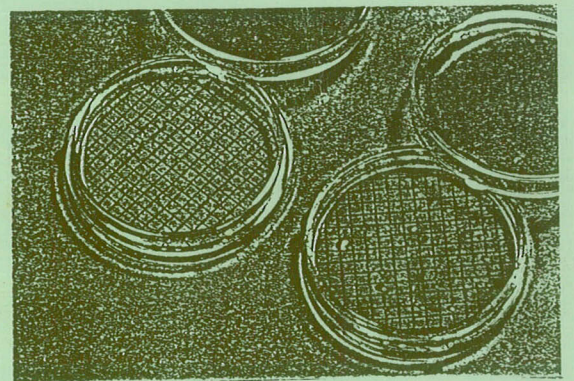
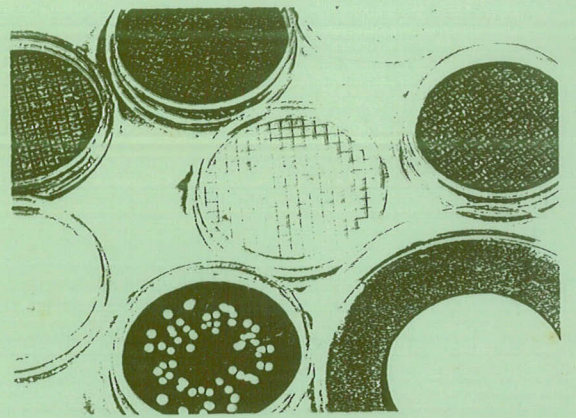
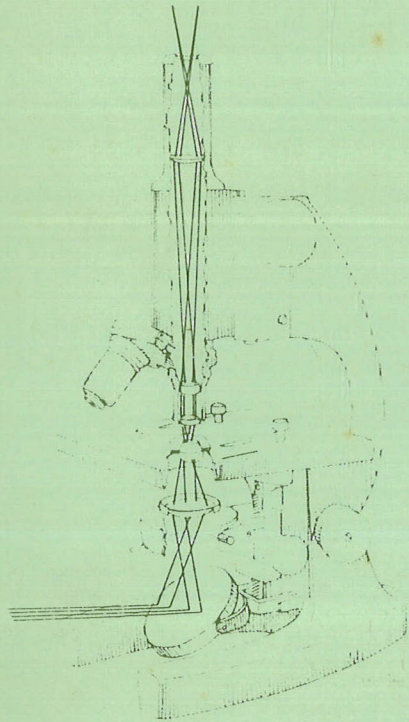


สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ.31-06 รายงานปีที่ 5/4

โครงการการใช้ประโยชน์และกำจัดวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร

“การศึกษาจุลินทรีย์ในป่านศรนารายณ์”



63.004.8

สถาป

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการการใช้ประโยชน์และกำจัดวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร

"การศึกษาจุลินทรีย์ในป่านศรนารายณ์"

อนุมัติโดย



.....

(นายเจลิ้มชัย ท่อนาค)

รองผู้อำนวยการ

รักษาการในตำแหน่งผู้อำนวยการ

วท. กรุงเทพฯ 2537

สงวนลิขสิทธิ์



๖๗

013857

63.004.8

สทพ

สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

โครงการวิจัยที่ ภ. 31-06 รายงานปีที่ 5/4

โครงการการใช้ประโยชน์และกำจัดวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร

"การศึกษาจุลินทรีย์ในบ่อบำบัดน้ำเสีย"

โดย

วันเชิญ	โพธา เจริญ
พรสวรรค์	ดิษยบุตร /
ไพพรรณ	บุตตะ
ทวี	สัปปินันท์
ชาตรี	สุชาการ
ไอศูรย์	บุญยะ เสน

การศึกษาจุลินทรีย์ในป่านศรนารายณ์

บทนำ

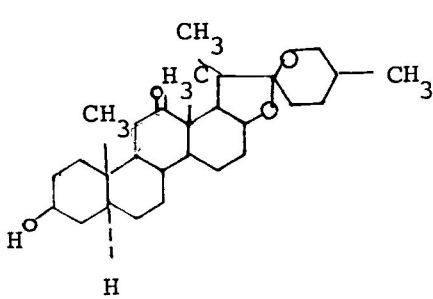
จุลินทรีย์มีอยู่ทั่วไปในสิ่งแวดล้อม ดิน น้ำ อากาศ ในสิ่งมีชีวิตทั้งหลาย คน สัตว์ พืช หรือปนเปื้อนอยู่ในสิ่งของ เครื่องใช้ บางชนิดก็มีประโยชน์ บางชนิดทำให้เกิดโรคภัยไข้เจ็บ การศึกษาวิจัยโครงการแยกสกัดสเตอรอยด์จากวัสดุเหลือทิ้งอุตสาหกรรมป่านศรนารายณ์ มีกระบวนการหมักน้ำที่เปียกจากเศษป่านเพื่อเอาตะกอน ในการหมักนั้น มีปฏิกิริยาต้องการอากาศ เกิดขึ้น และมีการเจริญของจุลินทรีย์ต่าง ๆ รวมทั้งเกิดวันสวรรค์ จึงสมควรได้มีการศึกษาว่ามี จุลินทรีย์ชนิดใดบ้าง และมีบทบาทอย่างไรในการตกตะกอนน้ำเปียกป่าน รวมทั้งการเก็บตัวอย่างจาก สภาพแวดล้อมในไร่ป่าน และจากต้นป่านศรนารายณ์โดยตรง

เหตุผลของการศึกษาทดลอง

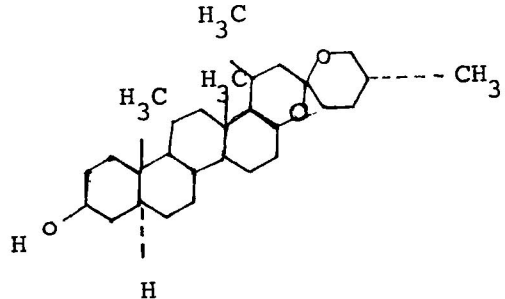
โครงการใช้ประโยชน์และกำจัดวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร ได้ศึกษาพัฒนา วัสดุเหลือทิ้งที่มีศักยภาพเพียงพอที่จะสู่อุตสาหกรรมการผลิต เพื่อเพิ่มมูลค่า ใช้ประโยชน์และกำจัด และเป็นการใช้ทรัพยากรอย่างคุ้มค่าอีกด้วย วัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมทำเชือกจากป่านศร-นารายณ์ *Agave sisalana* Perr. สามารถนำมาผลิตสเตอรอยด์ทางการค้าได้ โดยประเทศ ที่มีอุตสาหกรรมชนิดนี้ เช่น แอฟริกา บราซิล อินเดีย จีน ปากีสถาน แทนซาเนีย ฯลฯ ได้ผลิต สเตอรอยด์เป็นอุตสาหกรรมต่อเนื่อง สารสเตอรอยด์ใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตฮอร์โมนหลาย ชนิด เช่น corticosterone, sex hormone ใช้ในอุตสาหกรรมยา

ป่านศรนารายณ์มีสเตอรอยด์ที่สำคัญชื่อ hecogenin และ tigogenin อยู่ในธรรมชาติในรูป steroid sapogenin คือ เป็น saponin หรือ aglycone จับกับโมเลกุลน้ำตาล (Glucose, rhamnose) การสกัดสเตอรอยด์คือเอา genin ออกมา จะต้องมีการบวนการตัด น้ำตาลออกจากโมเลกุลของ sapogenin โดยจุลินทรีย์หรือกรด แล้วใช้ตัวทำละลายสกัดเอา สเตอรอยด์ออกมา ดังนี้

steroid sapogenin acid ----> ↓ aglycone + sugar



Hecogenin



Tigogenin

สูตรโครงสร้างของสเตอรอยด์ของป่านศรนารายณ์ aglycone หลังจากการหมัก และ acid hydrolysis จะตกตะกอน จึงมีแนวความคิดว่า ถ้าได้ตะกอนจากการหมักโดยจุลินทรีย์ที่มีบทบาท ปริมาณสเตอรอยด์ควรจะสูงขึ้น จึงได้แยกเชื้อจากน้ำป่านที่หมักตามธรรมชาติ และนำเชื้อนี้มาเติมลงในน้ำป่าน เพื่อช่วยการหมักว่าจะมีตะกอนเพิ่มมากขึ้น และปริมาณสเตอรอยด์สูงขึ้นหรือไม่ โดยทำการทดลองเปรียบเทียบและควบคุม คือ การไม่ใส่เชื้อเลย (sterilization) และเติมกรด

วัตถุประสงค์

เพื่อแยกจุลินทรีย์ที่สามารถผลิตกรดในน้ำป่านศรนารายณ์ ซึ่งคาดว่าจะช่วยการตกตะกอนของน้ำป่านได้เร็วขึ้น

อุปกรณ์และวิธีการ

- 1) ตัวอย่างป่านศรนารายณ์เก็บไว้ให้ล่อนและขูดแก้ว ดังนี้ (ดูรูปที่ 1-8)



รูปที่ 1 ไร่ป่านศรนากรายณ์



รูปที่ 2 การใช้เครื่องขูดเส้นใยป่านศรนากรายณ์



รูปที่ 3 เก็บตัวอย่างน้ำปานที่จุดบิบน้ำ



รูปที่ 4 นำน้ำปานใส่ขวดเก็บตัวอย่าง



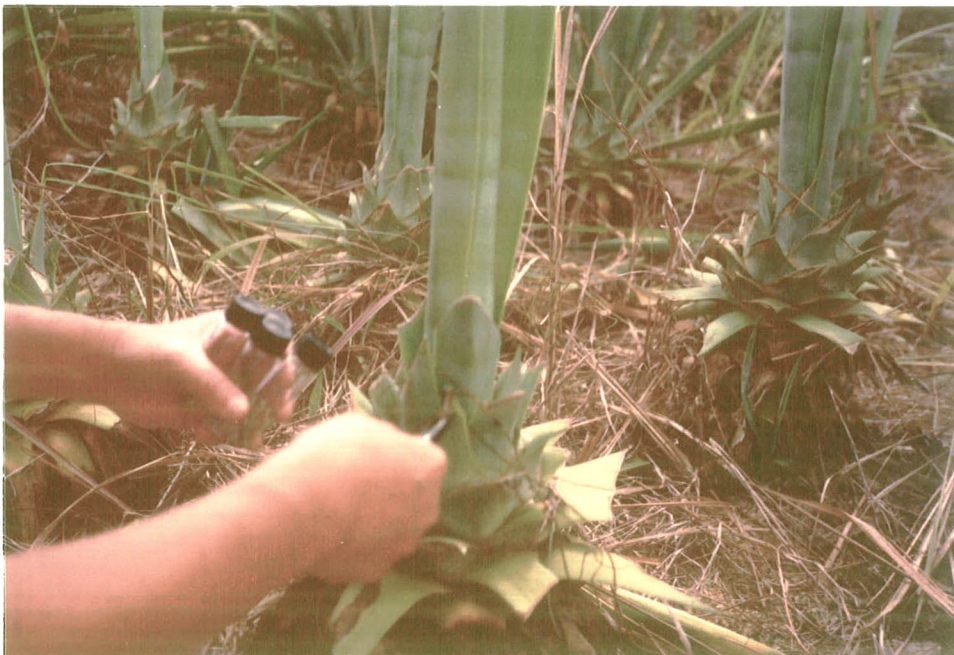
รูปที่ 5 เก็บตัวอย่างจากเศษป่านที่หลุดจากเครื่อง



รูปที่ 6 นำตัวอย่างเศษป่านใส่จานเพาะเชื้อ



รูปที่ 7 ใช้กระดาษกรอง เก็บตัวอย่างจากน้ำป้อนเพื่อตรวจเชื้อ



รูปที่ 8 เก็บตัวอย่างเพื่อตรวจเชื้อจากต้นป่านศรนารายณ์

- 1.1 ใยปานศรณารายณ์สดจากไร่
- 1.2 เศษปานศรณารายณ์ที่ใช้เครื่องชูดอกเพื่อให้เหลือเพียงใยปาน
- 1.3 น้ำปานศรณารายณ์ที่บีบออกจากเศษปานสด ๆ
- 1.4 น้ำปานศรณารายณ์ที่บีบออกจากเศษปานแล้ว นำมาตั้งทิ้งไว้จนเกิดขบวนการหมัก เป็นเวลา 2-3 อาทิตย์
- 1.5 เศษปานศรณารายณ์ที่กองหมักหมมอยู่ในไร่จนเป็นสีน้ำตาลเข้ม

2) การแยกเชื้อจุลินทรีย์

2.1 เตรียมอาหารสำหรับจุลินทรีย์ คือ Glucose yeast extract agar (GYEA) ซึ่งมีส่วนผสม คือ glucose 100 กรัม; yeast extract 10 กรัม; CaCO₃ 2 กรัม น้ำกลั่น 1 ลิตร; วนเลี้ยงเชื้อ 15 กรัม

2.2 อุปกรณ์และเครื่องแก้วที่จำเป็นในการแยกเชื้อ เช่น จานเพาะเชื้อ, หลอดแก้ว, น้ำกลั่น, ปากคีบ และเข็มเขี่ยเชื้อ เป็นต้น ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้วทั้งหมด

3) วิธีการ

3.1 นำตัวอย่างปานศรณารายณ์ใส่ในหลอดแก้วบรรจุอาหารเหลว glucose yeast extract broth (GYEB) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°ซ. เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

3.2 แยกเชื้อจากอาหารเหลวให้บริสุทธิ์ โดยวิธี streak plate บนอาหาร GYEA แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 35°ซ. เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

3.3 แยกโคโรเนียเดี่ยว ๆ ใส่ใน GYEA slant แล้วนำไปพิสูจน์ โดยวิธีการย้อมสี ตูลักษณะจากกล้องจุลทรรศน์ และคุณสมบัติทางชีวเคมีประกอบ เพื่อกำหนดชื่อ genus และ species

3.4 นำจุลินทรีย์ที่มีคุณสมบัติในการผลิตกรด ไปเติมในน้ำปาน เพื่อดูผลการตกตะกอน

จุลินทรีย์ที่พบในปานศรนารายณ์

1) Acetobacter

ลักษณะเชลรูปา่จนถึงรูปแ่งตรง บางครั้งตั้งเล็กน้อย ขนาด 0.6 - 0.8 x 1.0 - 30 um อาจเกิดเดี่ยว คู่ หรือเป็นสายรั้ เคลื่อนไหวได้โดย peritrichous flagella หรือไม้เคลื่อนไหว ไม้มี endospore ย้อมติดสีแกรมลบ คุณสมบัติเปลี่ยนเอทานอล เป็นกรดอะซีติกโดยปฏิกิริยาออกซิเดชันที่ pH 4.5 หรือสภาพเป็นกลางได้ เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้ออกซิเจน อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตที่ 30°C. pH 5.4-6.3 การเจริญเติบโตได้ที่ pH 4.0-4.5 พบในผัก ผลไม้ น้ำผลไม้รดเปรี้ยว น้ำส้ม เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ตัวอย่างของ genus คือ Acetobacter aceti (Pasteur) Beijerinck ถ้า subsp. xylinum จะผลิต cellulose ได้

2) Lactobacillus

รูปร่างเป็นแ่งยาวจนถึง coccobacilli มักอยู่เป็นสายรั้ ไม้เคลื่อนไหว แต่ถ้าเคลื่อนไหวได้โดย peritrichous flagella ไม้มีสปอร์ แกรมบวก แต่ถ้าเซลแ่งกรดมาก อาจเป็นแกรมลบ หมัก glucose จนถึง pH 1 อุณหภูมิที่เหมาะสม 30-40°C. เป็นกรด pH 5.5-5.8 หรือต่ำกว่า พบในผลิตภัณฑ์นมต่าง ๆ และน้ำทิ้ง (effluents) ัณูพืช เนื้อสัตว์ น้ำ น้ำทิ้ง (sewage) เบียร์ ไวน์ น้ำผลไม้ ผักดอง านปาก ลำไส้ ช่องคลอด ปกติไม่ก่อให้เกิดพยาธิสภาพ ตัวอย่าง species คือ L. delbrueckii (Leichmann) Beijerinck

3) Leuconostoc

เชลรูปร่างกลมอยู่เป็นคู่และสายรั้ ไม้เคลื่อนไหว แกรมบวก ไม้มีสปอร์ ุโรลนี้เล็กขนาดเล็กกว่า 1 มม. ลักษณะเรียบ กลม สีขาวเทา การเจริญเติบโตขึ้นกับการหมักคาร์โบไฮเดรต เช่น กลูโคสได้ D(-) lactic acid, ethanol และคาร์บอนไดออกไซด์ บางสายพันธุ์ให้กรดอะซีติก หรือ mannitol จาก fructose อุณหภูมิที่เหมาะสม 20-30°C. ไม้เป็นจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดโรค ตัวอย่าง species คือ L. mesenteroides (Tsenkovskii) van Tieghem พบในน้ำเชื่อม ผัก นม ไวน์

วันสวรรค์จากการหมักน้ำป่านให้ตกตะกอน

วันสวรรค์เกิดเป็นแผ่นด้านบนของถังหมัก แต่ลักษณะจะต่างจากวันน้ำมะพร้าว คือไม่เรียบ มีรูพรุนอากาศ เนื่องจากก๊าซที่เกิดปุด ๆ ตลอดเวลาของการหมัก และมีสายยาวของวันต่อลงมาเรื่อย ๆ เนื่องจาก มีน้ำตาลที่เกิดจากปฏิกิริยาหมักสแตโรยด์ตลอดเวลา และเชื้อใช้น้ำตาลเกิดเซลลูโลสขึ้น เชื้อที่ทำปฏิกิริยาเกิดวันสวรรค์ คือ Acetobacter aceti sub sp. xylinum วันสวรรค์จะเป็นผลพลอยได้ในการผลิตสแตโรยด์อีกอย่างหนึ่ง

4) ผลการทดลอง

4.1 จุลินทรีย์ที่แยกได้ คือ Acetobacter aceti sub sp. xylinum; Lactobacillus sp. (TC-1; TC-5; 3C-1; 3C-2; 3C-3) และ Leuconostoc sp. (TC-2; TC-3)

4.2 ผลการตกตะกอนในน้ำป่านโดยการเติมจุลินทรีย์เหล่านี้ลงไปเปรียบเทียบกับน้ำป่านที่ตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนตามธรรมชาติ พบว่าไม่แตกต่างกัน ดูตารางที่ 1 และผล GC รูปที่ 9-20

4.3 ในตัวอย่างที่เติม Lactobacillus sp. (3C-3) ลงไป พบปริมาณ steroid เพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างที่ไม่เติม ดูตารางที่ 2 และผล GC รูปที่ 21

4.4 ปริมาณวันสวรรค์ ขึ้นวันหนา 2-3 นิ้ว และมีวันที่เกิดขึ้นต่อเป็นสายลงมาเรื่อย ๆ รวมผลผลิตจากการตั้งทิ้งให้ตกตะกอนป่าน 3 เดือน ได้น้ำหนักวัน 4.5 กก./100 ลิตร น้ำป่าน และวันสวรรค์ไม่มีความเป็นพิษชนิดเฉียบพลันต่อหนูทดลอง

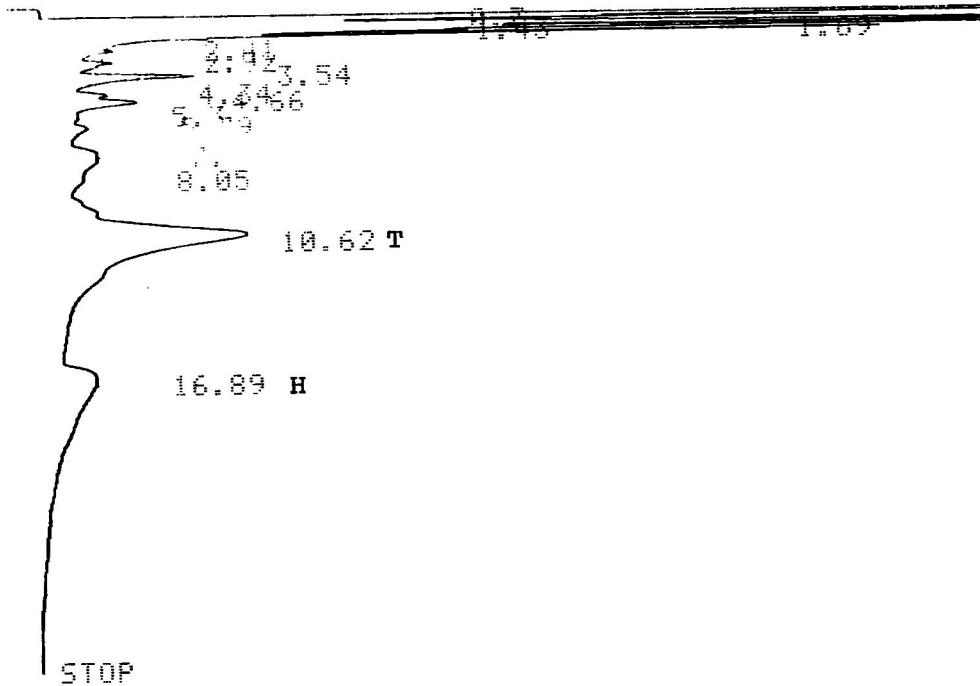
ตารางที่ 1 น้ำหนักตะกอนจากการทดลองเติมจุลินทรีย์ที่แยกจาก
น้ำป่าสนรายณ์ 10 ตัวอย่าง

จุลินทรีย์	น้ำหนักตะกอนที่ได้จากการหมัก กรัม
1. TC-1	Lactobocillus sp. 0.1
2. TC-2	Leuconostoc sp. 0.4
3. B-3-1	Unknown 0.1
4. TC-5	Lactobocillus sp. 0.1
5. Control	0.4
6. 3C-Z	Lactobacillus sp. 0.4
7. 5-1	Unknown 0.1
8. TC-3	Leuconostoc sp. 0.1
9. 3C-3	Lactobacillus sp. 0.1
10. 3C-1	Lactobacillus sp. 0.1

รูปที่ 9 ไม่ว่ายี่ห้อ

CONTROL 1

03.01.11.21.



03.01.11.21.

C-R1A
 SMPL # 00
 FILE # 1
 REPT # 818
 MET: 0) 41

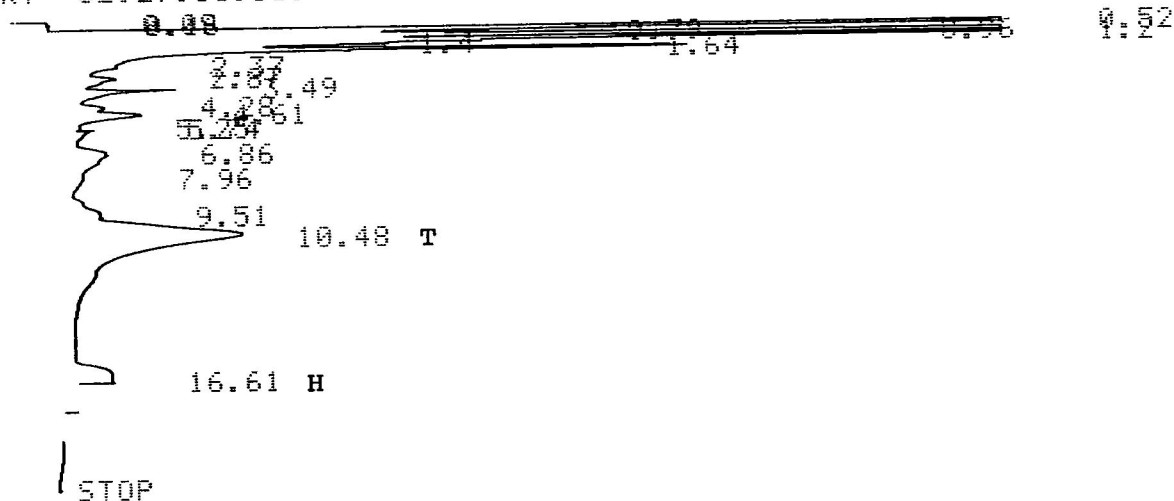
	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.53	68.198	E	9558969
0		0.7	0.8622	V	120853
0		1.43	5.3925	V	755843
0		1.69	6.5815	V	922504
0		1.43	0.7642	V	107119
0		1.69	3.4927	V	489561
0		2.92	0.187	T	16640
0		3.54	0.893	V	125174
0		4.34	0.2994	V	41973
0		4.66	0.6622	V	92827
0		5.3	0.2124	V	29771
0		5.79	0.5128	V	71884
0		7.0	1.0585	V	148369
0		8.05	0.4911	V	68838
0		10.62	7.0352	V	986092
0		16.89	3.425	V	480067
	TOTAL		99.9999		14016484

T = Ticogenin

H = Hecogenin

รูปที่ 10 ชื่อ Leuconostoc sp.

TC-3
START 02.27.11.00.

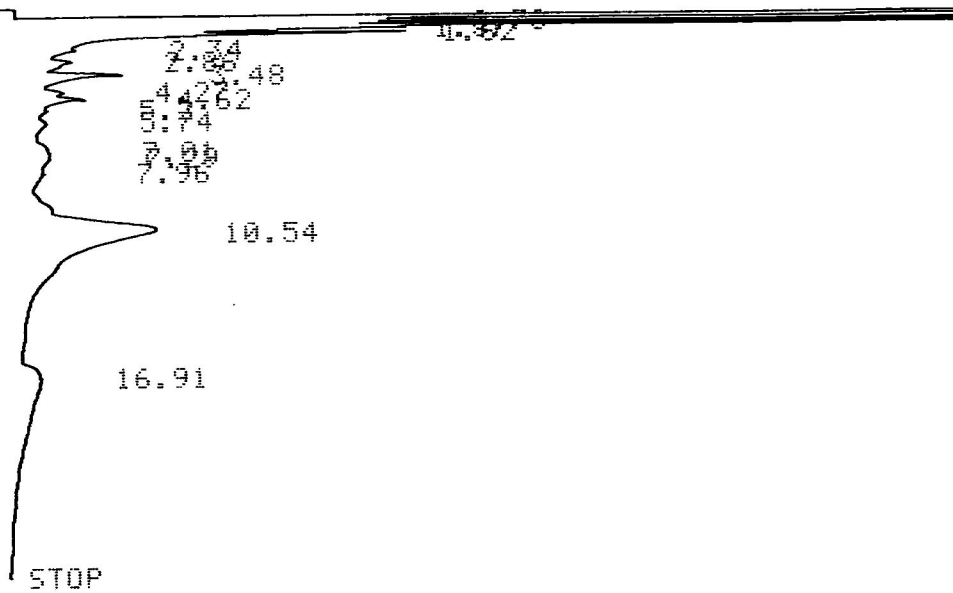


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 807
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.52	80.4198	E	10212476
0		0.79	0.0856	T	10881
0		0.96	3.5458	TV	450281
0		1.2	5.251	TV	666833
0		1.4	0.1862	TV	23648
0		1.64	1.2439	TV	157962
0		2.37	0.0223	T	2836
0		2.87	0.1151	T	14628
0		3.49	0.3816	TV	48467
0		4.28	0.0887	T	11272
0		4.61	0.3291	TV	41797
0		5.25	0.0108	TV	1372
0		5.74	0.1121	T	14237
0		6.86	0.4182	TV	53109
0		7.96	0.0578	TV	7351
0		9.51	0.2643	T	33564
0		10.48	3.5616	TV	452291
0		16.61	3.9054	TV	495948
	TOTAL		100		12698953

รูปที่ 11 เชื้อ Lactobacillus sp.

ETC-1 1
START 02.27.10.33.



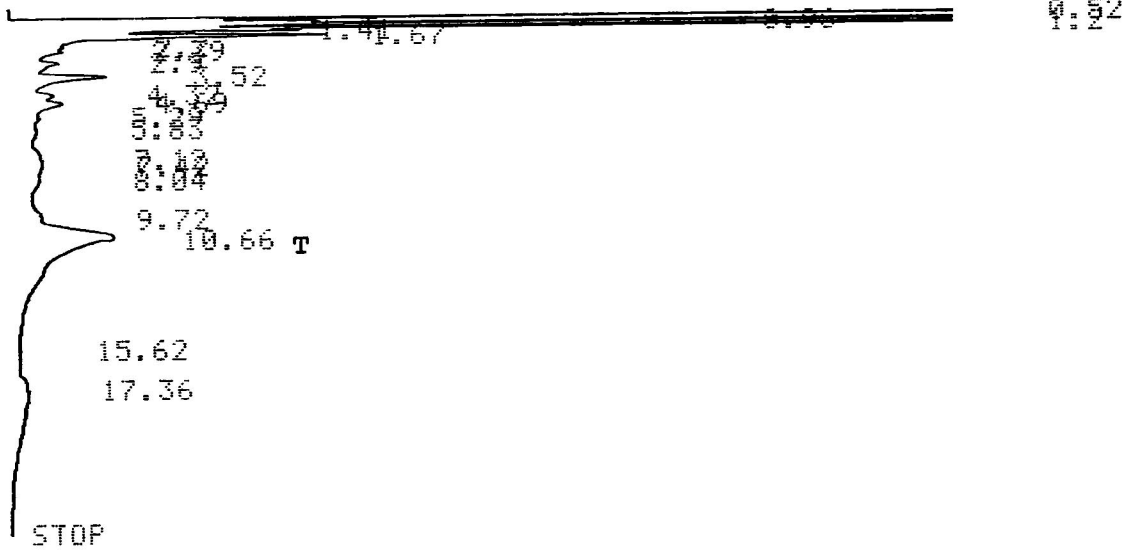
รูปที่ 11

C-R1A
 SMPL # 00
 FILE # 1
 REPT # 806
 METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.51	73.2209	E	8483286
0		0.78	0.9968	V	115496
0		0.92	5.1194	V	593134
0		1.17	6.199	V	718216
0		1.37	0.9086	V	105270
0		1.62	2.0084	V	232693
0		2.34	0.3689	V	42743
0		2.86	0.4526	V	52441
0		3.48	0.8196	V	94966
0		4.27	0.2671	V	30947
0		4.62	0.6223	V	72106
0		5.2	0.1716	V	19885
0		5.74	0.4206	V	48740
0		7.01	0.4039	V	46803
0		7.29	0.3907	V	45274
0		7.96	0.3593	V	41639
0		10.54	5.4989	V	637102
0		16.91	1.7705	V	205132
	TOTAL		100.		11585873

รูปที่ 12 ชื่อ Leuconostoc sp.

TC-2 02.27.10.08.

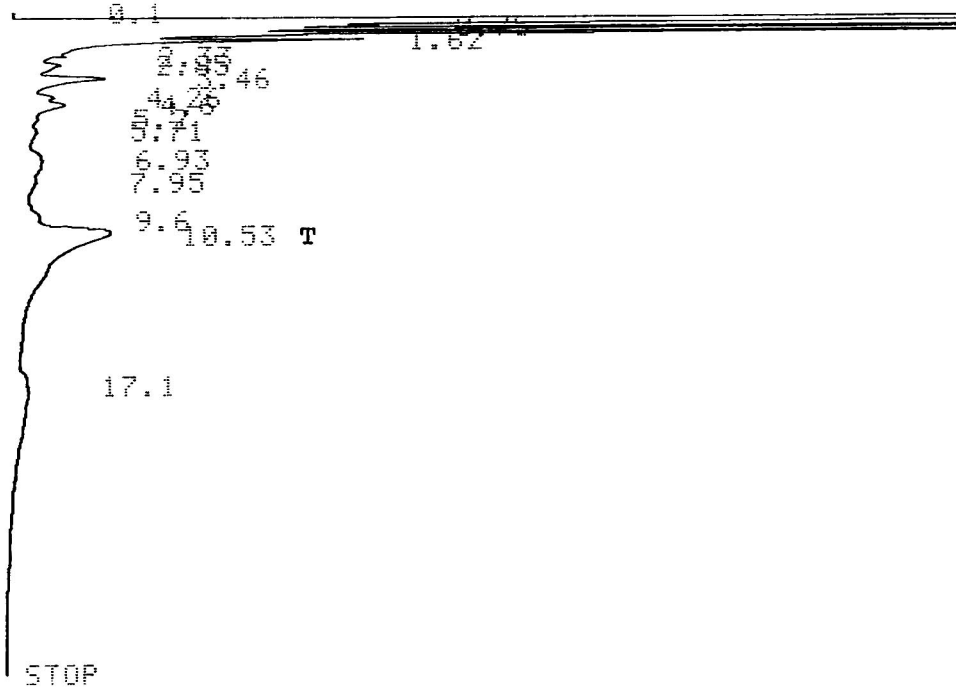


C-R1A
 SMPL # 00
 FILE # 1
 REPT # 805
 METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.52	78.6258	E	8585336
0		0.96	4.3678	V	476936
0		1.2	5.0708	V	553694
0		1.41	0.705	V	76982
0		1.67	1.4732	V	160864
0		2.2	0.1746	V	19066
0		2.39	0.315	V	34403
0		2.9	0.3961	V	43259
0		3.52	0.7483	V	81712
0		4.32	0.2855	V	31174
0		4.69	0.4688	V	51199
0		5.29	0.2439	V	26633
0		5.83	0.3731	V	40742
0		7.12	0.4521	V	49372
0		7.42	0.3401	V	37143
0		8.04	0.4607	V	50307
0		9.72	0.5308	V	57959
0		10.66	3.9446	V	430729
0		17.36	1.0231	V	111716
	TOTAL		100		10919226

รูปที่ 13 ชื่อ Lactobacillus sp.

TC-5
START 02.27.11.31.
MIN AM 5000



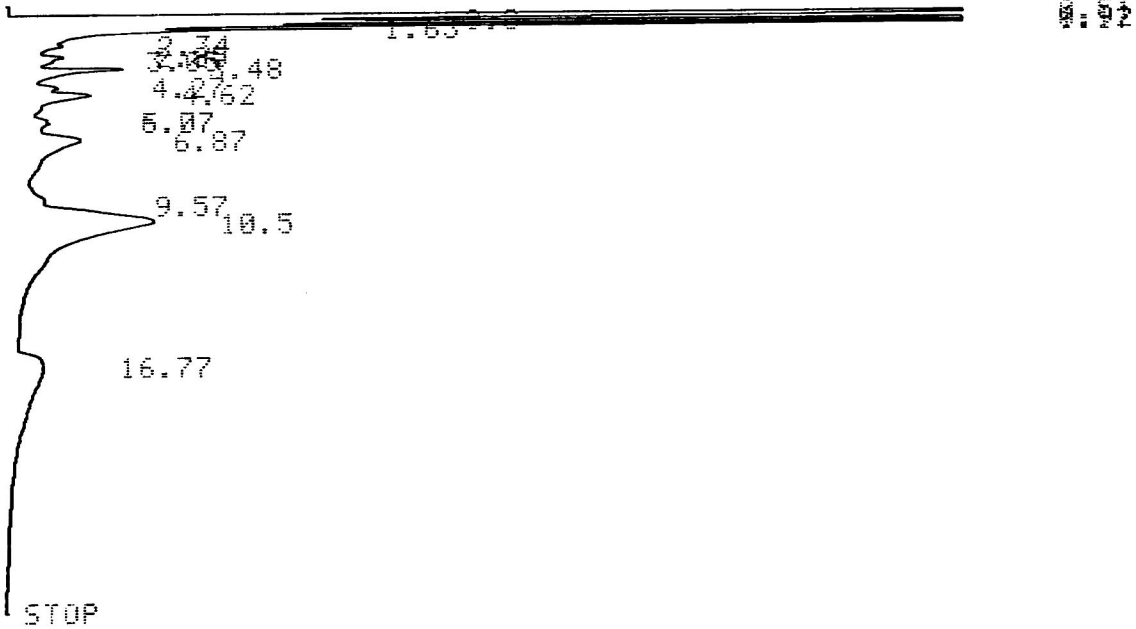
0.1 0.5 0.75 0.91 1.16 1.62 2.85 3.46 4.26 4.6 5.71 6.93 7.95 9.6 10.53 17.1

C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 808
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.5	88.3021	E	9466852
0		0.75	0.082	T	8797
0		0.91	2.6286	T	281813
0		1.16	3.5495	TV	380544
0		1.62	0.689	T	73868
0		2.85	0.0941	T	10094
0		3.46	0.3806	T	40808
0		4.26	0.087	T	9331
0		4.6	0.2203	TV	23621
0		5.71	0.0514	TV	5511
0		6.93	0.2524	T	27069
0		7.95	0.0852	TV	9144
0		9.6	0.1717	TV	18418
0		10.53	2.753	TV	295158
0		17.1	0.6524	TV	69947
	TOTAL		99.9999		10720975

รูปที่ 14 ชื่อ Unknown

B-3-1
START 02.27.12.20.

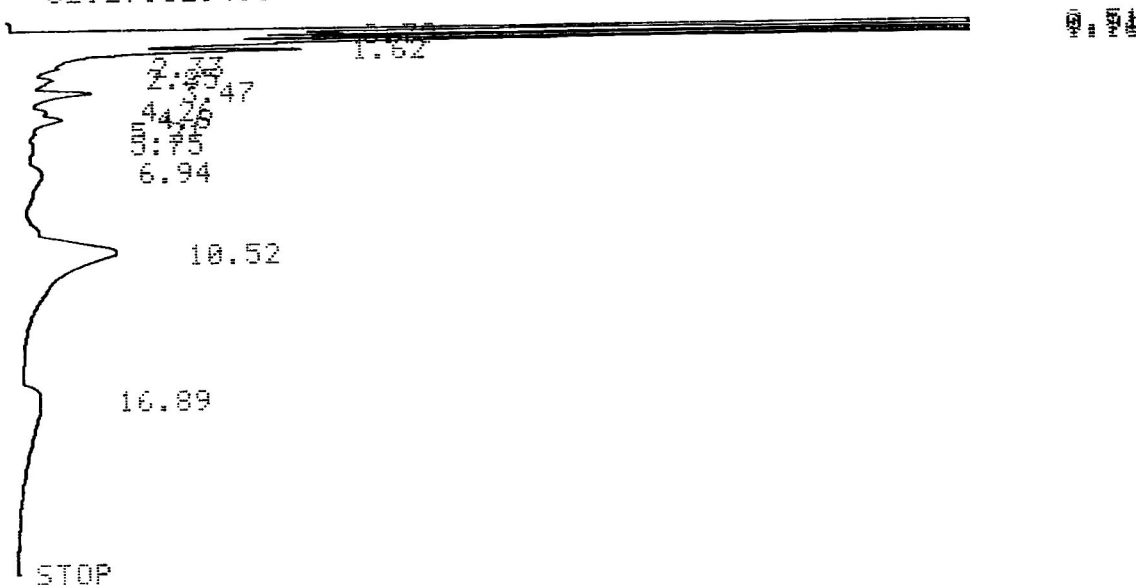


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 809
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.51	72.7633	E	8241548
0		0.8	0.9865	V	111745
0		0.92	4.8105	V	544866
0		1.17	6.9158	V	783327
0		1.63	1.8112	V	205156
0		2.34	0.3358	V	38043
0		2.85	0.2583	V	29266
0		3.05	0.1734	V	19643
0		3.48	0.8265	V	93618
0		4.27	0.2634	V	29841
0		4.62	0.885	V	100245
0		5.77	0.3501	V	39659
0		6.07	0.2394	V	27118
0		6.87	1.6687	V	189015
0		9.57	0.5161	V	58457
0		10.5	4.9528	V	560988
0		16.77	2.2422	V	253967
	TOTAL		100		11326503

รูปที่ 15 เชื้อ Unknown

5-1
START 02.27.12.49.

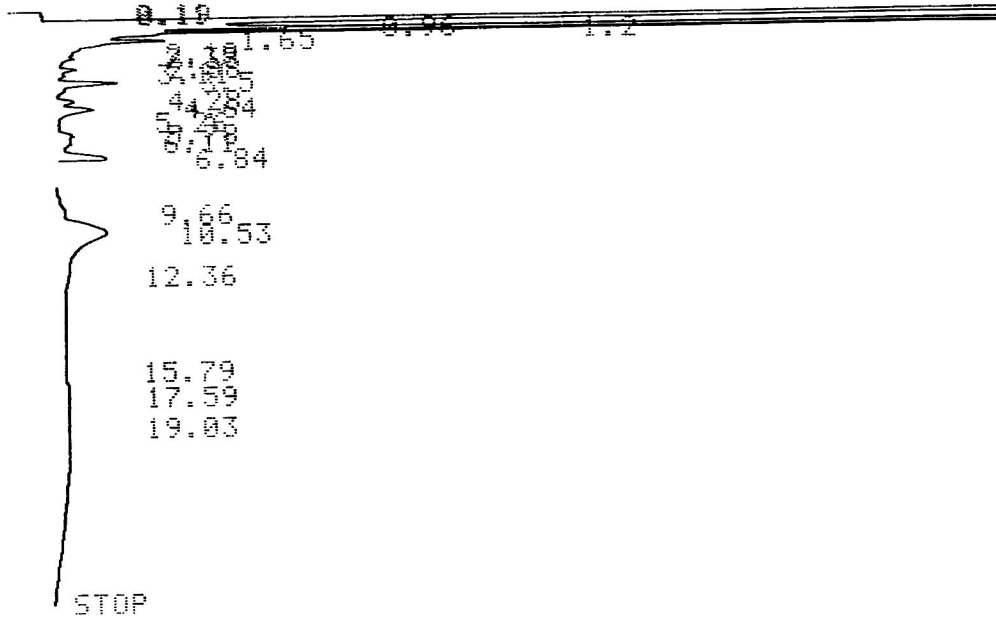


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 810
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.51	78.8887	E	8319170
0		0.79	0.7511	V	79210
0		0.91	3.7203	V	392328
0		1.16	5.4103	V	570548
0		1.62	1.6769	V	176842
0		2.33	0.3041	V	32071
0		2.85	0.3615	V	38127
0		3.47	0.639	V	67386
0		4.26	0.2201	V	23215
0		4.6	0.4726	V	49837
0		5.21	0.1389	V	14648
0		5.75	0.3440	V	36311
0		6.94	0.9466	V	99826
0		10.52	4.4219	V	466311
0		16.89	1.7032	V	179614
	TOTAL		100		10545444

รูปที่ 16 เชื้อ Lactobacillus sp.

3C-1
START 02.27.13.15.



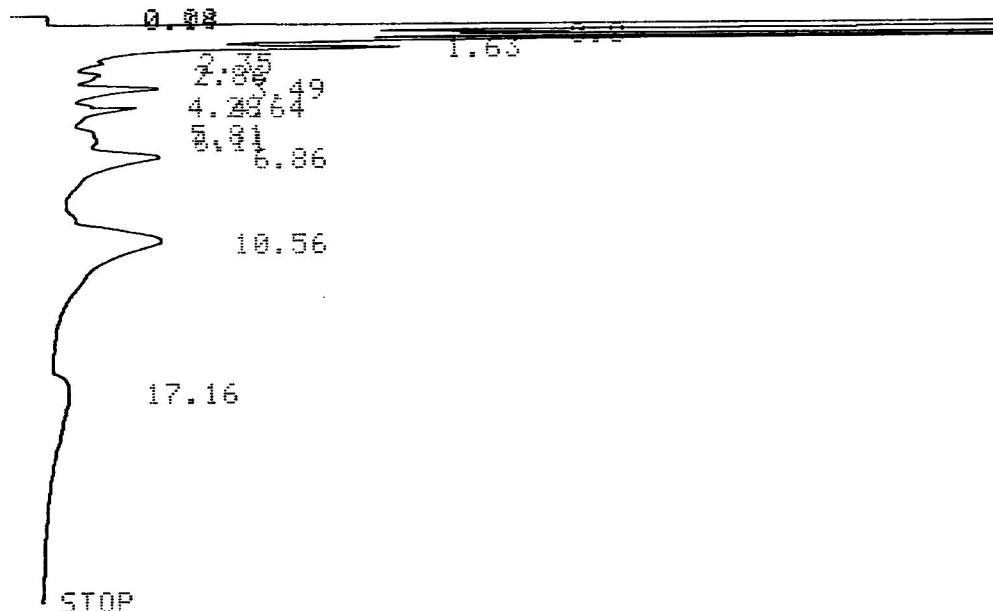
0.51

C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 811
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	PK	AREA
0		0.51	88.8658	E	8944174
0		0.96	2.5122	V	252852
0		1.2	2.7486	V	276649
0		1.65	0.7312	V	73597
0		2.19	0.0771	V	7760
0		2.38	0.1605	V	16157
0		2.88	0.1457	V	14669
0		3.11	0.0707	V	7115
0		3.5	0.4086	V	41125
0		4.28	0.1403	V	14129
0		4.64	0.3115	V	31354
0		5.26	0.0722	V	7267
0		5.78	0.1575	V	15854
0		6.11	0.1389	V	13986
0		6.84	0.7968	V	80200
0		9.66	0.1325	V	13344
0		10.53	1.0782	V	108519
0		12.36	0.1124	V	11315
0		17.59	0.3476	V	34985
0		19.83	0.9911	V	99754
	TOTAL		100.		10064805

รูปที่ 17 เชื้อ Lactobacillus sp.

3C-2
START 02.27.13.43.



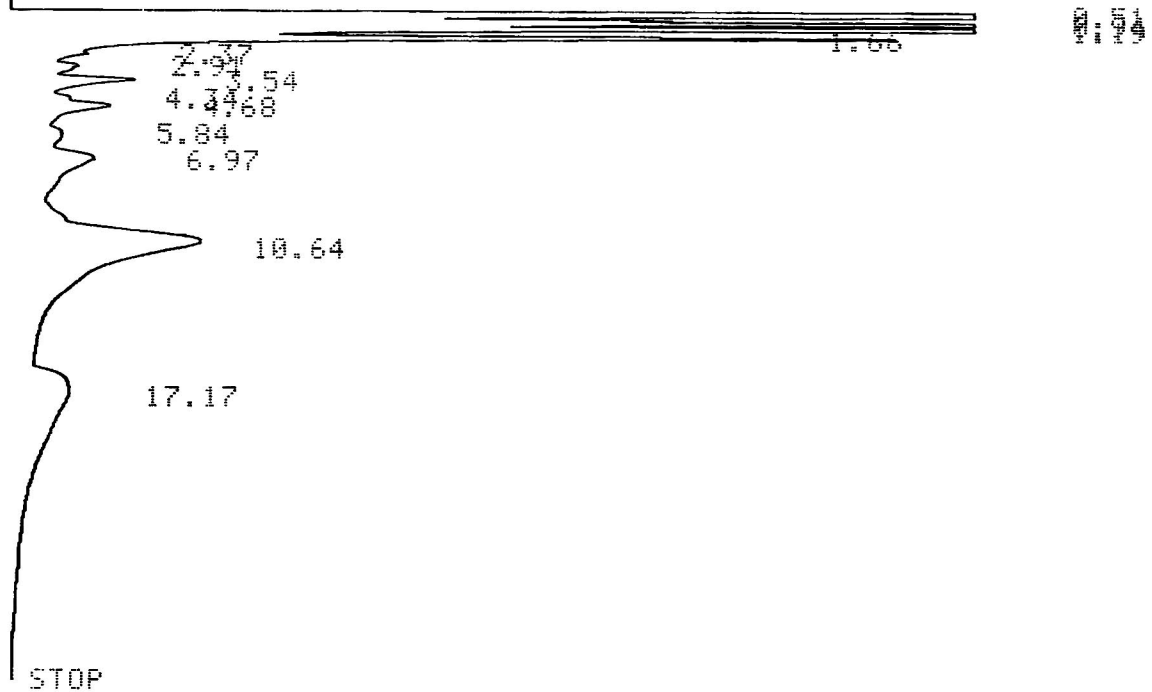
รูปที่ 17

C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 812
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.51	71.4678	E	8233375
0		0.8	1.038	V	119588
0		0.92	5.3887	V	620809
0		1.17	7.7297	V	890497
0		1.63	1.9666	V	226571
0		2.35	0.3406	V	39242
0		2.86	0.4301	V	49559
0		3.49	0.8675	V	99947
0		4.28	0.2309	V	26607
0		4.64	1.0046	V	115736
0		5.81	0.3145	V	36241
0		6.11	0.4297	V	49503
0		6.86	2.2322	V	257162
0		10.56	4.826	V	555983
0		17.16	1.7323	V	199574
	TOTAL		99.9999		11520394

รูปที่ 18 เชื้อ Lactobacillus sp.

30-3
START 03.01.12.34.

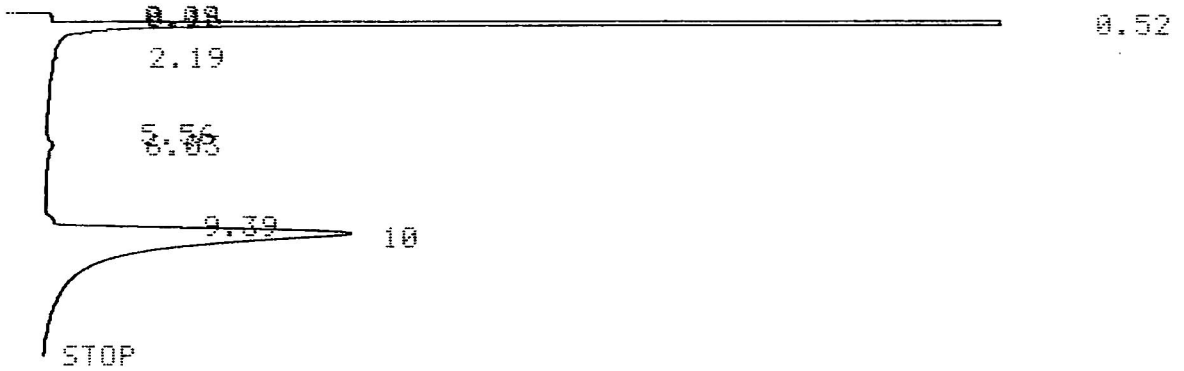


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 819
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.51	62.2161	E	8404348
0		0.94	7.5552	V	1020590
0		1.19	9.9755	V	1347532
0		1.66	4.2763	V	577660
0		2.91	0.1001	T	13531
0		3.54	0.9089	V	122787
0		4.34	0.2583	V	34895
0		4.68	1.0392	V	140383
0		5.84	0.6426	V	86805
0		6.97	1.9004	V	256723
0		10.64	7.2923	V	985074
0		17.17	3.8344	V	517968
	TOTAL		99.9999		13508296

รูปที่ 19 สํารมาตรฐาน Ticogenin

TICOGENIN-9 9 mg/750 ul CHCl₃
START 02.27.14.59.



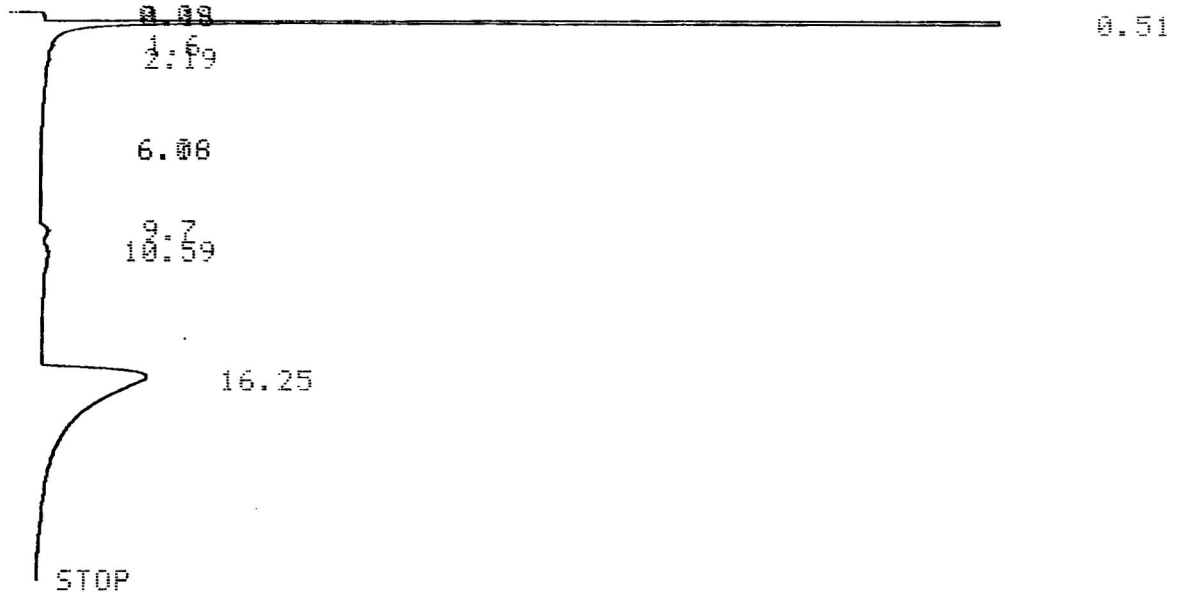
C-RIA
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 815
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.52	93.3695	E	9525883
0		6.03	0.0926	V	9457
0		9.39	0.0705		7195
0	Ticogenin 10		6.4672	V	659812
	TOTAL		100		10202347

THAI NATIONAL
DOCUMENTATION CENTER

รูปที่ 20 สารมาตรฐาน Hecogenin

HECOGENIN-9.6 : 9.6 mg/750 u1 CHCl₃
START 02.27.15.15.



C-R1A
SMPL # 00
FILE # 1
REPT # 816
METHOD 41

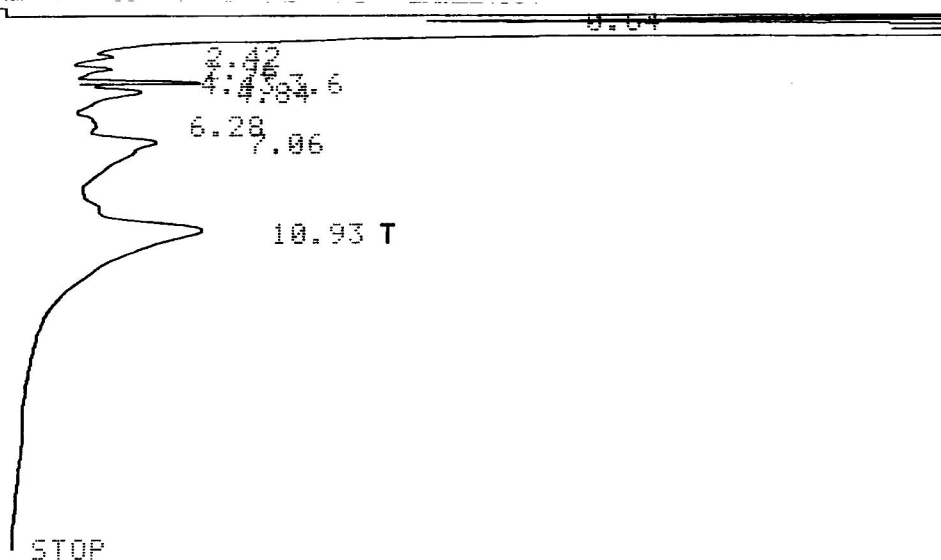
#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.51	95.3534	E	9783964
0		9.7	0.0947		9718
0		10.59	0.217	V	22271
0	Hecogenin	16.25	4.3348		444784
	TOTAL		99.9999		10260737

ตารางที่ 2 เชื้อ 3C-3 ทดลองหมักน้ำป่านสภาวะต่าง ๆ
เพื่อหาปริมาณสเตอรอยด์

สภาวะ	น้ำหนักตะกอน กรัม	น้ำหนัก สารสกัดด้วยคลอโรฟอร์ม
1. น้ำป่านหมักเชื้อ + 10% Inoculum	6.3	0.9421
2. น้ำป่านหมักเชื้อ + 10% Inoculum	5.5	1.0570
3. น้ำป่าน + 10% Inoculum	5.6	0.9409
4. น้ำป่าน + 10% Inoculum	5.8	0.9794
5. น้ำป่านหมักเชื้อเป็นตัวอย่างควบคุม	5.3	0.9381
6. น้ำป่านไม่หมักเชื้อเป็นตัวอย่างควบคุม	5.3	0.8625
7. น้ำป่านเติมกรดเกลือ pH 2.95	6.4	1.4806

รูปที่ 21 ผลของเชื้อ 3C-3 ต่อปริมาณ Hecogenin และ Tigogenin

START 05.06.09.54. 1 ul (7) ตาราง 2



METHOD 41

C-R1A
SMPL # 00
FILE # 6
REPT # 1448
METHOD 41

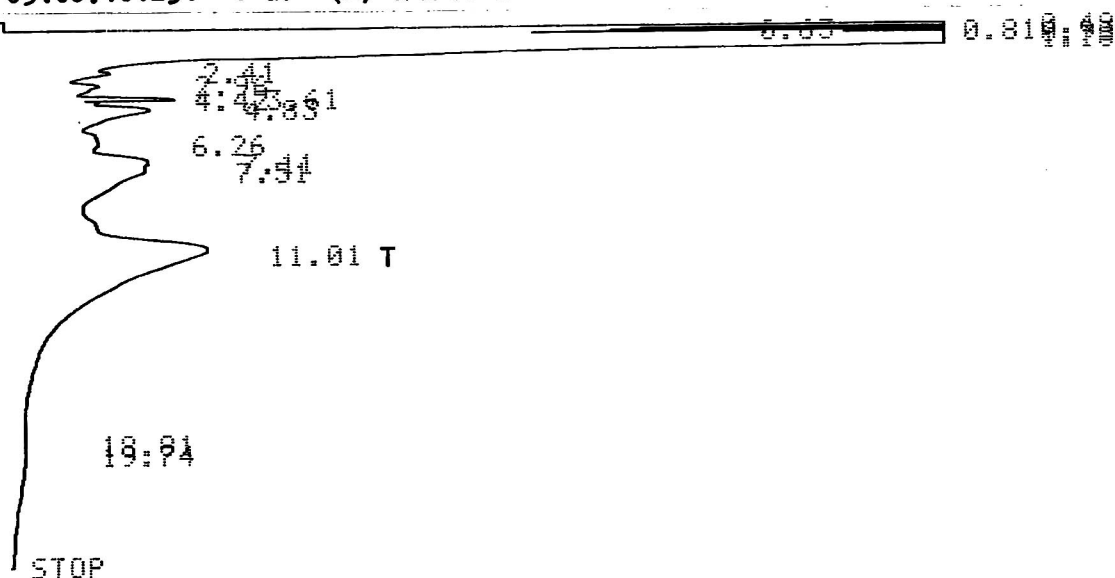
#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.48	48.1492	E	6157100
0		0.64	1.347	V	172253
0		0.93	10.4089	V	1331045
0		1.18	29.7611	V	3805726
0		2.42	0.0811	T	10382
0		2.96	0.1832	T	23437
0		3.6	0.7945	TV	101604
0		4.43	0.1943	TV	24855
0		4.84	0.7113	TV	90963
0		6.28	0.389	TV	49748
0		7.06	2.312	TV	295658
0		10.93	5.6677	TV	724771
	TOTAL		99.9999		12787542

Col. OV-1 Col. temp 280°C, injection temp. 300°C

N₂ 55 ml/min, att. 2⁵, range 10²

รูปที่ 21 (ต่อ)

START 05.06.10.23. 1 ul (2) ตาราง 2

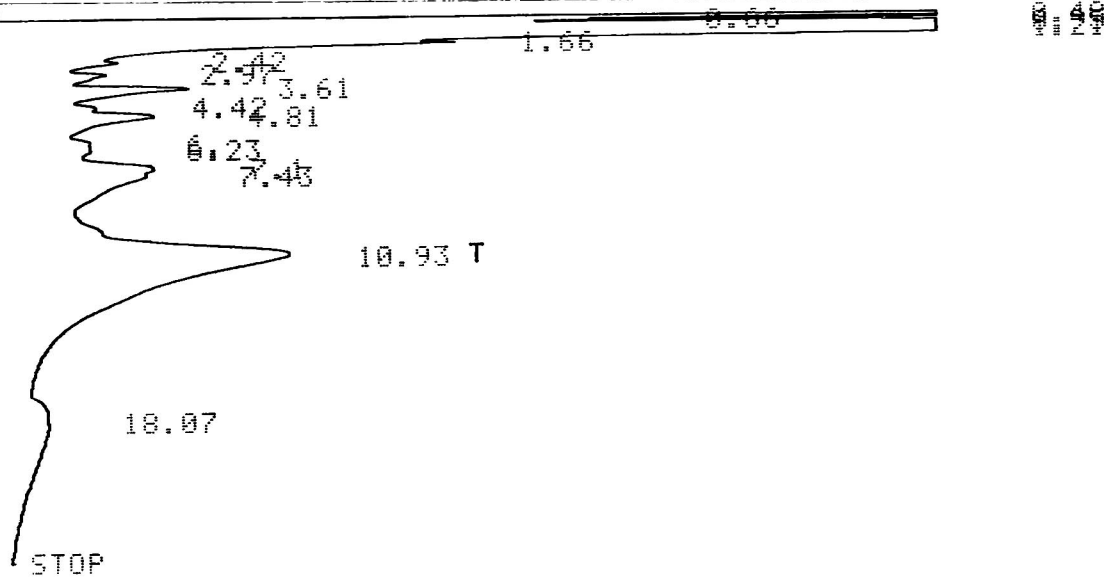


C-R1A
 SMPL # 00
 FILE # 6
 REPT # 1449
 METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.48	41.3763	E	5808113
0		0.63	1.69	V	237236
0		0.81	1.8731	V	262940
0		0.93	9.463	V	1328355
0		1.18	34.5544	V	4850505
0		2.41	0.0668	T	9382
0		2.96	0.1548	T	21733
0		3.61	0.704	TV	98829
0		4.42	0.1561	TV	21925
0		4.83	0.8377	TV	117597
0		6.26	0.4507	TV	63271
0		7.11	0.834	TV	117072
0		7.51	1.5022	TV	210868
0		11.01	6.15	TV	863301
0		18.81	0.0312	T	4382
0		19.74	0.155	TV	21768
	TOTAL		99.9999		14037279

รูปที่ 21 (ต่อ)

START 05.06.10.56. 1 ul (3) ตาราง 2

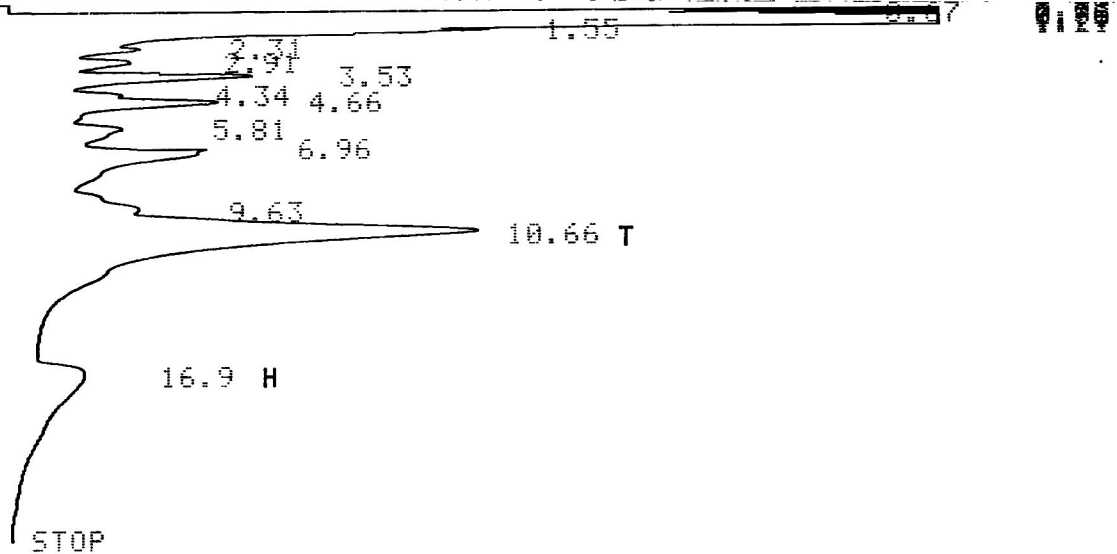


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 6
REPT # 1451
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.48	45.2545	E	6927771
0		0.66	1.5457	V	236636
0		0.95	10.044	V	1537588
0		1.21	30.7007	V	4699816
0		1.66	0.166	T	25416
0		2.42	0.0616	T	9438
0		2.97	0.1558	T	23857
0		3.61	0.6261	TV	95860
0		4.42	0.1101	TV	16855
0		4.81	0.6693	TV	102466
0		6.	0.146	TV	22353
0		6.23	0.1797	TV	27513
0		7.1	0.7128	TV	109121
0		7.43	1.1169	TV	170982
0		10.93	7.4985	TV	1147906
0		18.07	1.0117	T	154884
	TOTAL		99.9999		15308462

รูปที่ 21 (ต่อ)

START 05.06.11.22. 1 ul (4) ตาราง 2

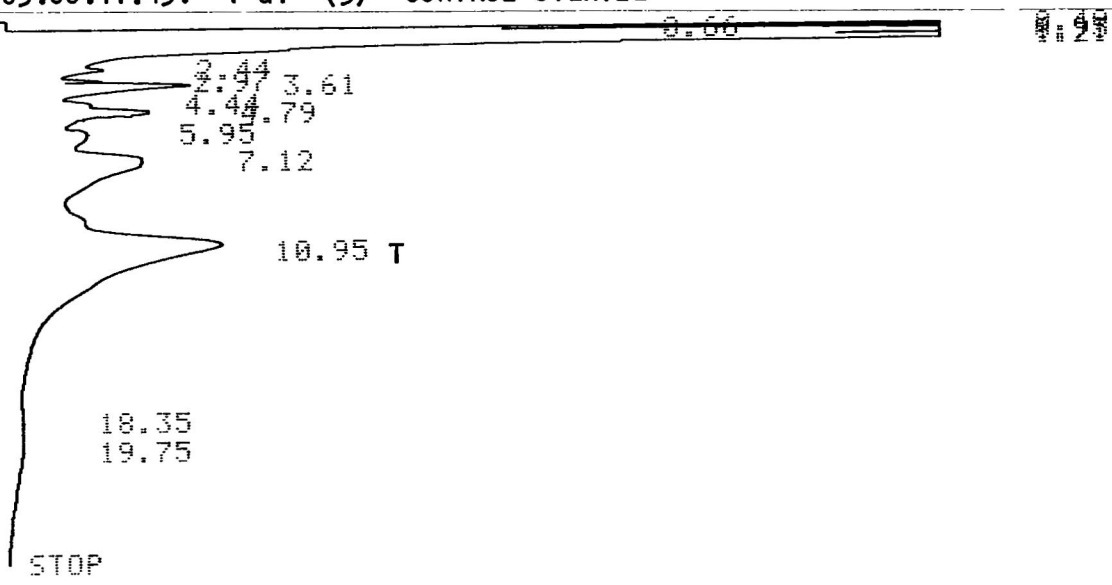


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 6
REPT # 1452
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.48	53.7252	E	10491724
0		0.67	1.0568	V	206379
0		0.76	0.7865	V	153600
0		0.85	3.2991	V	644277
0		0.96	4.3158	V	842829
0		1.1	6.0166	V	1174961
0		1.21	18.952	V	3701041
0		1.55	0.2153	T	42057
0		2.31	0.0771	T	15062
0		2.91	0.1934	T	37770
0		3.53	0.6523	TV	127401
0		4.34	0.1174	T	22929
0		4.66	0.6737	TV	131573
0		5.81	0.3703	TV	72331
0		6.96	1.637	TV	319685
0		9.63	0.6345	TV	123919
0		10.66	5.9511	TV	1162174
0		16.9	1.3251	TV	258782
	TOTAL		100.		19528486

รูปที่ 21 (ต่อ)

START 05.06.11.45. 1 ul (5) CONTROL STERILE

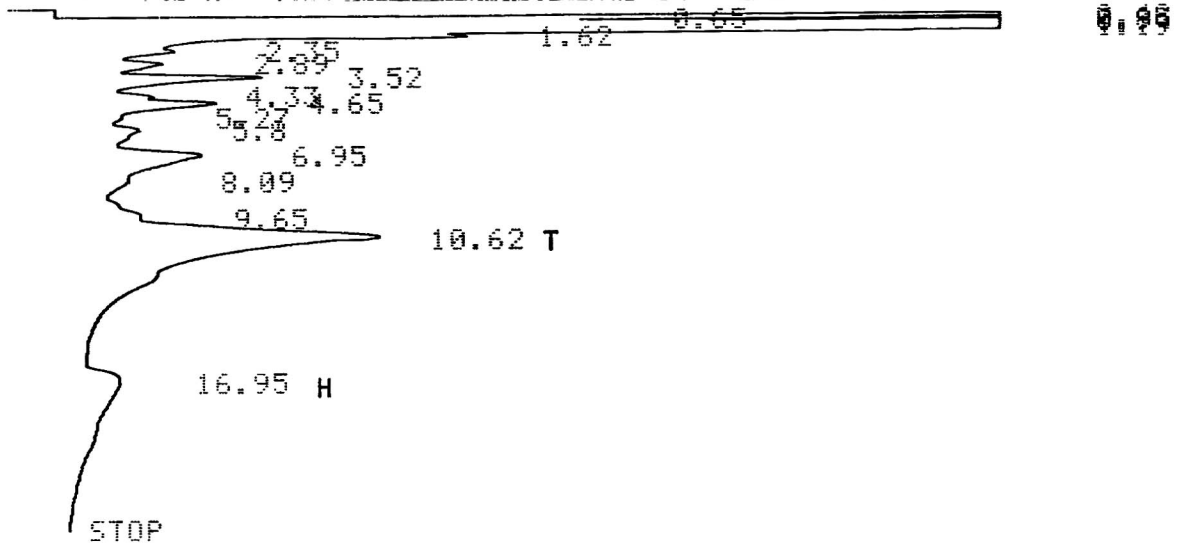


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 6
REPT # 1453
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.49	50.1701	E	6962732
0		0.66	1.7028	V	236332
0		0.95	9.5577	V	1326446
0		1.21	28.1339	V	3904491
0		2.44	0.0821	T	11407
0		2.97	0.2032	T	28213
0		3.61	0.7277	TV	100999
0		4.44	0.123	TV	17074
0		4.79	0.7765	TV	107774
0		5.95	0.4099	TV	56895
0		7.12	1.9768	TV	274356
0		10.95	5.8612	TV	813433
0		18.35	0.0982	T	13641
0		19.75	0.1761	TV	24446
	TOTAL		100.		13878239

รูปที่ 21 (ต่อ)

START 05.06.12.45. 1 ul (6) ตาราง 2 CONTROL NONSTERILE

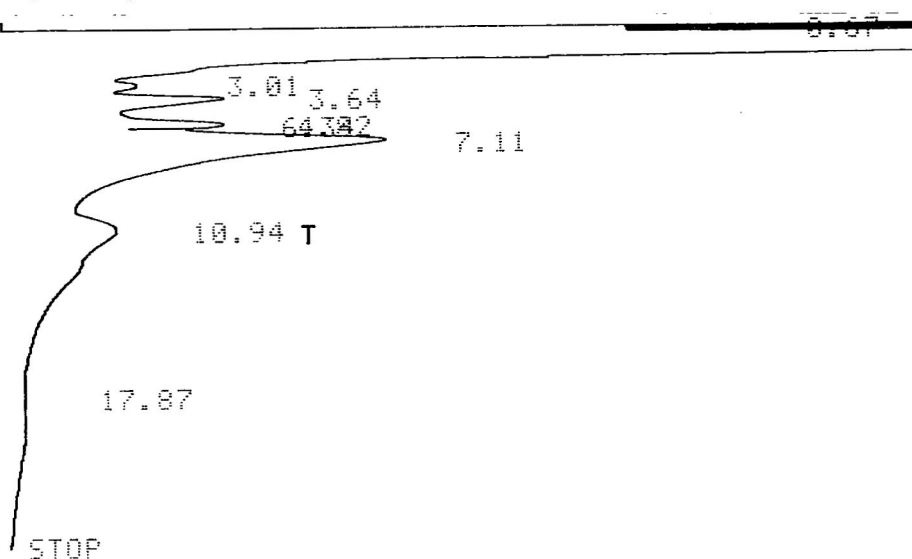


C-R1A
SMPL # 00
FILE # 6
REPT # 1454
METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.48	58.3482	E	9843045
0		0.65	0.8291	V	139870
0		0.85	3.1796	V	536396
0		0.94	4.9094	V	828197
0		1.19	13.542	V	2284481
0		1.62	1.917	V	323391
0		2.35	0.5594	V	94378
0		2.89	0.603	V	101738
0		3.52	1.1464	V	193396
0		4.33	0.3334	V	56258
0		4.65	1.0161	V	171421
0		5.27	0.204	V	34421
0		5.8	0.7793	V	131465
0		6.95	1.7596	V	296838
0		8.09	0.5626	V	94915
0		9.65	0.782	V	131928
0		10.62	7.4297	V	1253355
0		16.95	2.0984	V	353990
	TOTAL		99.9999		16869482

รูปที่ 21 (ต่อ)

START 05.06.13.10. 1 ul (7) ตาราง 2 เดิม HCl pH 3



05.06.13.10.10

C-R1A
 SMPL # 00
 FILE # 6
 REPT # 1455
 METHOD 41

#	NAME	TIME	CONC	MK	AREA
0		0.49	41.126	E	8148072
0		0.67	1.0915	V	216271
0		0.97	12.768	V	2529670
0		1.23	37.1529	V	7360911
0		1.68	0.2842	T	56323
0		3.01	0.081	T	16049
0		3.64	0.5538	TV	109721
0		4.82	0.8882	TV	175976
0		6.34	0.7421	TV	147028
0		7.11	3.9814	TV	788829
0		10.94	1.307	TV	258952
0		17.87	0.0235	T	4659
	TOTAL		100.		19812456

วิจารณ์

1) การทดลองจุลินทรีย์ชนิดต่าง ๆ ที่แยกได้จากน้ำปาน เมื่อเพาะเลี้ยงแล้วปลูกเชื้อในน้ำปาน เพื่อดูปริมาณตะกอนและสเตอรอยด์ ผลการทดลองปริมาณตะกอนไม่แตกต่างกันนักในแต่ละเชื้อ และปริมาณสเตอรอยด์รวมจากผล GC ก็ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ซึ่งอาจเป็นเพราะ Inoculum ไม่สูงพอที่จะทำให้เกิดการแตกต่างได้

2) การใช้เชื้อ 3C-3 ทดลองเพิ่มปริมาณตะกอนโดยฆ่าเชื้อน้ำปาน และไม่ฆ่าเชื้อรวมทั้งใช้กรดเติมลงไป เพื่อเปรียบเทียบ ผลน้ำหนักตะกอนไม่แตกต่างกันนัก และปริมาณรวมสเตอรอยด์จากการตรวจโดย GC ตัวอย่างน้ำปานไม่ฆ่าเชื้อ เติมเชื้อ น้ำปานเติมกรด และน้ำปานที่ใช้เป็นตัวเปรียบเทียบไม่ใส่เชื้อ ผลไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เนื่องจากปริมาณ Inoculum อาจน้อยไป

3) จากการทดลองข้อ 1 และ 2 อาจสรุปได้ว่า การหมักตามธรรมชาติ จะเป็นทางเลือกที่ดีที่สุด เพราะไม่ต้องเพิ่มต้นทุนค่าใช้จ่ายในการหมักตะกอนอีกด้วย

สรุป

งานนี้กำลังศึกษาทดลองต่อไป เพื่อแยกให้ได้ถึง species ของแต่ละเชื้อ

กิติกรรมประกาศ

คณะผู้วิจัยของขอขอบคุณ โรงเรียนเบญจมพร เกษตรกรรม ที่ให้ความอนุเคราะห์ตัวอย่าง
ป่านศรนารายณ์ในการทดลองไว้ ณ ที่นี้

เอกสารอ้างอิง

1. R.E. Buchanan & N.E. Gibbons : Bergey's Manual of Determinative Bacteriology 8^{ed}, 1974 The Williams & Wilkins Company/Baltimore
2. พรสวรรค์ ดิษยบุตร และคณะ : โครงการใช้ประโยชน์และกำจัดวัสดุเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเกษตร ภ.31-06 รายงานปีที่ 2/1, สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย 2532

คณะทำงาน

วันเชิญ	โพธาเจริญ
พรสวรรค์	ดิษยบุตร
ไพพรรณ	บุตกะ
ทวี	สัปปินันท์
ชาติรี	สุชาการ
ไอศูรย์	บุญยะ เสน

คณะจัดทำรายงาน

สุขมาลัย	ครุฑนอม
ละม่อม	อินทรกำแหง
ศิริ	ครุฑนอม
ไอศูรย์	บุญยะ เสน

63.004.8

สถาปัตยกรรมศาสตร์

ศูนย์บริการเอกสารการวิจัยฯ



BT13857

โครงการการใช้ประโยชน์