของเอนไซม์แมงกานีสเปอร์ออกซิเดส วัดได้จากปริมาณการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงของ Aminoindamine ที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร (Castillo *et al.*, 1994) จากปฏิกิริยาออกซิเดชันของ 3-methyl-2-benzothiazolinone hydrozone (MBTH) โดยส่วนผสมที่ใช้ทำปฏิกิริยาปริมาตรรวม 1 มิลลิลิตร ประกอบด้วย สารละลายเอนไซม์สกัด 50 ไมโครลิตร สารละลาย MBTH ความเข้มข้น 0.28 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 250 ไมโครลิตร สารละลาย 3-(dimethyl amino)-benzoic acid (DMAB) ความเข้มข้น 4.95 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร สารละลาย MnSO_4 ความเข้มข้น 1.5 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร สารละลาย H_2O_2 ความเข้มข้น 0.25 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 200 ไมโครลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิที่ต้องการศึกษาเป็นเวลา 10 นาที แล้ววัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 590 นาโนเมตร และคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์จากค่า Molar absorption coefficient ของ MBTH ซึ่งเท่ากับ 53,000 ลิตรต่อโมลต่อเซนติเมตร โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถออกซิไดซ์ MBTH ให้ได้เป็น Aminoindamine dye 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที

4.2.3 เอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส

กิจกรรมของเอนไซม์ลิกนินเปอร์ออกซิเดส วัดได้จากการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงของ Veratraldehyde ที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร (Tein and Kirk, 1984) โดยสารละลายหลังทำปฏิกิริยามีปริมาตรรวม 2 มิลลิลิตร และประกอบด้วย สารละลายเอนไซม์สกัด 1,000 ไมโครลิตร สารละลาย Veratryl alcohol ความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 330 ไมโครลิตร สารละลาย H_2O_2 ความเข้มข้น 0.30 มิลลิโมลาร์ ปริมาตร 330 ไมโครลิตร และสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 100 ไมโครลิตร บ่มที่อุณหภูมิที่ต้องการศึกษาเป็นเวลา 10 นาที แล้ววัดอัตราการเพิ่มขึ้นของการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 310 นาโนเมตร คำนวณกิจกรรมของเอนไซม์จากค่า Molar absorption coefficient ของ Veratryl alcohol ซึ่งเท่ากับ 9,300 ลิตรต่อโมลต่อเซนติเมตร โดย 1 หน่วยของเอนไซม์ คือ ปริมาณเอนไซม์ที่สามารถออกซิไดซ์ Veratryl alcohol ให้ได้เป็น Veratraldehyde ปริมาณ 1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที

4.3 ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการทำงานของเอนไซม์แลคเคส

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส ภายใต้สภาวะการทำงานในช่วงอุณหภูมิ 25 – 55 องศาเซลเซียส ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ที่ค่าพีเอชเท่ากับ 4.5

4.4 การศึกษาอิทธิพลค่าพีเอชต่อการทำงานและเสถียรภาพของเอนไซม์แลคเคส

วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคส ภายใต้สภาวะการทำงานที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ที่ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 3 - 7 ในส่วนของการทดสอบเสถียรภาพของเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ทำการบ่มน้ำสกัดจาก *L. polychrous* Lev. ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้ายเท่ากับ 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3, 5 และ 7 โดยใช้สัดส่วนของน้ำเอนไซม์สกัด 1.8 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย McIlvaine ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร ควบคุมอุณหภูมิขณะทดสอบเสถียรภาพอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างภายหลังการบ่มเอนไซม์ที่เวลาต่างๆ เพื่อนำมาวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ค่าพีเอช 3

5. การศึกษาอิทธิพลของความสามารถในการเจริญของเส้นใย *L. polychrous* Lev. ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม โดยแปรผันความชื้นเริ่มต้นของเห้งมันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev.

5.1 การเตรียม *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเห้งมัน

บรรจุเห้งมันที่มีขนาดที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. ซึ่งได้จากการทดลองข้อ 3 ปริมาณ 8 กรัม น้ำหนักแห้ง ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปรับความชื้นของเห้งมันให้มีค่าตามที่ต้องการ (ร้อยละ 30, 50 และ 70) ด้วยน้ำกลั่น จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที และตัดเส้นใยของ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MCM ด้วย Cork borer เบอร์ 6 ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1.0 เซนติเมตร วางลงบริเวณศูนย์กลางของเห้งมันภายในขวดรูปชมพู่ นำไปบ่มภายใต้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. ที่ได้จากการทดลองข้อ 3 เป็นระยะเวลา 3 สัปดาห์ (ระหว่างการบ่ม 2 สัปดาห์แรก ทำการเติมน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วลงไปในช่วงรูปชมพู่ทุกๆ 2 วัน ตามน้ำหนักที่หายไปของขวดรูปชมพู่

จนกระทั่งเส้นใยเจริญคลุมผิวหน้าของเหง้ามัน เพื่อรักษาระดับความชื้นของเหง้ามัน) และติดตามการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันโดยวิเคราะห์จากค่าน้ำหนักแห้งที่เปลี่ยนแปลงไปในระยะเวลาต่างๆ

5.2 การเตรียมสารละลายสีย้อมสังเคราะห์

เตรียมสารละลาย Novacron Blue หรือ Navy Blue หรือ Telon Blue ความเข้มข้น 20 กรัมต่อลิตร กรองสารละลายสีย้อมสังเคราะห์แต่ละชนิดผ่านแผ่นกรองเซลลูโลสในเตรท (Sartorius) ขนาด 0.45 ไมโครเมตร เก็บสารละลายสีย้อมที่กรองแล้วในขวดสีชา นำมาเจือจางกับน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วให้ได้ความเข้มข้นของสารละลายสีย้อมสังเคราะห์แต่ละชนิดตามที่ต้องการ สำหรับศึกษาความสามารถในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันต่อไป

5.3 การกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ

เตรียสารละลายสีย้อม Novacron Blue หรือ Navy Blue หรือ Telon Blue ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาตร 250 มิลลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ที่บรรจุ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ เขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิระหว่างการทดลองอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างที่เวลาต่างๆ เพื่อนำมาวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อม จนกระทั่งความเข้มข้นของสีย้อมสังเคราะห์มีค่าคงที่ ส่วนชุดควบคุมการทดลอง มี 2 ชุด ได้แก่ ขวดรูปชมพู่ที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่บนเหง้ามันภายใต้สภาวะเดียวกันกับชุดทดลองเป็นเวลา 3 สัปดาห์แล้วถูกทำลายด้วยความร้อนโดยการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ผสมกับสารละลายสีย้อมแต่ละชนิด (เพื่อศึกษาปริมาณสีย้อมที่ถูกดูดซับอยู่บนเส้นใยของ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน) และขวดรูปชมพู่ที่บรรจุ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันภายใต้สภาวะเดียวกันกับชุดทดลอง ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 250 มิลลิตร (เพื่อศึกษาการปนเปื้อนของสีจากเหง้ามันลงสู่สารละลายสีย้อมในระหว่างการจัด) ทำการทดลอง 5 ซ้ำ

5.4 การวิเคราะห์ความเข้มข้นของสีย้อมที่ลดลงและที่ถูกดูดซับบนเส้นใย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน ณ เวลาต่างๆ

นำตัวอย่างสารละลายสีที่ผ่านการเหวี่ยงแยกสิ่งเจือปนด้วยเครื่องหมุนเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 4,416 g เป็นระยะเวลา 5 นาที มาวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสูงสุดของสีย้อมแต่ละชนิด ด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ โดยสีย้อม Novacron Blue, Navy Blue และ Telon Blue วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 580, 600 และ 640 นาโนเมตรตามลำดับ นอกจากนี้ยังวัดค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเพิ่มอีก 3 ค่าความยาวคลื่น ได้แก่ ที่ความยาวคลื่น 620 นาโนเมตร สำหรับโครงสร้างที่ให้ค่าการมองเห็นสีน้ำเงิน ความยาวคลื่น 525 นาโนเมตร สำหรับโครงสร้างที่ให้ค่าการมองเห็นสีแดงม่วง และความยาวคลื่น 436 นาโนเมตร สำหรับโครงสร้างที่ให้ค่าการมองเห็นสีเหลือง (ชชาติ, มปป) ซึ่งเป็นความยาวคลื่นมาตรฐานในการวิเคราะห์การปนเปื้อนของสีย้อมในน้ำ (German Standard methods for the examination of water, waste water and sludge, 1994) เพื่อวิเคราะห์การปนเปื้อนของสีจากเหง้ามันและการเปลี่ยนสีเนื่องจากการเปลี่ยนโครงสร้างโมเลกุล

นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้มาคำนวณหาปริมาณสีย้อมแต่ละชนิดที่เหลืออยู่ จากกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของสีย้อมแต่ละชนิดกับค่าการดูดกลืนแสง โดยหาค่าการดูดกลืนแสงของสีย้อมที่แต่ละความยาวคลื่นกับค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นเดียวกันของชุดควบคุมที่ใช้ในการศึกษาการปนเปื้อนของสีจากเหง้ามันก่อนนำมาเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานของสีย้อมที่ความยาวคลื่นนั้นๆ

6. การศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อม อุณหภูมิขณะกำจัดสีย้อม และค่าความเป็นกรด – ด่างของน้ำสี ที่มีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมของ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลัง

ทำการศึกษาล้างจี้ตามวิธีการทดลองในข้อ 4 โดยใช้ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันในระดับความเข้มข้นเริ่มต้นที่ส่งผลให้ประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมสูงที่สุดจากผลการทดลองในข้อ 5 ในการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของสีย้อม Novacron Blue และ Telon Blue ในน้ำกลั่น จะแปรผันความเข้มข้นของสีย้อมแต่ละชนิดอยู่ในช่วง 100 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร และเมื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิขณะกำจัดสีย้อม และค่าความเป็นกรดต่างของน้ำสี จะควบคุมความเข้มข้นของ Novacron Blue และ Telon Blue ให้มีค่าเท่ากับ 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนความเข้มข้น

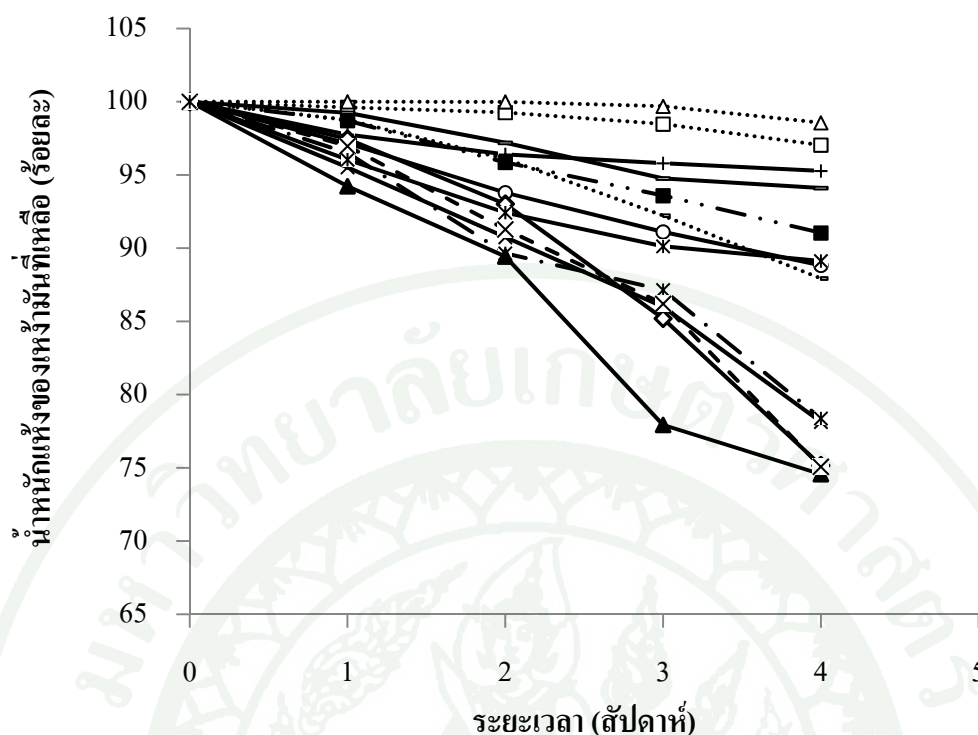
ของ Navy Blue มีค่าเท่ากับ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ทุกปัจจัยที่ศึกษา ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดสียอมอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส ในกรณีที่ไม่แปรผันปัจจัยดังกล่าว และปรับค่าอุณหภูมิเป็น 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เมื่อศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อความสามารถในการกำจัดสียอมของ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน แปรผันค่าพีเอชของสารละลายสียอม (3, 5 และ 7) ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine (ภาคผนวก ข) เมื่อศึกษาอิทธิพลของค่าความเป็นกรดต่างของน้ำสีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสียอม ในกรณีที่ไม่ได้ศึกษาปัจจัยของค่าความเป็นกรด – ด่าง ใช้สารละลายสียอมในน้ำกลั่น ซึ่งมีค่าพีเอชอยู่ที่ประมาณ 7



ผลและวิจารณ์

1. ความสามารถในการใช้เหง้ามันเป็นวัสดุเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. รวมถึงอิทธิพลของความชื้น อุณหภูมิ และขนาดชิ้นเหง้ามัน ที่มีต่อการเจริญของรา

เมื่อติดตามการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันในสภาวะต่างๆ โดยการวิเคราะห์จากน้ำหนักแห้งของเหง้ามันที่ลดลงในแต่ละสัปดาห์ พบว่าเกิดการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งเป็นไปตามภาพที่ 7 ซึ่งเห็นได้อย่างชัดเจนว่า เมื่อทำการเพาะเลี้ยงเส้นใยของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันได้ 3 สัปดาห์ การลดลงของน้ำหนักแห้งของเหง้ามันในแต่ละสภาวะมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยเฉพาะในสภาวะการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันที่ระดับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายใต้อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส บนเหง้ามันที่มีขนาด 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร ที่ให้ค่าร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งสูงที่สุด และมีการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งเร็วที่สุดใน 3 สัปดาห์แรกของการเพาะเลี้ยง เมื่อนำค่าร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ของแต่ละสภาวะการทดลอง (ตารางผนวกที่ ค2) มาวิเคราะห์หาความสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของปัจจัยทั้ง 3 ชนิด ต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันด้วยวิธีทางสถิติโดยใช้ Multiple regression analysis (SPSS 11.5) ได้ค่าคงที่ต่างๆ ดังแสดงในตารางที่ 2



ภาพที่ 7 การลดลงของน้ำนักแห้งของเหง้ามันเมื่อมี *L. polycrhouus* Lev. เจริญอยู่ในระหว่างการบ่ม 1 – 4 สัปดาห์ ในสภาวะการทดลองที่ควบคุมความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามัน (ร้อยละ) อุณหภูมิขณะบ่ม (องศาเซลเซียส) และขนาดของเหง้ามัน (มิลลิเมตร) ดังต่อไปนี้ ร้อยละ 30 : 20 องศาเซลเซียส : 10 - 15 มิลลิเมตร (---□---), ร้อยละ 30 : 20 องศาเซลเซียส : 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร (---△---), ร้อยละ 50 : 28.5 องศาเซลเซียส : 2 – 2.5 มิลลิเมตร (1) (---×---), ร้อยละ 50 : 28.5 องศาเซลเซียส : 2 – 2.5 มิลลิเมตร (2) (---◇---), ร้อยละ 70 : 20 องศาเซลเซียส : 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร (---○---), ร้อยละ 70 : 20 องศาเซลเซียส : 10 – 15 มิลลิเมตร (---+---), ร้อยละ 50 : 28.5 องศาเซลเซียส : 2 – 2.5 มิลลิเมตร (3) (---●---), ร้อยละ 30 : 37 องศาเซลเซียส : 10 - 15 มิลลิเมตร (---), ร้อยละ 50 : 28.5 องศาเซลเซียส : 2 – 2.5 มิลลิเมตร (4) (---◇---), ร้อยละ 30 : 37 องศาเซลเซียส : 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร (---■---), ร้อยละ 70 : 37 องศาเซลเซียส : 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร (---▲---), ร้อยละ 50 : 28.5 องศาเซลเซียส : 2 – 2.5 มิลลิเมตร (5) (---×---), ร้อยละ 70 : 37 องศาเซลเซียส : 10 - 15 มิลลิเมตร (---×---),

ตารางที่ 2 ค่าประมาณและการทดสอบสัมประสิทธิ์รีเกรสชันของสมการการเจริญของ
L. polychrous Lev. บนเหง้ามัน

พารามิเตอร์	ค่าประมาณ	p-value
ค่าคงที่ (Constant)	-43.031	0.036
ความชื้นเริ่มต้น (X_1)	1.749	0.033
ความชื้นเริ่มต้น x อุณหภูมิ (X_1X_2)	0.007	0.280
ความชื้นเริ่มต้น x ขนาด (X_1X_3)	-0.019	0.073
อุณหภูมิ x ขนาด (X_2X_3)	-0.026	0.243
ความชื้นเริ่มต้น x ความชื้นเริ่มต้น (X_1X_1)	-0.016	0.029
อุณหภูมิ x อุณหภูมิ (X_2X_2)	0.005	0.452
ขนาด x ขนาด (X_3X_3)	0.095	0.127

หมายเหตุ ค่าตอบสนองในการวิเคราะห์การเจริญของ *L. polychrous* Lev. คือ ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งของเหง้ามัน และ r -squared (r^2) = 0.921

จากตารางที่ 2 จะได้ความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันกับปัจจัยที่ศึกษาที่อายุการเจริญของ *L. polychrous* Lev. เท่ากับ 3 สัปดาห์ โดยสามารถนำมาสร้างสมการถดถอยได้ดังนี้

$$Y = 1.749X_1 + 0.007X_1X_2 - 0.019X_1X_3 - 0.026X_2X_3 - 0.016X_1^2 + 0.005X_2^2 + 0.095X_3^2 - 43.031 \quad (2)$$

เมื่อ Y = ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งของเหง้ามัน

X_1 = ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามัน (ร้อยละ)

X_2 = อุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง (องศาเซลเซียส)

X_3 = ขนาดของเหง้ามัน (มิลลิเมตร)

เมื่อวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (ANOVA) ของสมการแสดงร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) ของสมการแสดงร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเห้งหมันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่

Source of variation	df	Sum of squares	Mean square	F - ratio	p - value
Model	7	408.090	58.299	8.367	0.016
Residue	5	34.840	6.968		
Total	12	442.930			

หมายเหตุ r -squared (r^2) = 0.921

เมื่อพิจารณาจากค่า r^2 ของปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย ที่มีผลต่อร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเห้งหมันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ ซึ่งมีค่าเท่ากับ 0.921 แสดงให้เห็นว่า มีความเข้ากันได้ระหว่างค่าการทดลองจริงกับแบบจำลองสมการแสดงความสัมพันธ์ระหว่างร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเห้งหมันกับปัจจัยที่ศึกษาทั้ง 3 ปัจจัย โดยแบบจำลองสมการสามารถนำมาอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างตัวแปรต่างๆ ได้ถึงร้อยละ 92.1 และจากตารางที่ 3 คำนัยสำคัญของการทดสอบ (p - value) มีค่าเท่ากับ 0.016 ($p \leq 0.05$) ซึ่งให้เห็นว่าร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเห้งหมันขึ้นอยู่กับปัจจัยทั้ง 3 ที่ศึกษาที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 เมื่อพิจารณาจากตารางที่ 2 และสมการ (2) พบว่า ความชื้นเริ่มต้นของเห้งหมัน มีอิทธิพลต่อการลดลงของน้ำหนักแห้งของเห้งหมันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในขณะที่อุณหภูมิและขนาดของเห้งหมันไม่มีผลกระทบต่อค่าการลดลงของน้ำหนักแห้งเห้งหมัน ทั้งในลักษณะอิทธิพลร่วม และอิทธิพลเฉพาะ ปัจจัยอื่นๆ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) หรือกล่าวได้ว่า การเจริญของ *L. polychrous* Lev. ได้รับอิทธิพลจากความชื้นเริ่มต้นของเห้งหมันมากที่สุด สอดคล้องกับ Rashid *et al.* (2011) ที่ศึกษาถึงอิทธิพลของอุณหภูมิ ระดับความชื้น และปริมาณกล้าเชื้อ ต่อการผลิตเอนไซม์แมนนาเนสโดย *Aspergillus terreus* SUK-1 ที่ถูกเลี้ยงบนเมล็ดปาล์ม โดยใช้การออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) และพบว่าระดับความชื้นเริ่มต้นมีอิทธิพลต่อการผลิตเอนไซม์แมนนาเนสของ *A. terreus* SUK-1 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) นอกจากนี้ Latifian *et al.* (2007) ยังพบว่าระดับความชื้นของรำข้าวมีอิทธิพลต่อการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสของ *Trichoderma reesei* QM9414 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) หลังจากใช้การออกแบบการทดลองทางสถิติในการ

วิเคราะห์ผลการทดลอง โดยปัจจัยอื่นๆ ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ค่า pH เริ่มต้นของรำข้าว และ อุณหภูมิขณะทำการเพาะเลี้ยง ทั้งนี้ ความสามารถในการผลิตเอนไซม์ทั้งสองชนิดดังที่กล่าวมา มีความสัมพันธ์โดยตรงกับการเจริญของ *A. terreus* SUK-1 และ *T. reesei* QM9413 กล่าวคือ หากราทั้งสองชนิดมีการเจริญที่ดี ปริมาณเซลล์ของราจึงเพิ่มขึ้น ส่งผลให้มีการผลิตเอนไซม์แมนนาเนส และเซลลูเลสสูงขึ้น

จากการศึกษานี้อธิบายได้ว่า น้ำเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อกิจกรรมการดำรงชีวิตของราที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็ง การดำเนินกิจกรรมต่างๆ ของจุลินทรีย์จะมีความแตกต่างกันตามระดับความชื้นที่เหมาะสมด้วย หากค่าความชื้นอยู่ในระดับที่ต่ำเกินไป สารอาหารที่เป็นองค์ประกอบอยู่ในวัสดุอาหารแข็งจะไม่สามารถละลายน้ำออกมาได้ จุลินทรีย์จะเจริญเติบโตได้ไม่ดี แต่หากระดับความชื้นสูงเกินไป จะมีปริมาณน้ำอิสระแทรกอยู่ในช่องว่างระหว่างอนุภาควัสดุอาหารแข็งสูง ทำให้ช่องว่างระหว่างวัสดุอาหารแข็งมีปริมาณน้อยลง จึงก่อให้เกิดปัญหาในการถ่ายเทอากาศซึ่งเป็นสิ่งจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของรา และเพิ่มโอกาสให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรียด้วย (Guerra *et al.*, 2003)

เพื่อศึกษาสถานะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันโดยพิจารณาจากร้อยละของน้ำหนักแห้งเหง้ามันที่ลดลงเมื่อมี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ จึงนำสมการ (2) มาวิเคราะห์ ด้วยโปรแกรม STATISTICA (Release 5.0, Stasoft, USA) แสดงผลความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัย 2 ปัจจัยด้วยพื้นที่ผิวตอบสนองและ Contour plots โดยกำหนดให้ค่าของอีกปัจจัยหนึ่งอยู่ที่ระดับ 0 หรือค่ากึ่งกลาง (ตารางที่ 1) ทั้งนี้การแสดงผลด้วยรูปแบบการตอบสนองนี้ เป็นการนำหาค่าของปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัยที่ทำให้ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันมีค่าสูงที่สุด ซึ่งเป็นสถานะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามัน ทั้งนี้ เนื่องจากอุณหภูมิและขนาดของเหง้ามันมิได้แสดงอิทธิพลต่อการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จึงสร้างเพียงกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันกับอุณหภูมิ และความชื้นเริ่มต้นกับขนาดของเหง้ามันที่มีต่อการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันเท่านั้น

เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันกับอุณหภูมิขณะทำการเพาะเลี้ยง โดยกำหนดให้ขนาดของเหง้ามันมีค่าเท่ากับ 2.0 – 2.5 มิลลิเมตร (แทนค่า X_3 ในสมการ (2) ด้วย 2.25) ได้รูปแบบสมการดังต่อไปนี้

$$Z = 1.706X - 0.059Y + 0.007XY - 0.016X^2 + 0.005Y^2 - 42.550 \quad (3)$$

เมื่อ Z = ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งของเหง้ามัน

X = ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามัน (ร้อยละ)

Y = อุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง (องศาเซลเซียส)

นำสมการ (3) มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งที่ลดลงของเหง้ามันกับความชื้นเริ่มต้นและอุณหภูมิ ดังแสดงในภาพที่ 8 และ 9 พบว่า ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันมีค่าสูงขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการบ่มและความชื้นเริ่มต้นมีค่าเพิ่มขึ้น และมีค่าสูงที่สุด (ร้อยละ 22.46) ในสถานะที่มีความชื้นเริ่มต้นประมาณร้อยละ 51 – 70 และอุณหภูมิที่บ่มอยู่ในช่วง 34 – 37 องศาเซลเซียส

และเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันกับขนาดของเหง้ามันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. โดยกำหนดให้อุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยงมีค่าเท่ากับ 28.5 องศาเซลเซียส (แทนค่า X_2 ในสมการ (2) ด้วย 28.5) ได้รูปแบบสมการดังต่อไปนี้

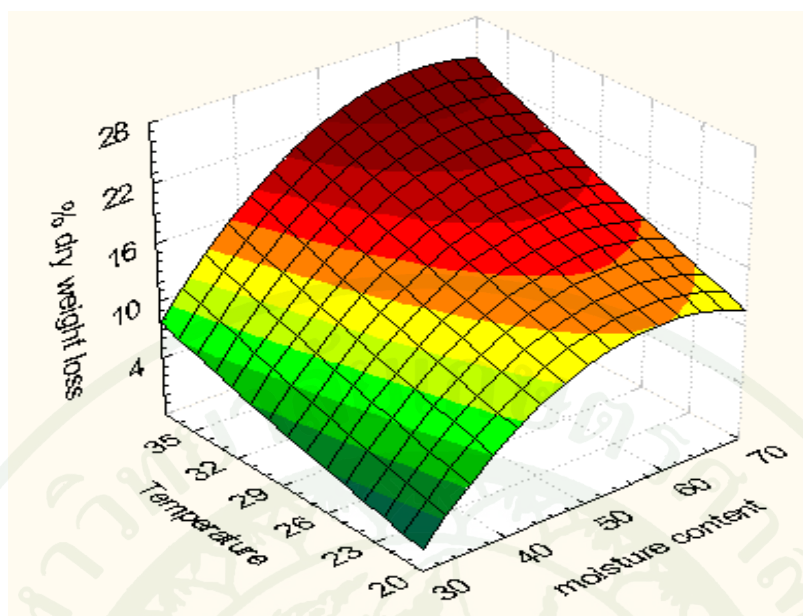
$$Z = 1.9485X - 0.019XY - 0.741Y - 0.016X^2 + 0.095Y^2 - 38.970 \quad (4)$$

เมื่อ Z = ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งของเหง้ามัน

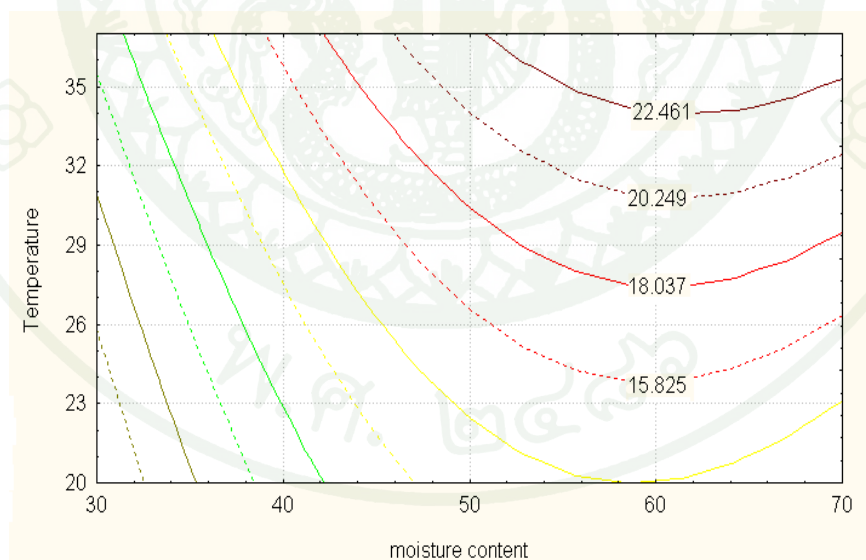
X = ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามัน (ร้อยละ)

Y = ขนาดของเหง้ามัน (มิลลิเมตร)

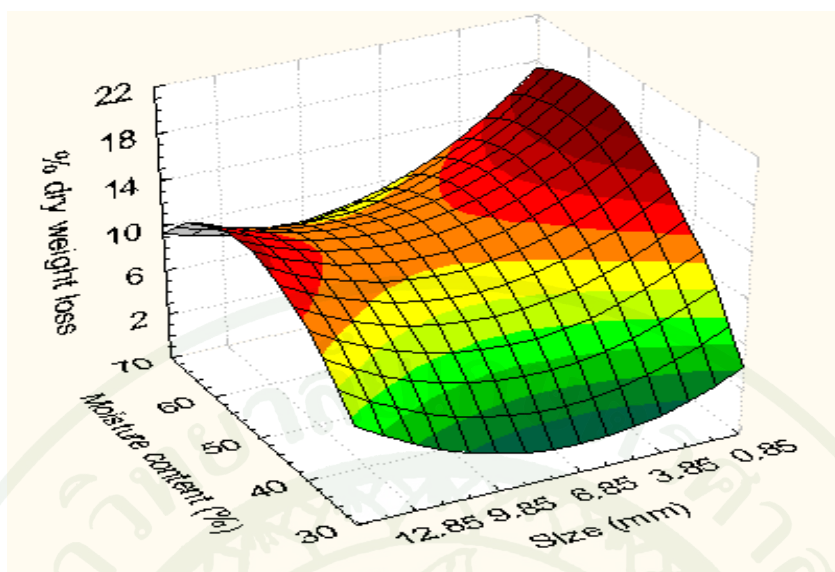
นำสมการ (4) มาสร้างกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างน้ำหนักแห้งของเหง้ามันที่ลดลงกับความชื้นเริ่มต้นและขนาดของเหง้ามัน (ภาพที่ 10 และ 11) ซึ่งพบว่าร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันมีค่าสูงที่สุด (ร้อยละ 17.14) เมื่อความชื้นเริ่มต้นมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 50 – 70 และขนาดของเหง้ามันเท่ากับ 0.85 – 1.88 มิลลิเมตร



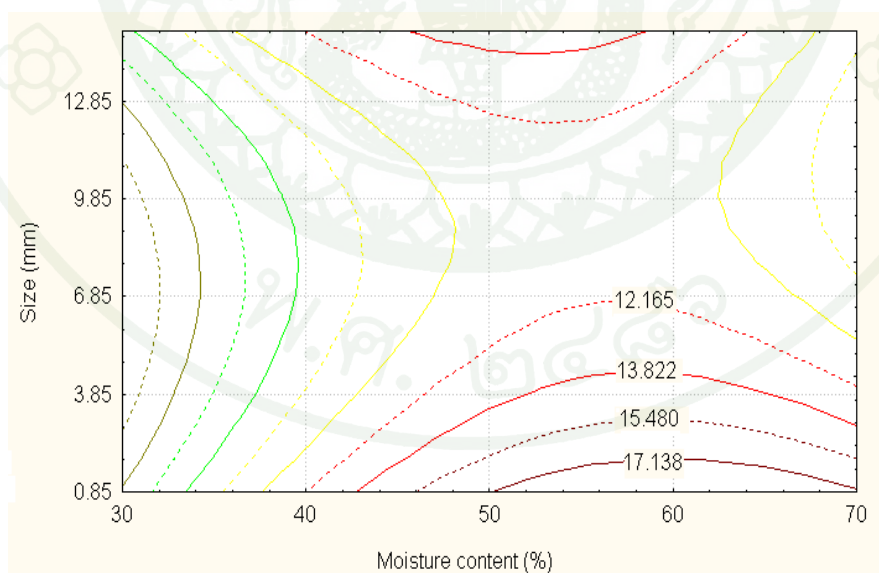
ภาพที่ 8 การวิเคราะห์หาพื้นผิวตอบสนองของร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเห้งน้ำมัน โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเริ่มต้นของเห้งน้ำมันและอุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง (กำหนดค่าขนาดของเห้งน้ำมันเท่ากับ 2.25 มิลลิเมตร)



ภาพที่ 9 Contour Plots ของร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเห้งน้ำมัน โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเริ่มต้นของเห้งน้ำมันและอุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยง (กำหนดค่าขนาดของเห้งน้ำมันเท่ากับ 2.25 มิลลิเมตร)



ภาพที่ 10 การวิเคราะห์หาพื้นที่ผิวตอบสนองของร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งของเหง้ามัน โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันและขนาดของเหง้ามัน (กำหนดค่าอุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยงเท่ากับ 28.5 องศาเซลเซียส)



ภาพที่ 11 Contour Plots ของร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งของเหง้ามัน โดยพิจารณาจากความสัมพันธ์ระหว่างความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันและขนาดของเหง้ามัน (กำหนดค่าอุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยงเท่ากับ 28.5 องศาเซลเซียส)

จากการวิเคราะห์ความสัมพันธ์ระหว่างปัจจัยที่ศึกษาด้วยพื้นที่ผิวตอบสนอง ทำให้สามารถทำนายสภาวะที่เหมาะสมต่อการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันหรือสภาวะที่ทำให้ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่มีค่าสูงที่สุดได้ คือภายใต้สภาวะความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันอยู่ในช่วงร้อยละ 50 – 70 อุณหภูมิขณะเพาะเลี้ยงเท่ากับ 34 – 37 องศาเซลเซียส และขนาดของเหง้ามันอยู่ในช่วง 0.85 – 1.88 มิลลิเมตร

จากปัจจัยที่ศึกษาเหล่านี้ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับกรเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันในระดับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 และขนาดของเหง้ามันอยู่ในช่วง 0.85 – 1.40 มิลลิเมตร ภายใต้อุณหภูมิขณะทำการบ่มเท่ากับ 37 องศาเซลเซียส ทำให้ร้อยละการลดลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามันที่มี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่มีค่าเท่ากับร้อยละ 22.06 ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการคำนวณ (ร้อยละ 22.95 – 24.09) ดังนั้น จึงได้นำสภาวะดังกล่าวมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเส้นใย *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามัน เพื่อให้เกิดการใช้ประโยชน์ในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ด้วยเส้นใย *L. polychrous* Lev. ต่อไป

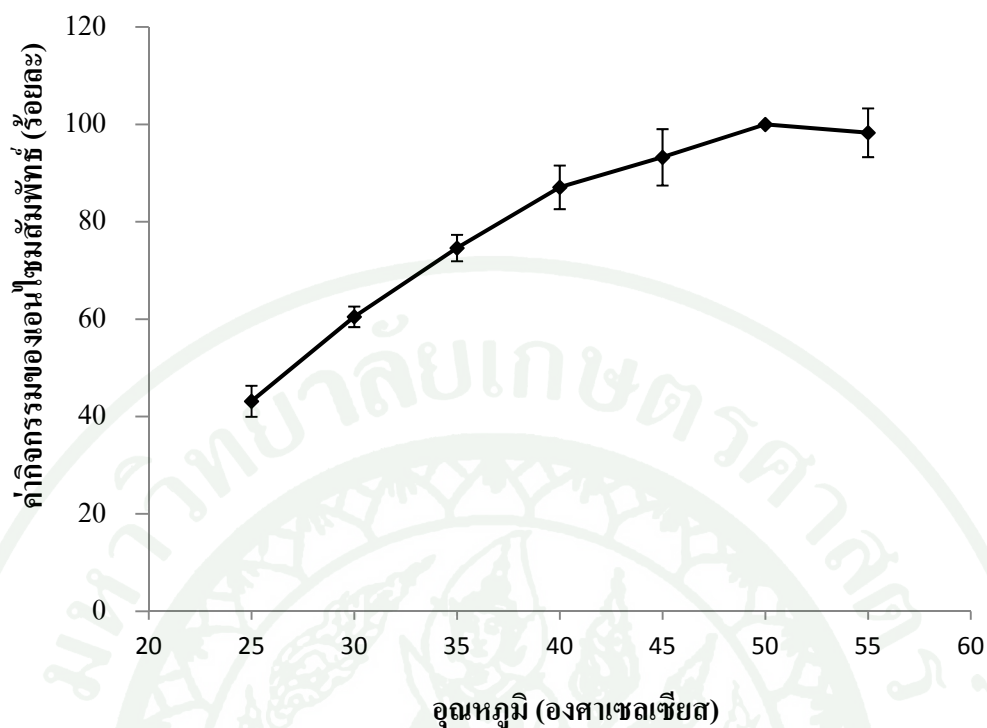
2. กิจกรรมของเอนไซม์ในกลุ่มลิกนินโอไลติกที่ผลิตโดย *L. polychrous* Lev. เมื่อใช้เหง้ามันเป็นวัสดุอาหารแข็งในการเพาะเลี้ยง

เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันแล้ว จึงควรมีการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติกที่ *L. polychrous* Lev. ผลิตขึ้นระหว่างการเจริญบนเหง้ามัน และคุณสมบัติของเอนไซม์ชนิดนั้น เพื่อประโยชน์ในการนำไปประยุกต์ใช้ในการกำจัดสีย้อมต่อไป

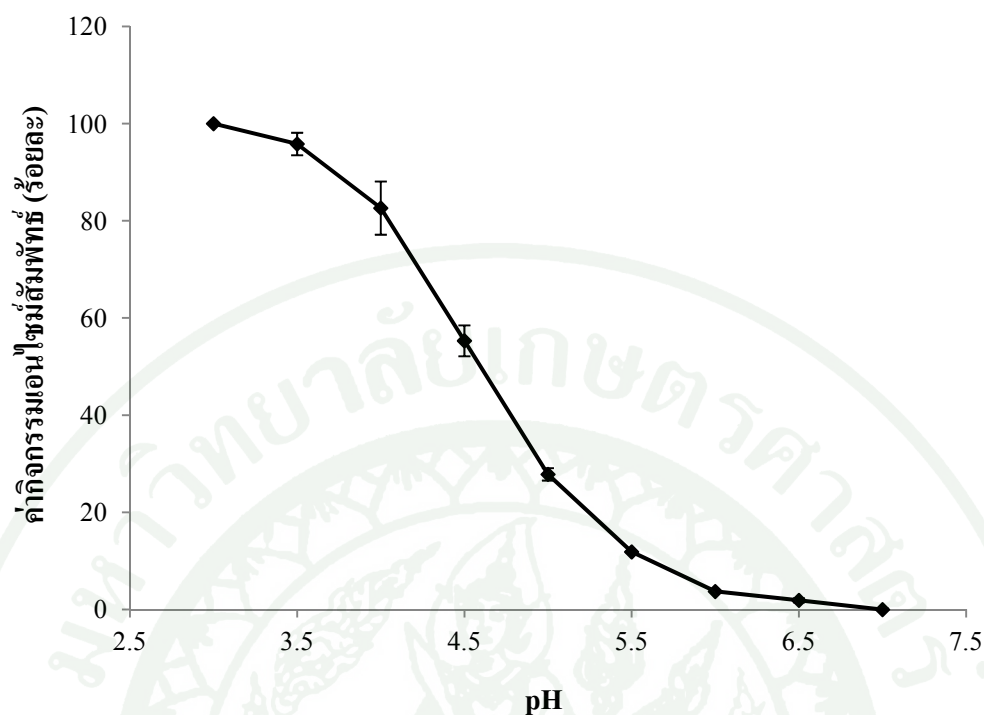
จากการวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มลิกนินโอไลติก พบเพียงกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสเท่านั้น ซึ่งมีค่ากิจกรรมแปรผันตรงกับค่าอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในช่วง 25 – 55 องศาเซลเซียส โดยมีค่ากิจกรรมสูงสุดที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (ภาพที่ 12) ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Phetsom *et al.* (2009) นอกจากนี้ Budda *et al.* (2012) พบว่าเอนไซม์แลคเคสจาก *L. polychrous* Lev. มีเสถียรภาพดีที่สุดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งยังคงรักษาค่ากิจกรรมได้ถึงร้อยละ 80 หลังการบ่มที่อุณหภูมินี้นาน 24 ชั่วโมง ในขณะที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ทำให้กิจกรรมของแลคเคสลดลงเหลือร้อยละ 70 ณ ชั่วโมงที่ 5 ของการทดลอง และที่อุณหภูมิ 50 – 55 องศาเซลเซียส เอนไซม์สูญเสียกิจกรรมอย่างสมบูรณ์เมื่อบ่มได้เพียง 2 – 3 ชั่วโมง

เมื่อแปรผันค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ที่ใช้ในการวิเคราะห์ค่ากิจกรรมของ เอนไซม์แลคเคสจาก *L. polychrous* Lev. ในช่วงพีเอช 3-7 พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์มีค่า แปรผกผันกับค่าพีเอชที่เพิ่มขึ้น โดยมีกิจกรรมสูงสุดที่ค่าพีเอช 3 ในขณะที่ไม่พบค่ากิจกรรมเลขที่ ค่าพีเอช 7 (ภาพที่ 13) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Khammuang and Sarnthima (2007)

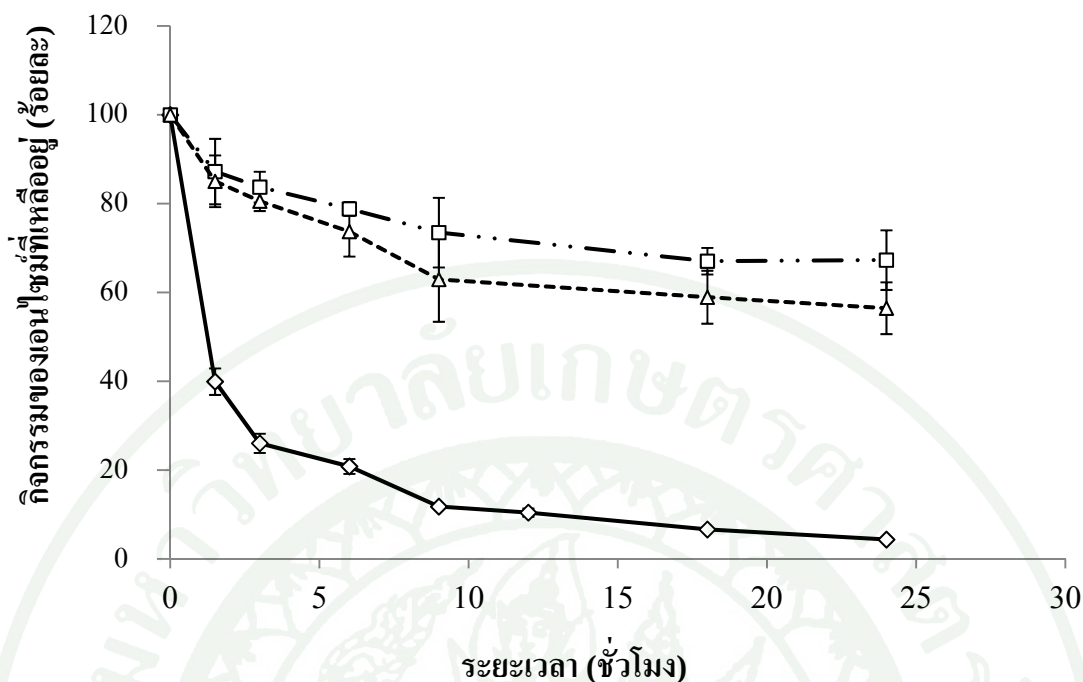
นอกจากนี้ การศึกษาเสถียรภาพของเอนไซม์ที่ pH 3, 5 และ 7 พบว่าเอนไซม์แลคเคสมี เสถียรภาพต่ำที่สุดที่พีเอช 3 ซึ่งค่ากิจกรรมของเอนไซม์ลดลงมากกว่าร้อยละ 60 ภายในเวลาเพียง 1.5 ชั่วโมง (ภาพที่ 14) ส่วนค่าพีเอช 5 และ 7 ทำให้เอนไซม์มีเสถียรภาพไม่แตกต่างกันอย่างมี นัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยยังคงค่ากิจกรรมของเอนไซม์ได้ถึงร้อยละ 67 และ 57 ตามลำดับ ในชั่วโมงที่ 24 ของการบ่ม ในทำนองเดียวกับรายงานของ Budda *et al.* (2007) ที่พบว่ากิจกรรมของ เอนไซม์แลคเคสจาก *L. polychrous* Lev. มีเสถียรภาพต่ำที่สุดที่ค่าพีเอช 3 ส่วนพีเอช 6-8 ช่วยรักษา กิจกรรมของเอนไซม์ได้สูงถึงร้อยละ 80 ณ ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง



ภาพที่ 12 กิจกรรมสัมพัทธ์ของเอนไซม์แลคเคสในน้ำสกัดจาก *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันขนาด 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร อุณหภูมิขณะบ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ วิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 โมลาร์ ค่าพีเอช 4.5 ที่อุณหภูมิ 25 – 55 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 13 กิจกรรมสัมพัทธ์ของเอนไซม์แลคเคส ในน้ำสกัดปริมาตร 250 มิลลิลิตรจาก *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันขนาด 0.85 – 1.4 มิลลิเมตร ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร อุณหภูมิขณะบ่ม 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 สัปดาห์ วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 – 7 อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยา 37 องศาเซลเซียส



ภาพที่ 14 เติบียงภาพของเอนไซม์แลคเคสที่พบในน้ำสกัดจาก *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหงำมัน ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายหลังการบ่มในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (—□—) และ 7 (---△---) ความคุมอุณหภูมิอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้นสุดท้าย 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 อุณหภูมิขณะทำปฏิกิริยา 37 องศาเซลเซียส

การศึกษาครั้งนี้วิเคราะห์ค่ากิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสที่ผลิตโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหงำมัน ได้ปริมาณสูงสุดเท่ากับ 3.45 หน่วยต่อกรัมของเหงำมัน หรือ 70.3 หน่วยต่อลิตร ซึ่งมีค่าต่ำกว่าในรายงานการศึกษาของ Ratanapongleka and Phetsom (2014) ที่วิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสได้ 145 หน่วยต่อลิตร ภายหลังการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. บนเปลือกข้าวโพดผสมฟางข้าว รำข้าว และเหินยวนำการผลิตเอนไซม์ด้วยสารละลายคอปเปอร์ซัลเฟตความเข้มข้น 2 มิลลิโมลาร์ เป็นเวลา 12 วัน จากกรณีดังกล่าว จึงมีความเป็นไปได้ที่กิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสจาก *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหงำมันจะมีค่าสูงขึ้นหากได้รับการกระตุ้นด้วยสารเคมีที่เหมาะสม อย่างไรก็ตาม ชนิดและองค์ประกอบของวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรที่ใช้เพาะเลี้ยงราเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อการผลิตเอนไซม์แลคเคส ดังการศึกษาของ Sarnthima *et al.* (2009) ที่พบว่า *L. polychrous* Lev. เจริญบนรำข้าวเป็นเวลา 21 วัน สามารถผลิตเอนไซม์แลคเคสได้สูงถึง 1,449

ยูนิตต่อลิตร หรือ 4.4 ยูนิตต่อกรัมรำข้าว ในขณะที่รำข้าวผสมฟางข้าว ทำให้ราชนิดนี้ผลิตเอนไซม์ได้ 1,425 ยูนิตต่อลิตร หรือ 10 ยูนิตต่อกรัมของวัสดุ ภายในเวลา 17 วัน

2. การศึกษาอิทธิพลของความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันสำปะหลังที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อม

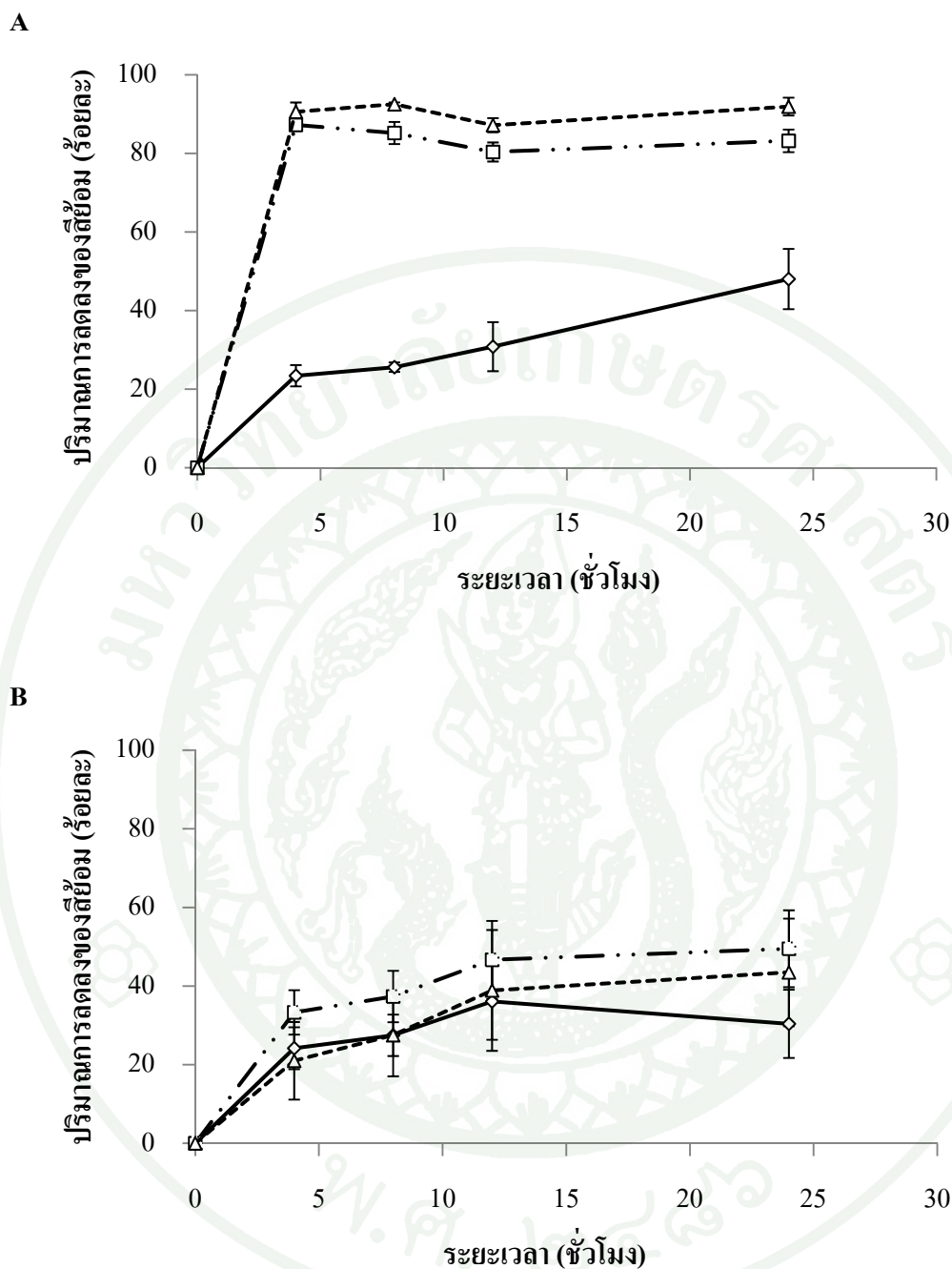
สภาวะที่ทำให้เกิดการเจริญของเส้นใยที่ดีที่สุดซึ่งได้จากการศึกษาในข้อ 1 หน้า 44 มิได้บ่งบอกถึงความสามารถในการผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลติกของ *L. polychrous* Lev. ดังนั้นจึงสมควรศึกษาความสามารถของ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันในสภาวะที่เหมาะสมนี้ ต่อการกำจัดสีย้อม ทั้งนี้จากการศึกษาการเจริญของ *L. polychrous* Lev. ในข้อ 1 พบว่าความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญมากที่สุด (ข้อ 1 หน้า 39) ผู้วิจัยจึงเลือกศึกษาอิทธิพลของความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมของ *L. polychrous* Lev. ต่อไป โดยสีย้อมที่ใช้ในการศึกษานี้เป็นสีย้อมสังเคราะห์ 3 ชนิดที่มีเจดสีเดียวกันคือสีน้ำเงิน แต่มีความแตกต่างกันที่ประเภทและโครงสร้างของสีย้อม ส่วนความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายสีย้อมแต่ละชนิดที่ใช้ในการทดลองคือ 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.1 การกำจัดสีย้อม Novacron Blue

กลไกการกำจัดสีย้อมโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันประกอบด้วย 2 กลไกหลักคือการทำลายด้วยเอนไซม์และการดูดซับสีย้อมโดยเส้นใย *L. polychrous* Lev. และเหง้ามัน ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ของการเพาะเลี้ยง สามารถกำจัด Novacron Blue ได้สูงที่สุด รองลงมาคือที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 ตามลำดับ (ภาพที่ 15A) ปริมาณสีย้อมที่ถูกกำจัดด้วยกลไกการดูดซับบนเส้นใย *L. polychrous* Lev. และเหง้ามันเพียงกลไกเดียว แสดงให้เห็นโดยการทำการยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ด้วยความร้อน (105 องศาเซลเซียส 18 ชั่วโมง) ก่อนเติมสารละลายสีย้อมลงไปเพื่อทดสอบการกำจัดสี ซึ่งพบว่าในทุกระดับความชื้นมีค่าการลดลงของสีไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 15B) ซึ่งให้เห็นว่าความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันไม่มีอิทธิพลต่อการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ด้วยกลไกการดูดซับ

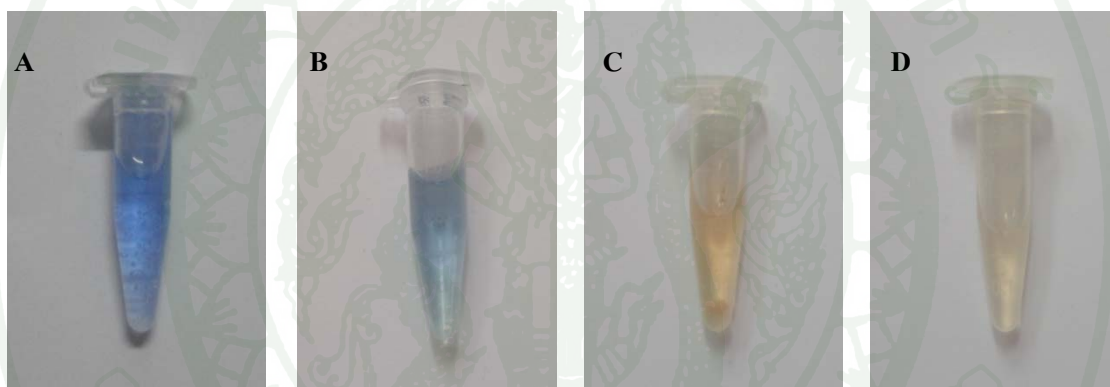
การเปรียบเทียบอิทธิพลการกำจัดสีระหว่างกลไกการกำจัดทั้ง 2 กลไกดังกล่าวข้างต้นสามารถทำได้โดยการเปรียบเทียบปริมาณการลดลงของสีย้อมในภาพที่ 15A และภาพที่ 15B ซึ่งเห็นได้ชัดเจนว่าการกำจัดสีโดย *L. polychrous* Lev. ที่เพาะเลี้ยงบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70

และ 50 เป็นการทำงานของทั้งสองกลไก โดย Novacron Blue มากกว่าครึ่งหนึ่งถูกกำจัดโดยการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ภายใน 4 ชั่วโมงแรกของการกำจัด ในขณะที่การกำจัดสีด้วยราที่เพาะเลี้ยงที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 มีการดูดซับเพียงกระบวนการเดียวที่ทำให้สีเสื่อมลงภายใน 12 ชั่วโมงแรกของการกำจัด และสังเกตพบว่า ณ ชั่วโมงที่ 24 ของการทดลอง ปริมาณสีที่ย้อมที่ถูกดูดซับโดยสถานะความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (ภาพที่ 15B) มีค่าน้อยกว่าปริมาณสีที่ย้อมที่ถูกกำจัดโดย 2 กลไกร่วมกัน (ภาพที่ 15A) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) จึงอาจกล่าวได้ว่าที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 มีการเจริญของ *L. polychrous* Lev. เพิ่มขึ้นระหว่างชั่วโมงที่ 12 และ 24 ของการทดลอง ทำให้เริ่มมีการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ด้วยการทำงานของเอนไซม์ ส่งผลให้สามารถกำจัด Novacron Blue ได้เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 15A)



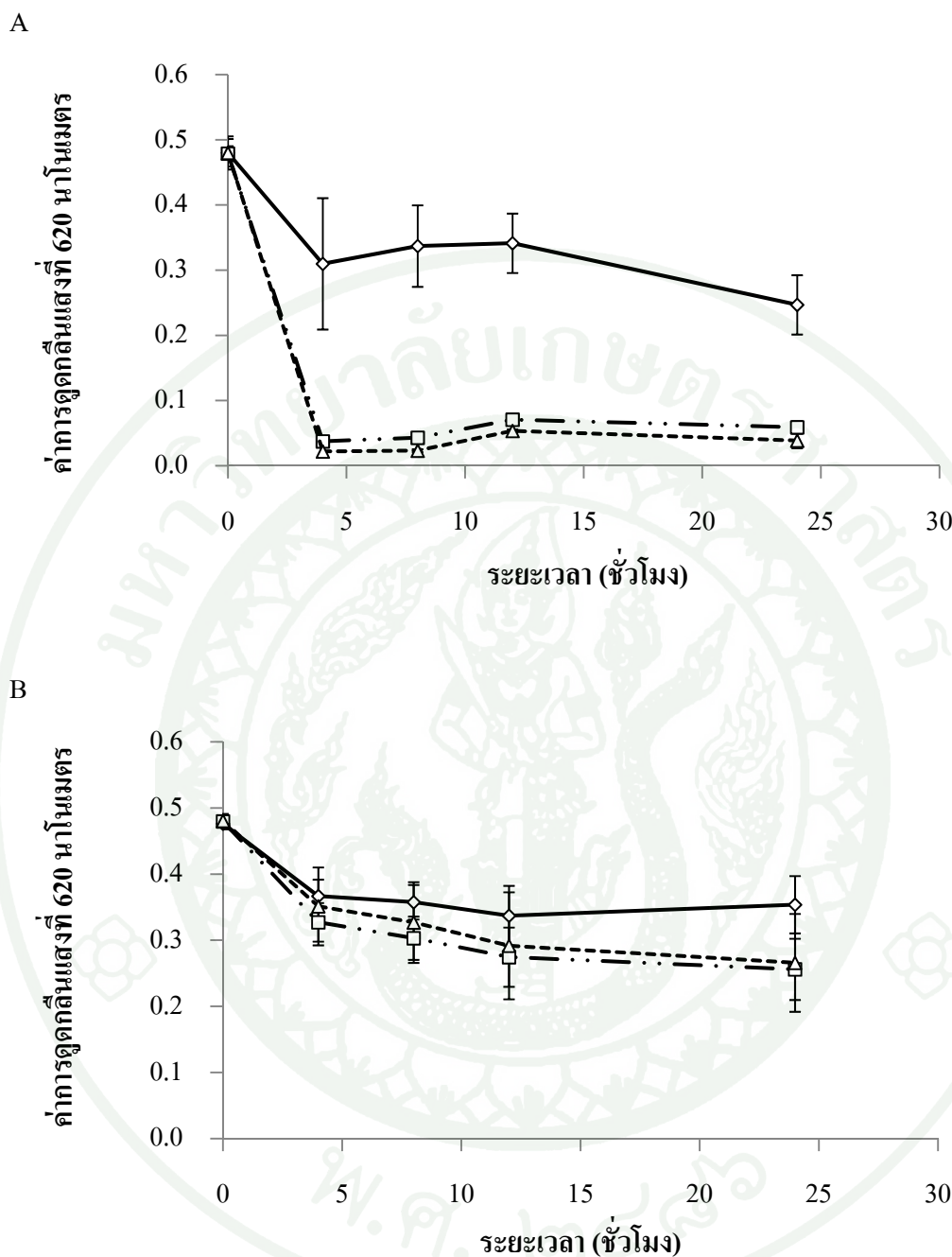
ภาพที่ 15 ปริมาณการลดลงของสารละลายสี Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 580 นาโนเมตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—◇—) 50 (—□—) และ 70 (---△---) ; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 ชั่วโมง

ภายหลังการทดลองผ่านไปได้ 4 ชั่วโมง สังเกตพบการเปลี่ยนแปลงเฉดสีของสารละลาย Novacron Blue ที่ถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 16 อาจมีสาเหตุจากหนึ่งในกลไกการกำจัดสีในการทดลองครั้งนี้เป็นการย่อยสลายด้วยเอนไซม์ ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างโมเลกุลของสีย้อม ซึ่งส่งผลให้เกิดสีอื่นเพิ่มขึ้น มิได้เป็นการทำให้สีน้ำเงินซึ่งเป็นสีเริ่มต้นในการทดลองนี้จางหายไปเป็นไม่มีสีเพียงกรณีเดียว ผู้วิจัยจึงได้ทำการวิเคราะห์ปริมาณสีที่ความยาวคลื่นของการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (620 นาโนเมตร) สีแดง (525 นาโนเมตร) และสีเหลือง (436 นาโนเมตร) เพิ่มเติมจากการวิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ ของสี Novacron Blue (580 นาโนเมตร) เพื่อตรวจสอบการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายในระหว่างการจัด



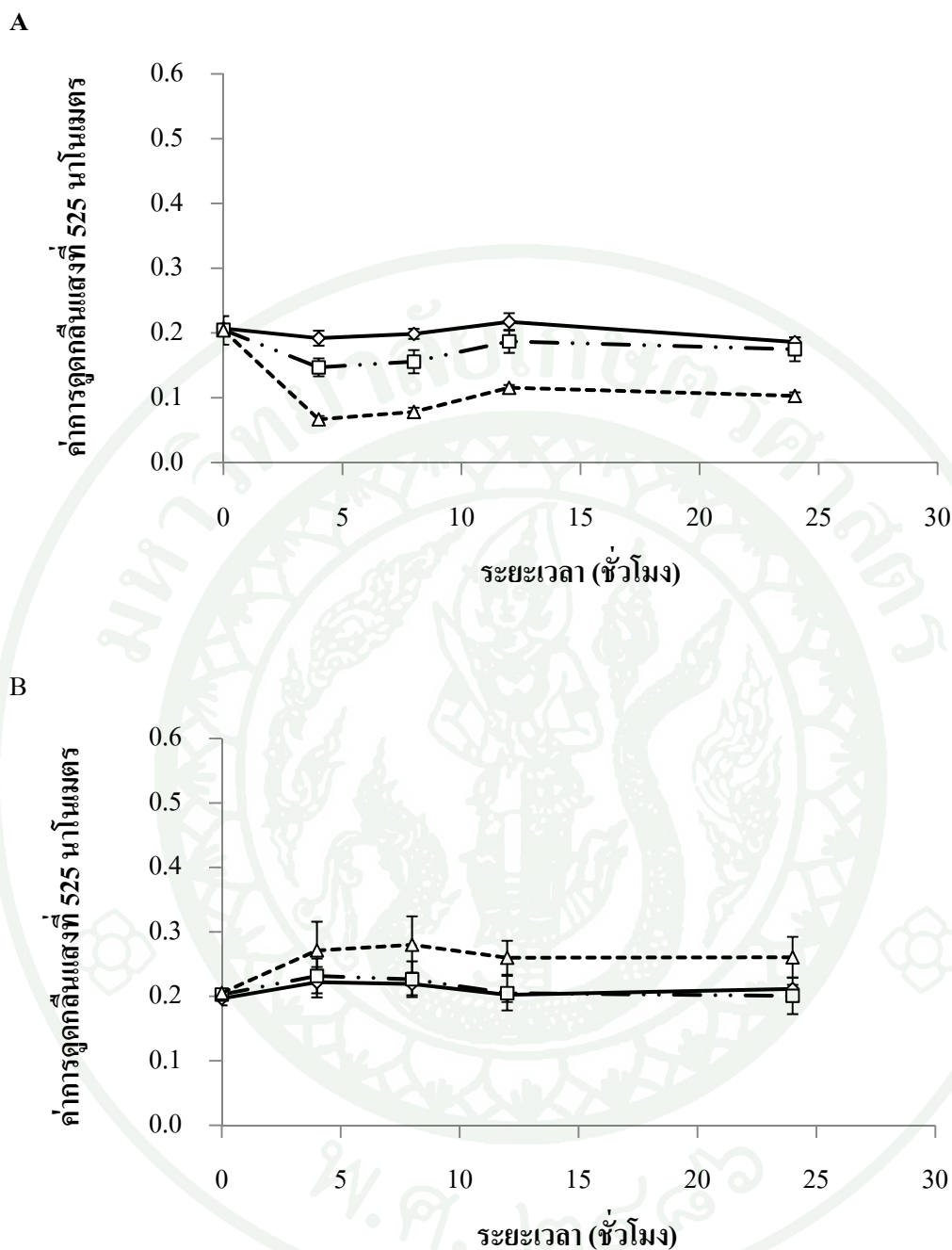
ภาพที่ 16 สีของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนทำการทดลอง (A) และภายหลังการกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นที่ร้อยละ 30 (B) 50 (C) และ 70 (D) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ณ ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลอง

L. polychrous Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 และ 50 ทำให้สีน้ำเงินของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ลดลงมาก คือมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตรต่ำกว่า 0.05 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลอง สอดคล้องกับการสังเกตด้วยสายตาที่ไม่พบสีน้ำเงินในสารละลาย ส่วน *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 นั้นทำให้สีน้ำเงินลดลงน้อยที่สุด (ภาพที่ 17A) และมีค่าใกล้เคียงกับการดูดซับโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นทั้ง 3 ค่า (ภาพที่ 17B) ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยสายตาก็ยังพบสีน้ำเงินของ Novacron Blue



ภาพที่ 17 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—◆—), 50 (---□---) และ 70 (---△---); (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

ค่าการดูดกลืนแสงสีแดงของสารละลาย Novacron Blue หลังการบำบัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 มีการลดลงมากกว่าที่ความชื้นเริ่มต้นอื่นๆ (ภาพที่ 18A) ซึ่งเมื่อสังเกตด้วยสายตาพบว่าสารละลายไม่มีสีน้ำเงินแต่เปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้มจางๆ ภายหลังจากการบ่มผ่านไปได้เพียง 4 ชั่วโมง ในขณะที่สารละลาย Novacron Blue ที่ถูกกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 มีสีส้มเข้มกว่าการบำบัดที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลอง ซึ่งสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (525 นาโนเมตร) ที่สูงกว่าชุดทดลองที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ส่วน Novacron Blue ที่ผ่านการบำบัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงของค่าการดูดกลืนแสงสีแดง และพบว่าสีของสารละลายยังคงเป็นสีน้ำเงินตลอดการทดลอง แม้ความเข้มของสีน้ำเงินจะลดลงบ้าง ในกรณีของการกำจัดด้วยการดูดซับบนเส้นใยและเหง้ามันในชุดที่เอนไซม์ผ่านการทำลายด้วยความร้อน (ภาพที่ 18B) ค่าการดูดกลืนแสงสีแดงมีการเปลี่ยนแปลงไม่มากนัก ยกเว้นที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ที่มีปริมาณสีแดงเพิ่มมากขึ้น อาจเนื่องมาจากการปลดปล่อยสารสีน้ำตาลจากปฏิกิริยา Browning reaction ภายหลังจากการอบภายใต้อุณหภูมิสูง (105 องศาเซลเซียส) เป็นเวลานาน (18 ชั่วโมง)

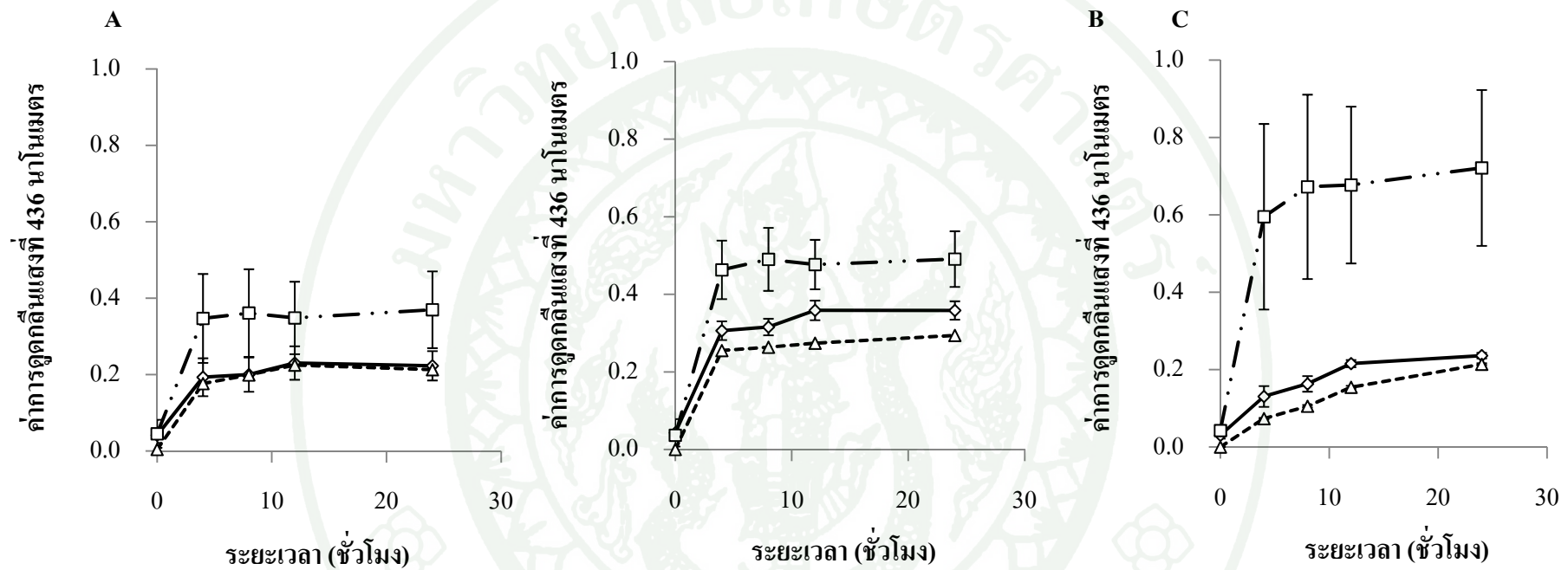


ภาพที่ 18 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—◆—), 50 (—□·—) และ 70 (---△---); (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

เหง้ามันสำปะหลังในน้ำกลั่นให้สีน้ำตาลอมเหลืองจากสารสีที่มีอยู่ที่ผิวด้านนอกของเหง้ามัน ซึ่งแสดงโดยค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 436 นาโนเมตร ในตัวอย่างทดลองทุกตัวอย่าง การเพิ่มขึ้นของสีเหลืองเป็นในลักษณะเดียวกันคือ เพิ่มสูงขึ้นจากเริ่มต้นการทดลองขึ้นไปที่ระดับหนึ่ง (ชั่วโมงที่ 4) และมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง (ภาพที่ 19)

นอกจากนี้ยังพบว่าค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองในตัวอย่าง Novacron Blue ที่ถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และ 70 จะสูงกว่าน้ำกลั่นที่ผสมกับ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเดียวกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 19) แสดงให้เห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นจากการย่อยสลาย Novacron Blue ด้วยเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลติก นอกจากจะให้สีแดงเล็กน้อยแล้วยังให้สีเหลืองเล็กน้อยอีกด้วย ซึ่งสอดคล้องกับการสังเกตด้วยสายตาที่พบว่าสารละลายหลังการย่อยสลายมีสีส้มจางๆ

สีเหลืองของตัวอย่างสารละลายสีหลังการบำบัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ผ่านการอบแห้งเพื่อฆ่าเชื้อมีค่าสูงกว่าในตัวอย่างอื่นๆ ทุกสภาวะทดลอง (ภาพที่ 19) เนื่องจากเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลประเภท Maillard ระหว่างการอบ สารตั้งต้นของปฏิกิริยา Maillard ได้แก่ น้ำตาลรีดิคซ์ กรดอะมิโน และความร้อน (รุ่งทิพย์, 2549) ซึ่งจะเห็นได้ว่ามีครบทุกองค์ประกอบในระบบ เนื่องจากในเส้นใยของ *L. polychrous* Lev. ประกอบไปด้วยกรดอะมิโนและน้ำตาลรีดิคซ์ (จันทร์พร, 2552) และน้ำตาลรีดิคซ์จากเหง้ามัน

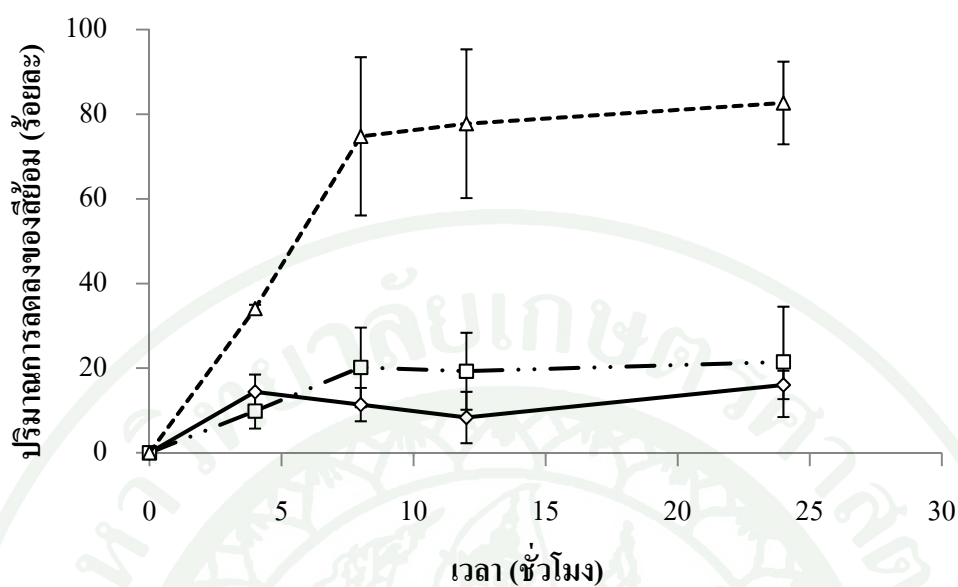


ภาพที่ 19 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (—○—) สารละลาย Novacron Blue ที่ถูกดูดซับบน *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส นาน 18 ชั่วโมง (···□···) และน้ำ กลั่นผสมกับ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (---△---) ความเข้มข้นเริ่มต้นของเหง้ามันที่ใช้เลี้ยง *L. polychrous* Lev. เท่ากับร้อยละ 30 (A), 50 (B) และ 70 (C)

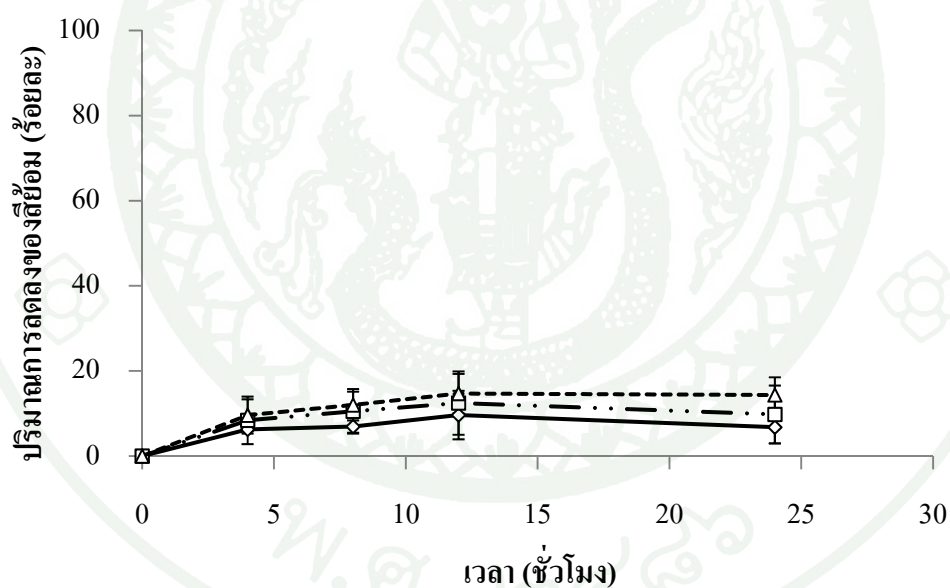
2.2 การกำจัดสีข้อม Navy Blue

การกำจัดสีข้อมชนิดนี้ใช้เวลาในการกำจัดที่นานกว่าและมีประสิทธิภาพในการกำจัดต่ำกว่า Novacron Blue (ภาพที่ 15A และภาพที่ 20A) กล่าวคือ เมื่อวิเคราะห์ความเข้มสีที่ $\lambda_{\max}$ 600 นาโนเมตร (ภาพที่ 20) ปริมาณสี Navy Blue ลดลงมากที่สุดเมื่อใช้ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ในขณะที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และ 30 พบว่าการลดลงของสีข้อมมีค่าใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 20A) การเปรียบเทียบผลการทดลองระหว่างภาพที่ 20A และ 20B ทำให้กล่าวได้ว่า กลไกหลักในการกำจัดสีข้อม Navy Blue ที่ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 70 เป็นการทำงานของเอนไซม์ที่ *L. polychrous* Lev. ผลิตขึ้น ส่วนที่ความชื้นร้อยละ 50 และ 30 ปริมาณสี Navy Blue ที่ถูกกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. (ภาพที่ 20A) ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับกลไกการดูดซับโดยเหง้ามันและเส้นใย *L. polychrous* Lev. (ภาพที่ 20B) อีกทั้งค่าการกำจัดมีค่าค่อนข้างคงที่ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 จึงอาจกล่าวได้ว่า การที่ ความชื้นนี้ไม่เกิดการย่อยสลายของสีด้วยเอนไซม์ น่าจะเกิดจาก *L. polychrous* Lev. ผลิตเอนไซม์ขึ้นในปริมาณไม่มากพอ ประกอบกับโครงสร้างสีข้อมย่อยสลายได้ค่อนข้างยาก

A



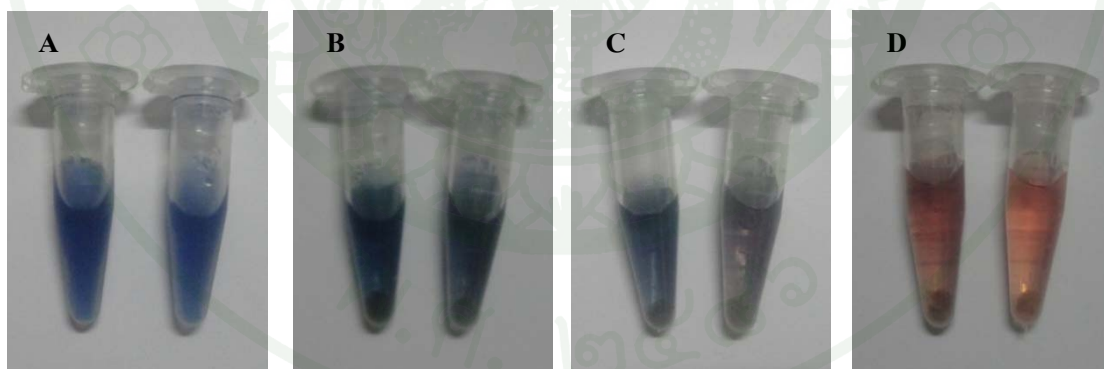
B



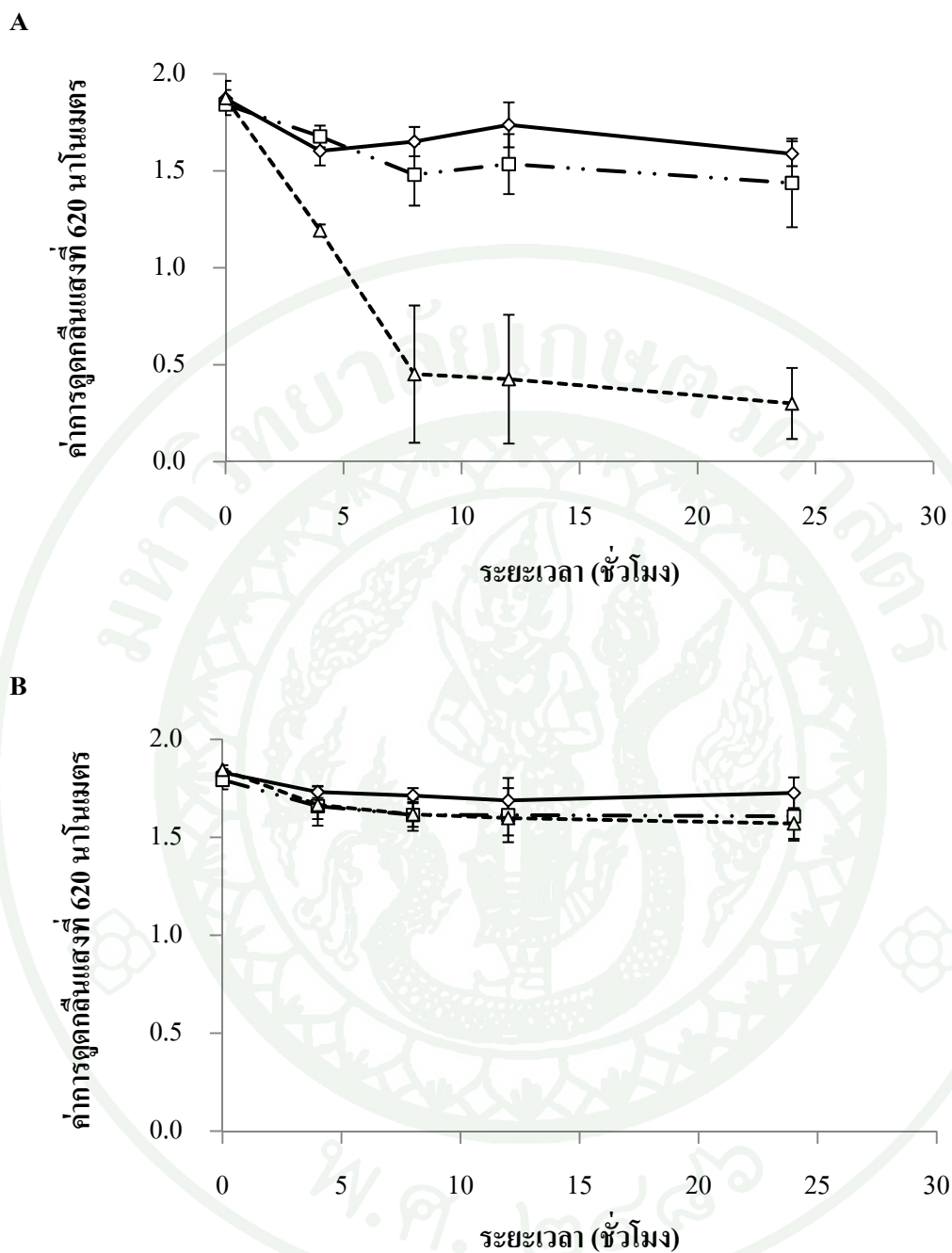
ภาพที่ 20 ปริมาณการลดลงของสีข้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max 600}$ นาโนเมตร โดย *L. polychrous* Lev เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—◇—) 50 (—□·—) และ 70 (---△---); (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์และผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

เมื่อวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ 620 นาโนเมตร และ 525 นาโนเมตร พบว่าราที่เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ทำให้สีน้ำเงินในสารละลาย Navy Blue ลดลงมากกว่าร้อยละ 50 ณ ชั่วโมงที่ 8 ของการกำจัด (ภาพที่ 22A) ในขณะที่ปริมาณสีแดงถึงแม้จะลดลงอย่างชัดเจนแต่ยังคงมีค่าการดูดกลืนแสงที่ 525 นาโนเมตร อยู่สูงถึงประมาณ 0.6 (ภาพที่ 23A) สอดคล้องกับการสังเกตด้วยสายตาที่พบว่าสีของสารละลายได้กลายเป็นสีแดงม่วงหรือสีแดงในบางซ้ำของการทดลอง (ภาพที่ 21D) ส่วนที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 ของเหง้ามันส่งผลให้ *L. polychrous* Lev. กำจัดสีน้ำเงินของสารละลาย Navy Blue ได้ใกล้เคียงกับที่สภาวะความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$) ณ ชั่วโมงที่ 8 (ภาพที่ 22A) และชุดทดลองศึกษาการดูดซับสีย้อมบนเส้นใยราที่เจริญบนเหง้ามันในทุกระดับความชื้น (ภาพที่ 22B) รวมทั้งไม่มีความแตกต่างกันในการเปลี่ยนแปลงสีแดงของสารละลาย (ภาพที่ 23A และ 23B) อย่างไรก็ตามสีของสารละลาย Navy Blue หลังผ่านการบำบัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 8 ในบางตัวอย่างได้ปรากฏเป็นสีน้ำเงินที่จางลงหรือสีคราม (ภาพที่ 21C) ในขณะที่สารละลายยังคงมีสีน้ำเงินตลอดการทดลองเมื่อบำบัดด้วยราเจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (ภาพที่ 21B) เช่นเดียวกับกรณีของการกำจัดด้วยการดูดซับบนเส้นใยราที่เจริญบนเหง้ามันในทุกระดับความชื้น

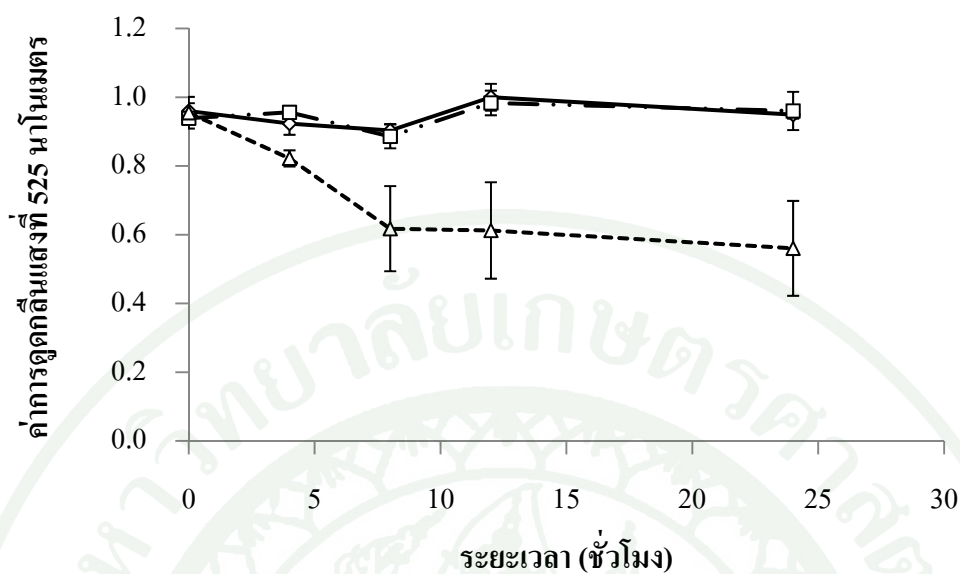


ภาพที่ 21 สีของสารละลาย Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนทำการทดลอง (A) และภายหลังการกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (B) 50 (C) และ 70 (D) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ณ ชั่วโมงที่ 8 ของการทดลอง

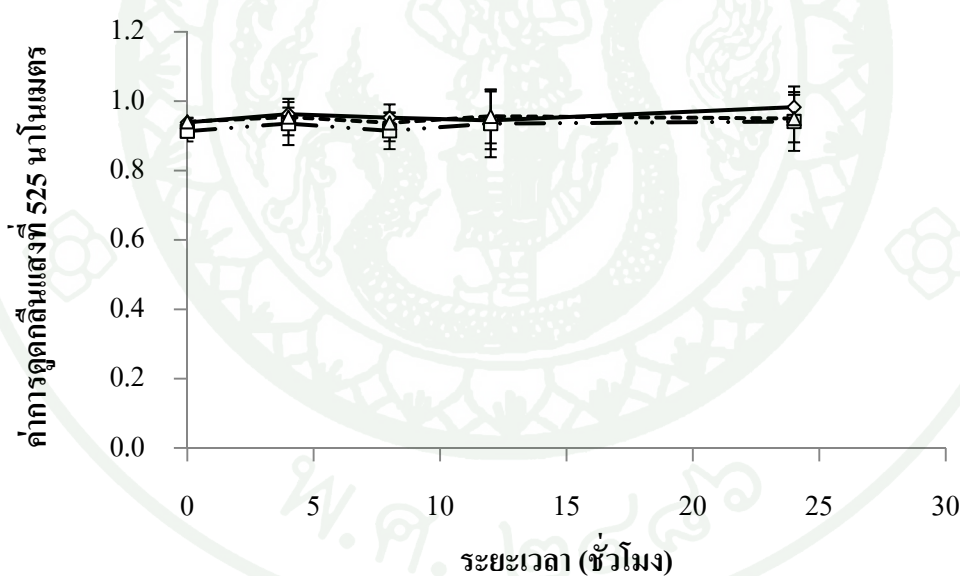


ภาพที่ 22 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—◆—), 50 (---□---) และ 70 (····△····) ; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

A



B

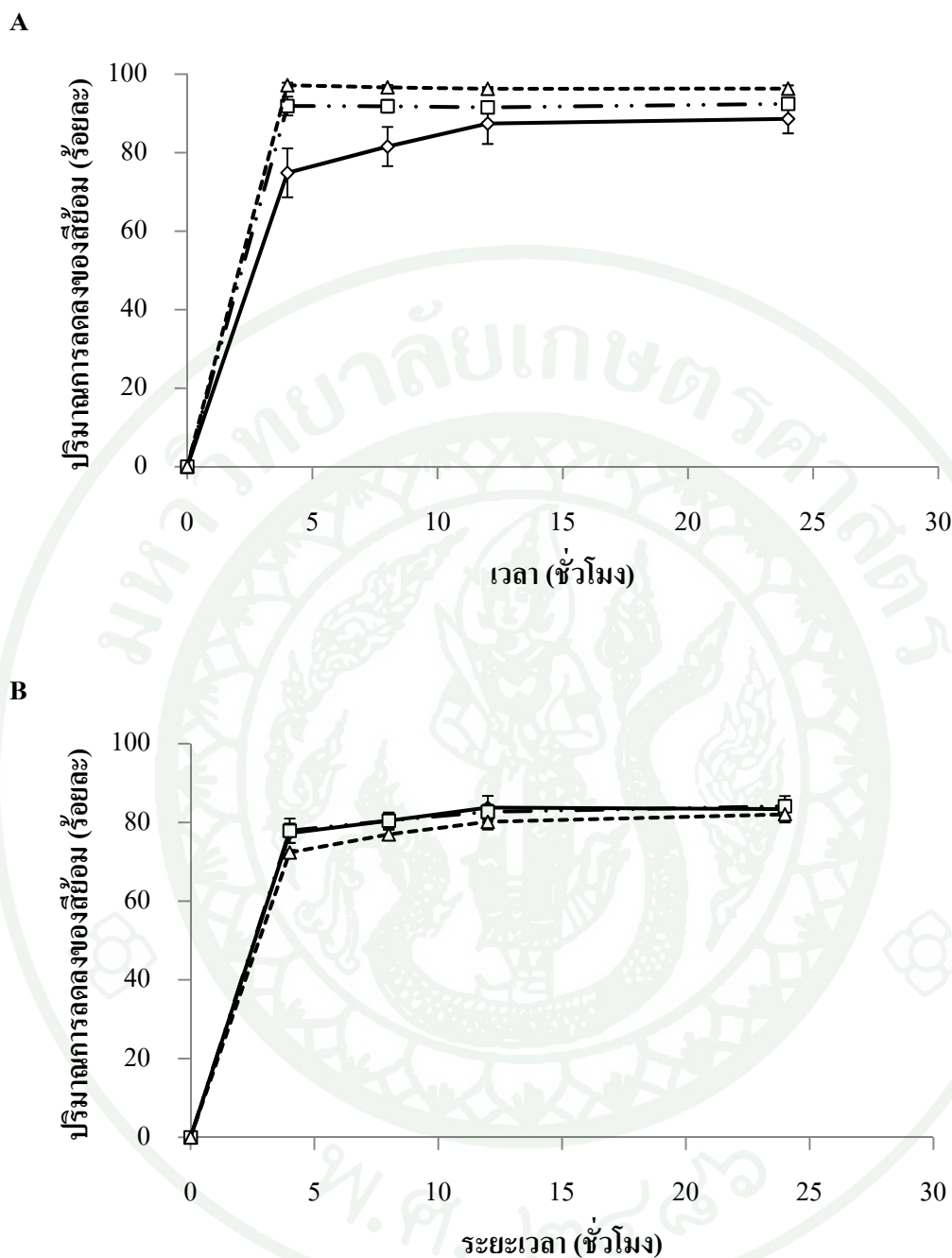


ภาพที่ 23 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบน เหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—○—), 50 (---□---) และ 70 (····△····); (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

การวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงปริมาณสีเหลืองของสารละลาย Navy Blue ที่ความยาวคลื่น 436 นาโนเมตร ภายหลังจากบำบัดด้วย *L. polychrous* Lev. ได้รับผลกระทบจากสีน้ำเงินของ Navy Blue ที่มีความเข้มสูง ก่อให้เกิดการรบกวนค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นนี้ ทำให้ไม่สามารถอธิบายแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นได้ (ไม่นำเสนอภาพการทดลอง)

2.3 การกำจัดสีข้อม Telon Blue

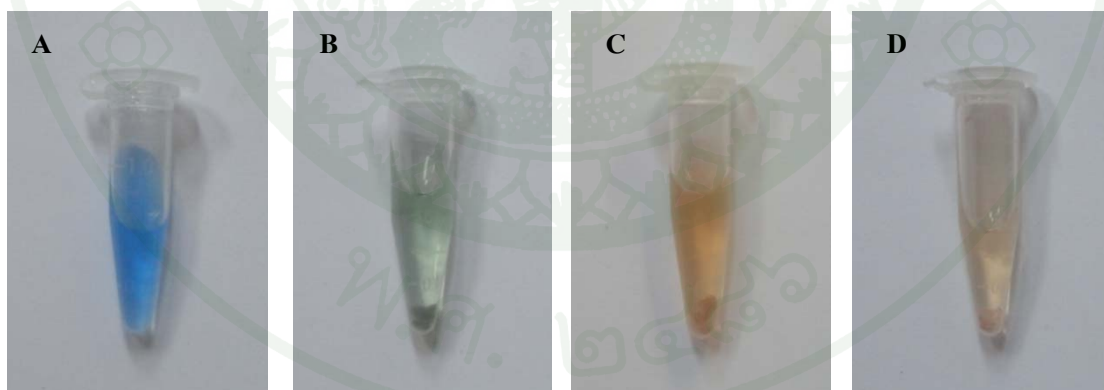
เมื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการกำจัดสีข้อมสักระยะที่ $\lambda_{\max}$ ของ Telon Blue (640 นาโนเมตร) พบว่า *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นทั้ง 3 ค่าสามารถกำจัด Telon Blue ได้เป็นปริมาณที่ใกล้เคียงกัน (ภาพที่ 24) โดยเฉพาะที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และ 70 ที่สามารถกำจัดสีข้อมได้มากกว่าร้อยละ 90 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ของการบ่ม ส่วนที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 จะใช้เวลาในการกำจัดนานกว่าความชื้น 2 ระดับแรกที่กล่าวมา (ภาพที่ 24A) การดูดซับ Telon Blue โดยเหง้ามันและเส้นใย *L. polychrous* Lev. มีค่ามากกว่าร้อยละ 70 ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลองที่ทุกค่าความชื้นเริ่มต้น (ภาพที่ 24B) ทำให้สรุปได้ว่าการกำจัดสีข้อมชนิดนี้มีกระบวนการดูดซับเป็นกลไกหลักในการกำจัด



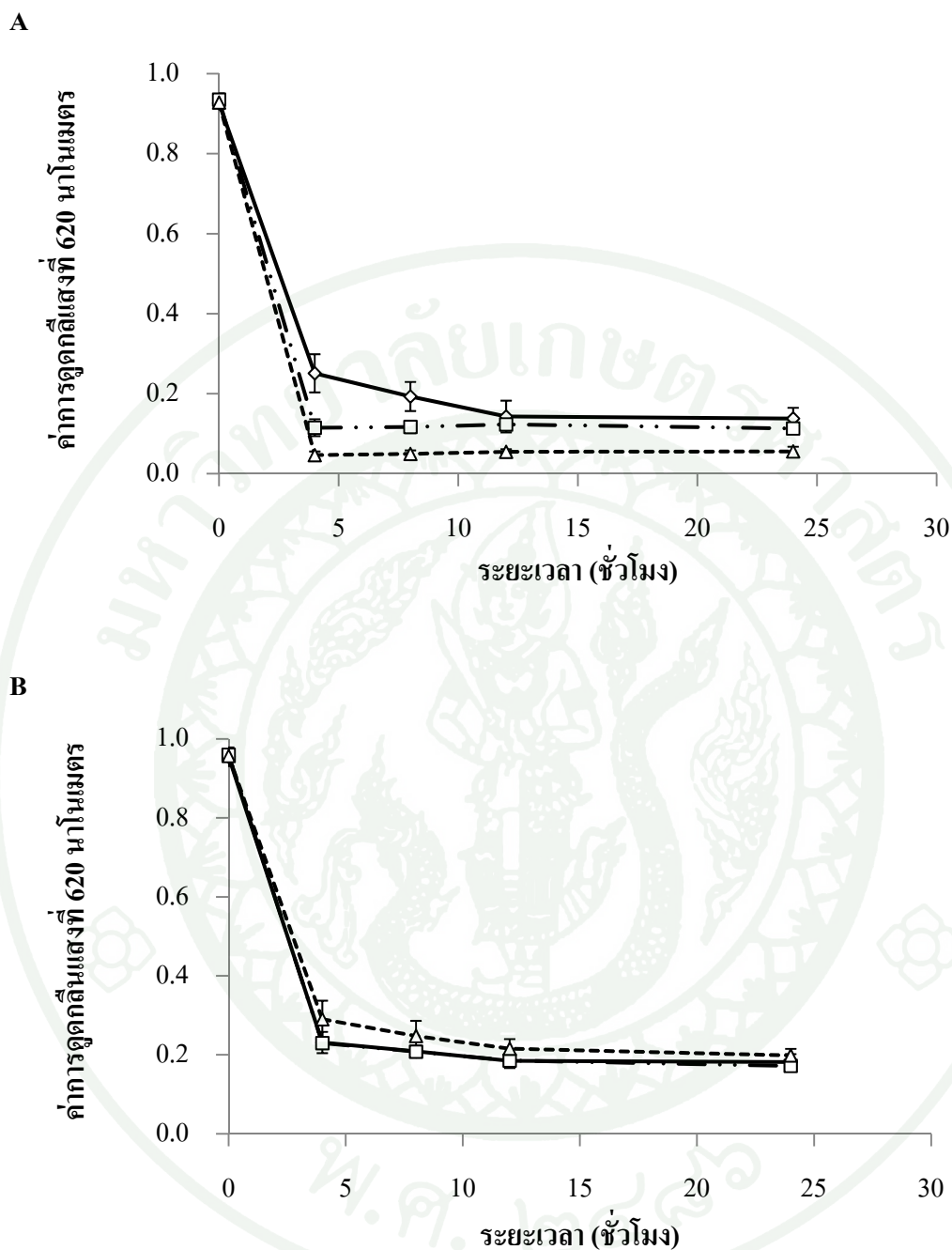
ภาพที่ 24 ปริมาณการลดลงของสีย้อม Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 640 นาโนเมตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—◇—), 50 (—□·—) และ 70 (---△---); (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์และผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

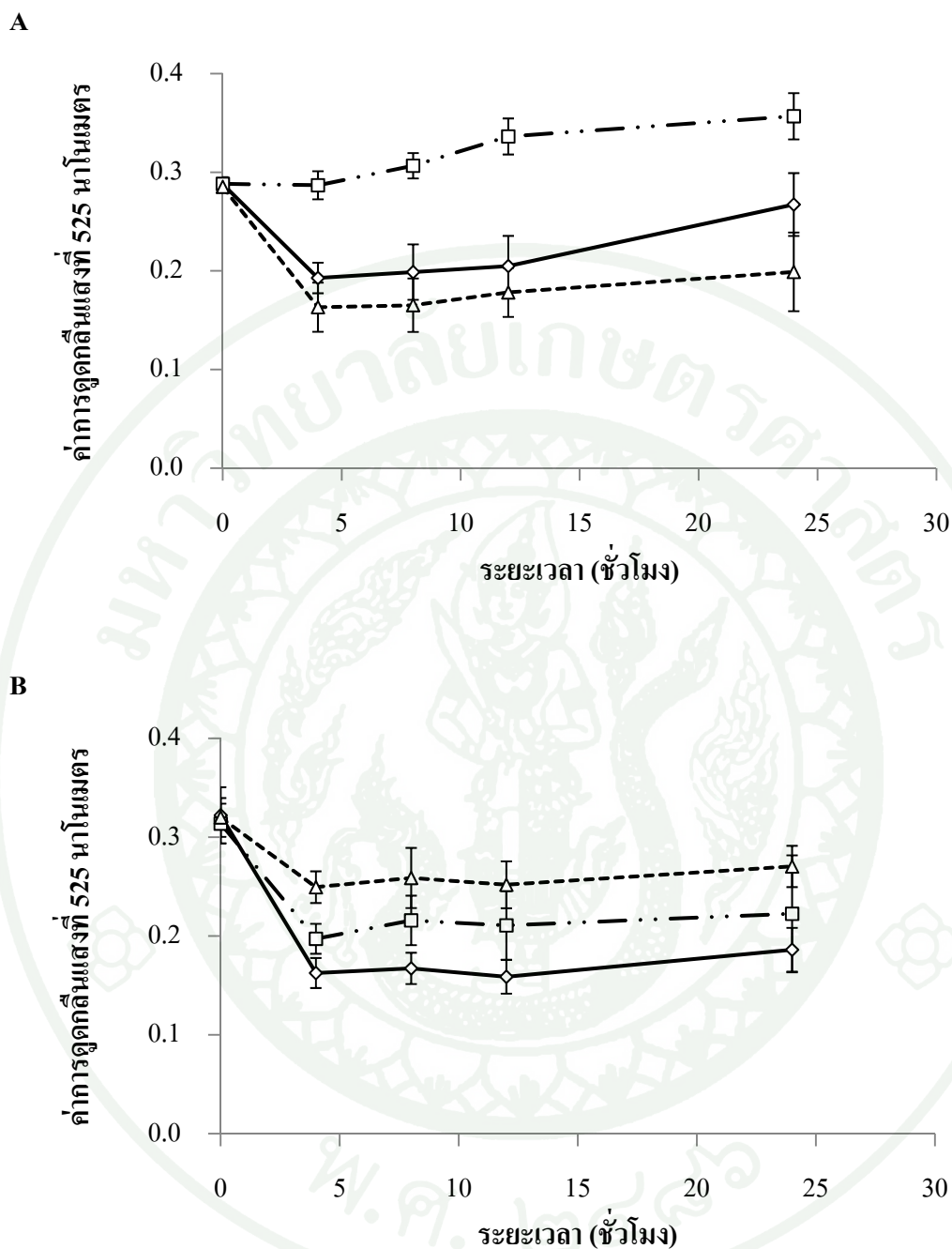
สารละลาย Telon Blue เปลี่ยนสีจากน้ำเงินเป็นสีส้มอ่อนๆ ณ ชั่วโมงที่ 4 ของการใช้รา เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ในการกำจัด (ภาพที่ 25) สอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ที่ลดลงจนมีค่าต่ำกว่า 0.05 (ภาพที่ 26A) และค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ที่มีค่าเหลือประมาณ 0.16 (ภาพที่ 27A) และค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ที่เพิ่มขึ้นเป็น 0.3 และสังเกตเห็นสารละลายมีสีส้มเหลืองมากขึ้นเมื่อเวลาผ่านไปนานขึ้น เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองที่เพิ่มขึ้น (ภาพที่ 28C) ในขณะที่ Telon Blue หลังผ่านการกำจัดด้วยรา เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 มีสีส้มแดง สอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่ลดลงไปที่ประมาณ 0.12 (ภาพที่ 26A) ซึ่งทำให้มองไม่เห็นสีน้ำเงิน ในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองที่มีค่าเพิ่มขึ้นอยู่ที่ประมาณ 0.58 (ภาพที่ 28B) รวมทั้งค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (ภาพที่ 27A) ซึ่งมีค่าเพิ่มขึ้นระหว่างการทดลอง อาจเนื่องมาจากการเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงโมเลกุลของสีไปเป็นสารตัวกลางที่มีสีแดงด้วยการทำงานของเอนไซม์เพิ่มขึ้น หลังการดูดซับสีย้อมไว้ที่พื้นผิวของเส้นใย และเหง้ามัน ทำให้สารละลายหลังการบำบัดมีสีแดงเข้มขึ้นเมื่อเวลาผ่านไป ส่วนสารละลาย Telon Blue ภายหลังการบำบัดด้วยราเจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 มีความเข้มของสีที่จางลงและมีเจดสีเขียวภายหลังการบำบัด เนื่องจากการปลดปล่อยสารสีเหลืองจากเหง้ามันที่ทำให้ค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองอยู่ที่ 0.35 (ภาพที่ 28A) ผสมกับสีน้ำเงินที่ยังคงมีค่าถึง 0.25 (ภาพที่ 26A) ในขณะที่ปริมาณสีแดงมีค่าลดลงอยู่ที่ประมาณ 0.20 (ภาพที่ 27A)



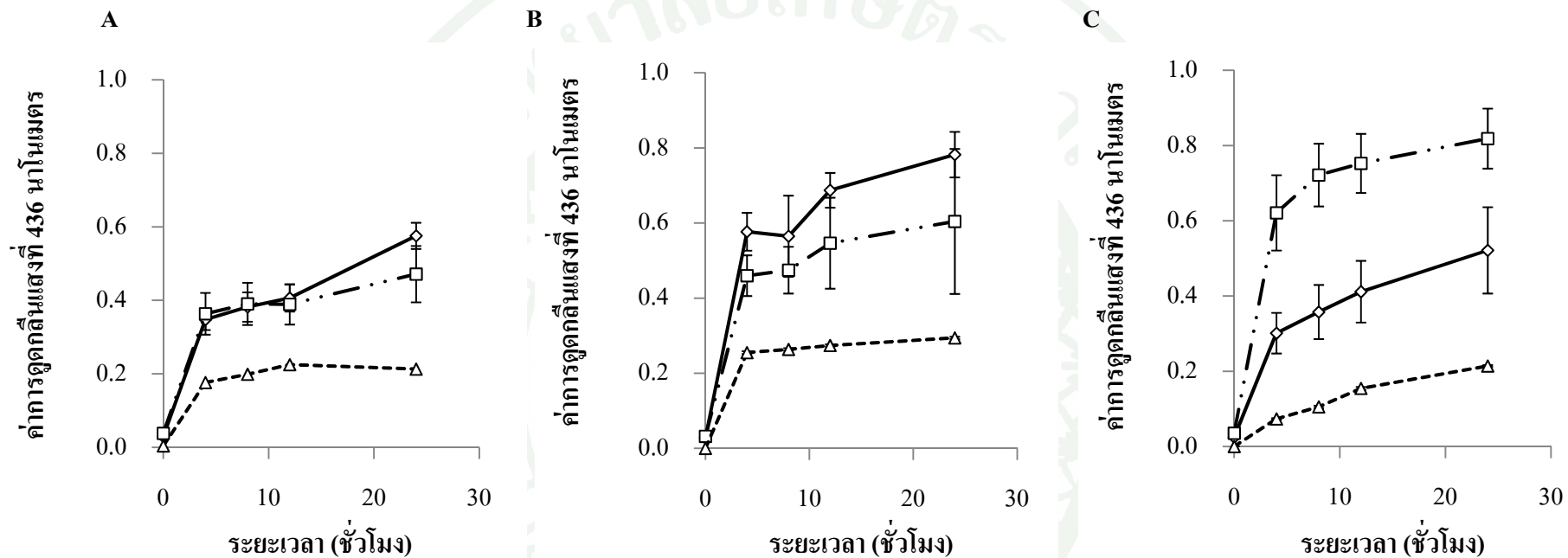
ภาพที่ 25 สีของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ก่อนทำการทดลอง (A) และภายหลังการกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (B) 50 (C) และ 70 (D) เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ณ ชั่วโมงที่ 4 ของการทดลอง



ภาพที่ 26 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—○—) 50 (---□---) และ 70 (···△···); (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

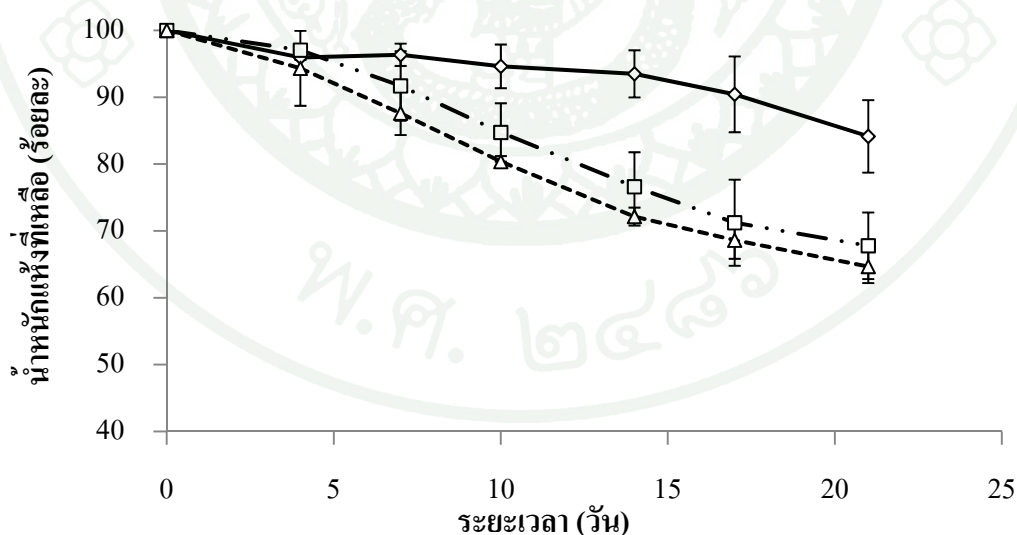


ภาพที่ 27 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบน เหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 30 (—○—) 50 (—□—) และ 70 (—△—); (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



ภาพที่ 28 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ระหว่างการกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (—◇—) สารละลาย Telon Blue ที่ถูกดูดซับบน *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส 18 ชั่วโมง (—□·) และน้ำกลั่นผสมกับ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (---△---) ความเข้มข้นเริ่มต้นของเหง้ามันที่ใช้เลี้ยง *L. polychrous* Lev. เท่ากับร้อยละ 30 (A), 50 (B) และ 70 (C)

จากผลการทดลองในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิด สามารถสรุปได้ว่า ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของเหง้ามันร้อยละ 70 ส่งผลให้ *L. polychrous* Lev. มีความสามารถในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ได้ดีที่สุด โดยเฉพาะในกรณีของ Navy Blue ซึ่งมีความยากต่อการกำจัดมากที่สุด รองลงมาคือที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และ 30 ตามลำดับ เมื่อศึกษาการเจริญของเส้นใย *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่างๆ ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยวิเคราะห์จากปริมาณน้ำหนักแห้งที่หายไปของเหง้ามัน ดังแสดงในภาพที่ 29 จะเห็นว่า การผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลดิกสัสมัพันธ์กับการเจริญของรา และแม้การเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 70 และ 50 จะมีค่าใกล้เคียงกัน (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$) แต่ประสิทธิภาพในการทำลายสีย้อมกลับแตกต่างกัน Guerra *et al.* (2003) กล่าวว่า การดำเนินกิจกรรมต่างๆ ของจุลินทรีย์ที่เจริญบนวัสดุอาหารแข็ง ขึ้นอยู่กับความชื้นของวัสดุที่แตกต่างกัน โดยการผลิตสารเมแทบอลิต์จะต้องการความชื้นในระดับที่สูงกว่าการเจริญของจุลินทรีย์ ด้วยเหตุนี้ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 70 จึงอาจมีการผลิตเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลดิกที่ใช้ในการกำจัดสีย้อมโดย *L. polychrous* Lev. ได้สูงกว่าการเจริญที่ความเข้มข้นร้อยละ 50 ส่งผลต่อความสามารถในการกำจัดสีย้อมของราชนิดนี้ จึงเลือกใช้เหง้ามันสำปะหลังที่ความเข้มข้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. เพื่อใช้ในการศึกษาปัจจัยที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิดต่อไป



ภาพที่ 29 การเปลี่ยนแปลงของน้ำหนักแห้งเหง้ามัน เมื่อมี *L. polychrous* Lev. เจริญอยู่ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ในระหว่างการเจริญ 3 สัปดาห์ ที่ความเข้มข้นเริ่มต้นของเหง้ามันเท่ากับร้อยละ 30 (—△—), 50 (---□---) และ 70 (—◆—)

นอกจากนี้ ประเภทและโครงสร้างของสีย้อมที่แตกต่างกันย่อมส่งผลต่อความสามารถในการกำจัดของ *L. polychrous* Lev. ด้วย จากการทดลองพบว่า Novacron Blue และ Navy Blue เป็นสีย้อมรีแอคทีฟที่ถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ด้วยกระบวนการดูดซับรวมกับการทำงานของเอนไซม์ แต่ถูกกำจัดด้วยประสิทธิภาพที่ต่างกัน โดย Novacron Blue มีกลุ่มแอนทราควิโนนเป็นองค์ประกอบและมีแนวโน้มการกำจัดได้ค่อนข้างง่ายกว่า Navy Blue ซึ่งเป็นสีที่มีหมู่อะโซอยู่ในโมเลกุล กล่าวคือ เหน้ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 ก็สามารถทำให้ *L. polychrous* Lev. กำจัด Novacron Blue ได้สูงกว่าร้อยละ 80 และมีประสิทธิภาพเพิ่มขึ้นเป็นประมาณร้อยละ 90 เมื่อใช้ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหน้ที่ความชื้นเริ่มต้นเริ่มต้น 70 ในการกำจัด ในขณะที่ Navy Blue ถูกกำจัดได้ดีเมื่อใช้ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหน้ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 แต่ยังคงถูกกำจัดได้ช้าและมีประสิทธิภาพต่ำกว่า Novacron Blue ที่ความชื้นระดับเดียวกันนี้ ผลการทดลองนี้สอดคล้องกับการศึกษาของพจนีย์ (2549), Novotny *et al.* (2001), Jarosz-Wilkolazka *et al.* (2002) และ Eichlerova *et al.* (2006) ที่รายงานผลการศึกษาดังกล่าว สีกลุ่มแอนทราควิโนนถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์กลุ่มลิกนินไลติกจากราไวทรัอทได้ง่ายกว่ากลุ่มอะโซ ทั้งนี้ Eichlerova *et al.* (2006) ได้ให้เหตุผลว่า เนื่องจากหมู่อะโซถูกสังเคราะห์ขึ้นด้วยกระบวนการทางเคมีและไม่พบทั่วไปในธรรมชาติ การกำจัดด้วยราไวทรัอทจึงทำได้ยากกว่า

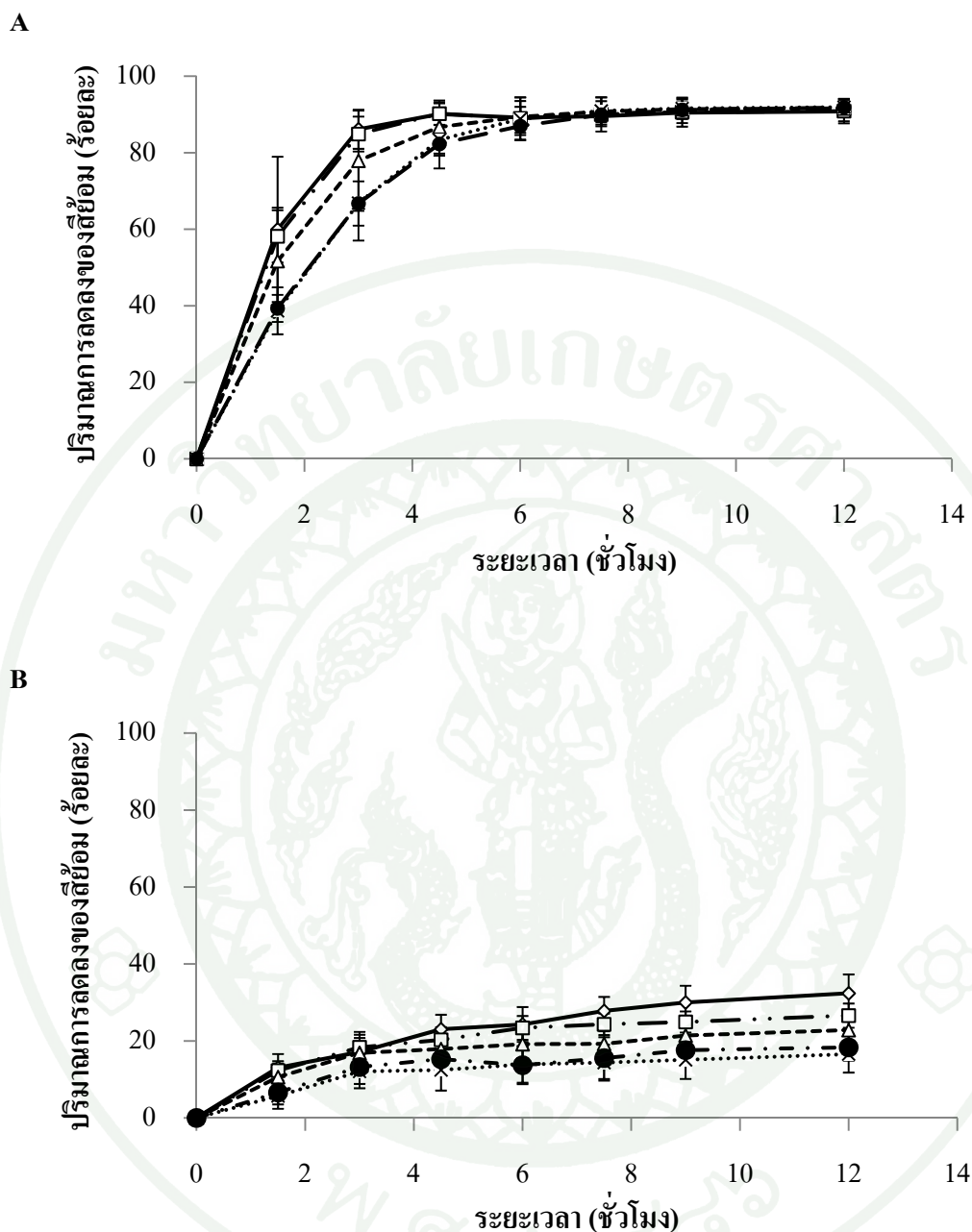
สีย้อม Telon Blue มีการดูดซับเป็นกลไกหลักในการกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหน้ที่ความชื้นต่างๆ กระบวนการดูดซับนี้ทำให้ปริมาณสีย้อมลดลงได้สูงภายในระยะเวลาบ่าบัดที่สั้น เนื่องจากสีย้อมชนิดนี้เป็นสีย้อมประเภทแอซิด ที่มีคุณสมบัติเป็นประจุลบบนโมเลกุล ทำให้เกิดแรงดึงดูดระหว่างขั้วกับหมู่ฟังก์ชันที่มีประจุบวกบนโมเลกุลของเหน้ที่และเส้นใย (อจรรพร, 2517) กระบวนการดูดซับจึงเกิดขึ้นได้ง่าย สอดคล้องกับการกำจัดสีย้อมด้วยราไวทรัอท *Pleurotus ostreatus* ที่พบว่าภายในระยะเวลา 24 ชั่วโมง สีย้อมแอซิด Lanaset Grey ถูกกำจัดได้สูงกว่า Cibacron Blue, Cibacron Red และ Cibacron Navy ซึ่งเป็นสีย้อมประเภทรีแอคทีฟ (พจนีย์, 2549) อย่างไรก็ตาม การกำจัดสีย้อมชนิดนี้ด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหน้ที่ความชื้นระดับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และ 70 ยังเกิดปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์กับโมเลกุลสีด้วย ดังจะเห็นได้จากสีส้มที่เกิดขึ้นหลังการกำจัด ทั้งนี้อาจเนื่องจากสีย้อมชนิดนี้มีโครงสร้างของหมู่แอนทราควิโนนอยู่ในโมเลกุล ซึ่งมีความง่ายต่อการถูกย่อยสลายด้วยเอนไซม์กลุ่มลิกนินไลติกจากราไวทรัอท

อย่างไรก็ตาม สีข้อม Novacron Blue และ Telon Blue ที่ความเข้มข้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ถูกกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ได้อย่างรวดเร็ว ภายในเวลาเพียง 4 ชั่วโมง ผู้วิจัยจึงมีความสนใจศึกษาความสามารถของ *L. polychrous* Lev. ในการกำจัดสีข้อมทั้ง 2 ชนิดนี้ที่ความเข้มข้นสูงขึ้น เพื่อใช้ประโยชน์ในการติดตามการเปลี่ยนแปลงสีข้อม เมื่อศึกษาปัจจัยอื่นๆ ที่มีผลกระทบต่อการกำจัดสีข้อมต่อไป

3. อิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นของสีข้อม Novacron Blue และ Telon Blue ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีข้อมของเส้นใย *L. polychrous* Lev. เมื่อใช้เหง้ามันเป็นวัสดุอาหารแข็ง

3.1 การกำจัดสีข้อม Novacron Blue

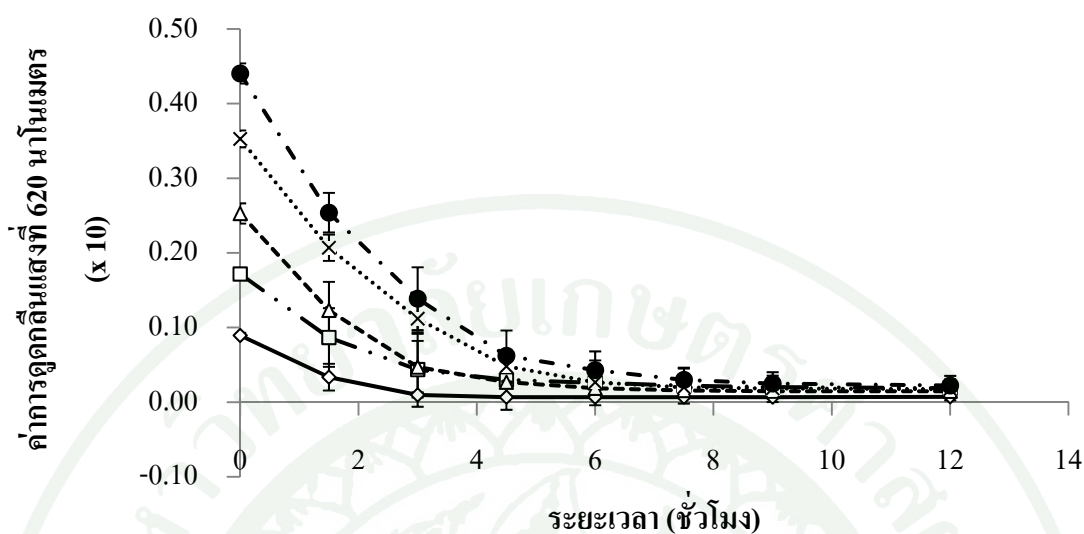
แม้ความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลาย Novacron Blue จะมีค่าเพิ่มขึ้นสูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ *L. polychrous* Lev. ยังคงกำจัดสีได้ใกล้เคียงกับเมื่อใช้ความเข้มข้นสีที่ต่ำกว่า ด้วยเวลาการทำปฏิกิริยา 8 ชั่วโมง (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$) ถึงแม้จะมีความแตกต่างในเรื่องของอัตราเร็วในการกำจัดบ้างเล็กน้อย กล่าวคือสารละลายสีที่ความเข้มข้นเริ่มต้นสูงมีอัตราเร็วในการกำจัดต่ำกว่าสารละลายที่ความเข้มข้นเริ่มต้นต่ำกว่า (ภาพที่ 30A) ในขณะที่สีข้อมที่ถูกดูดซับบนพื้นผิวเหง้ามันและเส้นใยามีแนวโน้มลดลงเมื่อความเข้มข้นสีข้อมเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 30B) เนื่องจากพื้นที่ผิวการดูดซับที่มีจำกัด จึงสรุปได้ว่า *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 สามารถกำจัดสีข้อม Novacron Blue ความเข้มข้นสูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ด้วยการทำงานของเอนไซม์ร่วมกับการดูดซับได้ถึงร้อยละ 90 ภายในเวลา 8 ชั่วโมง



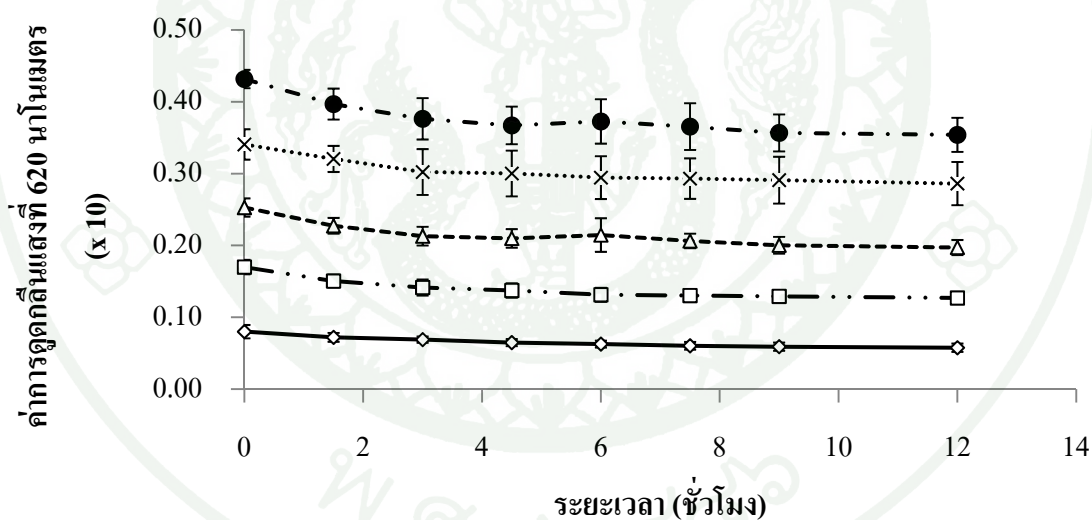
ภาพที่ 30 ปริมาณการลดลงของ Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◆—), 200 (—□—), 300 (—△—), 400 (—×—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 580 นาโนเมตร โดย *L. polychrous* Leav. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายใน ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร; (A) *L. polychrous* Leav. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Leav. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศา เซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

ในระหว่างการจัดสีย้อมด้วยราเจริญบนเหง้ามัน ค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ในแต่ละความเข้มข้นมีค่าลดลงอยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกันภายในเวลา 8 ชั่วโมง มีเพียงความเข้มข้นเริ่มต้น 100 และ 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยความเข้มข้นเริ่มต้นทั้ง 2 ค่าเป็นตัวอย่างที่มีค่าการดูดกลืนแสงที่เหลือภายหลังการกำจัดที่ต่ำที่สุดและสูงที่สุดตามลำดับ โดยในชั่วโมงที่ 12 ของการทดลอง มีค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างเท่ากับ 0.07 และ 0.23 (ภาพที่ 31A) และเมื่อสังเกตด้วยสายตา สีของสารละลายภายหลังการบำบัดมีสีเหลืองส้มสำหรับความเข้มข้นสีเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร และมีสีส้มขึ้นเรื่อยๆ ตามความเข้มข้นของสีน้ำเงินที่เพิ่มขึ้น และมองเห็นสีส้มแดงที่ความเข้มข้นสีน้ำเงินเริ่มต้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร (ภาพที่ 34) ซึ่งสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ที่เหลือภายหลังผ่านการบำบัดสารละลายสีย้อมในแต่ละความเข้มข้นที่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยปริมาณสีแดงที่เหลืออยู่ในสารละลายจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นเริ่มต้นที่สูงขึ้น (ภาพที่ 32A) ในทำนองเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายในระหว่างการบำบัด ที่มีความสัมพันธ์ในลักษณะแปรผันตรงกับความเข้มข้นเริ่มต้นของ Novacron Blue (ภาพที่ 33A) ในกรณีของการบำบัดด้วยกลไกการดูดซับสีย้อมบนพื้นผิวเหง้ามันและเส้นใยราเพียงกลไกเดียว พบว่าสารละลายในแต่ละความเข้มข้นมีค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสีน้ำเงินและสีแดงลดลงไปที่ระดับหนึ่ง จากนั้นจะมีค่าคงที่ตลอดการทดลอง ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงในช่วงนี้มีค่าแตกต่างกันอย่างชัดเจนและแปรผันตรงกับความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายสี (ภาพที่ 31B และ 32B) สอดคล้องกับสีที่ปรากฏ ณ ชั่วโมงต่างๆ ระหว่างการทดลองซึ่งยังคงมีเจดสีน้ำเงินตลอดการทดลอง ยกเว้นที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร ที่มีสีน้ำเงินอมเขียว เนื่องจากมีปริมาณสีน้ำเงินเหลือน้อยที่สุด ประกอบกับค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองที่เพิ่มขึ้นจากการปลดปล่อยสารที่มีสีจากเหง้ามันในระหว่างการทดลอง

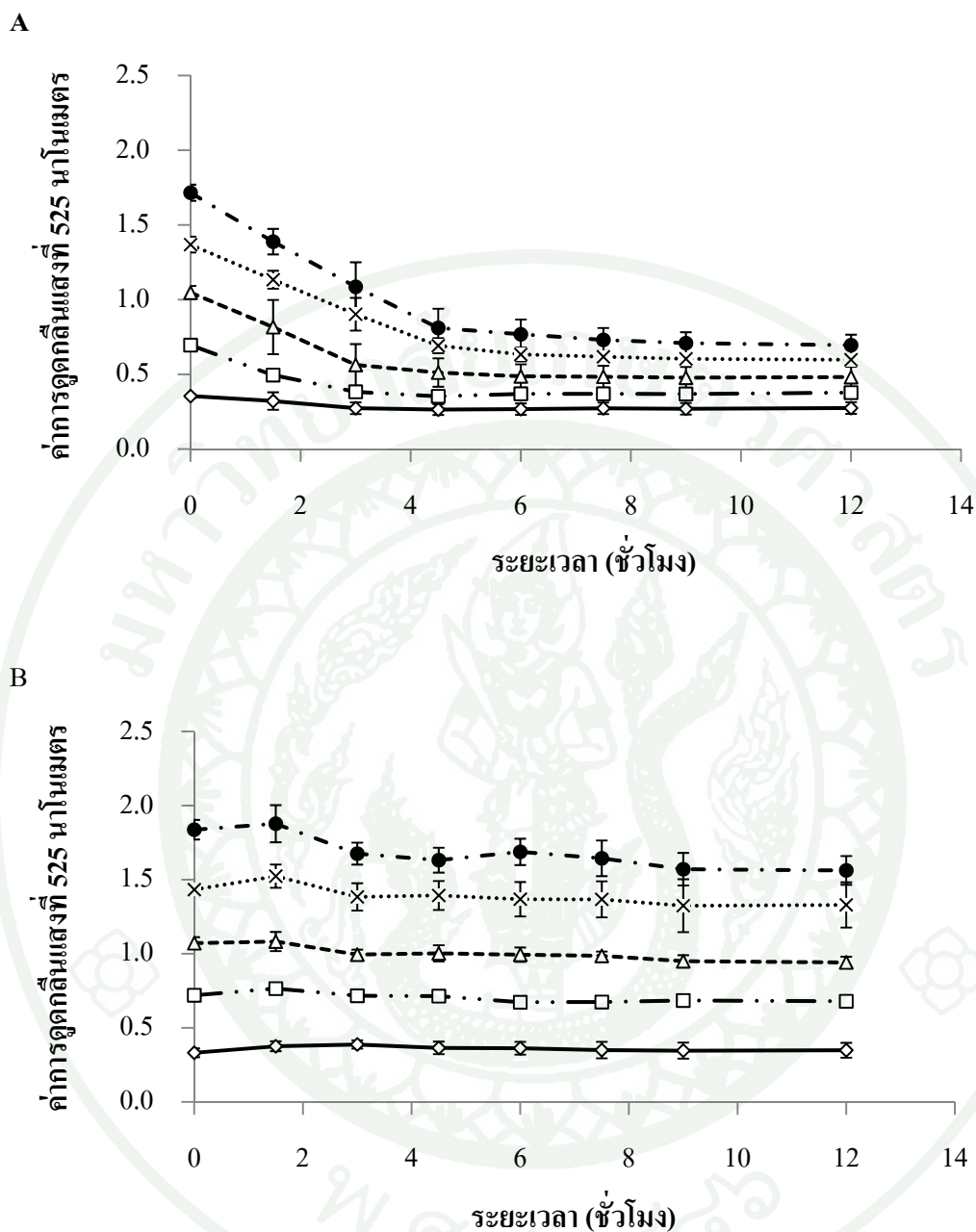
A



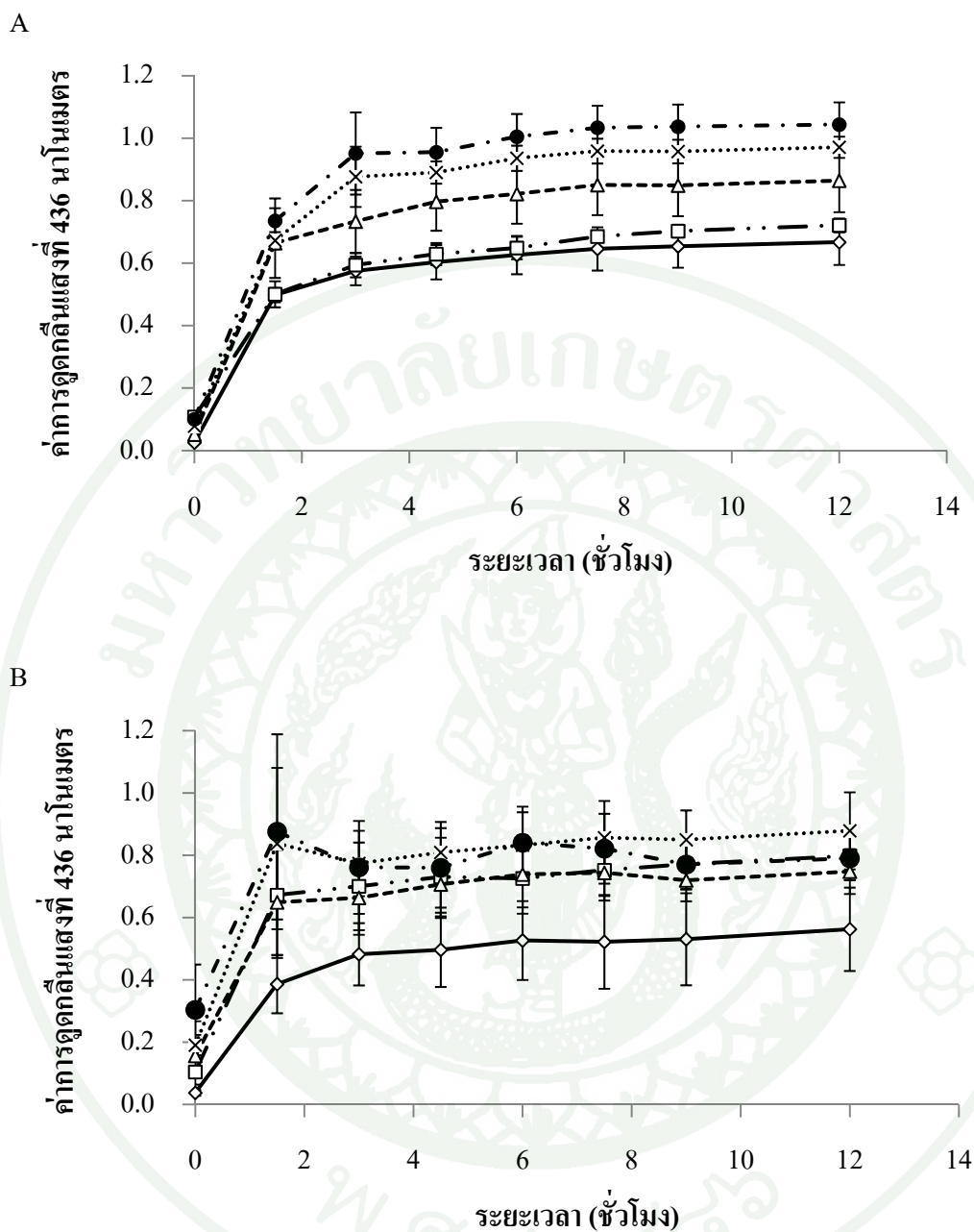
B



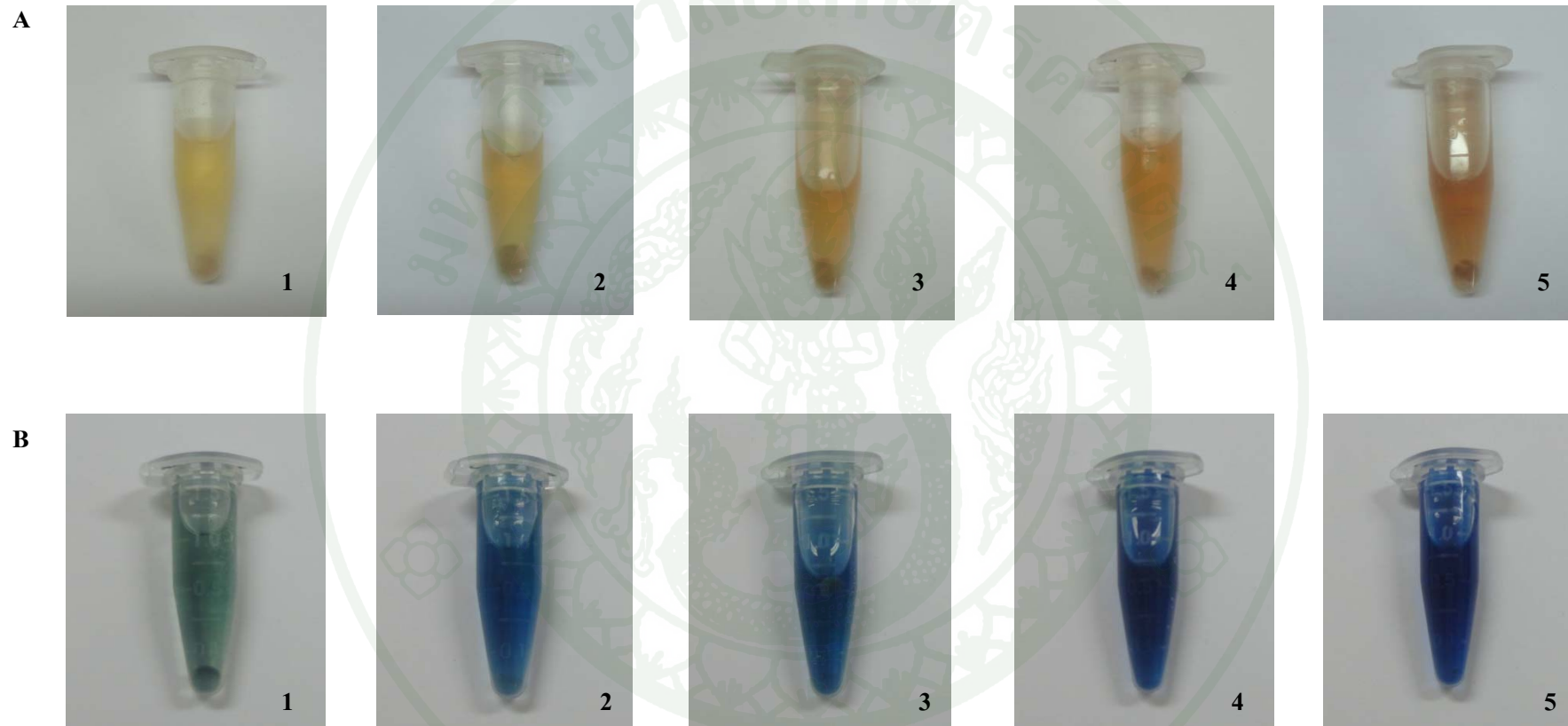
ภาพที่ 31 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◇—), 200 (—□—), 300 (—△—), 400 (—×—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



ภาพที่ 32 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◇—), 200 (—□—), 300 (—△—), 400 (—×—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



ภาพที่ 33 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Novacron Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◇—), 200 (—□—), 300 (—△—), 400 (—×—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้ว อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



ภาพที่ 34 สีของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (1), 200 (2), 300 (3), 400 (4) และ 500 (5) มิลลิกรัมต่อลิตร ภายหลังจากการจัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (A) และภายหลังจากดูดซับด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (B)

3.2 การกำจัดสีย้อม Telon Blue

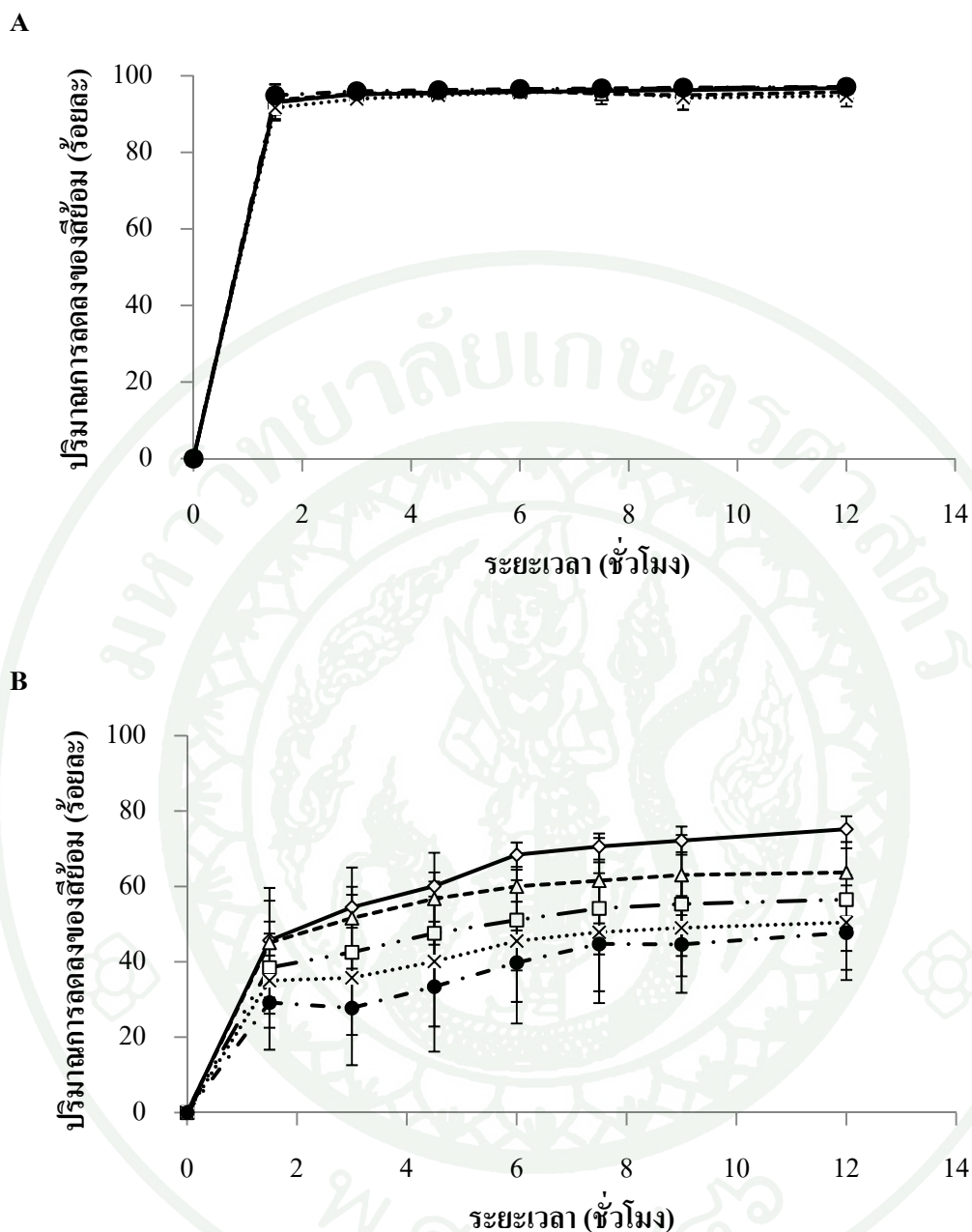
การกำจัดสีย้อมชนิดนี้ในทุกค่าความเข้มข้นเริ่มต้นโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ภายในเวลาเพียง 90 นาที ก่อให้เกิดการลดลงของสีย้อมที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 – 500 มิลลิกรัมต่อลิตร สูงกว่าร้อยละ 90 และปริมาณสีย้อมที่กำจัดได้สูงสุดในแต่ละความเข้มข้นอยู่ในช่วงร้อยละ 95 – 97 โดยไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 35A) ส่วนการกำจัดด้วยกระบวนการดูดซับบนพื้นผิวของเหง้ามันและเส้นใยรา มีแนวโน้มของประสิทธิภาพที่ลดลงเมื่อความเข้มข้นของสารละลายมีค่าสูงขึ้นเช่นเดียวกับการณ์ของสารละลายสีย้อม Novacron Blue แต่ปริมาณสีย้อมที่ถูกดูดซับมีค่าสูงกว่า โดยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 48 – 75 (ภาพที่ 35B) เมื่อเปรียบเทียบกับกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันทำให้สรุปได้ว่า แม้กลไกหลักในการกำจัดสีย้อมชนิดนี้คือกระบวนการดูดซับ แต่เอนไซม์ยังมีบทบาทในการกำจัดสีย้อมชนิดนี้อยู่ โดยเฉพาะเมื่อความเข้มข้นของสีย้อมมีค่าสูงขึ้น

หลังการกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน สารละลายสีย้อม Telon Blue มีการเปลี่ยนแปลงเจดสีในทุกความเข้มข้นเริ่มต้นตั้งแต่ 90 นาทีแรกของการกำจัด โดยที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตร เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นสารละลายที่มีสีส้ม และสารละลายจะมีสีแดงเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสีน้ำเงินที่มีค่าสูงขึ้น ส่งผลให้สารละลายที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 500 มิลลิกรัมต่อลิตร มีสีแดงม่วงภายหลังการกำจัด (ภาพที่ 39) สอดคล้องกับการวิเคราะห์ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) และสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ในทุกค่าความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลายที่ลดลงอย่างรวดเร็วภายใน 90 นาทีแรกของการทดลอง โดยในช่วง 12 ของการทดลอง ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงสีน้ำเงินของสารละลายในแต่ละความเข้มข้นเริ่มต้นมีค่าอยู่ในช่วง 0.15 – 0.60 (ภาพที่ 36A) ปริมาณสีแดงที่เหลืออยู่ในสารละลายแต่ละความเข้มข้นเริ่มต้น ณ ช่วงเวลาที่ 9 และ 12 มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 37A) เช่นเดียวกันกับการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายในระหว่างการบำบัด ที่มีความสัมพันธ์แบบแปรผันตรงกับความเข้มข้นเริ่มต้นของสารละลาย (ภาพที่ 38A)

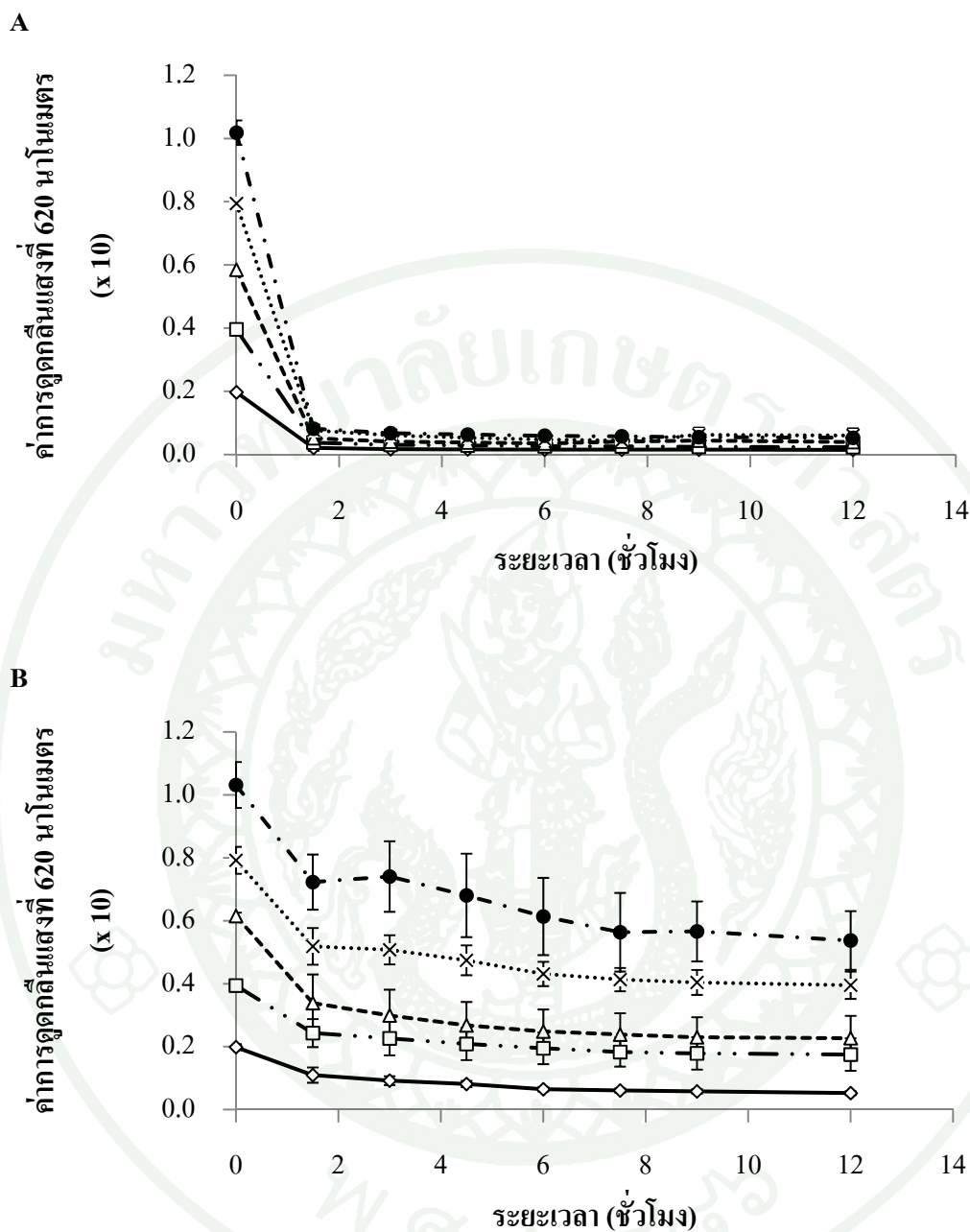
ในกรณีของการดูดซับสีย้อมบนพื้นผิวเหง้ามันและเส้นใยรา พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินและสีแดงมีค่าลดลงมากที่สุดในช่วง 90 นาทีแรกของการทดลอง หลังจากนั้นค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินยังคงลดลงอย่างช้าๆ ส่วนค่าการดูดกลืนแสงสีแดงมีค่าค่อนข้างคงที่ตลอดการทดลอง โดยในแต่ละค่าความเข้มข้นเริ่มต้นมีความแตกต่างกันของค่าการดูดกลืนแสงที่

เหลือตลอดการทดลองอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (ภาพที่ 36B และ 37B) ประกอบกับค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองที่เพิ่มขึ้นเนื่องจากการปลดปล่อยสารที่มีสีเหลืองจากเหง้ามัน (ภาพที่ 38B) ทำให้มองเห็นสีของสารละลายที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมีปริมาณสีน้ำเงินที่เหลือภายหลังการดูดซับอยู่น้อยที่สุดมีสีฟ้าอมเขียว ในขณะที่สีของสารละลายที่ความเข้มข้นเริ่มต้นอื่นๆ ยังคงมีสีน้ำเงินตลอดการทดลอง (ภาพที่ 39)

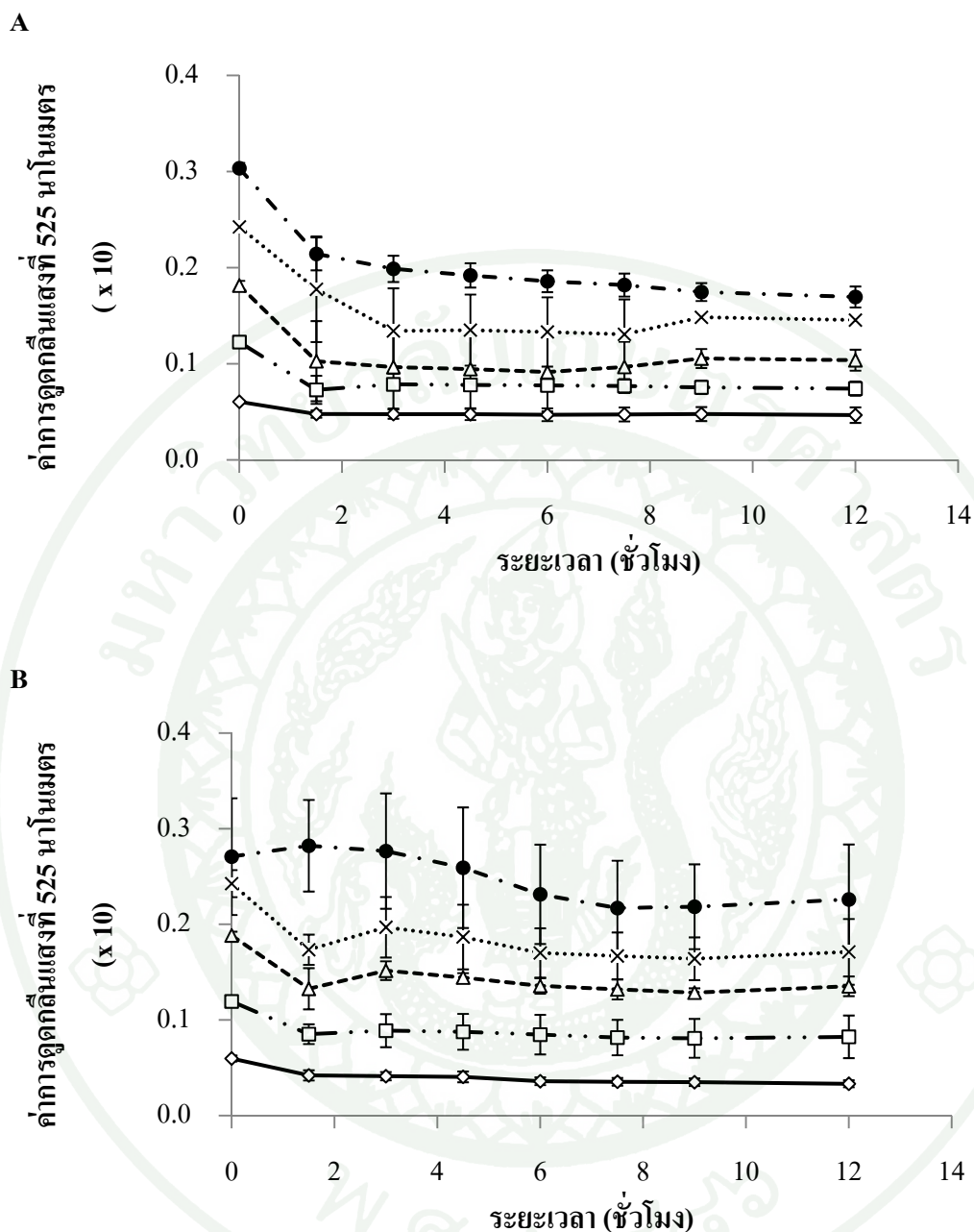




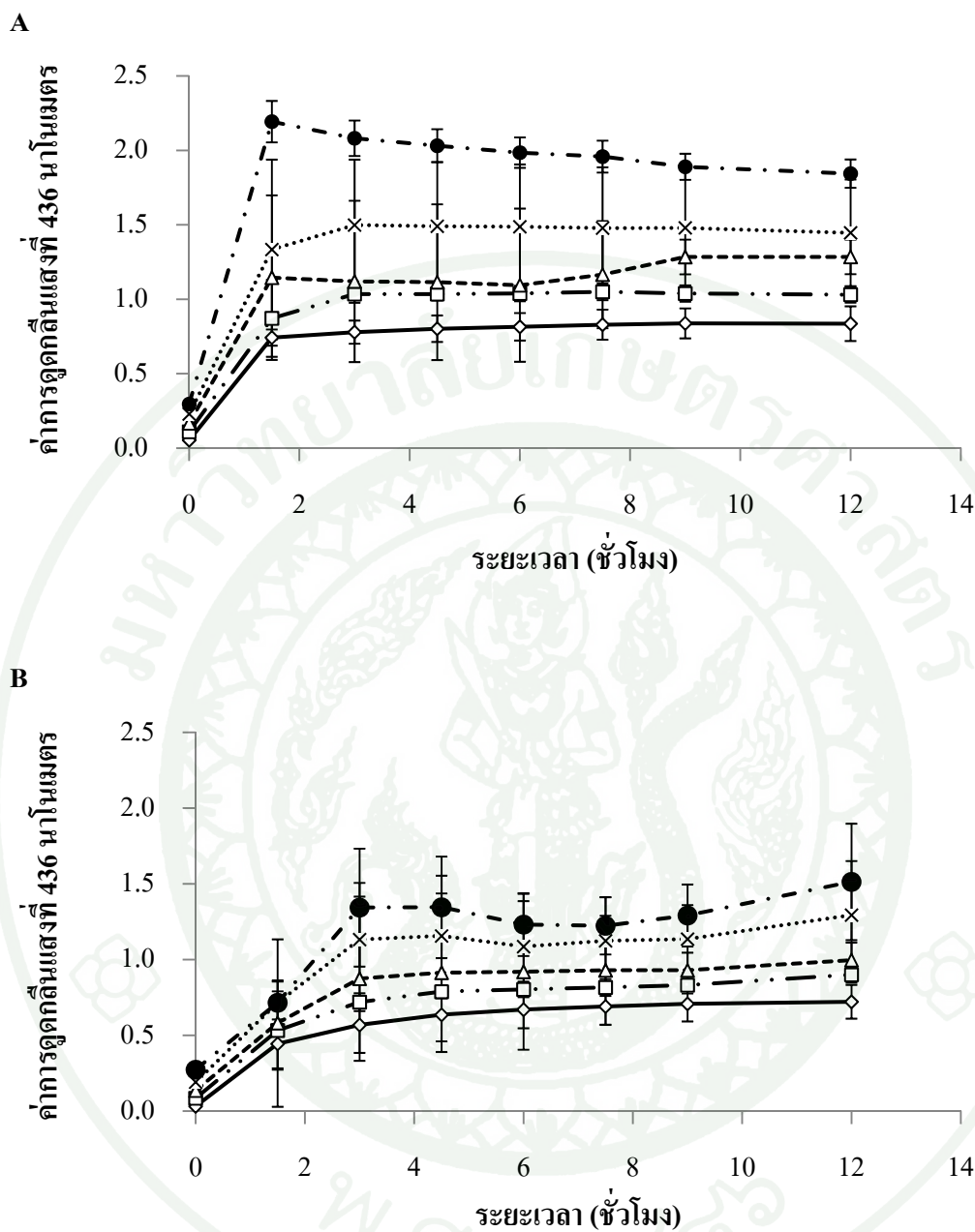
ภาพที่ 35 ปริมาณการลดลงของ Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◇—), 200 (—□—), 300 (—△—), 400 (—×—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 640 นาโนเมตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายใน ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



ภาพที่ 36 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◆—), 200 (—□—), 300 (—△—), 400 (—×—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



ภาพที่ 37 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◆—), 200 (—□—), 300 (—△—), 400 (—×—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง



ภาพที่ 38 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลาย Telon Blue ที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (—◇—), 200 (—□—), 300 (—△—) และ 500 (—●—) มิลลิกรัมต่อลิตร โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง

A



B



ภาพที่ 39 สีของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 100 (1), 200 (2), 300 (3), 400 (4) และ 500 (5) มิลลิกรัมต่อลิตร ภายหลังจากการจัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (A) และ ภายหลังจากการดูดซับด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (B)

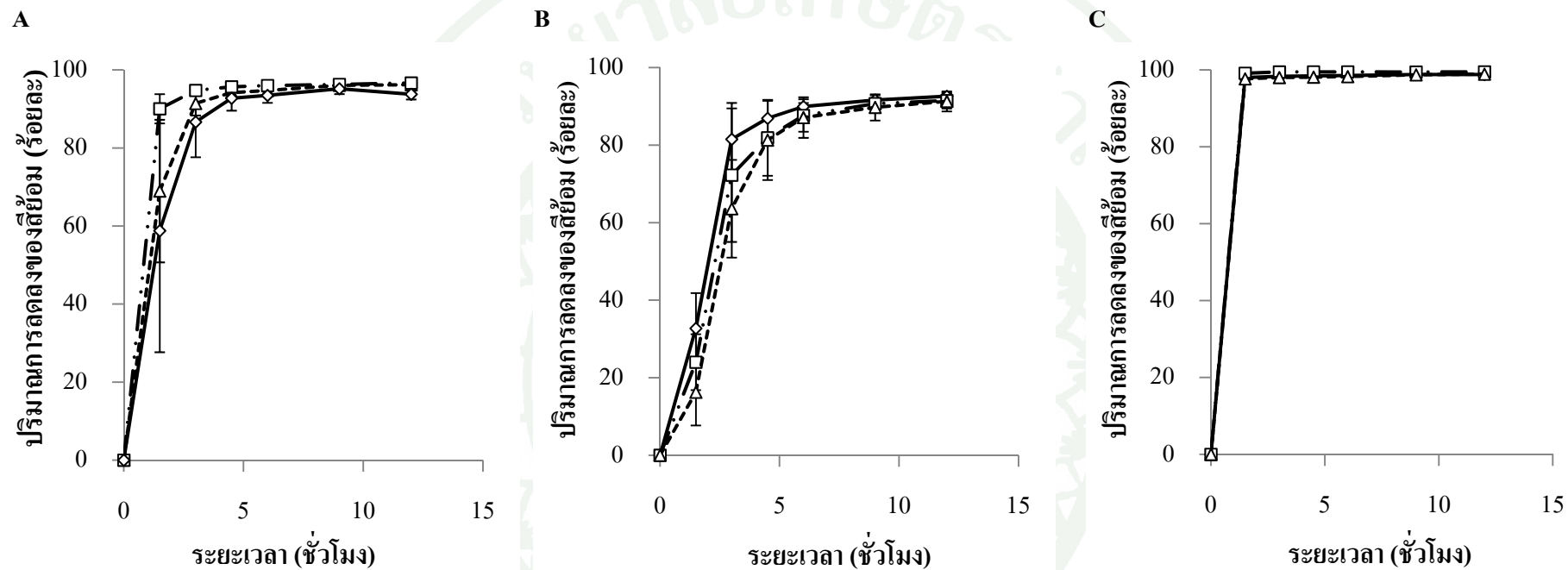
เนื่องจาก *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 กำจัดสารละลาย สีย้อมสังเคราะห์ Novacron Blue และ Telon Blue ในช่วงความเข้มข้นเริ่มต้น 100 – 500 มิลลิกรัม ต่อลิตร ด้วยประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกัน แต่มีปริมาณสีแดงที่เหลืออยู่ในสารละลายซึ่งมีความสัมพันธ์กับความเข้มข้นเริ่มต้นของสีย้อมที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน จึงเลือกค่าความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ของสารละลาย Novacron Blue และ Telon Blue มาใช้ในการศึกษาต่อไป ซึ่งความเข้มข้นเริ่มต้นนี้มีค่าการดูดกลืนแสงสีแดงที่เหลืออยู่ไม่ต่ำเกินไป ทำให้สามารถใช้ในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงสีย้อมระหว่างการบำบัดได้สะดวกขึ้น และมีความชัดเจนในการวิเคราะห์ผลการทดลองมากกว่ากรณีที่มีสารตัวกลางที่มีสีแดงในปริมาณที่สูงขึ้น

4. อิทธิพลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมของ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันลำปะหลัง

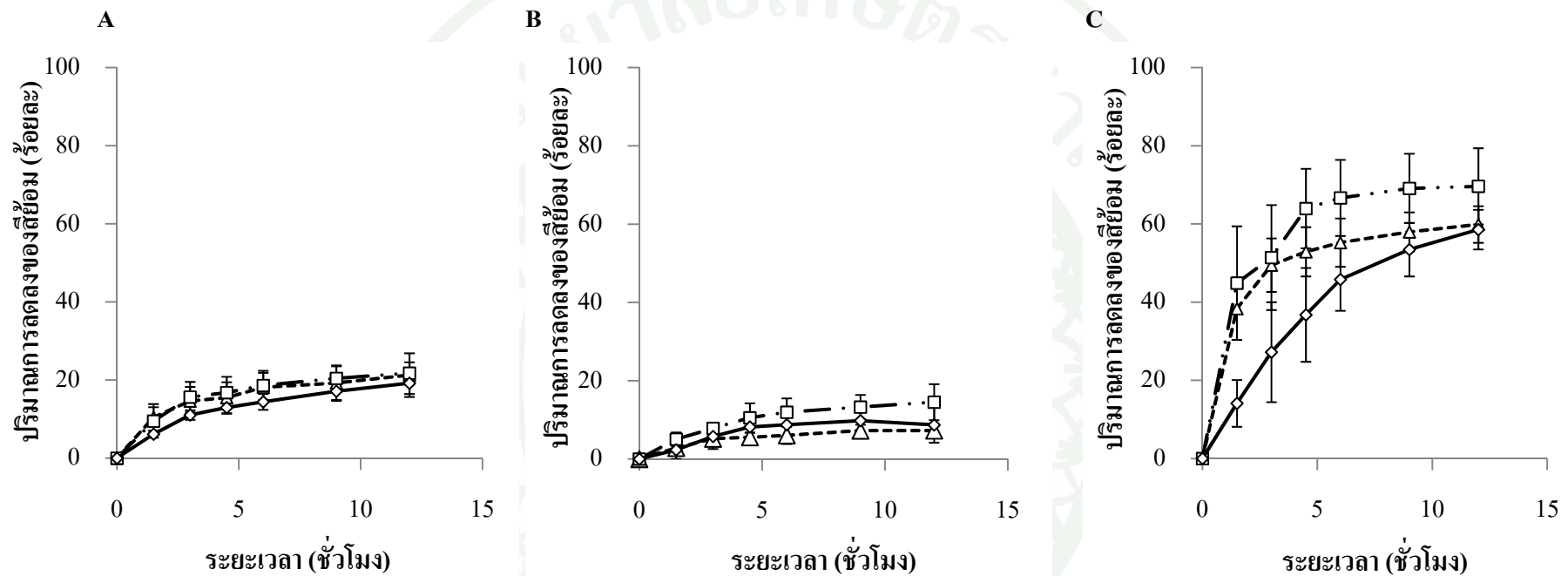
L. polychrous Lev. เป็นราพื้นเมืองที่พบในประเทศไทยซึ่งมีสภาพภูมิอากาศอยู่ในเขตร้อน อุณหภูมิจึงเป็นปัจจัยหนึ่งที่มีอิทธิพลต่อกิจกรรมเมแทบอลิซึมของราชนิดนี้ ถึงแม้ว่าจากการวิเคราะห์การเจริญของ *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันลำปะหลังในสภาวะต่างๆ ในข้อ 1 จะพบว่าการเจริญของราไม่ได้ขึ้นอยู่กับอุณหภูมิโดยตรง (ข้อ 1 หน้า 39) แต่ก็ได้บ่งบอกถึงอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ทั้ง 3 ชนิดซึ่งอาศัยการทำงานของเอนไซม์ที่ *L. polychrous* Lev. ผลิตขึ้นเป็นส่วนสำคัญ จึงมีความสนใจศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสารละลายสีย้อมโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน

ในการทดลองได้ทำการแปรผันอุณหภูมิที่ 30, 37 และ 45 องศาเซลเซียส เมื่อวิเคราะห์ความสามารถในการกำจัดสีย้อมที่ λ_{max} ของสีย้อม Novacron Blue, Navy Blue และ Telon Blue พบว่าทุกค่าอุณหภูมิมีประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมแต่ละชนิดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ที่ใกล้เคียงกัน (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$) (ภาพที่ 40) ในกรณีของการกำจัดด้วยกระบวนการดูดซับสีย้อมบนพื้นผิวเส้นใยราและเหง้ามันเพียงกลไกเดียวพบว่าอุณหภูมิที่แปรผันไม่มีผลกระทบต่อปริมาณสี Novacron Blue และ Navy Blue ที่ถูกดูดซับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และกำจัดสีย้อมทั้งสองชนิดได้ไม่เกินร้อยละ 22 และ 15 ตามลำดับ ส่วนการดูดซับสีย้อม Telon Blue แม้ปริมาณการดูดซับในแต่ละอุณหภูมิจะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ในบางช่วงเวลา แต่เมื่อสิ้นสุดการทดลองในชั่วโมงที่ 12 ปริมาณสีย้อม Telon Blue ที่ถูกดูดซับบนเหง้ามันและเส้นใยราในทุกค่าอุณหภูมิกลับมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) (ภาพที่ 41)

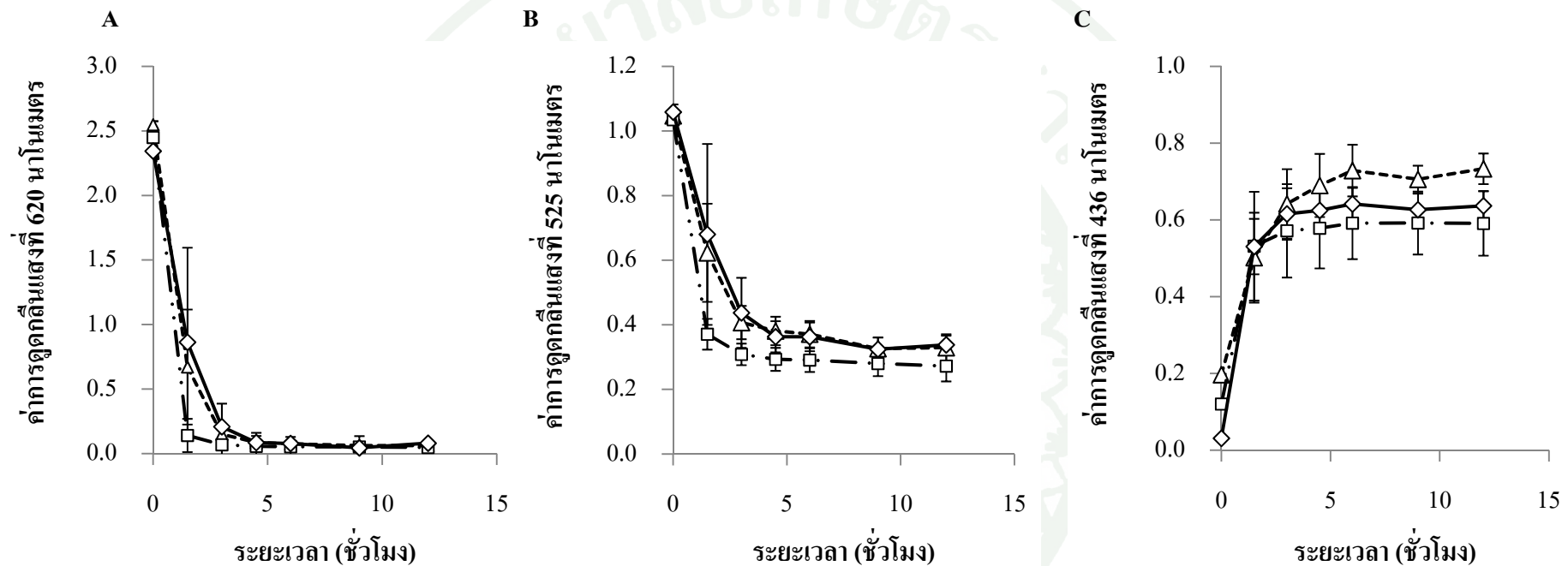
สีที่ปรากฏของสารละลายสีทั้ง 3 ชนิด หลังการทำปฏิกิริยาจนสิ้นสุดการทดลองในช่วงโมเมนต์ 12 เป็นสีเช่นเดียวกับที่สังเกตพบในการศึกษาส่วนของอิทธิพลของความเข้มข้นของสีย้อม Novacron Blue และ Telon Blue ต่อการกำจัดโดย *L. polychorus* Lev. (ภาพที่ 34A(3) หน้า 77 และ ภาพที่ 39A(3) หน้า 84) และการศึกษาอิทธิพลของความชื้นแห้งมันต่อการกำจัดสีย้อม Navy Blue (ภาพที่ 21D หน้า 60) ส่วนค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน สีแดง และสีเหลืองที่เปลี่ยนไปที่ระยะเวลา ต่างๆ (ภาพที่ 42 – 44) สอดคล้องกับสีที่ปรากฏคือ Novacron Blue มีสีส้ม ซึ่งพบค่าการดูดกลืนแสง สีแดงที่เหลือน้อยเพียง 0.27 – 0.33 และสีเหลืองคงเหลือน้อยในช่วง 0.60 – 0.73 Navy Blue และ Telon Blue มีสีแดง ซึ่งพบค่าการดูดกลืนแสงสีแดงที่เหลือน้อยในช่วง 0.40 - 0.65 และค่าการดูดกลืนแสงสี เหลืองที่สูงถึง 0.6 – 0.9 โดยอุณหภูมิที่แปรผันมิได้ส่งผลกระทบต่อค่าการเปลี่ยนแปลงของค่าการ ดูดกลืนแสงเหล่านี้อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ยกเว้นในกรณีของค่าการดูดกลืนแสงสีแดง และสีเหลืองของสารละลายสีย้อม Novacron Blue และ Telon Blue ที่มีค่าเหลือภายหลังการกำจัดที่ อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส น้อยกว่าการกำจัดภายใต้อุณหภูมิ 30 และ 45 องศาเซลเซียส (แตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$) ส่งผลให้มองเห็นสีส้มและสีแดงของสารละลาย Novacron Blue และ Telon Blue ภายหลังการกำจัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส อ่อนกว่าที่อุณหภูมิอื่นๆ นอกจากนี้ ค่าการดูดกลืนแสงสีแดงและสีเหลืองของสารละลายสีย้อม Navy Blue ภายหลังการ บำบัดที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส ยังมีค่าสูงกว่าที่อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส (แตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$) ส่งผลให้มองเห็นสารละลายหลังการบำบัดที่อุณหภูมินี้มีสี แดงเข้มกว่าการบำบัดที่อุณหภูมิต่ำกว่า



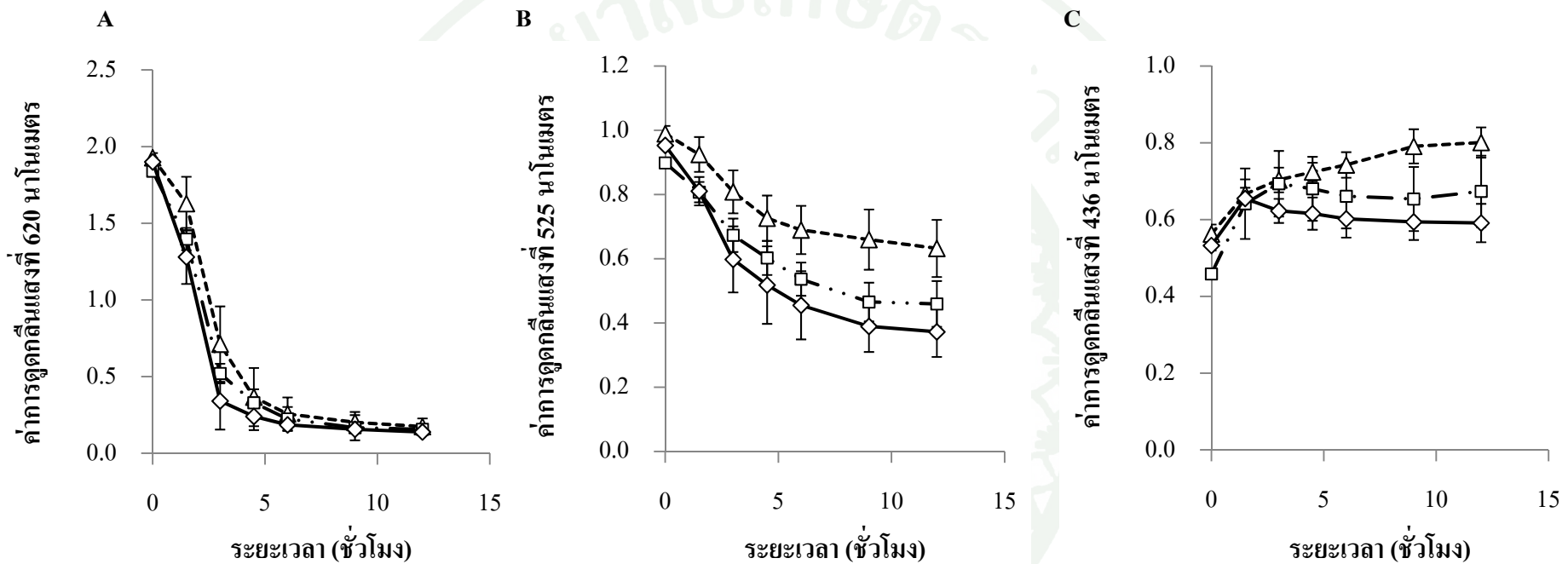
ภาพที่ 40 ปริมาณการลดลงของสารละลายสีของ Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 580 นาโนเมตร (A), Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 600 นาโนเมตร (B) และ Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 640 นาโนเมตร (C) โดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 30 (—◇—), 37 (—□—) และ 45 (---△---) องศาเซลเซียส



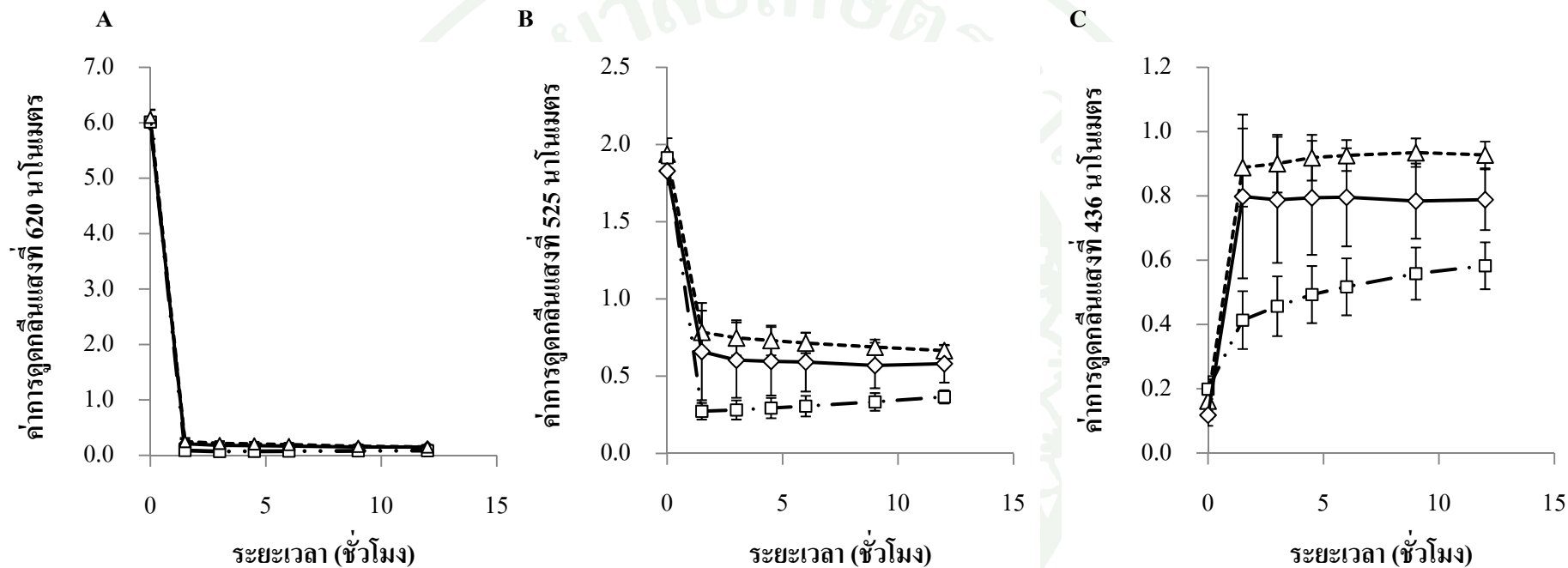
ภาพที่ 41 ปริมาณการลดลงของสารละลายสีของ Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max 580}$ นาโนเมตร (A), Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max 600}$ นาโนเมตร (B) และ Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max 640}$ นาโนเมตร (C) โดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้น เริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 30 (—◆—), 37 (—□—) และ 45 (—△—) องศาเซลเซียส



ภาพที่ 42 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 30 (—◆—), 37 (—◻—) และ 45 องศาเซลเซียส (---◻---); (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 43 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัด อยู่ที่ 30 (—◆—), 37 (—□—) และ 45 (—△—) องศาเซลเซียส; (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 44 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 30 (—◆—), 37 (---□---) และ 45 (---△---) องศาเซลเซียส; (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง

จากการศึกษาข้างต้น พบว่าความสามารถในการกำจัดสีของ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่อุณหภูมิ 30 – 45 องศาเซลเซียส ไม่สอดคล้องกับค่ากิจกรรมของเอนไซม์ แลคเคสที่มีค่าแปรผันตรงกับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในช่วง 25 – 50 องศาเซลเซียส (ข้อ 2 หน้า 44) เนื่องจาก *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันสามารถปลดปล่อยเอนไซม์แลคเคสที่มีปริมาณมากเกินพอต่อการกำจัดสีในแต่ละชุดการทดลอง การกำจัดสีในแต่ละอุณหภูมิจึงเกิดขึ้นในอัตราเร็วที่ใกล้เคียงกัน และถึงจุดสมมูลของการกำจัดภายในเวลา 2 – 6 ชั่วโมงเท่านั้น จากรายงานของ Budda (2012) ที่พบว่าเอนไซม์แลคเคสจาก *L. polychrous* Lev. มีเสถียรภาพที่ดีในช่วงอุณหภูมิ 30 – 37 องศาเซลเซียส และสีที่ปรากฏหลังการกำจัดของสีของ Novacron Blue ที่เป็นสีส้มที่อ่อนที่สุด และ Telon Blue ที่มีสีแดงที่อ่อนกว่าอุณหภูมิอื่นๆ เมื่อกำจัดที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จึงเลือกควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดสีของทั้ง 3 ชนิด ไว้ที่ 37 องศาเซลเซียส ในการทดลองต่อไป

5. อิทธิพลของค่า พีเอช ของน้ำสีต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีของ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันลำปะหลัง

นอกจากอุณหภูมิแล้ว ปัจจัยที่อาจส่งผลต่อประสิทธิภาพในการกำจัดสีอีกหนึ่งปัจจัยคือ ค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำสีที่ถูกกำจัด ซึ่งอาจมีอิทธิพลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ *L. polychrous* Lev. ผลิตขึ้น จนส่งผลต่อความสามารถในการกำจัดสีของเราได้ จากการทดลองที่ผ่านมาพบว่าค่าพีเอชก่อนการบำบัดของสีที่ละลายในน้ำกลั่นมีค่าอยู่ที่ประมาณ 7 ภายหลังจากกำจัดค่าพีเอชลดลงอยู่ที่ประมาณ 4.5 – 4.7 จึงมีความสนใจศึกษาอิทธิพลของค่าพีเอชของน้ำสีขณะที่เกิดการกำจัดสี ต่อประสิทธิภาพในการกำจัดด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน โดยเลือกใช้สารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ซึ่งมีความสามารถรักษาค่าพีเอชของสารละลายในช่วงกว้างได้ดี เพื่อใช้ในการควบคุมค่าพีเอชของน้ำสีให้มีค่าเท่ากับ 3, 5 และ 7

5.1 การกำจัดสีของ Novacron Blue

การวิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max 580}$ นาโนเมตร พบว่าการกำจัดสีของชนิดนี้มีประสิทธิภาพดีที่สุดในการสลายสีของที่มีค่าพีเอช 3 รองลงมาคือที่พีเอช 5 ในขณะที่ค่าพีเอช 7 ทำให้สีของถูกกำจัดได้น้อยที่สุด (ภาพที่ 45A) และมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับปริมาณสีที่ถูกดูดซับบนพื้นผิวของ *L. polychrous* Lev. และเหง้ามันในสารละลายที่พีเอช 7 เช่นกัน (ภาพที่ 45B) แสดงให้เห็นว่าไม่มีการย่อยสลาย Novacron Blue โดยเอนไซม์เกิดขึ้น ณ พีเอช 7 ซึ่งต่างจากพีเอช 3 และ 5 ที่มีกลไกการกำจัดสีเกิดขึ้นได้ทั้งการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และการดูดซับโดยเหง้า

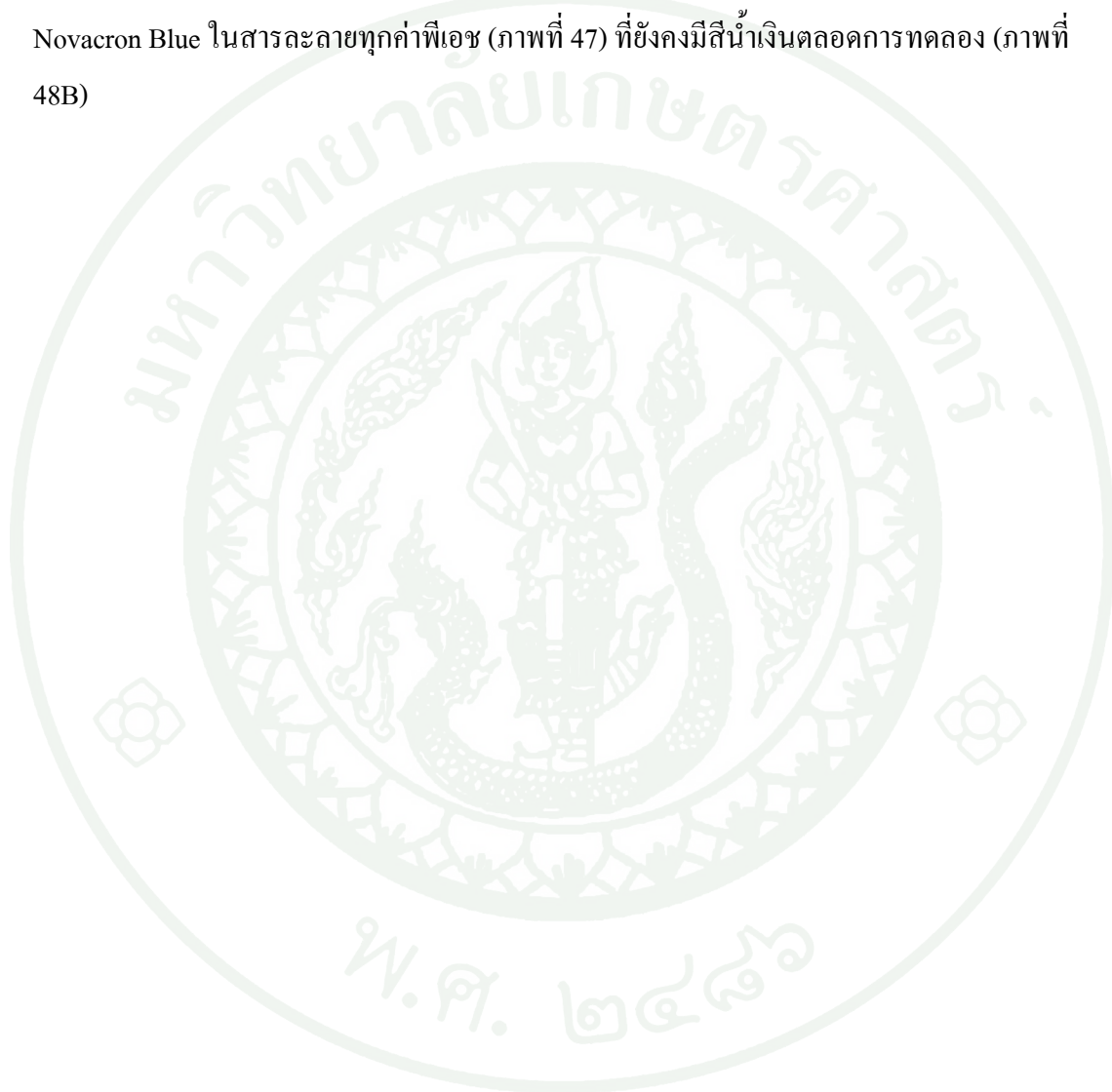
มันและเส้นใยรา Khammuang and Samthima (2007) รายงานว่าฟิเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของ เอนไซม์ แลคเตสที่ผลิตโดย *L. polychrous* Lev. คือฟิเอช 3 ซึ่งสอดคล้องกับความสามารถในการ กำจัดสีย้อมชนิดนี้โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน

อย่างไรก็ตาม เมื่อเปรียบเทียบกับผลการกำจัดในกรณีที่ไม่มีการควบคุมค่าฟิเอชของน้ำสีใน ส่วนของการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นของ Novacron Blue และอิทธิพลของอุณหภูมิ (ภาพที่ 30A หน้า 72 และภาพที่ 40A หน้า 87) พบว่าสารละลายสีย้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น เท่ากันคือ 300 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ฟิเอช 3 ถูกกำจัดด้วยอัตราเร็วที่ช้ากว่า โดยใช้เวลาถึง 12 ชั่วโมง ในการทำให้ประสิทธิภาพการกำจัดอยู่ที่ประมาณร้อยละ 90 ในขณะที่การกำจัดโดยไม่ควบคุมค่า ฟิเอชใช้เวลาเพียง 4.5 ชั่วโมงเท่านั้น ส่วนที่ฟิเอช 5 ถึงแม้จะมีค่าฟิเอชใกล้เคียงกับค่าฟิเอชภายหลัง การกำจัดสีย้อมที่ละลายในน้ำกลั่น แต่พบว่าประสิทธิภาพในการกำจัดลดลงเกือบร้อยละ 20 เมื่อ เปรียบเทียบกับประสิทธิภาพการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ที่ละลายในน้ำกลั่น ซึ่งจะอภิปรายในภาพรวม ต่อไปหลังจากกล่าวถึงผลการทดลองที่สังเกตพบกับสีย้อมชนิดอื่นแล้ว

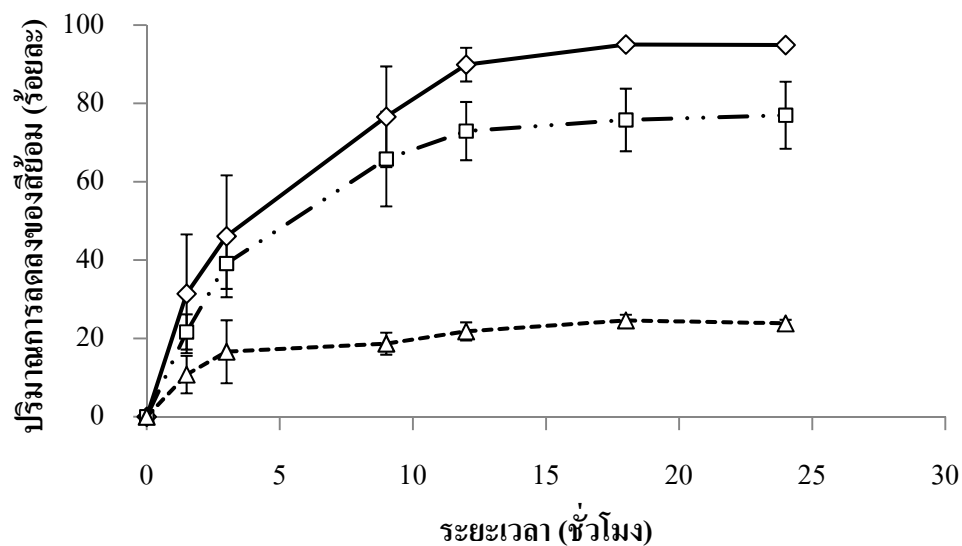
ในกรณีของการดูดซับสีย้อมบนพื้นผิวเส้นใยราและเหง้ามัน พบว่าที่ฟิเอช 3 เกิดการ ดูดซับสีย้อมได้สูงที่สุด คือประมาณร้อยละ 50 ณ ชั่วโมงที่ 18 - 24 ซึ่งแตกต่างจากการดูดซับสีย้อม ในสารละลายฟิเอช 5 และฟิเอช 7 อย่างชัดเจน (ภาพที่ 45B) สอดคล้องกับการศึกษาของ Akar *et al.* (2009) ที่พบว่าสีย้อมสังเคราะห์ Reactive 49 ซึ่งเป็นสีย้อมชนิดเดียวกับ Novacron Blue ถูกดูดซับ ด้วยราไทรอท *Agaricus bisporus* ผสมกับเปลือกลูกสน *Thuja orientalis* ในสถานะที่มีฟิเอชอยู่ ในช่วง 1 - 3 ได้ดี แต่เมื่อค่าฟิเอชอยู่ในช่วง 4 - 10 ปริมาณสีย้อมที่ถูกดูดซับจะลดลงถึงร้อยละ 90 เนื่องจากในสถานะที่มีความเป็นกรดสูง พื้นผิวของราและเปลือกลูกสนมีประจุบวกจากโปรตอนที่มี ปริมาณเพิ่มขึ้น ส่งผลให้เกิดแรงดึงดูดกับ Reactive 49 ซึ่งมีประจุลบได้ดีกว่าในสถานะที่มีค่าฟิเอช สูง ซึ่งจะทำให้เกิดผลในทางตรงข้ามกัน

การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) สีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) และสี เหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ที่ค่าฟิเอช 3 หลังการกำจัด (ภาพที่ 46) มี ค่าใกล้เคียงกับการทดลองในส่วนของการศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ (ภาพ ที่ 42 หน้า 89) แต่มีอัตราเร็วในการเปลี่ยนแปลงที่ช้ากว่า เช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืน แสงที่วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max 580}$ นาโนเมตร โดยในชั่วโมงที่ 18 จึงจะเห็นสีของสารละลายมีเจดสีส้ม เช่นเดียวกับการศึกษาที่กล่าวถึง [ภาพที่ 48A(1)] สอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน สีแดง และสีเหลืองที่เหลืออยู่ ส่วนสารละลายสีย้อมที่ค่าฟิเอช 5 มีการเปลี่ยนแปลงเจดสีที่เริ่มคงที่ใน

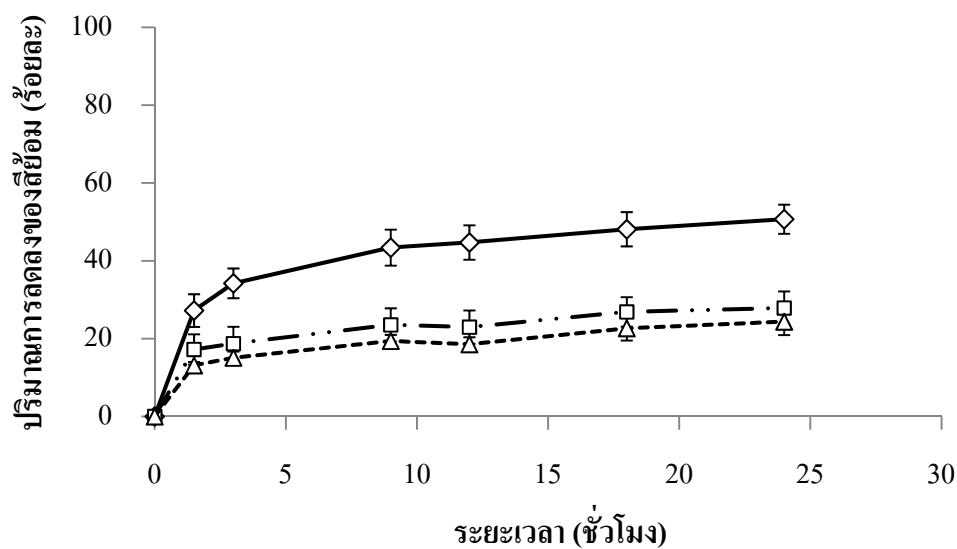
ชั่วโมงที่ 12 แต่เนื่องจากมีค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน สีแดง และสีเหลืองที่เหลือน้อยกว่าที่การกำจัดที่ค่าพีเอช 3 จึงทำให้เจดสีหลังการบำบัดมีสีส้มเข้ม [ภาพที่ 48A(2)] ส่วนการกำจัด Novacron Blue ที่พีเอช 7 ไม่พบการเปลี่ยนแปลงเจดสีตลอดการทดลอง [ภาพที่ 48A(3)] ซึ่งสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่ลดลงเพียงเล็กน้อย ในขณะที่ค่าการดูดกลืนแสงสีแดงและสีเหลืองกลับมีค่าเพิ่มขึ้น (ภาพที่ 46) ทำให้มองเห็นสีน้ำเงินที่เข้มขึ้น เช่นเดียวกับการศึกษาการดูดซับสีข้อม Novacron Blue ในสารละลายทุกค่าพีเอช (ภาพที่ 47) ที่ยังคงมีสีน้ำเงินตลอดการทดลอง (ภาพที่ 48B)



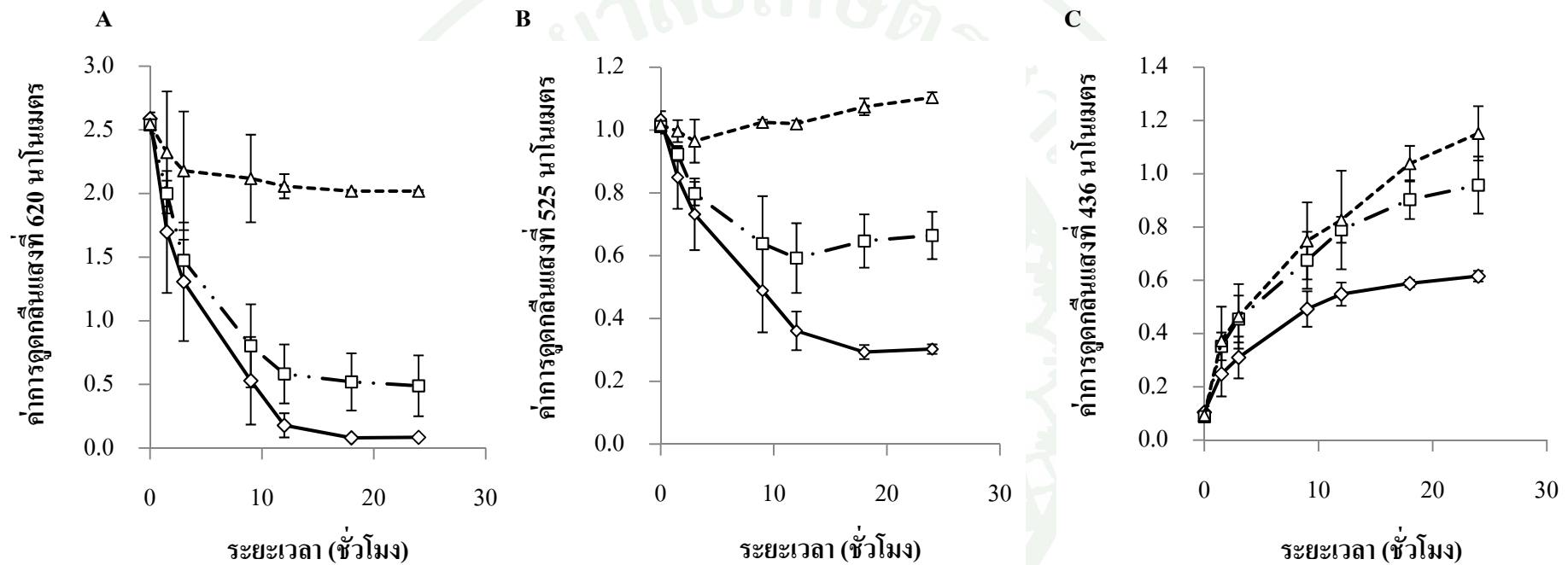
A



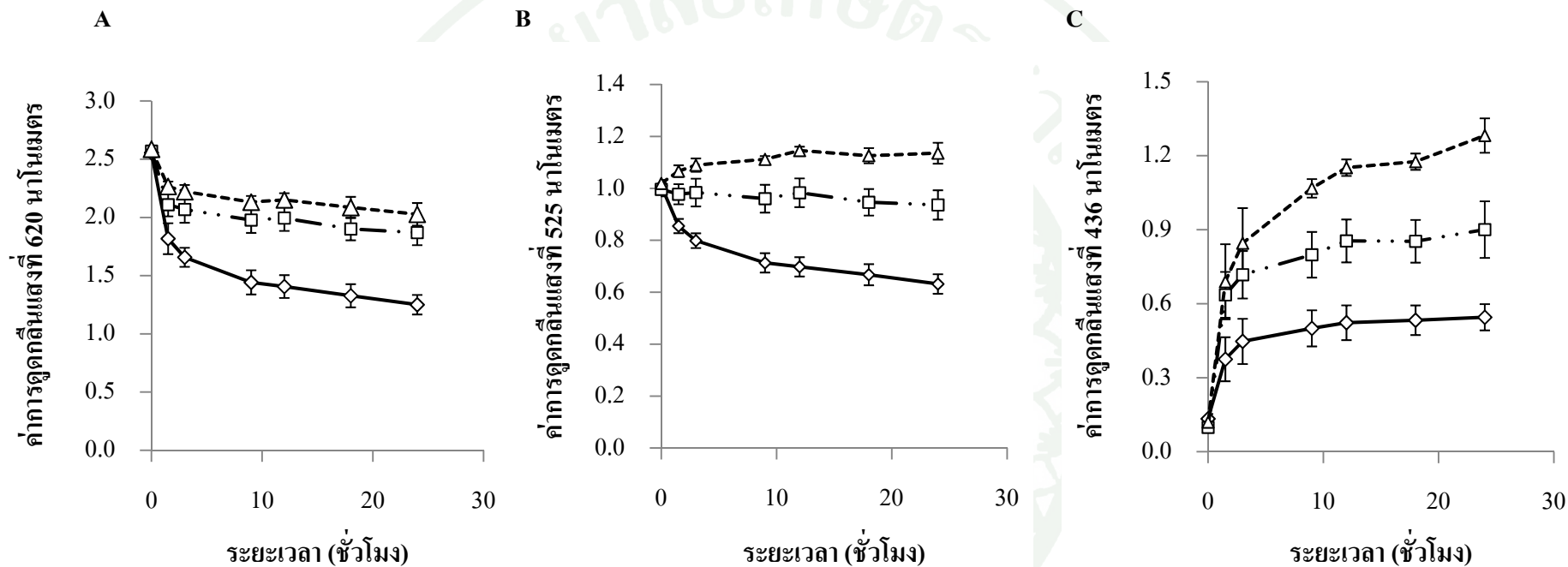
B



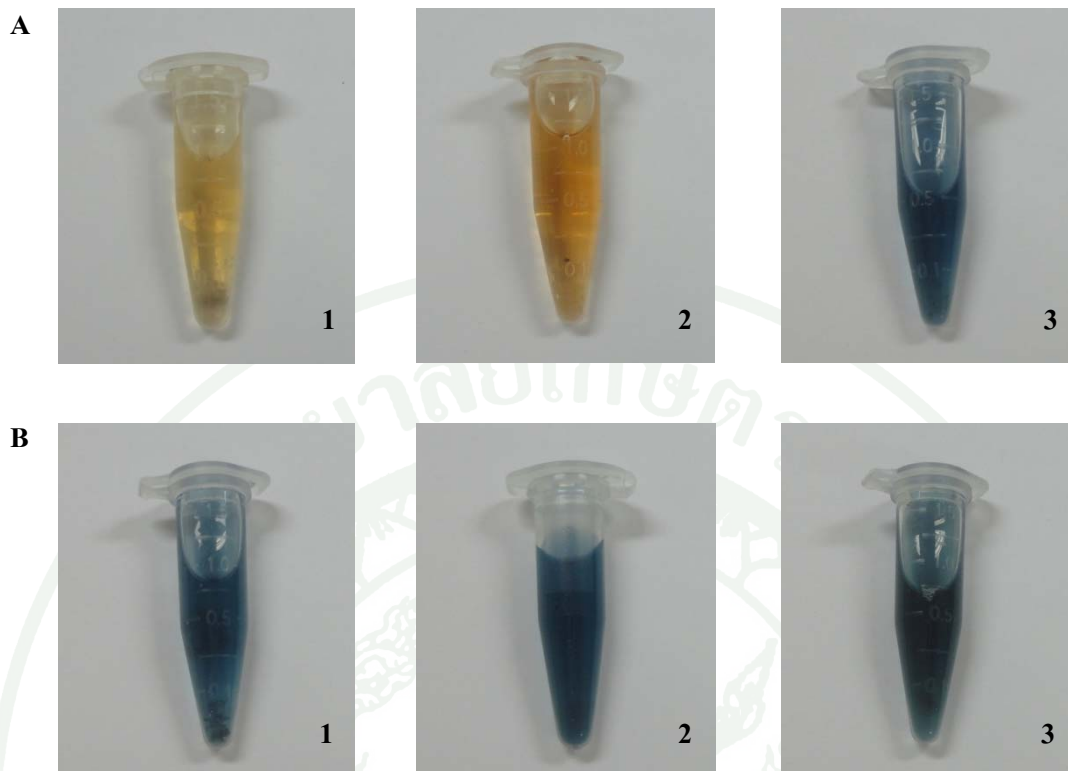
ภาพที่ 45 ปริมาณการลดลงของ Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (—◻—) และ 7 (---△---) โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 18 ชั่วโมง วิเคราะห์ที่ λ_{max} 580 นาโนเมตร



ภาพที่ 46 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่พีเอช 3 (—◆—), 5 (---□---) และ 7 (···△···) หลังจากกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิกรัม เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส; (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 47 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่พีเอช 3 (◆), 5 (◻) และ 7 (△) หลังจากกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส; (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 48 สีของสารละลาย Novacron Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่พีเอช 3 (1) พีเอช 5 (2) และพีเอช 7 (3) ภายหลังจากการจัดเป็นเวลา 24 ชั่วโมงด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (A) และภายหลังจากดูดซับด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันในสถานะเดียวกัน แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (B)

5.2 การกำจัดสีย้อม Navy Blue

การกำจัดสีย้อมชนิดนี้ในสารละลายบัฟเฟอร์ที่พีเอช 3 และพีเอช 7 ด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเมื่อวิเคราะห์ที่ $\lambda_{\text{max}} 600$ นาโนเมตร มีการลดลงของสีย้อมไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากของปัจจัยที่มีการอบฆ่าเชื้อทำลายเอนไซม์ ส่วนที่พีเอช 5 พบว่าเหง้ามันและเส้นใยสามารถดูดซับ Navy Blue ได้ต่ำกว่าที่พีเอชอื่นๆ ถึงกว่าร้อยละ 30 (แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p \leq 0.05$) และพบการกำจัดผ่านทั้งกลไกการย่อยสลายด้วยเอนไซม์และการดูดซับ ซึ่งต่างจากที่พีเอช 3 และ 7 ที่อาศัยการดูดซับเป็นหลักในการกำจัด (ภาพที่ 49)

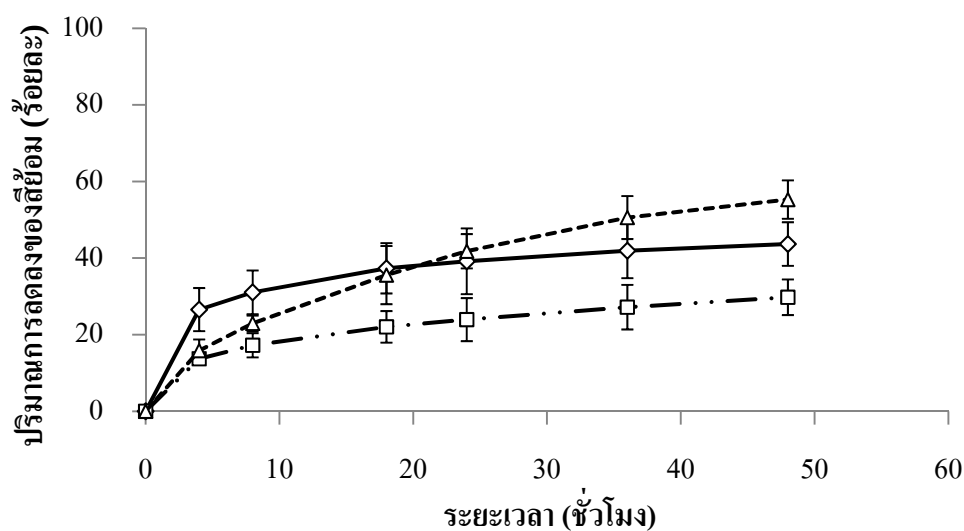
เมื่อเปรียบเทียบผลการทดลองที่ได้กับการกำจัดโดยไม่ควบคุมค่าพีเอช ในส่วนของการศึกษาอิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นของเหง้ามันและอิทธิพลของอุณหภูมิต่อการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ซึ่งสามารถกำจัดสี Navy Blue ได้ถึงร้อยละ 70 - 90 ภายใน 8 ชั่วโมงแรกของการทดลอง (ภาพที่ 20A และ 40B) จะเห็นได้อย่างชัดเจนว่าประสิทธิภาพในการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ณ ทุกค่าพีเอช มีค่าต่ำกว่ามาก (มากกว่าร้อยละ 40) เมื่อเปรียบเทียบในช่วงระยะเวลาการทำปฏิกิริยาที่เท่ากันคือ 8 ชั่วโมง

ค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน (λ_{620} นาโนเมตร) ที่เหลืออยู่ของสารละลาย Navy Blue ที่ทุกค่าพีเอช มีค่าสูงกว่า 1.00 ตลอดการทดลอง ยกเว้นที่ค่าพีเอช 7 ที่ในชั่วโมงที่ 48 มีค่าอยู่ที่ประมาณ 0.91 - 0.98 (ภาพที่ 50A และ 51A) ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงช่วงนี้ยังคงส่งผลให้สังเกตเห็นสีน้ำเงินในสารละลายตลอดการทดลอง อย่างไรก็ตาม สีที่ปรากฏแก่สายตายังมีความแตกต่างกันบ้างในเฉดสีที่แต่ละค่าพีเอช ซึ่งสอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงสีแดง (λ_{525} นาโนเมตร) และค่าการดูดกลืนแสงสีเหลือง (λ_{436} นาโนเมตร) ที่เหลืออยู่ในสารละลาย โดยที่พีเอช 3 มีค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน สีแดง และสีเหลืองอยู่ค่อนข้างต่ำกว่าที่พีเอชอื่นๆ ทำให้สารละลายมีสีน้ำเงินที่จางลง จนมีสีเทาในบางตัวอย่างการทดลอง [(ภาพที่ 52A(1) และ 52B(1))] ส่วนสารละลายที่มีค่าพีเอช 5 มีค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินและสีแดงที่ค่อนข้างคงที่ และอยู่ในระดับที่สูงกว่าสารละลายที่ค่าพีเอชอื่นๆ สีที่ปรากฏจึงมีสีน้ำเงินเข้มตลอดการทดลอง [ภาพที่ 52A(2) และ 52B(2)] ในกรณีของ Navy Blue ที่มีค่าพีเอช 7 นอกจากจะมีค่าการดูดกลืนแสงที่ลดลงในปริมาณที่ใกล้เคียงกับที่ค่าพีเอช 3 แล้ว ยังมีการเพิ่มขึ้นของค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองที่สูงกว่าที่ค่าพีเอชที่เหลือ ทำให้สังเกตเห็นสีเขียวของสารละลายในระหว่างการทดลอง [ภาพที่ 52A(3) และ 52B(3)]

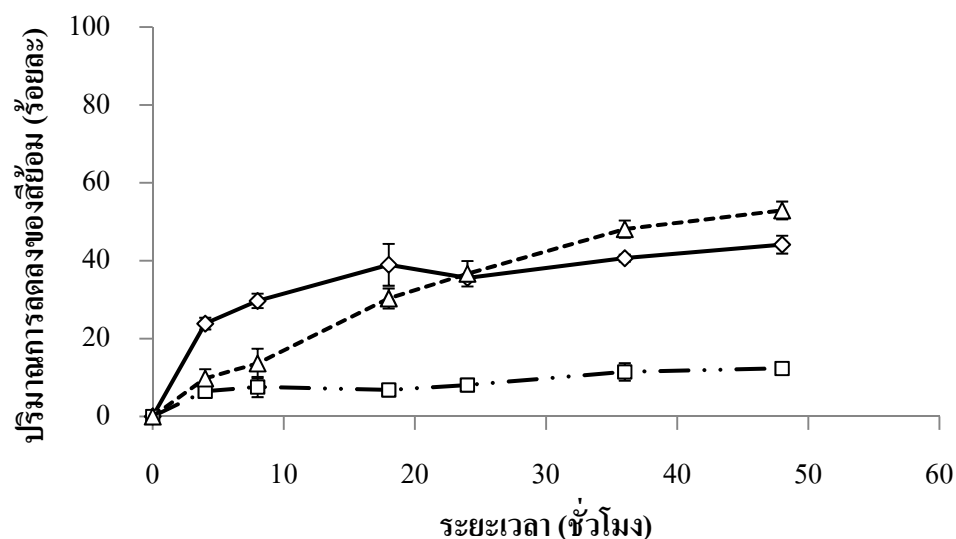
Navy Blue ที่ถูกย่อยสลายโดยเอนไซม์ที่ผลิตโดย *L. polychorus* Lev. เปลี่ยนสีเป็นสีม่วงแดง ดังแสดงให้เห็นในภาพที่ 21D จากผลการทดลองในส่วนนี้ซึ่งไม่พบการเปลี่ยนสีเป็นสีม่วงแดง และการลดลงของสีที่วัดที่ $\lambda_{\max}$ 600 นาโนเมตร ที่พบว่ามีความแตกต่างโดยการใส่เชื้อที่ไม่ผ่านการอบฆ่าเชื้อและทำลายเอนไซม์ลดลงสูงกว่าการอบฆ่าเชื้อและทำลายเอนไซม์ถึงร้อยละ 15 ณ พีเอช 5 แต่ไม่ได้ก่อให้เกิดความแตกต่างของสีของสารละลายที่สังเกตด้วยสายตา จึงอาจกล่าวได้ว่า สารละลายสี Navy Blue ไม่สามารถถูกย่อยสลายได้อย่างมีประสิทธิภาพโดยเอนไซม์ที่ผลิตโดย *L. polychorus* Lev. เมื่ออยู่ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ที่พีเอช 3, 5 และ 7

จากผลการทดลองดังกล่าว ไม่สามารถอธิบายความสัมพันธ์ระหว่างพีเอชของสารละลายและการกำจัดสีของ Navy Blue ได้ เนื่องจากการทำงานของเอนไซม์ถูกรบกวนด้วยบัฟเฟอร์ อย่างไรก็ตาม สังเกตพบความสัมพันธ์ระหว่างการดูดซับสีของชนิดนี้กับค่าพีเอชของสารละลายบัฟเฟอร์ โดยพีเอช 3 และ 7 เป็นสภาวะที่ทำให้เกิดการดูดซับได้มากกว่าที่พีเอช 5 ซึ่งยังไม่ทราบสาเหตุที่ทำให้เกิดความสัมพันธ์นี้ จึงควรมีการศึกษาเพิ่มเติมในอนาคต

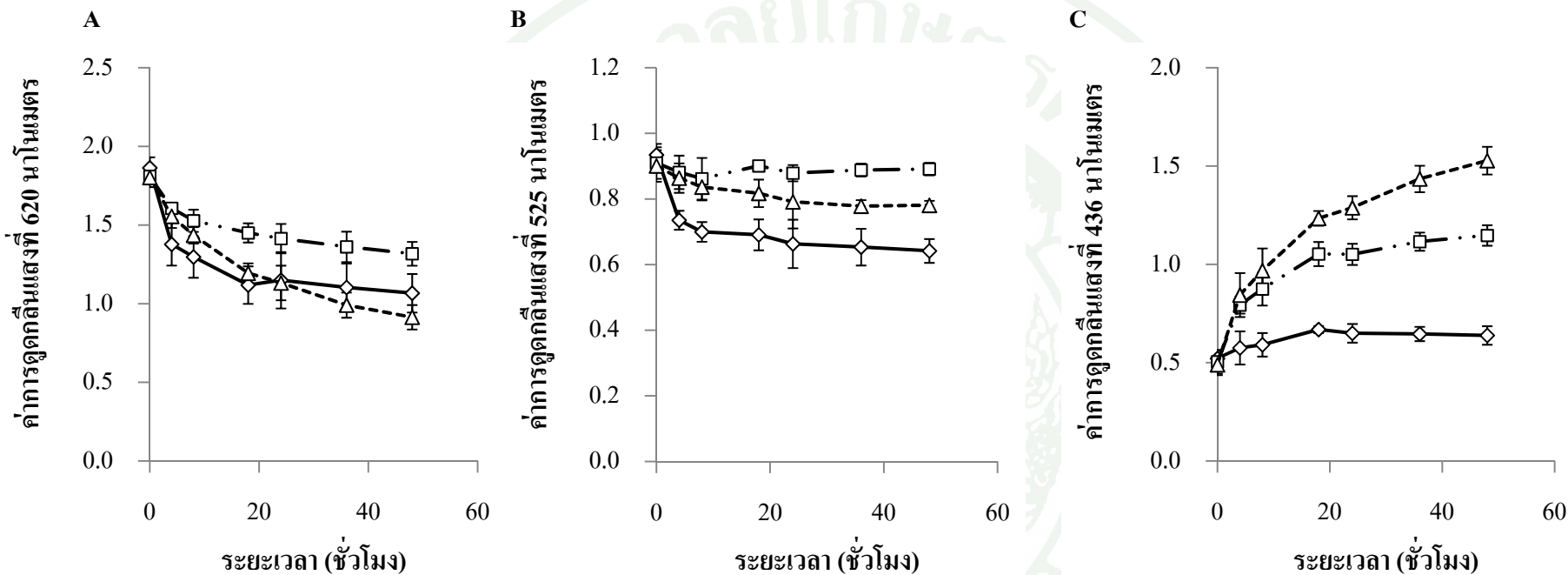
A



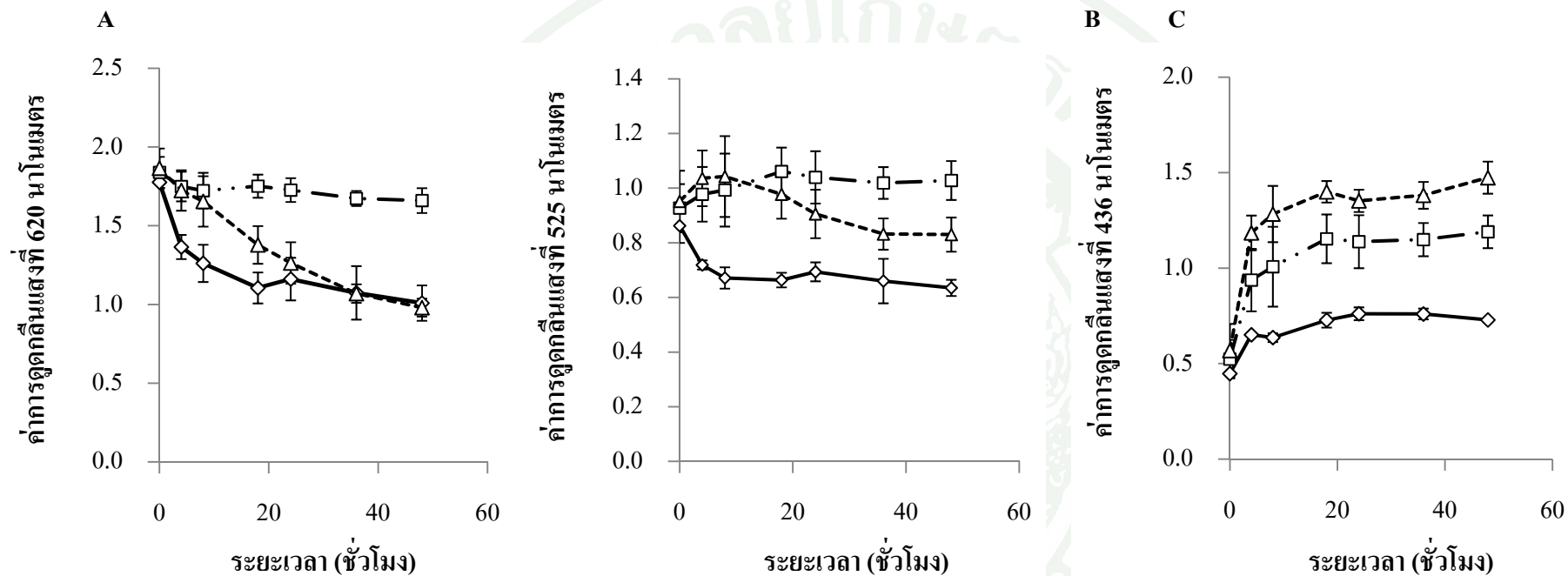
B



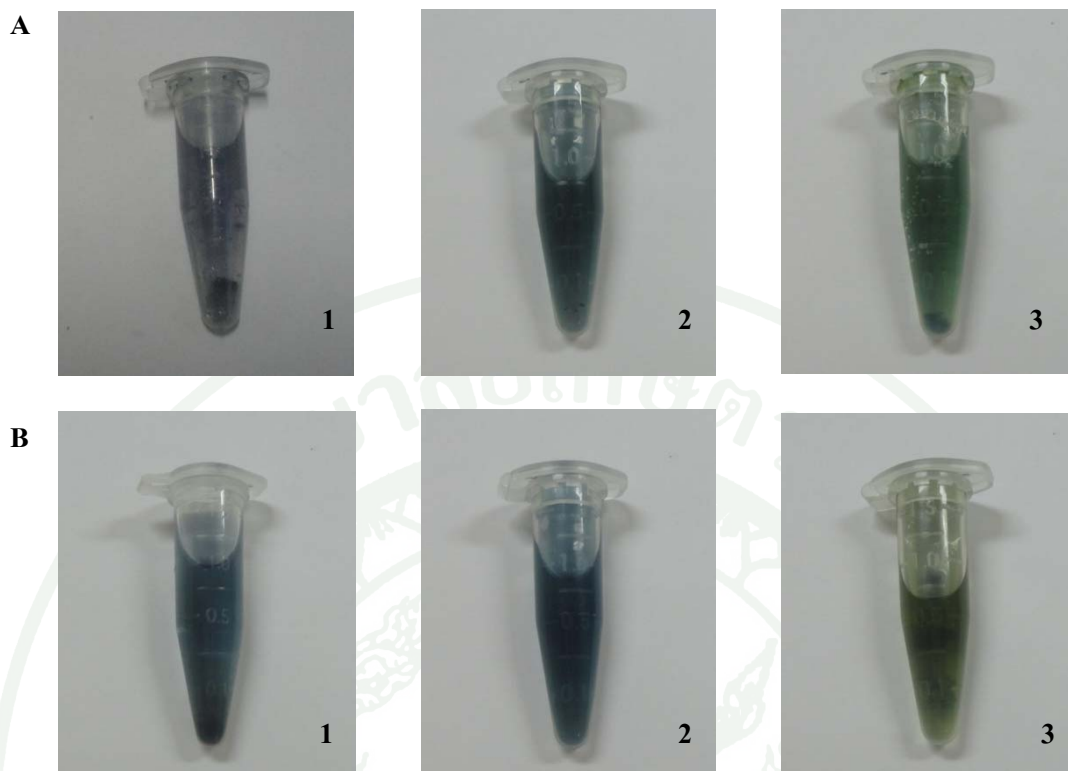
ภาพที่ 49 ปริมาณการลดลงของ Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (---▲---) และ 7 (····□····) โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 600 นาโนเมตร



ภาพที่ 50 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (—□·—) และ 7 (---△---) หลังถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส; (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 51 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (—□—) และ 7 (—△—) หลังการดูดซับโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกักอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส; (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 52 สีของสารละลาย Navy Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 50 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (1), พีเอช 5 (2) และพีเอช 7 (3) ภายหลังจากการจัดเป็นเวลา 48 ชั่วโมงด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (A) และภายหลังจากดูดซับด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (B)

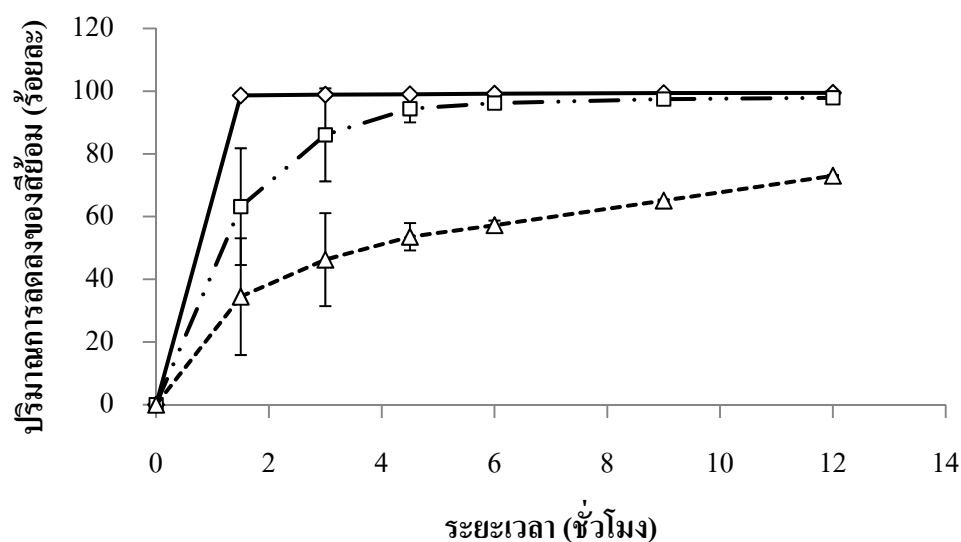
5.3 การกำจัดสีย้อม Telon Blue

การวิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 640 นาโนเมตร พบว่าการกำจัด Telon Blue โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันในสารละลายค่าพีเอช 3 มีค่าสูงถึงร้อยละ 99 ณ ชั่วโมงที่ 3 ของการทดลอง ในขณะที่สารละลายที่ค่าพีเอช 5 มีอัตราเร็วในการกำจัดที่ช้ากว่าที่พีเอช 3 แต่มีปริมาณ Telon Blue ที่ถูกกำจัดอยู่ในระดับเดียวกับที่พีเอช 3 ณ ชั่วโมงที่ 12 ของการทดลอง ส่วนพีเอช 7 มีอัตราเร็วและประสิทธิภาพในการกำจัดต่ำที่สุด โดยปริมาณสีย้อมที่ถูกกำจัดมีค่าอยู่ที่ร้อยละ 73 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 53A) ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับการดูดซับสีย้อม Telon Blue บนพื้นผิวเส้นใยและเหง้ามันในสารละลายที่พีเอชเดียวกัน (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$) (ภาพที่ 50B) เป็นที่น่าสังเกตว่าพีเอช 3 – 7 ไม่มีอิทธิพลต่อความสามารถในการดูดซับ Telon Blue โดยเหง้ามันและเส้นใย ซึ่งต่างจากสี Novacron Blue และ Navy Blue ทั้งนี้เนื่องมาจากความแตกต่างทางโครงสร้างโมเลกุลของสี

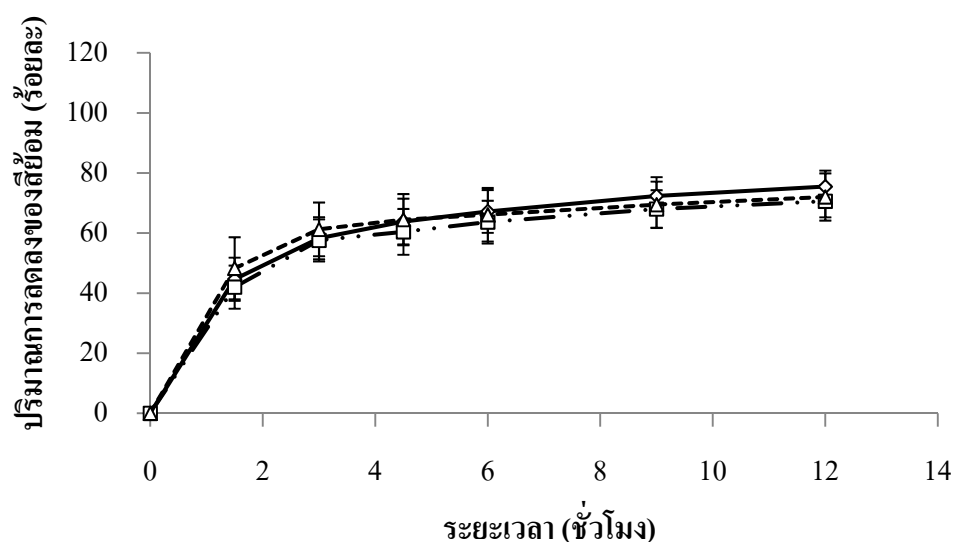
เมื่อเปรียบเทียบกับกำจัดสีย้อมชนิดเดียวกันในกรณีที่ไม่มีการควบคุมค่าพีเอชของสารละลายดังที่ได้ศึกษาในส่วนของอิทธิพลของความเข้มข้นเริ่มต้นและอุณหภูมิต่อการกำจัดสีย้อมชนิดนี้ (ภาพที่ 35A และ 40C) พบว่าการกำจัด Telon Blue ที่ละลายในบัฟเฟอร์ McIlvaine พีเอช 3 ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงที่สุด มีประสิทธิภาพที่ใกล้เคียงกับการศึกษาทั้ง 2 กรณี (ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p > 0.05$) ทั้งในด้านอัตราเร็วในการทำปฏิกิริยาและปริมาณสีที่กำจัดได้

สีที่ปรากฏภายหลังการบำบัดสารละลาย Telon Blue ที่พีเอช 3 ด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันมีสีส้ม [ภาพที่ 56A(1)] สอดคล้องกับค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงิน สีแดง และสีเหลืองในชั่วโมงที่ 12 ที่เหลืออยู่ประมาณ 0.07, 0.33 และ 0.54 ตามลำดับ ส่วนที่ค่าพีเอช 5 มีค่าการดูดกลืนแสงทั้ง 3 ความยาวคลื่นที่เหลืออยู่เท่ากับ 0.24, 0.89 และ 1.12 ตามลำดับ (ภาพที่ 54) ซึ่งมีค่าสูงกว่าในกรณีของสารละลายที่พีเอช 3 ส่งผลให้มองเห็นสารละลายมีสีส้มแดง [ภาพที่ 56A(2)] สำหรับสารละลายที่พีเอช 7 ไม่มีการเปลี่ยนแปลงเจดสีตลอดการทดลอง [ภาพที่ 56A(3)] เช่นเดียวกับการดูดซับสีย้อม Telon Blue บนเหง้ามันและเส้นใยในทุกค่าพีเอช เนื่องจากค่าการดูดกลืนแสงสีน้ำเงินที่เหลืออยู่สูงถึง 1.70 เมื่อสิ้นสุดการทดลอง (ภาพที่ 54A และ ภาพที่ 55A) ในส่วนของค่าการดูดกลืนแสงสีเหลืองในสารละลายค่าพีเอช 7 หลังการทดสอบการดูดซับสีย้อม Telon Blue ที่มีค่าเพิ่มขึ้นสูงกว่าที่ค่าพีเอชอื่นๆ (ภาพที่ 55C) ส่งผลให้มองเห็นสีของสารละลายมีสีน้ำเงินแกมเขียวหลังสิ้นสุดการทดลอง

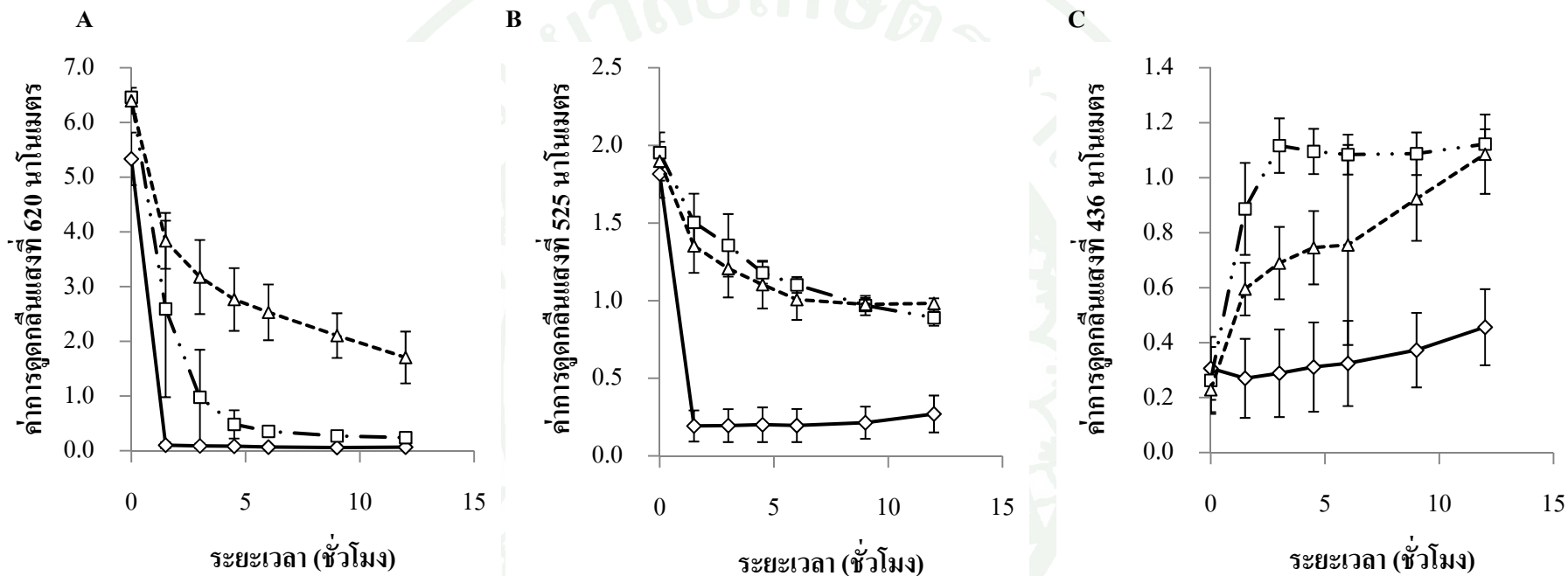
A



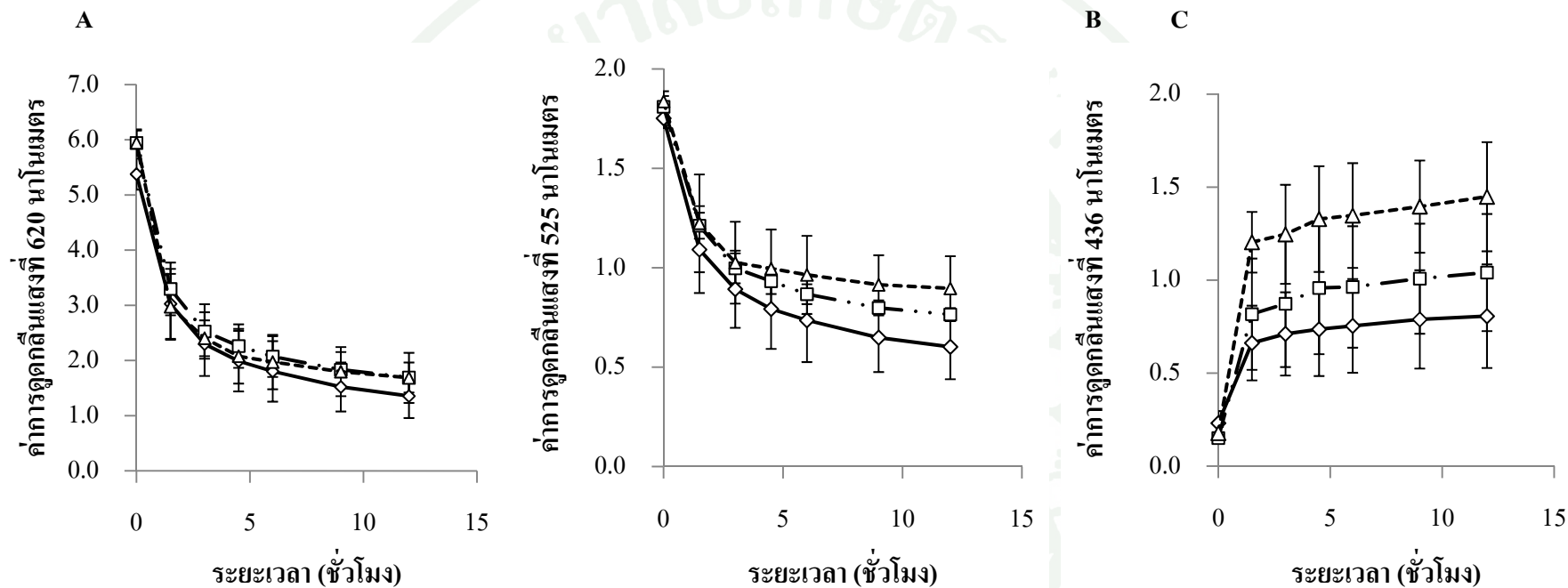
B



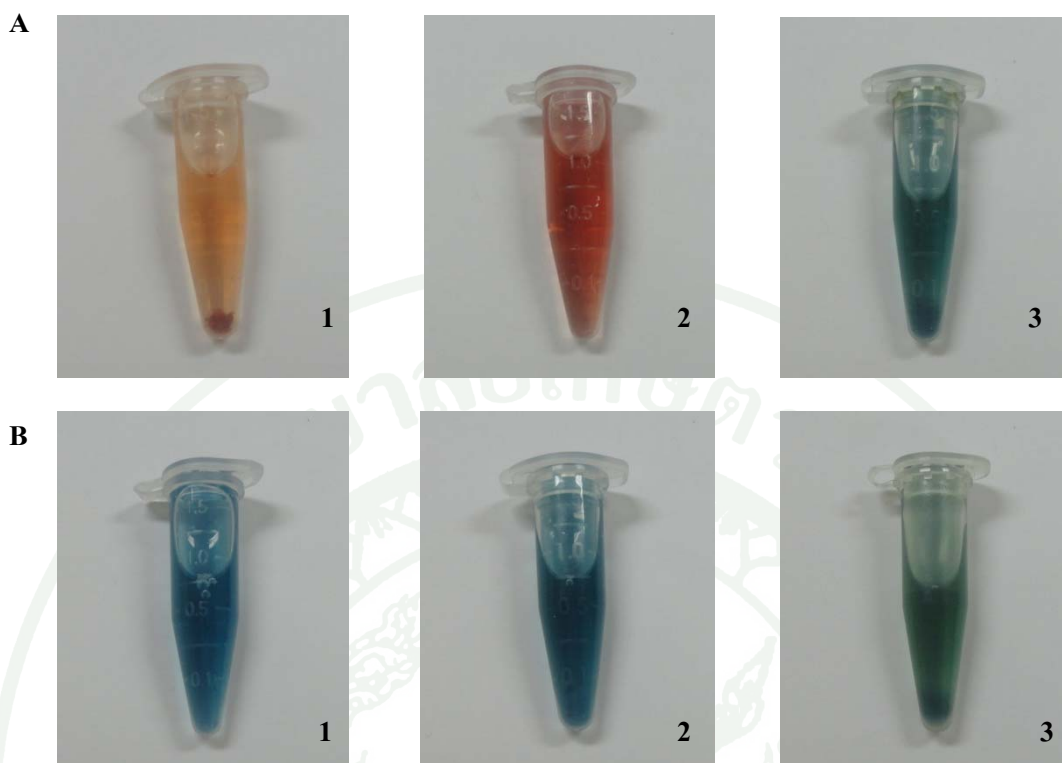
ภาพที่ 53 ปริมาณการลดลงของ Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (—□—) และ 7 (—△—) โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร; (A) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ (B) *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง วิเคราะห์ที่ $\lambda_{\max}$ 640 นาโนเมตร



ภาพที่ 54 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีย้อม Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (—◻—) และ 7 (—◻—) ระหว่างการกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 ภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เป็นเวลา 3 สัปดาห์ ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส;
 (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 55 การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่นต่างๆ ของสารละลายสีข้อม Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายใน สารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอช 3 (—◆—), 5 (---□---) และ 7 (···△···) ระหว่างการดูดซับโดย *L. polychrous* Lev. เจริญ บนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง ควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัดอยู่ที่ 37 องศาเซลเซียส; (A) λ_{620} นาโนเมตร สำหรับสีน้ำเงิน (B) λ_{525} นาโนเมตร สำหรับสีแดง และ (C) λ_{436} นาโนเมตร สำหรับสีเหลือง



ภาพที่ 56 สีของสารละลาย Telon Blue ความเข้มข้นเริ่มต้น 300 มิลลิกรัมต่อลิตร ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ พีเอช 3 (1), 5 (2) และ 7 (3) ภายหลังจากการจัดเป็นเวลา 12 ชั่วโมงด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังภายในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ที่ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 3 สัปดาห์ (A) และภายหลังจากดูดซับด้วย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน 3 สัปดาห์แล้วอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 18 ชั่วโมง (B)

เมื่อพิจารณาถึงกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสที่วิเคราะห์ในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ในช่วงพีเอช 3 – 7 จากการศึกษาในข้อ 2 หน้า 43 อธิบายได้ว่า การกำจัดสีของ Novacron Blue และ Telon Blue ที่ละลายในสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine พีเอช 3 มีประสิทธิภาพสูงที่สุดเนื่องจากในสภาวะนี้ทำให้เอนไซม์แลคเคสที่ *L. polychrous* Lev. ผลิตขึ้นมีกิจกรรมสูงที่สุด ส่วนพีเอช 5 สามารถกำจัดสีของทั้งสองชนิดด้วยประสิทธิภาพที่ต่ำกว่าที่พีเอช 3 เนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ที่มีค่าลดลง ในขณะที่พีเอช 7 มีการดูดซับบนพื้นผิวของเหง้ามันและเส้นใยเป็นกลไกหลักในการกำจัดสีของทุกชนิด เนื่องจากเอนไซม์แลคเคสไม่มีค่ากิจกรรมภายใต้สภาวะนี้ นอกจากนี้พีเอชยังมี

อิทธิพลต่อการดูดซับสีชนิดต่างๆ แตกต่างกันไปด้วย ดังนั้นจึงส่งผลต่อประสิทธิภาพการกำจัดสีของ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันที่แตกต่างออกไปเมื่อเปลี่ยนชนิดของสีของ

เป็นที่น่าสังเกตว่าพบอิทธิพลการยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ของสารละลายบัฟเฟอร์ที่ใช้ในการควบคุมพีเอชให้คงที่อย่างชัดเจน โดยเฉพาะอย่างยิ่งในกรณีของสี Navy Blue (ซึ่งเป็นสีที่ถูกย่อยสลายได้ยากที่สุดในจำนวนสีที่ศึกษา) ที่ไม่สามารถสังเกตทางสายตาพบการเปลี่ยนสีอันเนื่องมาจากกิจกรรมของเอนไซม์ในทุกพีเอชที่ศึกษาเมื่อใช้สารละลายสีในบัฟเฟอร์ McIlvaine ดังนั้นการวางแผนการทดลองเกี่ยวกับกิจกรรมของเอนไซม์ที่ต้องการควบคุมพีเอชด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ จึงควรพิจารณาชนิดและความเข้มข้นของสารละลายให้เหมาะสม เพื่อป้องกันการประมวลผลการทดลองผิดพลาดอันเกิดเนื่องมาจากอิทธิพลของบัฟเฟอร์

โดยปกติแล้วน้ำทิ้งจากอุตสาหกรรมสิ่งทอจะมีอุณหภูมิอยู่ที่ประมาณ 50 องศาเซลเซียส และค่าพีเอช 9 – 12 เนื่องจากการใช้สารเคมีประเภทด่าง เช่น NaOH หรือ Na_2CO_3 ในขั้นตอนการฟอกย้อมเส้นด้าย หรือใช้เพื่อเป็นสารช่วยทำให้เกิดการติดสีภายใต้การทำปฏิกิริยาที่อุณหภูมิสูง (ข้อมูลสิ่งทอเชิงลึก, 2552) ดังนั้น การนำ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันสำปะหลังมาใช้ในการกำจัดสีของน้ำทิ้ง ควรมีการปรับค่าพีเอชของน้ำทิ้งให้มีค่าเป็นกรด ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แลคเคสที่ผลิตโดยราชนิดนี้ก่อนการบำบัด ในส่วนของอุณหภูมิของน้ำทิ้งที่สูงถึง 50 องศาเซลเซียสนั้น อยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์แลคเคสจาก *L. polychrous* Lev. จึงไม่จำเป็นต้องมีการลดอุณหภูมิก่อนการกำจัดแต่อย่างใด ซึ่งเป็นการช่วยลดพลังงานและค่าใช้จ่ายในการดำเนินการอีกด้วย

สรุปและข้อเสนอแนะ

สรุป

ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. บนเหง้ามันสำปะหลัง ความชื้นเริ่มต้นของเหง้ามัน เป็นปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการเจริญของ *L. polychrous* Lev. มากที่สุด อย่างไรก็ตาม ปัจจัยที่ศึกษายังมีอิทธิพลร่วมระหว่างกัน จึงส่งผลให้ *L. polychrous* Lev. มีการเจริญได้เหมาะสมที่สุดภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงบนเหง้ามันที่มีขนาด 0.85 – 1.88 มิลลิเมตร ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 - 70 และอุณหภูมิ 34.1 - 37 องศาเซลเซียส

จากการศึกษากิจกรรมของเอนไซม์กลุ่มลิกนินโกลิดิกที่ *L. polychrous* Lev. ผลิตขึ้น หลังจากเจริญบนเหง้ามันเป็นเวลา 3 สัปดาห์ พบเพียงกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสเท่านั้น โดยกิจกรรมของเอนไซม์มีค่าแปรผันตรงกับอุณหภูมิที่เพิ่มขึ้นในช่วง 30 – 50 องศาเซลเซียส และมีค่าแปรผกผันกับค่าพีเอชที่ควบคุมโดยสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ในช่วง 3 – 7 อุณหภูมิและค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการทำงานของเอนไซม์คือ 50 องศาเซลเซียสและพีเอช 3 ตามลำดับ เอนไซม์มีเสถียรภาพที่ดีในช่วงพีเอช 5-7 โดยยังคงมีค่ากิจกรรมของเอนไซม์ถึงร้อยละ 60 – 70 หลังการบ่มผ่านไป 24 ชั่วโมง ในขณะที่ค่าพีเอช 3 เสถียรภาพของเอนไซม์มีค่าลดลงอย่างรวดเร็วถึงร้อยละ 60 ภายในเวลา 1 ชั่วโมง

การจัดสีย้อมสังเคราะห์ 3 ชนิด ได้แก่ Novacron Blue, Navy Blue และ Telon Blue โดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน อาศัยการทำงานของเอนไซม์ที่ราชนิดนี้ผลิตขึ้น และความสามารถในการดูดซับสีย้อมของเส้นใยและเหง้ามันที่ใช้ในการเพาะเลี้ยง ซึ่งมีปัจจัยที่ส่งผลกระทบต่อความสามารถในการบำบัดสรุปได้ดังต่อไปนี้

การจัดสีในสารละลายสีย้อมแปรผันตรงกับความชื้นเริ่มต้นที่ใช้เพาะเลี้ยงราบนเหง้ามัน ถึงแม้ความสามารถในการเจริญของราจะไม่มีแตกต่างกัน ณ ความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 50 และ 70 กลไกการจัดสีที่ได้รับอิทธิพลจากความชื้นเริ่มต้นนี้คือการกำจัดด้วยเอนไซม์เท่านั้น ซึ่งบ่งชี้ถึงความสัมพันธ์ระหว่างการเจริญและการจัดสีย้อมของรา รวมถึงปริมาณน้ำที่ราต้องการใช้ในการเจริญเพื่อผลิตเอนไซม์ ที่สูงกว่าการเจริญเพื่อสร้างเซลล์หรือเส้นใย สำหรับความชื้นเริ่มต้นร้อยละ

ละ 30 ของเหง้ามัน ไม่ก่อให้เกิดการกำจัดสีโดยเอนไซม์ ถึงแม้จะมีการเจริญของราเล็กน้อย

Novacron Blue และ Telon Blue เป็นสีที่ถูกกำจัดโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน ได้ง่าย แสดงให้เห็น โดยความเข้มข้นของสารละลายสีที่สูงถึง 500 มิลลิกรัมต่อลิตร ถูกบำบัดด้วย ประสิทธิภาพที่ไม่แตกต่างจากความเข้มข้นของสีย้อมที่มีค่าต่ำกว่า ถึงแม้จะมีความแตกต่างของการ บำบัดด้วยกลไกการดูดซับในแต่ละความเข้มข้น

อุณหภูมิ 30 - 45 องศาเซลเซียส ไม่ก่อให้เกิดความแตกต่างของความสามารถในการกำจัดสี โดย *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามัน ถึงแม้กิจกรรมเอนไซม์แลคเคสที่ผลิตโดยราชนิดนี้จะ แปรผันตรงกับอุณหภูมิในช่วง 30 - 50 องศาเซลเซียสก็ตาม การที่ความสามารถในการกำจัดสีไม่ได้ รับผลกระทบจากอุณหภูมิในช่วงดังกล่าว เป็นข้อดีในการนำไปใช้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไป เนื่องจากไม่จำเป็นต้องลดอุณหภูมิของน้ำสีให้ต่ำกว่า 50 องศาเซลเซียสมากนัก

ฟิเอร์ของสารละลายสีย้อมเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพในการบำบัดสี ย้อม Novacron Blue และ Telon Blue โดยประสิทธิภาพการบำบัดแปรผกผันกับค่าฟิเอร์ของ สารละลายที่เพิ่มขึ้น เนื่องจากความแตกต่างของกิจกรรมของเอนไซม์แลคเคสที่ *L. polychrous* Lev. ผลิตขึ้น ณ ฟิเอร์ต่างๆ อย่างไรก็ตาม สารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ที่ใช้ในการควบคุมค่าฟิเอร์ของ สีย้อมยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซึ่งสังเกตได้จากประสิทธิภาพในการบำบัดสีย้อมทั้ง 3 ชนิดที่มี ค่าลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับกรบำบัดในกรณีที่ไม่มีการใช้บัฟเฟอร์ดังกล่าว ส่งผลให้ไม่พบ ความสัมพันธ์ระหว่างการกำจัดสี Navy Blue โดยกลไกของเอนไซม์กับฟิเอร์ และพบเพียงอิทธิพล ของ pH ที่มีต่อการดูดซับสี Navy Blue โดยเหง้ามันและเส้นใยรา โดยสีถูกดูดซับได้ที่ฟิเอร์ 3 และ 7 สูงกว่าที่ฟิเอร์ 5

โครงสร้างสีย้อมและชนิดของสีย้อมทั้ง 3 ชนิด เป็นอีกปัจจัยที่พบว่า มีอิทธิพลต่อ ความสามารถในการกำจัดสีย้อมโดย *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามัน จากการศึกษาพบว่าสี ย้อม Navy Blue ที่มีโครงสร้างสีประกอบด้วยหมู่อะโซ ถูกกำจัดด้วยเอนไซม์น้อยกว่าสีย้อม Novacron Blue และ Telon Blue ที่มีหมู่แอนทราควิโนนเป็นองค์ประกอบ นอกจากนี้สีย้อม Telon Blue ที่จัดอยู่ในประเภทการใช้งานของสีย้อมแอซิด ถูกดูดซับโดยเหง้ามันและเส้นใยราได้ดีมากกว่า สีย้อมรีแอคทีฟ Novacron Blue และ Navy Blue

จากผลการศึกษา จึงมีความเป็นไปได้ของการนำเหง้ามันสำปะหลังมาใช้ในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. เพื่อกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ โดยในการเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. ใช้เพียงเหง้ามันและน้ำเพื่อใช้ในการปรับความชื้น การนำมาใช้ในการกำจัดสีย้อมสังเคราะห์ไม่จำเป็นต้องมีการควบคุมอุณหภูมิขณะกำจัด หากมีอุณหภูมิของน้ำอยู่ในช่วง 30 – 45 องศาเซลเซียส แต่มีข้อจำกัดในเรื่องค่าพีเอชของสารละลายสีย้อม จำเป็นต้องให้อยู่ในช่วงพีเอชที่เป็นกรด

ข้อเสนอแนะ

การศึกษาศักยภาพในการกำจัดสีย้อมของ *L. polychrous* Lev. ที่เจริญบนเหง้ามันนี้ ทำการทดลองในขวดรูปชมพู่ซึ่งสามารถกำจัดสีย้อมได้ในปริมาณที่จำกัด จึงควรมีการนำ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันมาทดลองในระบบบำบัดที่ใหญ่ขึ้น เพื่อศึกษาศักยภาพในการนำไปใช้จริง นอกจากนี้ ในการทดลองใช้เพียงเหง้ามันเป็นสับสเตรทเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. เพียงอย่างเดียว โดยมิได้เติมธาตุอาหารอื่นเพิ่มเติม การเติมธาตุอาหารอื่นๆ ลงในเหง้ามันอาจช่วยกระตุ้นการเจริญของเส้นใยและการผลิตเอนไซม์ของ *L. polychrous* Lev. ให้มีปริมาณสูงขึ้นได้

เนื่องจาก *L. polychrous* Lev. มีความสามารถในการกำจัดสีย้อม Novacron Blue, Navy Blue และ Telon Blue ที่ละลายในน้ำกลั่นได้ดีกว่าในสถานะที่มีการควบคุมค่าพีเอช ด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ ซึ่งมีองค์ประกอบของอนุภาคเกลืออนินทรีย์เป็นส่วนประกอบ จึงควรมีการศึกษาถึงชนิดของสารประกอบที่มักพบในน้ำสีย้อมสังเคราะห์จากอุตสาหกรรมสิ่งทอ ที่อาจมีอิทธิพลต่อการทำงานของราชนิดนี้ รวมถึงศึกษาศักยภาพในการกำจัดสีย้อมในน้ำทิ้งจากโรงงานสิ่งทอจริงของ *L. polychrous* Lev. เจริญบนเหง้ามันสำปะหลัง และคุณภาพของน้ำสีหลังการบำบัดด้วยราชนิดนี้ว่ามีคุณภาพเพียงพอต่อการปล่อยสู่สิ่งแวดล้อมหรือไม่

เมื่อสิ้นสุดการทดลองแล้ว เกิดของเหลือซึ่งก็คือเหง้ามันสำปะหลังและเส้นใยราที่ดูดซับสีย้อมหลังการบำบัด จึงควรมีการศึกษาศักยภาพในการใช้ประโยชน์จากของเหลือนี้ต่อไป เช่น นำมาเพาะเลี้ยง *L. polychrous* Lev. เพื่อใช้บำบัดสีย้อมอีกครั้ง พัฒนาเป็นปุ๋ยบำรุงไม้ประดับหรือไม่ ยืนยันด้วยการผสมกับแร่ธาตุอาหารหรือวัสดุอื่นๆ ที่ใช้ในการผลิตปุ๋ย เพื่อให้มีปริมาณสีย้อมที่ตกค้างหรือองค์ประกอบมีผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานที่ยอมรับได้ หรือทำให้แห้งก่อนนำไปเผาเพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงานทางเลือก ซึ่งอาจต้องใช้ในปริมาณที่สูงกว่าเชื้อเพลิงชนิดอื่นๆ เพื่อให้ได้พลังงานที่เท่ากัน เนื่องจากเป็นวัสดุเศษเหลือทางการเกษตรซึ่งให้พลังงานต่ำ

เอกสารและสิ่งอ้างอิง

กรมพัฒนาพลังงานทดแทนและอนุรักษ์พลังงาน กระทรวงพลังงาน. 2551. ราคาชีวมวล.

แหล่งที่มา: <http://www3.dede.go.th/dede/fileadmin/usr/wpd>

/static/alter_energy47/42Table33.pdf. 20 มีนาคม 2552.

กรรณิการ์ นาริโส. 2547. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อประสิทธิภาพการเกิดดอกของเห็ดกระด้าง *Lentinus polychrous* Lev. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ข้อมูลสิ่งทอเชิงลึก. 2552. Waste knowledge: ปัญหามลพิษจากอุตสาหกรรมสิ่งทอ. **Thai Waste Exchange. Net.** แหล่งที่มา: http://www.thaiwasteexchange.net/detail_knowledge.php?kid=37. 7 มิถุนายน 2557.

จันทพร ทองเอกแก้ว. 2552. คุณค่าทางโภชนาการของเห็ดกระด้าง *Lentinus polychrous* Lev. ว. วิทย. มข. 37: 315-319.

จันทิมา อานทอง. 2554. การหาค่าเหมาะที่สุดของการเพาะเลี้ยงเชื้อราทนร้อน *Rhizopus microsporus* TISTR 3518 ต่อการผลิตกลูโคสไมเลสด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

จุฑามาศ บุษราคัมวดี. 2547. สมบัติของถ่านอัดแท่งจากเหง้ามันสำปะหลังโดยอ้างอิงถึงแหล่งวัตถุดิบ ขนาดผง และอัตราส่วนตัวประสาน. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นิรนาม. 2548. สถานภาพมันสำปะหลังในประเทศไทย. แหล่งที่มา: <http://www.sut.ac.th/engineering/envi/002-1.ppt>, 13 พฤศจิกายน 2549.

นิรนาม. 2556. มาตรการพลังงานทดแทน: การผลิตพลังงานจากชีวมวล. บริษัทอีเอ็มกรุ๊ปจำกัด. แหล่งที่มา: http://www.em-group.co.th/Technology_Biomass.html. 7 มิถุนายน 2557.

- บันทึก เอื้ออาภรณ์ และวิชากร จารุศิริ. 2547. เหมืองน้ำมันสำปะหลัง: ชีวมวลทางเลือกเพื่อผลิตกระแสไฟฟ้า. **Technology media**. แหล่งที่มา: <http://www.technologymedia.co.th/article/detail.asp?arid=99&pid=53>. 7 มิถุนายน 2557.
- พจนีย์ โลมรัตน์. 2549. การกำจัดสีย้อมและโลหะหนักในน้ำเสียจากการย้อมไหมโดยก้อนเห็ดเหลือทิ้ง *Pleurotus ostreatus*. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- มณฑพรพร สงพิมพ์. 2551. การหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตเอนไซม์เพคเตทไลเอสจากเชื้อแบคทีเรีย *Paenibacillus polymyxa* สายพันธุ์ N10 ด้วยวิธีการหาพื้นผิวการตอบสนอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รัชนิย์ รุกขชาติ. ม.ป.ป. สีย้อมและการบำบัดสีในน้ำทิ้ง. กรมวิทยาศาสตร์ทหารเรือ. แหล่งที่มา: http://www.navy.mi.th/science/BrithDay46/Brithday_data/biology.htm, 15 ธันวาคม 2554.
- รุ่งทิพย์ วงศ์ต่อม. 2549. การเกิดปฏิกิริยาน้ำตาลในการอบแห้งลำไย (*Euphoria longana* Lam.) แบบแห้งผล. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- เลอลักษณ์ จิตรดอน. 2544. ผลงานวิชาการของเลอลักษณ์ จิตรดอน. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.
- วีระพล จิระประดิษฐกุล. 2549. บทสัมภาษณ์ “วีระพล จิระประดิษฐกุล” เร่งผลักดันโรงไฟฟ้าพลังงานทดแทน. **Thai energy news.com**. แหล่งที่มา: http://www.thaienergynews.com/M1400_1800.asp, 13 พฤศจิกายน 2549.
- ศิริวัลภา เกษศิลป์. 2547. การผลิตและสมบัติของแป้งคาร์บอกซีเมทิลจากแป้งมันสำปะหลัง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สัจจะ ประสงค์ทรัพย์. 2551. เห็ดกระด้าง. **Horticulture Research Institute**. Available source:
http://210.246.186.28/hort/database/framehom_files/mushroomkadang.htm, 1 ตุลาคม 2551.

สำนักงานคณะกรรมการพัฒนาเศรษฐกิจและสังคมแห่งชาติ. 2551. **อุตสาหกรรมเอทานอล**.
 แหล่งที่มา: [http://www.nesdb.go.th/portals/0/tasks/dev_ability/Profile/industry/](http://www.nesdb.go.th/portals/0/tasks/dev_ability/Profile/industry/อุตสาหกรรมเอทานอล.pdf)
 อุตสาหกรรมเอทานอล.pdf., 15 ธันวาคม 2554.

สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร. 2555. ข้อมูลการผลิตสินค้าเกษตร. **สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร**.
 แหล่งที่มา: <http://www.oae.go.th/download/prcai/DryCrop/cassava53-55.pdf>, 13
 ธันวาคม 2555.

อจรรย์พร ไสละสูต. 2517. **คู่มือการย้อมสี**. อักษรบัณฑิต, กรุงเทพฯ.

อัญชลี เชียงกุล. 2540. การเพาะเห็ดกระด้าง (*Lentinus polychrous* Lev.). **สำนักวิจัยพัฒนา
 เทคโนโลยีชีวภาพ**. แหล่งที่มา: [http://www.doa.go.th/birido/Data_Reserch](http://www.doa.go.th/birido/Data_Reserch/mushroom.htm)
 /mushroom.htm., 22 กันยายน 2551.

Akar, S.T., A. Gorgulu, Z. Kaynak, B. Anilan and T. Akar. 2009. Biosorption of reactive blue 49
 dye under batch and continuous mode using a mixed biosorbent of macro-fungus
Agaricus bisporus and *Thuja orientalis* cones. **Chem. Eng. J.** 148: 26-34.

Anonymous. 2012a. Reactive Blue 49. **World dye variety**. Available source:
<http://www.worlddyevariety.com/tag/cibacron-blue-p-3r>. December 13, 2012.

_____. 2012b. Acid Blue 150. **World dye variety**. Available source:
<http://www.worlddyevariety.com/acid-dyes/acid-blue-150.html>. September 18, 2012.

AOAC. 2000. **Official Methods of Analysis**. 17th ed. The association of official analytical Chemists, Arlington, Virginia.

Aust, S.D. and J.T. Benson. 1998. The Fungus among Us: Use of White Rot Fungi to Biodegrade Environmental Pollutants. **Environmental Health Perspectives**.
Available source: <http://www.ehponline.org/docs/1993/101-3/innovations.html>.
November 19, 2008.

Bhak, G., M. Song, S. Lee and S. Hwang. 2005. Response surface analysis of solid state growth of *Pleurotus ostreatus* mycelia utilizing whey permeate. **Biotechnol. Lett.** 27: 1537-1541.

Boer, C.G., L. Obici, C.G.M. Souza and R.M. Peralta. 2004. Decolorization of synthetic dyes by solid state cultures of *Lentinula* (*Lentinus edodes*) producing manganese peroxidase as the main ligninolytic enzyme. **Bioresource Technol.** 94: 107-112.

Boyle, C.D. and B.R. Kropp. 1992. Development and comparison of methods for measuring growth of filamentous fungi on wood. **CAN. J. Microbiol.** 38: 1053-1060.

Budda, W., R. Sarnthima, S. Khammuang, N. Milintawisamai and S. Naknil. 2012. Ligninolytic enzymes of *Lentinus polychrous* grown on solid substrates and its application in black liquor treatment. **J. Biol. Sci.** 12: 25-33

Buswell, J.A., Y. Cai and S. Chang. 1995. Effect of nutrient nitrogen and manganese on manganese peroxidase and lactase production by *Lentinula* (*Lentinus*) *edodes*. **FEMS Microbiol. Lett.** 128: 81-88.

Castillo, M.P., J. Stenstrom and P. Ander. 1994. Determination of manganese peroxidase activity with 3-methyl-2-benzothiazoline hydrazone and 3-(dimethylamino) benzoic acid. **Anal. Biochem.** 218: 399-404.

- Chagas, E.P. and L.R. Durrant. 2001. Decolourization of azo dyes by *Phanerochaete chrysosporium* and *Pleurotus sajorcaju*. **Enz. Microb. Technol.** 29: 473-477.
- Couto, S.R., M. Gundin, M. Lorenzo and M.A. Sanroman. 2002. Screening of supports and inducers for laccase production by *Trametes versicolor* in semi-solid-state conditions. **Process Biochem.** 38: 249-255.
- _____ and M.A. Sanroman. 2005a. Application of solid-state fermentation on ligninolytic enzyme production. **Biochem. Eng. J.** 22: 211-219.
- _____ and _____. 2005b. Coconut flesh: a novel raw material for laccase production by *Trametes hirsuta* under solid-state conditions. Application to Lissamine Green B decolourization. **J. Food Eng.** 71: 208-213.
- _____ and _____. 2006. Effect of two wastes from groundnut processing on laccase production and dye decolourisation ability. **J.Food Eng.** 73: 388-393.
- _____, M.A. Sanroman, E. Rosales and M. Gundin. 2004. Exploitation of a waste from the brewing industry for laccase production by two *Trametes* species. **J. Food Eng.** 64:423-428.
- Cruz, O.S., G.S. Castaneda, J.L.P. Hach, M.G. Rojas and E.F. Torres. 1999. Effect of substrate composition on the myceliul growth of *Pleurotus ostreatus*. An analysis by mixture and response surface methodology. **Process Biochem.** 35: 127-133.
- Deveci, T., A. Unyayar and M.A. Mazmanci. 2004. Production of Remazol Brilliant Blue R decolourising oxygenase from the culture filtrate of *Funalia trogii* ATCC 200800. **J. Molec. Catalys.** 30: 25-32.

- Eichlerova, I., L. Homolka and F. Nerud. 2006. Synthetic dyes decolourisation capacity of white rot fungus *Dichomitus squalens*. **Bioresource Technol.** 97: 2153-2159.
- German Standard methods for the examination of water, waste water and sludge: DIN ENISO 7887. 1994. **Examination and Determination of Colour.** Wiley Vch Verlag Gmbtt & Co. KGaA, Weinheim.
- Gomez, J., M. Pazos, S.R. Couto and M.A. Sonroman. 2005. Chestnut shell and barley bran as potential substrates for laccase production by *Coriolopsis rigida* under solid-state conditions. **J. Food. Eng.** 68: 315-319.
- Gomez, S.Q., A. Arana-Cuenca, Y.M. Flores, J.N.G. Rodriguez and A. Tellez-Jurado. 2012. Effect of particle size and aeration on the biological delignification of corn straw using *Trametes* sp. 44. **Bioresour.** 7: 327-344.
- Guerra, N.P., A.T. Agrasar, C.L. Macias and L. Pastrana. 2003. Main characteristics and applications of solid substrate fermentation. **Electron. J. Environ. Agric. Food Chem.** 2: 343-350.
- Gupta, V.K. and Suhas. 2009. Application of low-cost adsorbents for dye removal – A review. **J. Environ. Manage.** 90: 2313-2342.
- Habijanac, J. and M. Berovic. 2000. The Relevance of solid-state substrate moisturing on *Ganoderma lucidum* biomass cultivation. **Food. Technol. Biotechnol.** 38: 225-228.
- Hamedani, H.R.K., A. Sakurai and M. Sakakibara. 2007. Decolorization of synthetic dyes by a new manganese peroxidase-producing white rot fungus. **Dyes and Pigments** 72: 157-162.

- Hatvani, N. and I. Mecs. 2002. Effect of the nutrient composition on dye decolorisation and extracellular enzyme production by *Lentinus edodes* on solid medium. **Enz. Microbial Tech.** 30: 381-386.
- Huang, J. and K. Zhang. 2011. The high flux poly (m-phenylene isophthalamide) nanofiltration membrane for dye purification and desalination. **Desalinat.** 282: 19-26.
- IARC. 2010. Chemistry of dyes, pp 55 – 67. **IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risks to Humans Volume 99: Some Aromatic Amines, Organic Dyes, and Related Exposures.** International Agency for Research on Cancer, Lyon, France.
- Inglet, B.S., M. Song, C. L. Hansen and S. Hwang. 2006. Short Communication: Cultivation of *Lentinus edodes* mycelia using whey permeate as an alternative growth substrate. **J. Dairy Sci.** 89: 1113-1115.
- Jarosz-Wilkolazka, A.J., J.K. Rdest, E. Malarezyk, W. Wardas and A. Leonowicz. 2002. Fungi and their ability to decolourize azo and anthraquinonic dyes. **Enz. Microb. Technol.** 30: 566-572.
- Johannes, C. and A. Majcherczyk. 2000. Laccase activity tests and laccase inhibitors. **J. Biotechnol.** 78: 193-199.
- Kalmis, E., I. Yasa, F. Kalyoncu, B. Pazarbasi and A. Kocyigit. 2008. Ligninolytic enzyme activities in mycelium of some wild and commercial mushrooms. **African J. Biotechnol.** 23: 4314-4320.

- Khammuang, S. and R. Sarnthima. 2007. Laccase from spent mushroom compost of *Lentinus polychrous* and its potential for remazol brilliant blue R decolourisation. **Biotechnol.** 6: 408-413.
- Kusvuran, E., O. Gulnaz, S. Irmak, O.M. Atanur, H.I. Yavuz and O. Erbatur. 2004. Comparison of several advanced oxidation processes for the decolorization of Reactive Red 120 azo dye in aqueous solution. **J. Hazard. Mat.** 109: 85-93.
- Latifian, M., Z. Hamidi-Esfahani and M. Barzegar. 2007. Evaluation of culture conditions for cellulose production by two *Trichoderma reesei* mutants under solid-state fermentation conditions. **Bioresource Technol.** 98: 3634-3637.
- Lechner, B.E. and V.L. Papinutti. 2006. Production of lignocellulosic enzymes during growth and fruiting of the edible fungus *Lentinus tigrinus* on wheat straw. **Process Biochem.** 41: 594-598.
- Lee, S., H. Bae, N. Kim and S. Hwang. 2008. Optimization of growth conditions of *Lentinus edodes* mycelium on corn processing waste using response surface analysis. **J. Bios. Bioeng.** 105: 161-163.
- Murugesan, K., I.H. Nam, Y.M. Kim and Y.S. Chang. 2006. Decolorization of reactive dyes by a thermostable laccase produced by *Ganoderma lucidum* in solid state culture. **Enz. Microbial Tech.** 40: 1662-1672.
- Nariso, K., P. Thanonkeo and S. Panichajakul. N.D. Production of ligninolytic and cellulolytic enzymes by *Lentinus polychrous* Le'v utilized para rubber sawdust as solid substrate. **Asean Biotechnology**. Available source: http://www.aseanbiotechnology.info/scripts/conunt_article.asp?Article-code=23006110. December 18, 2008.

- Novotny, C., B. Rawal, M. Bhatt, M. Patel, V. Sasek and H.P. Molitoris. 2001. Capacity of *Irpex lacteus* and *Pleurotus ostreatus* for decolorization of chemically different dyes. **J. Biotechnol.** 89: 113-122.
- Nyochembeng, L.M., C.A. Beyl and R.P. Pacumbaba. 2008. Optimizing edible fungal growth and biodegradation of inedible crop residues using various cropping methods. **Bioresource Technol.** 99: 5645-5649.
- Oriol, E., B. Schettino, G.V. Gonzales and M. Rimbault. 1988. Solid-state culture of *Aspergillus niger* on support. **J. Ferment. Technol.** 66: 57-62.
- Pandey, A. 2003. Solid-state fermentation. **Biochem. Eng. J.** 13: 81-84.
- Pattiya, A., J.O. Titiloye and A.V. Bridgewater. 2010. Evaluation of catalytic pyrolysis of cassava rhizome by principal component analysis. **Fuel** 89: 244-253.
- Phetsom, J., S. Khammuang, P. Suwannawong and R. Sarnthima. 2009. Copper-alginate encapsulation of crude laccase from *Lentinus polychrous* Lev. and their effectiveness in synthetic dyes decolorizations. **J. Biol. Sci.** 9: 573-583.
- Rimbault, M. 1998. General and microbiological aspects of solid substrate fermentation. **EJB Electronic Journal of Biotechnology**. Available source: <http://www.ejbiotechnology.info/content/vol1/issue3/full/9>. January 9, 2008.
- Rashid, J.I.A., N. Samat and W.M.W. Yusoff. 2011. Optimization of temperature, moisture content and inoculum size in solid state fermentation to enhance mannanase production by *Aspergillus terreus* SUK-1 using RSM. **Pak. J. Biol. Sci.** 14: 533-539.
- Ratanapongleka, K. and J. Phetsom. 2014. Decolorization of synthetic dyes by crude laccase from *Lentinus polychrous* Lev. **IJCEA**. 5: 26-30.

- Riva, S. 2006. Laccase: blue enzymes for green chemistry. **Trend in Biotechnol.** 25: 219-226.
- Robinson, T., B. Chandran and P. Nigam. 2001a. Studies on the production of enzyme by white-rot fungi for the decolourisation of textile dyes. **Enz. Microbial Tech.** 29: 575-579.
- _____, G. McMullan, R. Marchant and P. Nigam. 2001b. Remediation of dyes in textile effluent: a critical review on current treatment technologies with a proposed alternative. **Bioresource Technol.** 77: 247-255.
- Royse, D.J. and J.E.S. Vazquez. 2001. Influence of substrate wood-chip particle size on shiitake (*Lentinula edodes*) yield. **Bioresource Technol.** 76: 229-233.
- Sarnthima, R., S. Khammuang and J. Svasti. 2009. Extracellular ligninolytic enzymes by *Lentinus polychrous* Lev. under solid-state fermentation of potential agro-industrial wastes and their effectiveness in decolorization of synthetic dyes. **Biotechnol. Bioprocess Eng.** 14: 513-522.
- Silva, E.M., A. Machuca and A.M.F. Milagres. 2005. Evaluating the growth and enzyme production from *Lentinula edodes* strains. **Process Biochem.** 40: 161-164.
- Snajdr, J. and P. Baldrian. 2007. Temperature affects the production, activity and stability of ligninolytic enzymes in *Pleurotus ostreatus* and *Trametes versicolor*. **Folia Microbiol.** 52: 498-502.
- Terebiznik, M.R. and A.M.R. Pilosof. 1999. Biomass estimation in solid state fermentation by modeling dry matter weight loss. **Biotech. Techniques** 13: 215-219.
- Tien, M. and T.K. Kirk. 1984. Lignin-degrading enzyme from *Phanerochaete chrysosporium*: purification and catalytic properties of unique H₂O₂ requiring oxygenase. **Proc. Natl. Acad. Sci. USA.** 81: 2280-2284.

- Verma, A.K., R.R. Dash and P. Bhunia. 2012. A review on chemical coagulation/flocculation technologies for removal of colour from textile wastewaters. **J. Environ. Manage.** 93: 154-168.
- Vigo, T.L. 1994. **Textile Processing and Properties.** Elsevier, New York.
- Wesenberg, D., I. Kyriakides and S.N. Agathos. 2003. White-rot fungi and their enzymes for the treatment of industrial dye effluents. **Biotechnol. Advance.** 22: 161-187.
- Zadrazil, F. and A.K. Puniya. 1995. Studies on the effect of particle size on solid-state fermentation of sugarcane bagasse into animal feed using white-rot fungi. **Bioresource Technol.** 54: 85-87.
- Zollinger, H. 2003. **Color Chemistry: Syntheses, Properties, and Applications of Organic Dyes and Pigments.** Wiley-VCH, Germany.





1. อาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA ของบริษัท Himedia ประเทศอินเดีย)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ปริมาณ 39 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mushroom Complete Medium (MCM)

องค์ประกอบของ MCM มีดังนี้

Glucose	20.00 กรัม
Yeast extract	2.00 กรัม
Peptone	2.00 กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.50 กรัม
KH ₂ PO ₄	0.46 กรัม
K ₂ HPO ₄	1.00 กรัม
Agar	15.00 กรัม
น้ำกลั่น	1000.00 ลิตร

ปรับค่าพีเอชเท่ากับ 6.0 นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที



1. สารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine

สารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ประกอบด้วยสารละลาย Citric acid ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ผสมกับสารละลาย Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 2 โมลาร์ สัดส่วนของสารละลาย Citric acid และ Na_2HPO_4 ที่ทำให้เกิดสารละลายบัฟเฟอร์ค่าพีเอชต่างๆ ที่ใช้ในการทดลอง มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

ตารางผนวกที่ ข1 สัดส่วนของสารละลาย Citric acid ความเข้มข้น 1 โมลาร์ และสารละลาย Na_2HPO_4 ความเข้มข้น 2 โมลาร์ ที่ทำให้เกิดสารละลายบัฟเฟอร์ McIlvaine ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ที่ค่าพีเอชต่างๆ

พีเอช	Citric acid (มิลลิลิตร)	Na_2HPO_4 (มิลลิลิตร)
3	16	4
4.5	11	9
5	9.5	10.5
7	3.5	16.5

ประวัติการศึกษา และการทำงาน

ชื่อ –นามสกุล	นางสาวจิรัชยา บุญญฤทธิ์
เกิดวันที่	3 กรกฎาคม 2526
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
ประวัติการศึกษา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์
ทุนการศึกษาที่ได้รับ	ได้รับทุนผู้ช่วยสอนจากบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ (พ.ศ. 2550)