

นิพนธ์ต้นฉบับ

สภาวะที่เหมาะสมต่อการใช้เอนไซม์เซลลูเลสแยกอะลูมิเนียมฟอยล์
ออกจากชั้นกล่องนมรจิตรา นววงศ์อนันต์⁽¹⁾, สมศักดิ์ พิทักษ์นุรัตน์⁽²⁾, เพ็ญศรี ปลั่งกลาง⁽³⁾ และ Reiner Claus⁽⁴⁾

วันที่ได้รับต้นฉบับ: 5 กันยายน 2559

วันที่ตอบรับการตีพิมพ์: 6 ธันวาคม 2559

บทคัดย่อ

การศึกษาครั้งนี้เป็นการศึกษาเชิงทดลอง (Experimental) โดยการใช้เอนไซม์เซลลูเลสทำปฏิกิริยากับกล่องนมชนิด UHT เพื่อให้องค์ประกอบของกล่องนมทั้งสามชั้นหลุดออกจากกันและสามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์บริสุทธิ์ออกมาใช้ประโยชน์ได้ ในชั้นกล่องนมประกอบไปด้วย พลาสติก (Polyethylene) กระดาษ (Paper) และแผ่นอะลูมิเนียม (Aluminum foil)

การศึกษาดังกล่าวนี้ได้มีการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ช่วงการทดลอง คือ ช่วงที่ 1 ทดลองหาช่วงที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ทำให้เกิดการแยกชั้นของกล่องนมทั้ง 4 ปัจจัย คือ ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลส ความเร็วในการกวน ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อแยกอะลูมิเนียมฟอยล์ออกจากชั้นของกล่องนมอย่างสมบูรณ์ ช่วงที่ 2 ทดลองหาปริมาณขั้วสารต่อปริมาณเอนไซม์ 1 กรัมที่เหมาะสมที่สุด และช่วงที่ 3 ทดลองหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยา

ผลจากการทดลองครั้งนี้ได้ว่า จากการทดลองขั้นที่ 1 ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่สุด คือ ปริมาณ 1 กรัม ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมที่สุด คือ pH 6.8 ที่ได้จากชุดควบคุม (Control) ซึ่งมีประสิทธิภาพในการแยกชั้นกล่องนมได้มากกว่าการใช้ซิเตรตบัฟเฟอร์ ค่าความเร็วการกวนที่เหมาะสมที่สุด คือ 150 รอบต่อนาที และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส จากการทดลองขั้นที่ 2 ปริมาณชั้นกล่องนม (Substrate) ที่เหมาะสมที่สุด คือ ชั้นกล่องนมปริมาณ 40 กรัมต่อสารละลายเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัมและจากการทดลองขั้นที่ 3 พบว่า พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสแปรผันตรงกับปริมาณชั้นกล่องนมที่ใช้ คือ กล่องนมปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 กรัมตามลำดับ มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 0.29 0.96 1.10 1.51 และ 5.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

การศึกษาดังกล่าวนี้สามารถนำไปเป็นแนวทางในอุตสาหกรรมการแยกองค์ประกอบของกล่องนมโดยการใช้วิธีทางชีวภาพได้ และในการศึกษาดังต่อไปนี้อาจทดลองทำเป็นแบบจำลองขนาดเล็กเปรียบเทียบความคุ้มค่าและประสิทธิภาพระหว่างการใช้เอนไซม์เซลลูเลส และการใช้พลังงานในการปั่นเหวี่ยง

คำสำคัญ: สภาวะที่เหมาะสม, เอนไซม์เซลลูเลส, แยกชั้นกล่องนม

(1) ผู้รับผิดชอบบทความ: นักศึกษาหลักสูตร

สาธารณสุขศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชานามัย

สิ่งแวดล้อม คณะสาธารณสุขศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(โทรศัพท์: 0894211185,

E-mail: aoei_jj@hotmail.com)

(2) คณะบดีคณะสาธารณสุขศาสตร์

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(3) ภาควิชาเทคโนโลยี คณะเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยขอนแก่น

(4) ผู้เชี่ยวชาญด้านจุลินทรีย์ สาขาวิชานามัย

สิ่งแวดล้อม อาชีวอนามัยและความปลอดภัย

คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น

Original Article

Optimum Condition of Cellulase Enzyme to Separate Aluminum Foil from Milk Carton (Tetra Pak)

Rajitra Nawawong Anun⁽¹⁾, Somsak Pitaksanurat⁽²⁾, Pensri Plangklang⁽³⁾ and Reiner Claus⁽⁴⁾

Received Date: September 5, 2016

Accepted Date: December 6, 2016

Abstract

An experimental study was carried out to separate the 3 layers of material that a UHT milk carton is composed of. The three layers are comprised of polyethylene, paper and a sheet of aluminum.

The aim of this study was to separate these 3 layers using cellulase enzymes. This study had 3 phases, the goal of phase 1 was to find the optimum conditions necessary for the cellulase enzymes to separate the aluminum foil from the other two layers of the milk carton. For the purposes of this study “optimum” is defined as having four factors: enzyme loading, pH, stirring of the enzyme, and temperature. Phase 2 was carried out to find the optimum substrates per 1 g. cellulase and in phase 3 the concentration of glucose present following the reaction had to be measured. The results for finding optimum conditions in phase 1 are as follows, 1g enzyme, a pH of 6.8, the optimum stirring rate was 150 rpm and the optimum temperature was 45°C. For phase 2, the optimum substrates loading was 40 grams and in phase 3 the glucose levels, following application of the cellulase, for 10, 20, 30, 40 and 50 gram milk cartons were 0.29 0.96 1.10 1.51 and 5.17 g/L, respectively.

The results of this study can be used as a guide in describing a biological process to separate milk carton components. One of the major benefits of this process is that it can reduce the equipment costs needed to recycle milk cartons on an industrial scale.

Keywords: Optimum Condition, Cellulase, Tetra Pak

(1) **Corresponding author:** Master of
Public Health Student in
Environmental Health,
Faculty of Public Health,
Khon Kaen University
(Tel.: 0894211185,
E-mail: aoei_jj@hotmail.com)

(2) Department of Environmental Health
Science, Faculty of Public Health,
Khon Kaen University

(3) Department of Bio-Technology,
Faculty of Technology,
Khon Kaen University

(4) Department of Environmental Health
Science, Faculty of Public Health,
Khon Kaen University

บทนำ

กล่องนมจัดเป็นขยะประเภทรีไซเคิลได้อีกประกอบของกล่องนมประกอบด้วยสามส่วน คือ พลาสติก (Polyethylene) กระดาษ (Paper) และแผ่นอะลูมิเนียม (Aluminum foil) ซึ่งทั้งสามส่วนนี้สามารถนำไปรีไซเคิลได้ทั้งหมด การรีไซเคิลกล่องเครื่องดื่มที่พบมากที่สุดคือการใช้การเผาไหม้เพื่อเปลี่ยนรูปเป็นพลังงานเข้าสู่หม้อไอน้ำแต่มีข้อเสียคือต้องมีการกำจัดกัมมันตภาพรังสีที่ออกสู่สิ่งแวดล้อมและในประเทศไทยยังไม่มีมีการใช้กระบวนการทางชีวภาพ ในการแยกองค์ประกอบของกล่องนมทั้งสามส่วน (tetra pak) ออกจากกัน การศึกษาครั้งนี้ต้องการศึกษาทดลองนำเอนไซม์เซลลูเลสมาใช้แยกองค์ประกอบของกล่องนมทั้งสามส่วนออกจากกันโดยใช้เอนไซม์เซลลูเลส ย่อยกระดาษสีน้ำตาลที่เป็นองค์ประกอบของกล่องนม ทำให้ส่วนประกอบที่เป็นพลาสติก กระดาษ และแผ่นอะลูมิเนียม แยกออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์

จากการทดลองเบื้องต้นพบว่าเอนไซม์เซลลูเลสสามารถย่อยส่วนที่เป็นกระดาษกล่องนมให้หลุดออกจากส่วนที่เป็นพลาสติกและแผ่นอะลูมิเนียมได้ ผู้วิจัยจึงต้องการศึกษาทดลองหาช่วงที่เหมาะสมของปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ทำให้เกิดการแยกชั้นของกล่องนมได้ดีที่สุด โดยมีการทดลองแบ่งออกเป็น 3 ช่วงการทดลอง คือ ช่วงที่ 1 เพื่อหาช่วงที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ทำให้เกิดการแยกชั้นของกล่องนมทั้ง 4 ปัจจัย คือ ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลส ความเร็วในการกวน ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อแยกอะลูมิเนียมฟอยล์ออกจากชั้นของกล่องนมอย่างสมบูรณ์ ช่วงที่ 2 ทดลองหาปริมาณซับสเตรตต่อปริมาณเอนไซม์ 1 กรัม ที่เหมาะสมที่สุด และช่วงที่ 3 ทดลองหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยา

วัตถุประสงค์

1. เพื่อหาช่วงที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ทำให้เกิดการแยกชั้นของกล่องนม ปัจจัยคือ

- 1.1 ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลส
- 1.2 ช่วงความเร็วในการกวน

1.3 ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)

1.4 อุณหภูมิ

ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลส เพื่อย่อยองค์ประกอบของกล่องนมออกจากกันได้ทั้งสามส่วน

2. เพื่อหาปริมาณของชั้นกล่องนม (Substrate) ที่เหมาะสมที่สุด

3. เพื่อหาค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยชั้นกล่องนมด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

วิธีการดำเนินการวิจัย

• รูปแบบการวิจัย

การทดลองครั้งนี้ศึกษาทดลอง ณ ห้องปฏิบัติการคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่น โดยแบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง

1. การทดลองช่วงที่ 1

ทดลองหาช่วงที่เหมาะสมที่สุดของปัจจัยที่มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ทำให้เกิดการแยกชั้นของกล่องนม 4 ปัจจัย คือ

1.1 ทดลองหาปริมาณที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลสในการแยกชั้นของกล่องนมทดลอง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 กรัม โดยใช้เซลลูเลส 0.5 กรัม 1 กรัม และ 2 กรัม ตามลำดับ แล้วนำผลไปทดลองหาช่วงของความเร็วที่เหมาะสมต่อไป

1.2 ทดลองหาช่วงความเร็วในการกวนที่เหมาะสม โดยใช้ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการทดลองขั้นที่ 1 ทดลอง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 กรัม โดยใช้ ความเร็วในการกวน 100 150 และ 200 รอบต่อนาที (rpm) ตามลำดับ

1.3 ทดลองหาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลสในการย่อยกล่องนมโดยใช้ไฮดรอตบัพเฟอร์ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ทดลอง 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 กรัม โดยทดลองที่ค่า pH 5.0 5.5 6.0 6.5 7.0 ตามลำดับ

1.4 ทดลองหาอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสกับกระดาษกล่องนมโดยใช้ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ในการปรับและควบคุมอุณหภูมิ ทดลอง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 กรัม ทดลองที่อุณหภูมิ 35 45 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลส

เพื่อย่อยองค์ประกอบของกล่องนมออกจากกันได้ทั้งสามส่วน

2. การทดลองช่วงที่ 2

ทดลองหาปริมาณของชิ้นกล่องนม (Substrate) ที่เหมาะสมที่สุด โดยทดลองใช้ชิ้นกล่องนม ปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 กรัม ตามลำดับ

3. การทดลองช่วงที่ 3

ทดลองหาค่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยชิ้นกล่องนมด้วยเอนไซม์เซลลูเลส ด้วยวิธี DNS

• วิธีการศึกษาทดลอง

การศึกษาทดลอง

1. ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสกับกล่องนม

ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ เป็นการทดลองการใช้เอนไซม์เซลลูเลส เพื่อย่อยสลายกระดาษในชิ้นกล่องนม เพื่อแยกชิ้นกล่องนมชนิด UHT ทั้งสามส่วนออกจากกัน ซึ่งชิ้นกล่องนมชนิดยูเอชที (UHT) ประกอบไปด้วย ชั้นพลาสติก ชั้นกระดาษ และชั้นอะลูมิเนียมฟอยล์ กล่องนมที่ผู้วิจัยนำมาทดลอง คือกล่องนมชนิดยูเอชที ขนาดบรรจุ 225 มิลลิลิตร ตราโฟร์โมสต์ ผลิตโดย บมจ. ฟริสแลนด์ ฟูดส์ โฟร์โมสต์ ประเทศไทย

จากการทดลองเบื้องต้น ทดลองใช้กล่องนมขนาด 2x2 4x4 และ 5x5 เซนติเมตร ตามลำดับ ซึ่งได้น้ำหนัก 5 กรัม แช่ลงในบีกเกอร์ที่ละลายเอนไซม์เซลลูเลส 1 ซ้อน ตักสารโดยประมาณ ในน้ำ DI Water 300 มิลลิลิตร เพื่อหาขนาดกล่องนมที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยา พบว่าขนาดกล่องนมที่เหมาะสม และประหยัดต้นทุนที่สุด คือขนาด 2x2 เซนติเมตร ผู้วิจัยจึงเลือกใช้ชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ในการศึกษาทดลองครั้งนี้

1.1 ทดลองหาปริมาณที่เหมาะสมที่สุด

ทดลอง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ โดยใช้เซลลูเลส 0.5 1 และ 2 กรัมตามลำดับ ทดลองกับชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัม ที่อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35 ± 4 องศา) ใน DI Water 300 มิลลิลิตร ส่วนตัวควบคุมไม่ใส่เอนไซม์เซลลูเลส ภายใต้สภาวะเดียวกันตั้งไว้ในห้องปฏิบัติการ เป็นเวลา 4 วัน แล้วบันทึกผลโดยการนำแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ที่แยกออกมาจากชิ้นกล่องนมไปแช่ในตราซังดิจิตอล ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและร้อยละ แล้วนำผลที่ดีที่สุด

(Optimum Point) ไปทดลองหาค่าความเป็นกรดต่าง (pH) ที่เหมาะสมที่สุดในขั้นต่อไป

1.2 ทดลองหาค่าความเป็นกรด-ต่าง (pH) ที่เหมาะสมที่สุด

ทดลอง 5 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ที่ค่า pH 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ตามลำดับ ทดลองกับชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัมในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35 ± 4 องศา) ใช้สารละลายซิงเตรตบัฟเฟอร์เป็นตัวปรับ pH ใส่เอนไซม์ตามปริมาณที่ได้จากผลการทดลองการหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสม ส่วนตัวควบคุมใช้สารละลายเป็น DI Water จากห้องปฏิบัติการ ภายใต้สภาวะเดียวกัน ตั้งไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 4 วัน แล้วบันทึกผลโดยการนำแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ที่แยกออกมาจากชิ้นกล่องนมไปแช่ที่เครื่องซังดิจิตอล ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและร้อยละ แล้วนำผลที่ดีที่สุด (Optimum Point) ไปทดลองหาค่าความเร็วการกวนที่เหมาะสมที่สุดในขั้นต่อไป

1.3 ทดลองหาช่วงความเร็วในการกวนที่เหมาะสม

ทดลอง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ความเร็วในการกวน 100 150 และ 200 รอบต่อนาที (rpm) ตามลำดับ ด้วยเครื่องกวนสาร (Magnetic Stirrer) ทดลองกับชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัม ในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35 ± 4 องศา) ใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลองการหาค่า pH ที่เหมาะสมที่สุดและใช้ปริมาณเอนไซม์ที่ได้จากผลการทดลองหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด ส่วนตัวควบคุมตั้งทิ้งไว้โดยไม่กวนภายใต้สภาวะเดียวกัน ตั้งไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 2 วัน แล้วบันทึกผลโดยการนำแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ที่แยกออกมาจากชิ้นกล่องนมไปแช่ในเครื่องซังดิจิตอล ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่ง เพื่อหาค่าเฉลี่ยและร้อยละ แล้วนำผลที่ดีที่สุด (Optimum Point) ไปทดลองหาค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดในขั้นต่อไป

1.4 ทดลองหาค่าอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด

ทดลอง 3 ตัวอย่าง ตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ที่อุณหภูมิ 35 45 และ 50 องศาเซลเซียส ตามลำดับ ด้วยตู้อบลมร้อน (Hot air oven) ทดลองกับชิ้นกล่องนม

ขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัมโดยใช้ตัวทำละลายที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลองการหาค่า pH ที่เหมาะสมที่สุด และใช้ปริมาณเอนไซม์ที่ได้จากผลการทดลองหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด ส่วนตัวควบคุมใช้สารละลายเป็น DI Water จากห้องปฏิบัติการ ตั้งไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 4 วัน แล้วบันทึกผลโดยการนำแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ที่แยกออกมาจากชิ้นกล่องนมไปชั่งในเครื่องชั่งดิจิตอล ความละเอียดทศนิยม 4 ตำแหน่งเพื่อหาค่าเฉลี่ยและร้อยละ

1.5 ชั่งแผ่นอะลูมิเนียมและวิเคราะห์ข้อมูล

คืบแผ่นอะลูมิเนียมที่แยกออกมาจากชิ้นกล่องนมในหลังจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสกับกระดาษในชิ้นกล่องนม จะแยกออกมาเป็นแผ่นอย่างอิสระและลอยอยู่ในสารละลายอย่างชัดเจน ส่วนกระดาษที่ถูกย่อยจะจมลงชั้นล่างสุด เมื่อครบกำหนดสามารถแยกออกได้โดยใช้ตะแกรงแล้วใช้คีมจับ (Forceps) คีบออกมา หลังจากนั้นนำไปวางโอดูดความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนัก ด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล จากนั้นนำผลไปวิเคราะห์ข้อมูลทั้งหมดโดยใช้โปรแกรม SPSS Ver.11.5 ใช้วิธีการทดสอบด้วยวิธีของ Duncan นำเสนอผลการวิเคราะห์เป็นค่าเฉลี่ย ($\pm$ S.D.) และค่าร้อยละ

2. ทดลองหาปริมาณของชิ้นกล่องนม (Substrate) ที่เหมาะสมที่สุด

2.1 ขั้นตอนในการทดลอง

ทดลองแช่ชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ลงในสารละลายเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ต่อน้ำ DI Water 300 มิลลิลิตร จำนวน 5 ตัวอย่าง โดยใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 กรัม ตามลำดับ แช่เป็นเวลา 4 วัน ในอุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35 ± 4 องศา)

2.2 การวิเคราะห์ข้อมูล

นำแผ่นอะลูมิเนียมที่แยกออกมาจากชิ้นกล่องนมในหลังจากการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสกับกระดาษในชิ้นกล่องนม จะแยกออกมาอย่างอิสระและลอยอยู่ในสารละลายอย่างชัดเจน เมื่อครบกำหนดสามารถแยกออกได้โดยใช้ตะแกรงแล้วใช้คีมจับ (Forceps) คีบออกมา หลังจากนั้นนำไปวางโอดูดความชื้นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งดิจิตอล เพื่อนำผลไปวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติต่อไป

3. การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยใช้สาร Dinitrosalicylic acid (DNS) (Chaplin, 1986)

3.1 สร้างกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

ดูดสารละลายมาตรฐานกลูโคสใส่หลอดเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของกลูโคสในระดับต่างๆ ตั้งแต่ 0-1,000 ไมโครกรัม เติมน้ำ DNS 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดกลูโคสมาตรฐานทุกหลอด และต้มในน้ำเดือด 10 นาที จะเกิดสีน้ำตาลตามระดับปริมาณกลูโคสในแต่ละหลอด จากนั้นนำไปแช่ในน้ำเย็นทันทีนำไปวัดค่า Absorbance ที่ 570 นาโนเมตร และนำค่าที่ได้มา plot เป็นกราฟมาตรฐาน

3.2 ตรวจหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจากตัวอย่าง

ดูดน้ำในปิกเกอร์จากการทดลองหาปริมาณของชิ้นกล่องนม (Substrate) ที่เหมาะสมที่สุด ทั้ง 5 ตัวอย่าง ดูดใส่หลอดทดลองตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร แล้ว เติมน้ำ DNS 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดกลูโคสมาตรฐานทุกหลอด และต้มในน้ำเดือด 10 นาที จะเกิดสีน้ำตาลตามระดับปริมาณกลูโคสในแต่ละหลอด จากนั้นนำไปแช่ในน้ำเย็นทันที นำไปวัดค่า Absorbance ที่ 570 นาโนเมตร แล้วเทียบค่ากับกราฟมาตรฐาน

ผลการทดลอง

1. ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสกับกล่องนม

1.1 ผลการทดลองหาปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่สุด

การทดลองหาปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่สุด เมื่อทดลองเปรียบเทียบการใช้เอนไซม์เซลลูเลส 0.5 1 และ 2 กรัมตามลำดับ ในตัวทำละลาย DI Water ทำปฏิกิริยากับชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัม ณ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35 ± 4 องศา) เป็นเวลา 4 วัน พบว่าปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุด คือ 1 และ 2 กรัม สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ ค่าเฉลี่ย $1.40 (\pm 0.64)$ และ $1.40 (\pm 0.28)$ ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 100 รองลงมา คือ 0.5 กรัม สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ ค่าเฉลี่ย $1.05 (\pm 0.24)$ คิดเป็นร้อยละ 75.00 ส่วนชุดควบคุม (Control) อยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกันกับ

ตัวทดลอง ไม่ใส่เอนไซม์เซลลูเลส สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 0.00 คิดเป็นร้อยละ 0.00 (ตารางที่ 2)

1.2 ทดลองหาค่าความเป็นกรด-ด่าง(pH) ที่เหมาะสมที่สุด

การทดลองหาค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมที่สุด เมื่อทดลองเปรียบเทียบค่า pH 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 โดยใช้ซีเตรตบัฟเฟอร์เป็นตัวทำละลายกับเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม (จากผลการทดลองการหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด) ทำปฏิกิริยากับชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัม ณ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35±4 องศา) เป็นเวลา 4 วัน พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุด คือ pH 7.0 สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ ค่าเฉลี่ย 1.28 (±0.14) คิดเป็นร้อยละ 91.42 รองลงมาคือ pH 6.5 6.0 5.5 และ 5.0 ตามลำดับ สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ ค่าเฉลี่ย 1.14 (±0.62) 1.02 (±0.24) 0.35 (±1.00) และ 0.00 (±1.00) ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 81.42 72.85 25.00 และ 0.00 ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุม (Control) อยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกันกับตัวทดลองใช้ DI Water จากห้องปฏิบัติการเป็นตัวทำละลาย สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 1.40 คิดเป็นร้อยละ 100.00 (ตารางที่ 2)

1.3 ผลการทดลองหาค่าความเร็วการกวนที่เหมาะสมที่สุด

การทดลองหาค่าความเร็วการกวนที่เหมาะสมที่สุด เมื่อทดลองเปรียบเทียบความเร็ว 100 150 และ 200 รอบต่อนาที (rpm) ตามลำดับ ใส่เอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ในตัวทำละลาย DI Water (จากผลการทดลองการหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด และผลการทดลองหาค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุด) ทำปฏิกิริยากับชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัม ณ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35±4 องศา) กวนด้วยเครื่องกวนสาร (Stirrer) เป็นเวลา 2 วัน พบว่าค่าความเร็วการกวนที่สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุด คือความเร็วที่ 150 และ 200 รอบต่อนาที สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 1.40 (±0.28) คิดเป็นร้อยละ 100.00 รองลงมาคือ ค่าความเร็วการกวนที่ 100 รอบต่อนาที สามารถ

แยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 1.14 (±0.62) คิดเป็นร้อยละ 81.42 ส่วนชุดควบคุม (control) อยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกันกับตัวทดลอง แต่ไม่กวนผสม สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 0.82 คิดเป็นร้อยละ 58.57 (ตารางที่ 2)

1.4 ผลการทดลองหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด

การทดลองหาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด ทดลองเปรียบเทียบอุณหภูมิ 35 45 และ 50 องศาเซลเซียส (°C) ตามลำดับ ใส่เอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ในตัวทำละลาย DI Water (จากผลการทดลองการหาปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมที่สุด และผลการทดลองหาค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่สุด) ทำปฏิกิริยากับชิ้นกล่องนมขนาด 2x2 เซนติเมตร ปริมาณ 5 กรัม วางทิ้งไว้ในห้องปฏิบัติการเป็นเวลา 4 วัน พบว่าอุณหภูมิที่สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุด คือ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 1.30 (±0.14) คิดเป็นร้อยละ 92.85 รองลงมา คืออุณหภูมิ 50 และ 35 องศาเซลเซียส ตามลำดับ สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 0.79 และ 0.63 (±0.08) ตามลำดับ คิดเป็นร้อยละ 56.42 และ 45.00 ตามลำดับ ส่วนชุดควบคุม (control) อยู่ภายใต้สภาวะแวดล้อมเดียวกันกับตัวทดลองแต่ทดลอง ณ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35±4 องศา) สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 1.14 คิดเป็นร้อยละ 81.420 (ตารางที่ 2)

2. ผลการทดลองหาปริมาณซับสเตรตต่อปริมาณเอนไซม์ 1 กรัมที่เหมาะสมที่สุด

จากการทดลองเปรียบเทียบปริมาณชิ้นกล่องนม (Substrate) ปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 กรัม ตามลำดับต่อปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ในน้ำ DI water 300 มิลลิลิตร พบว่า

2.1 ตัวอย่างที่ 1 ใช้ชิ้นกล่องนม 10 กรัม สามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 2.80 กรัม หรือร้อยละ 100 ภายในเวลา 4 วัน

2.2 ตัวอย่างที่ 1 ใช้ชิ้นกล่องนม 10 กรัม สามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 2.80 กรัม หรือร้อยละ 100 ภายในเวลา 4 วัน

2.3 ตัวอย่างที่ 2 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 20 กรัม สามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกอะลูมิเนียมฟอยล์

ออกมาได้ทีค่าเฉลี่ย 4.60 กรัม หรือร้อยละ 82.20 ภายในเวลา 4 วัน ปริมาณเฉลี่ย 5.60 กรัม หรือร้อยละ 100 ภายในเวลา 5 วัน

2.4 ตัวอย่างที่ 3 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 30 กรัม สามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ทีค่าเฉลี่ย 4.80 กรัม หรือร้อยละ 58.00 ภายในเวลา 4 วัน ปริมาณเฉลี่ย 6.60 กรัม หรือร้อยละ 79.52 ภายในเวลา 5 วัน ปริมาณเฉลี่ย 7.70 กรัม หรือร้อยละ 92.00 ภายในเวลา 6 วัน และปริมาณเฉลี่ย 8.40 กรัม หรือร้อยละ 100 ภายในเวลา 7 วัน

2.5 ตัวอย่างที่ 4 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 40 กรัมสามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ทีค่าเฉลี่ยกรัม 8.06 หรือร้อยละ 72.00 ภายในเวลา 4 วันปริมาณเฉลี่ย 10.81 กรัม หรือร้อยละ 96.54 ภายในเวลา 5 วัน ปริมาณเฉลี่ย 11.02 กรัม หรือร้อยละ 98.40 ภายในเวลา 6 วันและปริมาณเฉลี่ย 11.20 กรัม หรือร้อยละ 100 ภายในเวลา 7 วัน

2.6 ตัวอย่างที่ 5 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 50 กรัมสามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ทีค่าเฉลี่ยกรัม 7.56 หรือร้อยละ 54.00 ภายในเวลา 4 วันปริมาณเฉลี่ย 8.68 กรัม หรือร้อยละ 62.00 ภายในเวลา 5 วันปริมาณเฉลี่ย 10.92 กรัม หรือร้อยละ 78.00 ภายในเวลา 6 วัน 11.92 กรัม หรือร้อยละ 85.2 ภายในเวลา 7 วัน ปริมาณเฉลี่ย 13.72 กรัม หรือร้อยละ 98.00 ภายในเวลา 8 วันปริมาณเฉลี่ย 13.79 กรัม หรือร้อยละ 98.54 ภายในเวลา 9 วันและปริมาณเฉลี่ย 13.81 กรัม หรือร้อยละ 98.57 ภายในเวลา 10 วัน (ตารางที่ 4)

3. ผลการทดลองหาความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยา

ผลการทดลองหาน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากปฏิกิริยา เมื่อทดลองใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 กรัมตามลำดับ ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ในตัวทำละลาย DI Water 300 มิลลิลิตร พบว่าตัวอย่างที่ 1 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 10 กรัม วัดทีค่าการดูดกลืนแสง 540 nm ได้ค่าเฉลี่ย 0.016 มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 0.29 กรัมต่อลิตร ตัวอย่างที่ 2 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 20 กรัม วัดค่าการดูดกลืนแสง 540 nm ได้ค่าเฉลี่ย 0.053 มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 0.96 กรัมต่อลิตรตัวอย่างที่ 3 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 30 กรัม วัดทีค่าการดูดกลืนแสง 540 nm ได้ค่าเฉลี่ย 0.060 มีความ

เข้มข้นของกลูโคส 1.10 กรัมต่อลิตร ตัวอย่างที่ 4 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 40 วัดทีค่าการดูดกลืนแสง 540 nm ได้ค่าเฉลี่ย 0.083 มีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 1.51 กรัมต่อลิตรและตัวอย่างที่ 5 ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 50 กรัม วัดทีค่าการดูดกลืนแสง 540 nm ได้ค่าเฉลี่ย 0.284 ได้ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 5.17 กรัมต่อลิตร

อภิปรายผล

1. ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการทำปฏิกิริยาของเอนไซม์เซลลูเลสกับกล่องนม

ผลการศึกษาทดลองครั้งนี้ สามารถนำไปตอบวัตถุประสงค์การวิจัยได้ทั้ง 4 วัตถุประสงค์ย่อย คือ ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่สุด ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมที่สุด ค่าความเร็วการกวนที่เหมาะสมที่สุด และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด ในการใช้เซลลูเลสเอนไซม์ทำปฏิกิริยากับชิ้นกล่องนม ให้ได้มาซึ่งแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ที่อยู่ในชั้นของกล่องนม

ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่สุดระหว่าง 0.51 และ 2 กรัม ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุดคือ 1 และ 2 กรัม สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ทีค่าเฉลี่ย 1.40 (± 0.64) คิดเป็นร้อยละ 100 จะเห็นได้ว่าเมื่อถึงจุดที่ปริมาณเอนไซม์กับสารตั้งต้น (ส่วนที่เป็นกระดาษในชิ้นกล่องนม) มีความสมดุลกัน ก็จะสามารถทำปฏิกิริยากันได้หมดและสามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกจากชิ้นกล่องนมได้ทั้งหมด และแม้ว่าจะเพิ่มปริมาณเอนไซม์เป็น 2 กรัม ก็เกินจุดสมดุลที่เอนไซม์กับสารตั้งต้นต้องการใช้ในการทำปฏิกิริยากัน ซึ่งก็จะได้ค่าเฉลี่ยเท่ากับการใช้เอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม แต่เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ มีจุดประสงค์เพื่อนำไปเป็นแนวทางการรีไซเคิลกล่องนมในรูปแบบอุตสาหกรรม จึงต้องใช้เอนไซม์ที่น้อยที่สุดและสามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุด ดังนั้น ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ จึงสรุปได้ว่า ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่สุดคือ ปริมาณ 1 กรัม

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสมที่สุดระหว่าง pH 5.0 5.5 6.0 6.5 และ 7.0 ที่สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุด คือ pH 7.0 สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ทีค่าเฉลี่ย 1.28 (± 0.14) คิดเป็นร้อยละ 91.42 แต่พบว่าตัวควบคุม

ที่ไม่มีการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง และใช้ DI Water เป็นตัวทำละลายแทน สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ ค่าเฉลี่ย 1.40 คิดเป็นร้อยละ 100.00 หรือแยกออกมาได้ทั้งหมด ซึ่งอาจจะเกิดได้จากการปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ด้วยไฮดรอกไซด์ฟลูออไรด์ที่มีส่วนผสมของกรดซิตริก ($C_6H_{10}O_8$) และโซเดียมไฮดรอกไซด์ ($Na_3C_6H_5O_{7.2}H_2O$) ไปรบกวนการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับชิ้นกล่องนม ดังนั้น ในการทดลองครั้งนี้สรุปได้ว่า DI Water เป็นตัวทำละลายที่ดีที่สุด

ค่าความเร็วการกวนที่เหมาะสมที่สุดระหว่าง 100 150 และ 200 รอบต่อนาที คือ 150 และ 200 รอบต่อนาที สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ค่าเฉลี่ย 1.40 (± 0.28) คิดเป็นร้อยละ 100.00 จะเห็นได้ว่ายังใช้ความเร็วในการกวนผสมมากเท่าไร การแยกตัวของชิ้นกล่องนมหรือการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับชิ้นกล่องนมก็จะมีประสิทธิภาพมากขึ้นเท่านั้น สอดคล้องกับงานวิจัยเกี่ยวกับการทำปฏิกิริยา เมื่อมีการกวนผสมขณะทำปฏิกิริยาจะทำให้เอนไซม์และสารตั้งต้นจับกันได้เร็วยิ่งขึ้นทำให้ประสิทธิภาพของการทำปฏิกิริยาเพิ่มขึ้นไปด้วย เนื่องจากการทดลองครั้งนี้ มีจุดประสงค์เพื่อนำไปเป็นแนวทางการรีไซเคิลกล่องนมในรูปแบบอุตสาหกรรม จึงต้องการความเร็วในการกวนที่น้อยที่สุดเพื่อประหยัดพลังงานและประหยัดต้นทุนมากที่สุด จึงควรเลือกความเร็วการกวนที่ 150 รอบต่อนาที (rpm)

อุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด ระหว่าง 35 45 และ 50 องศาเซลเซียส คือ อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส สามารถแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุดที่ค่าเฉลี่ย 1.30 (± 0.14) คิดเป็นร้อยละ 92.85 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ahmet Korkmaz et al. (2009) ได้ศึกษาศึกษาปัจจัยเกี่ยวกับสารอาหารและสภาพแวดล้อมที่มีผลกับการเจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจาก *Bacillus alcalophilus* S39 และ *Bacillus amyloliquefaciens* C23 ได้ทราบช่วงที่เหมาะสมอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 30-45 องศาเซลเซียส

2. ผลการทดลองเปรียบเทียบปริมาณ

ซับสเตรตต่อปริมาณเอนไซม์ 1 กรัม

จากผลการทดลองหาปริมาณซับสเตรตที่เหมาะสมที่สุดในการทำปฏิกิริยาเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ในตัวทำละลาย DI water 300 มิลลิลิตร ณ อุณหภูมิห้องปฏิบัติการ (อุณหภูมิ 35 ± 4 องศา) ระยะเวลา 4-10 วัน

พบว่าปริมาณชิ้นกล่องนมที่เหมาะสมที่สุด คือ ปริมาณ 40 กรัม เนื่องจากการทดลองนี้ ทดลองเพื่อหาปริมาณชิ้นกล่องนมที่มากที่สุดที่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ในตัวทำละลาย DI water 300 มิลลิลิตร แล้วสามารถแยกชิ้นแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุด ซึ่งตัวอย่างที่ 4 ที่ใช้ชิ้นกล่องนมปริมาณ 40 กรัมสามารถย่อยและแยกชิ้นให้ได้แผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้ที่ค่าเฉลี่ย 11.20 กรัม หรือร้อยละ 100 (ชิ้นกล่องนมปริมาณ 40 กรัม มีปริมาณอะลูมิเนียมฟอยล์ 11.20 กรัม) ภายในระยะเวลา 9 วัน ส่วนตัวอย่างที่ 5 ที่ใช้ปริมาณชิ้นกล่องนมปริมาณ 50 กรัม แม้จะเป็นปริมาณที่มากที่สุด แต่ไม่สามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกแผ่นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้หมด ในระยะเวลา 4-10 วัน สามารถย่อยชิ้นกล่องนมและแยกชิ้นอะลูมิเนียมฟอยล์ออกมาได้มากที่สุดที่ค่าเฉลี่ย 13.81 กรัม หรือร้อยละ 98.57 ในวันที่ 10

ในการทดลองครั้งนี้มีจุดประสงค์เพื่อนำไปเป็นแนวทางในอุตสาหกรรมรีไซเคิลกล่องนมโดยวิธีชีวภาพ จึงต้องหาปริมาณของชิ้นกล่องนมที่มากที่สุดที่สามารถทำปฏิกิริยาต่อเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัมในตัวทำละลาย DI water 300 มิลลิลิตร เพื่อประหยัดต้นทุนให้ได้มากที่สุด ดังนั้นจึงได้ว่า ปริมาณซับสเตรตที่เหมาะสมที่สุดในการทดลองครั้งนี้คือ ปริมาณชิ้นกล่องนม 40 กรัมต่อเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัมในตัวทำละลาย DI water 300 มิลลิลิตร

3. การทดลองหาน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากปฏิกิริยาการย่อยชิ้นกล่องนมด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

จากการทดลองหาน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการทำปฏิกิริยาระหว่างเอนไซม์เซลลูเลสกับชิ้นกล่องนมพบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มสูงขึ้นตามปริมาณชิ้นกล่องนมที่ใช้ เนื่องจากเอนไซม์เซลลูเลสเข้าไปย่อยหรือทำปฏิกิริยากับส่วนที่เป็นกระดาษในชิ้นกล่องนม เพราะกระดาษมีเส้นใยเซลลูโลสอยู่ เอนไซม์เซลลูเลสจึงสามารถย่อยได้ซึ่งจะได้ผลผลิต คือ น้ำตาลกลูโคส จากการทดลองถือว่าเป็นไปตามหลักความจริง เนื่องจากปริมาณกลูโคสที่ตรวจพบแปรผันตรงกับปริมาณซับสเตรต (ชิ้นกล่องนม) ที่ทำปฏิกิริยากับเอนไซม์เซลลูเลส

สรุปผลการวิจัย

การศึกษาค้นคว้าครั้งนี้เป็นการวิจัยเชิงทดลอง (Experimental) ในห้องปฏิบัติการอาชีวอนามัยและสาธารณสุขศาสตร์ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการ

ทำงานของเอนไซม์เซลลูเลสที่ทำให้เกิดการแยกชั้นของ
กล่องนม แบ่งการทดลองออกเป็น 3 ช่วง คือ ช่วงที่ 1
ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมทั้ง 4 ปัจจัย คือ ปริมาณของ
เอนไซม์เซลลูเลส ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ช่วงความเร็ว
ในการกวน และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุดช่วงที่ 2 ทดลอง
หาปริมาณซับสเตรตต่อปริมาณเอนไซม์ 1 กรัมที่เหมาะสม
ที่สุด และช่วงที่ 3 ทดลองหาความเข้มข้นของน้ำตาล
กลูโคสที่ได้หลังจากการทำปฏิกิริยา

ผลจากการทดลองครั้งนี้ได้ว่า จากการทดลอง
ขั้นที่ 1 ปริมาณของเอนไซม์เซลลูเลสที่เหมาะสมที่สุด คือ
ปริมาณ 1 กรัม ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่เหมาะสม
ที่สุด คือ pH 6.8 ที่ใช้ในชุดควบคุม ซึ่งมีประสิทธิภาพใน
การแยกชั้นกล่องนมได้มากกว่าการใช้ชีเตรทบัฟเฟอร์ค่า
ความเร็วการกวนที่เหมาะสมที่สุด คือ 150 รอบต่อนาที
และอุณหภูมิที่เหมาะสมที่สุด คือ อุณหภูมิ 45 องศา
เซลเซียส (ตารางที่ 2) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ
Ahmet Korkmaz et al. (2009) ได้ศึกษาศึกษาปัจจัย
เกี่ยวกับสารอาหารและสภาพแวดล้อมที่มีผลกับการ
เจริญเติบโตและการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจาก *Bacillus*
alcalophilus S39 และ *Bacillus amyloliquefaciens*
C23 ได้ทราบช่วงที่เหมาะสมอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 30-
45 องศาเซลเซียส

จากการทดลองขั้นที่ 2 ปริมาณชั้นกล่องนม
(Substrate) ที่เหมาะสมที่สุด คือ ชั้นกล่องนมปริมาณ
40 กรัมต่อสารละลาย เอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัมและจาก
การทดลองขั้นที่ 3 พบว่า ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส
แปรผันตรงกับปริมาณชั้นกล่องนมที่ใช้ คือ กล่องนม
ปริมาณ 10 20 30 40 และ 50 กรัมตามลำดับ มีความ
เข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส 0.29 0.96 1.10 1.51 และ
5.17 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ DI Water เป็นตัวทำละลายที่
ดีที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Ahmet Korkmaz
et al. (2009) ได้ศึกษาศึกษาปัจจัยเกี่ยวกับสารอาหาร
และสภาพแวดล้อมที่มีผลกับการเจริญเติบโตและการ
ผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจาก *Bacillus alcalophilus* S39
และ *Bacillus amyloliquefaciens* C23 ได้ทราบช่วงที่
เหมาะสมอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 30-45 องศาเซลเซียส

จากผลการศึกษาดทดลองในครั้งนี้สามารถสรุป
ด้านความคุ้มค่าหรือต้นทุนได้ว่า หากต้องการนำเอนไซม์
เซลลูเลสไปใช้ในด้านอุตสาหกรรมการรีไซเคิลอาจถือได้
ว่าไม่คุ้มค่า เนื่องจากผลการทดลองในการศึกษาครั้งนี้

ชี้ให้เห็นว่า ต้องใช้ปริมาณเอนไซม์เซลลูเลส 1 กรัม ละลาย
ในสารละลาย DI Water 300 มิลลิลิตร ต่อกล่องนมปริมาณ
40 กรัม ซึ่งถือว่าเป็นอัตราส่วนของแข็งต่อของเหลว
(Liquid: Solid) ที่น้อยมาก

ข้อเสนอแนะหรือการนำไปใช้ประโยชน์

จากการทดลองนำเอนไซม์เซลลูเลสมาทำ
ปฏิกิริยากับชั้นกล่องนม เพื่อให้ย่อยส่วนที่เป็นชั้น
กระดาษในกล่องนมที่มีเส้นใยเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ
อยู่พบว่าสามารถทำได้ในระยะเวลาอันสั้นและปราศจาก
การใช้สารเคมีที่เป็นอันตราย ดังนั้นในการศึกษาครั้ง
ต่อไปสามารถนำค่าที่ดีที่สุดของปัจจัยทั้ง 4 ปัจจัยไป
ทดลองกับวัสดุอื่นๆ ที่มีส่วนของเส้นใยเซลลูโลสเป็น
องค์ประกอบได้ เช่น นำไปทดลองทำปฏิกิริยากับไม้หรือ
ใบไม้บางชนิด โดยเอนไซม์เซลลูเลสย่อยส่วนที่เป็นเส้นใย
เซลลูโลสให้ได้ผลเป็นเยื่อไม้ เพื่อเป็นประโยชน์ในการทำ
กระดาษสาหรือกระดาษแปรรูปต่อไป และในการศึกษา
ครั้งต่อไปอาจทดลองทำเป็นแบบจำลองถังขนาดเล็ก
เปรียบเทียบความคุ้มค่าและประสิทธิภาพระหว่างการใช้
เอนไซม์เซลลูเลสกับถังที่ใช้พลังงานในการปั่นเหวี่ยงเพื่อ
แยกองค์ประกอบของกล่องนม

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์เป็นอย่างดีได้
ด้วยความช่วยเหลือ และการให้คำปรึกษาจากคณะ
อาจารย์ที่ปรึกษา ได้แก่ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สมศักดิ์
พิทักษ์ณรัตน์ ดร. เพ็ญศรี ปลั่งกลาง ที่ให้คำแนะนำใน
ทุกขั้นตอนการทดลองเพื่อให้ได้คำตอบที่ถูกต้องตามหลัก
วิชาการ สนับสนุน และเปิดโอกาสให้ได้รับทุนในการศึกษา
การวิจัย และการนำเสนอผลงาน ตลอดจนการเขียน
รายงานวิชาการเพื่อนำเสนอผลงานวิจัย การตรวจสอบ
แก้ไข ข้อบกพร่องต่างๆ ของงานทุกอย่าง รวมทั้งวิทยานิพนธ์
ฉบับนี้ และ Dr. Reiner Claus ที่ให้การสนับสนุนเอนไซม์
เซลลูเลส ในการศึกษาทดลองครั้งนี้ ขอกราบขอบพระคุณ
ดร.ฤทธิรงค์ จังโกฏฐิ ที่ให้คำแนะนำขั้นตอนการดำเนินการ
ทดลองให้ดำเนินการได้อย่างราบรื่นมากยิ่งขึ้น ขอกราบ
ขอบพระคุณรองศาสตราจารย์ ดร. จิราพร เขียวอยู่ ที่ให้
คำแนะนำเกี่ยวกับการวิเคราะห์ผลข้อมูลที่ได้จากการ
ทดลองและขอกราบขอบพระคุณผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.
จินดาวัลย์ วิบูลย์อุทัย คณะสาธารณสุขศาสตร์

มหาวิทยาลัยมหาสารคาม ที่ร่วมเป็นคณะกรรมการในการสอบและให้คำแนะนำข้อบกพร่องต่างๆ ขอขอบพระคุณคณาจารย์ประจำคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นทุกท่านที่ให้การส่งสอนรายวิชาที่เป็นพื้นฐานในการศึกษาและทำงานวิจัยทางด้านอนามัยสิ่งแวดล้อม ให้คำแนะนำ และข้อคิดเห็นอันเป็นประโยชน์ต่อการทำวิทยานิพนธ์ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ศูนย์บริการทางวิชาการและวิจัย เจ้าหน้าที่และบุคลากร คณะสาธารณสุขศาสตร์

ทุกท่านที่ได้ให้ความช่วยเหลือและอำนวยความสะดวกในด้านต่างๆ ขอขอบพระคุณนักศึกษาปริญญาโทคณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยขอนแก่นทุกท่านที่ให้คำแนะนำ ช่วยเหลือและเป็นกำลังใจในการศึกษาตลอดมา สุดท้ายผลอันจะเป็นประโยชน์ ความดีความงามทั้งปวง ที่เกิดขึ้นจากการศึกษาวิทยานิพนธ์นี้ ขอมอบแด่ คุณพ่อและคุณแม่ที่เคารพยิ่งและหากมีข้อบกพร่องด้วยประการใดๆ ผู้วิจัยขอน้อมรับไว้ด้วยความขอบคุณยิ่ง

เอกสารอ้างอิง

- กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. (2556ก). **คู่มือบัญชีของเสียที่เป็นแหล่งทรัพยากรทดแทน (กลุ่มครัวเรือน)**. กรุงเทพฯ: กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่.
- กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่. (2556ข). **คู่มือบัญชีของเสียที่เป็นแหล่งทรัพยากรทดแทน (กลุ่มยานยนต์และชิ้นส่วนยานยนต์)**. กรุงเทพฯ: กรมอุตสาหกรรมพื้นฐานและการเหมืองแร่.
- กลุ่มเชื้อและกระดาษ โครงการฟิสิกส์และวิศวกรรม กรมวิทยาศาสตร์บริการ. (2552). **การผลิตเยื่อเยียนทำใหม่จากเศษกระดาษกล่องนม**. ค้นเมื่อ 22 ตุลาคม 2558, จาก <http://siweb.dss.go.th/bct/fulltext/report/otop29.pdf>
- ชลีพร จูงสาย. (2534). **การศึกษาเอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อรา**. วิทยานิพนธ์ปริญญาเอกจากมหาวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- บริษัท กรีนบอร์ด (ประเทศไทย) จำกัด. (2554). **ประเภทของกล่องนม**. ค้นเมื่อ 25 ตุลาคม 2558, จาก <http://www.greenboardthailand.co.th/index.php/home/45-articles/66-milkbox>
- พรเทพ ถนอมแก้ว. (2538). **ภาวะเหมาะสมของการผลิตเซลลูเลสจากเชื้อราที่คัดแยกจากบริเวณปลูกป่า ศรีนครินทร์**. วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- พิจิตรา ตั้งเชื่อนจันทร์, รสรินทร์ รุจนาพันธ์, และอัญชลี อานาพสมบุญ. (2548). **การคัดเลือกเชื้อราเพื่อผลิตเอนไซม์เซลลูเลสจากวันมะพร้าวที่เป็นเศษเหลือทิ้งจากโรงงาน**. กรุงเทพฯ: โครงการพิเศษสาขาวิชาชีววิทยาประยุกต์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- ภักดี ภักดีจันทร์, & ดนัย บุญเกียรติ. (2545). **การเปลี่ยนแปลงคุณภาพ และกิจกรรมของเอนไซม์โกลิกลาคทูโรเนสในสตรอเบอร์รี่ก่อนการเก็บเกี่ยว**. ใน **การประชุมวิชาการผลงานการวิจัยของมูลนิธิโครงการหลวง ประจำปี 2545, 21-22 พฤศจิกายน 2545**. (หน้า 226-234). เชียงใหม่: มูลนิธิโครงการหลวง.
- รัชรา กาลวงศ์, กันตา แสงวิจิตร, วาทยามา มาโมรุ, & สมบูรณ์ อนันตลาโภชัย. (2557). **การทำให้บริสุทธิ์และสมบัติของเอนไซม์เซลลูเลสของแบคทีเรียที่แยกจากกระเพาะหมักของวัว**. **วารสารวิจัย มข. (ฉบับบัณฑิตศึกษา)**, 14(3), 34-46.
- ศูนย์สร้างสรรค์งานออกแบบ. (2551). **การรีไซเคิลกล่องนม เพื่อเรา เพื่อธรรมชาติ เพื่อโลก**. ค้นเมื่อ 25 ตุลาคม 2558, จาก <http://www.tcdc.or.th/articles/materials-application>
- เสรี ไตรรัตน์. (2520). **คู่มือปฏิบัติการเคมีทั่วไป**. กรุงเทพฯ: ภาควิชาปฐพีวิทยา คณะเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- Ali, M. F., & Siddiqui, M. N. (2005). Thermal and catalytic decomposition behavior of PVC mixed plastic waste with petroleum residue. **Journal of Analytical and Applied Pyrolysis**, 74(1-2), 282-289.
- Bayer, E. A., Chanzy, H., Lamed, R., & Shoham, Y. (1998). Cellulose, cellulases and cellosomes. **Current Opinion in Structural Biology**, 8(5), 548-557.
- Bejarano, F., Ortiz, F., Ortiz, J., Sanchez, A., Sanchez, L., & Nino, G. (2001). **Composition and method for separation of the different layers of long life packaging**. Retrieved October 25, 2015, from <https://www.google.com/patents/WO2002002679A2?cl=en>
- Bejarano, F., Ortiz, F., Ortiz, J., Sanchez, A., Sanchez, L., & Nino, G. (2002). **Composition and method for separation of the different layers of long life packaging**. Retrieved October 22, 2015, from <https://www.google.com/patents/US20020033475>
- Jaime, A. (2008). **Tetra Pak history**. Retrieved October 22, 2015, from <http://www.tetrapak.com/about history>
- Korkmaz, A., Yanik, J., & Brebu, M. (2009). Cornelia vasele: Pyrolysis of the tetra pal. **Waste Management**, 29, 2836-2841.

Ntougias, S., Zervakis, G. I., Ehalotis, C., Kavroulakis, N., & Papadopoulou, K. K. (2006). Ecophysiology and molecular phylogeny of bacteria isolated from alkaline two-phase olive mill wastes. *Research in Microbiology*, 157(4), 376–385.

Stool, V. S., & Blanchard, J. S. (1990). Buffer: Principle and practice. In M. P. Deutscher (Ed.). *Method in enzymology*. (pp. 24-38). New York: Academic Press.

ตารางที่ 1 ผลการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมของเอนไซม์เซลลูเลสเพื่อแยกอะลูมิเนียมฟอสเฟตออกจากชั้นกล่องนม

Factors	Enzyme Loading (กรัม)	pH	Stirring (rpm)	Temp. (°C)	Aluminum Foil (g.) (±SD)	% of Aluminum Foil
1. Loading						
1	0.5				1.05 (±0.24)d	75.00
2	1	DI Water	-	RT(35 ±4)	1.40 (±0.64)bf	100.00
3	2				1.40 (±0.28)f	100.00
Control	-				0.00	0.00
2. pH						
4		5.0			0.00 (±1.00)a	0.00
5		5.5			0.35 (±1.00)b	25.00
6	1	6.0	-	RT(35 ±4)	1.02 (±0.24)d	72.85
7		6.5			1.14 (±0.62)ad	81.42
8		7.0			1.28 (±0.14)af	91.42
Control		DI Water			1.40	100.00
3. stirring						
9			100		1.14 (±0.62)ad	81.42
10	1	DI Water	150	RT(35 ±4)	1.40 (±0.28)f	100.00
11			200		1.40 (±0.28)f	100.00
Control			-		0.82	58.57
4. Temp.						
12				35	0.63 (±0.08)c	45.00
13	1	DI Water	150	45	1.30 (±0.14)af	92.85
14				50	0.79 (±0.08)c	56.42
Control		DI Water		RT(35 ±4)	0.81	57.85

ตารางที่ 2 ผลการทดลองหาปริมาณซับสเตรดที่เหมาะสมที่สุด

กล่องนม (กรัม)	ร้อยละของปริมาณอะลูมิเนียมฟอสเฟตที่แยกได้ในระยะเวลา						
	4 วัน	5 วัน	6 วัน	7 วัน	8 วัน	9 วัน	10 วัน
10 กรัม	100.00						
20 กรัม	82.20	100.00					
30 กรัม	58.00	79.52	92.00	100.00			
40 กรัม	72.00	96.54	98.40	100.00			
50 กรัม	54.00	62.00	78.00	85.20	98.00	98.54	98.67

ตารางที่ 3 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสในระดับต่างๆ กับค่า Absorbance ที่ 570 นาโนเมตร ที่ได้จากการวิเคราะห์กลูโคสด้วยวิธี DNS

ปริมาณขึ้นกล่อง	Absorbance at 540 nm	ความเข้มข้นของกลูโคส (g/l)
10 กรัม	0.016	0.29
20 กรัม	0.053	0.96
30 กรัม	0.060	1.10
40 กรัม	0.083	1.51
50 กรัม	0.284	5.17