

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตกระดาษโดยแบคทีเรียเซลลูโลส *Acetobacter xylinum* TISTR 976

ร่วมกับไคโตซาน

Paper Production from Bacterial Cellulose *Acetobacter xylinum* TISTR 976

with Chitosan



ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

งบรายได้คณะวิทยาศาสตร์ ประจำปีงบประมาณ 2547

b. 11838544

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผู้วิจัย

รศ. ดร. นवलพรรณ	ณ ระนอง
รศ. ดวงใจ	โอชัยกุล
ผศ. ดร. สุภารัตน์	รักชลธี

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานโดยใช้เชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรน้ำมะพร้าว อาหารสูตรของ Hestrin & Schramm และอาหารสูตรของ Okiyama ที่ผสมด้วยสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ (0 – 5 เปอร์เซ็นต์ โดยปริมาตร) เลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน จากนั้นนำมาผลิตกระดาษโดยเปรียบเทียบวิธีการผลิตกระดาษ วิธีต่างๆ นำกระดาษที่ได้มาทดสอบสมบัติเชิงกล เช่น ค่าการยืด ณ จุดขาด ค่ามอดูลัสของยัง และค่าความแข็งแรงดึง รวมทั้งนำกระดาษที่ได้มาทดสอบสมบัติในด้านอื่นๆ

จากการทดลองพบว่าการผลิตเซลลูโลสร่วมกับสารละลายไคโตซานโดยใช้ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงที่สุด และเมื่อนำมาผ่านกรรมวิธีการผลิตเป็นกระดาษ พบว่าเซลลูโลสที่ผลิตจากอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่ผสมไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ที่ผ่านการผลิตกระดาษในวิธีที่ 1 ซึ่งต้องผ่านการต้มด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ให้สมบัติเชิงกลดีที่สุด คือ มีค่าความแข็งแรงดึง 112.16 เมกกะพาสคาล แล้วเมื่อนำกระดาษที่ได้มาทดสอบสมบัติในด้านอื่นๆ พบว่ากระดาษที่ผลิตได้สามารถดูดซึมน้ำได้มากขึ้น ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำลดลง 23 เปอร์เซ็นต์ และความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนลดลง 84 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับกระดาษจากเซลลูโลสที่ไม่เติมไคโตซาน (ชุดควบคุม)

Research Project **Paper Production from Bacterial Cellulose *Acetobacter xylinum*
TISTR 976 with Chitosan**

Researcher **Assoc. Prof. Dr. Nuanpan Naranong**
Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul
Asst. Prof. Dr. Suparat Rukchonlatee

Abstract

This research is to study the production of paper from cellulose with chitosan by *Acetobacter xylinum* TISTR 976 in coconut medium, Hestrin and Schramm's medium and Okiyama's medium. These cultures were mixed with different concentrations of chitosan (0-5 % by volume) in the static condition at room temperature for 10 days. After culture, paper was produced by various methods. Paper produced was tested for mechanical properties such as elongation at break, Young's modulus and tensile strength. Other properties of paper were also tested.

Experimental results revealed that cellulose production with chitosan by *A. xylinum* TISTR 976 in coconut medium produced the highest amount of cellulose. For the process of paper production, it was found that paper produced by method No.1 (boiling with 1.5% H₂O₂ solution) from coconut medium – cellulose with chitosan at 0.2% by volume provided the best mechanical properties. This paper had tensile strength of 112.16 MPa and could absorb more water, compared to the paper produced from cellulose without chitosan (control). In addition, the water vapor permeability and oxygen gas permeability of this paper decreased 23% and 84%, respectively.

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนจากเงินรายได้คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ประจำปี 2547 ซึ่งสำเร็จได้ด้วยความร่วมมือของนายพิชพันธ์ พงษ์สกุล นักศึกษาระดับปริญญาโทของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยี พระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ทุกท่านที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนมาใช้ในการทดลอง

รองศาสตราจารย์นวลพรรณ ณ ระนอง

หัวหน้าโครงการวิจัย



สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
Abstract.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
บทที่ 1 บทนำ.....	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ.....	4
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	23
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์.....	32
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง.....	62
บรรณานุกรม.....	64
ภาคผนวก.....	68



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของงานวิจัย

วุ้นน้ำมะพร้าว หรือเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (bacterial cellulose) มีลักษณะเป็นวุ้น (cartilaginous substance) มีสีขาวหรือสีครีม เกิดจากการเจริญของแบคทีเรียซึ่งมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Acetobacter xylinum* แผ่นที่เกิดขึ้นมีลักษณะนุ่มหนาคลายวุ้นสีขาวนวลหรือสีครีม เรียกแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าว หรือแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส ซึ่งมีองค์ประกอบเกิดเป็นเปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนัก ดังนี้ สารประกอบเซลลูโลสที่เป็นเส้นใยขนาดเล็กละ 3.00 โปรตีน 0.68 ไขมัน 0.50 เถ้า 0.77 น้ำ 94.40 และสารจำพวกเกลือแร่ วิตามินต่างๆ อีกเล็กน้อย รวมอยู่ด้วยกันจนเกิดเป็นแผ่นวุ้นหนานุ่มดังกล่าว (นิโบล. 2545)

วุ้นน้ำมะพร้าว หรือเซลลูโลสจากแบคทีเรีย หรือที่เรียกย่อว่า BC เซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้สามารถสร้างสารประกอบเซลลูโลสออกมาเป็นสายยาวประมาณ 12-70 ไมครอน สายเซลลูโลสที่สร้างออกมาจะลงไปอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อ และประสานกันกับสายเซลลูโลสสายอื่นๆ ด้วยพันธะไฮโดรเจน (hydrogen bond) และจะได้เส้นใยขนาดเล็ก เรียกว่า ไฟบริล (Fibril) ไฟบริลเหล่านี้มีคุณภาพเหนือกว่าไฟบริลของพืช เนื่องจากไมครอนของเซลลูโลสเรียงตัวขนานกันอย่างเป็นระเบียบ (crystalline structure) ซึ่งทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีสมบัติทางกายภาพ เช่น ค่าความแข็งแรงดึง (tensile strength) ค่าความต้านทานแรงดันทะลุ (bursting strength) และค่าอื่นๆ มีค่าสูง ไฟบริลของเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเล็กมากประมาณ 0.01 ไมครอน ซึ่งเล็กเป็น 300 เท่า เมื่อเทียบกับเส้นใยของไม้หรือพืชชนิดอื่นๆ ทั่วไป (Yamanaka และคณะ. 1989) และไฟบริลของเซลลูโลสจากแบคทีเรียประสานกันจนคล้ายร่างแห จึงมีสมบัติอุ้มน้ำไว้ได้มากกว่าที่เส้นใยของพืชอื่นๆ จะทำได้ (Johnson. 1990)

Yamanaka และคณะ (1989) ได้ศึกษาโครงสร้าง และสมบัติของกระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter aceti* พบว่ากระดาษที่ได้มีค่ามอดุลัสของยัง (young's Modulus) สูงกว่า 15 กิโลปาสคาล ซึ่งแสดงให้เห็นว่าไมครอนของเซลลูโลสจับตัวกันแน่นมาก ทำให้กระดาษที่ได้มีความแข็งแรง

โคโคซานเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ในธรรมชาติเพียงชนิดเดียวที่มีประจุบวก ซึ่งมีการนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์อย่างมากมาย ในอุตสาหกรรมกระดาษได้มีงานวิจัยพบว่า การเติมโคโคซานลงไปในการบวนการผลิตกระดาษทั้งจากเยื่อใยขาว และเยื่อใยสีน้ำตาลที่มีประจุลบซึ่งใช้ในการผลิตกระดาษต่างๆ ไปได้ สามารถปรับปรุงสมบัติเชิงกลของกระดาษ ได้เหมือนกับการเติมพอลิอิเล็ก

โพลีแลคติกที่มีประจุบวก เช่น พอลิเอมีนต่างๆ ที่ใช้ปรับปรุงสมบัติเชิงกลของกระดาษในปัจจุบัน ทั้งนี้ เพราะไคโตซานสามารถเพิ่มจำนวนพันธะไฮโดรเจน และพันธะไฮโดรเจนในโครงร่างตาข่ายของเส้นใยเซลลูโลสได้ นอกจากนี้การใช้ไคโตซานยังมีข้อดีอีกหลายด้าน เช่น ไม่ก่อให้เกิดสารตกค้าง เนื่องจากไคโตซานสามารถย่อยสลายในธรรมชาติไปเป็นปุ๋ยให้กับสิ่งแวดล้อมได้ และไม่เป็นพิษ

ปัจจุบันนี้การผลิตกระดาษโดยทั่วไป นิยมนำไม้มาใช้เพื่อผลิตกระดาษ ทำให้ป่าถูกทำลาย และเป็นการทำลายทรัพยากรธรรมชาติของประเทศ ก่อให้เกิดปัญหาต่างๆ ตามมามากมาย ดังนั้นถ้าเราสามารถหาวัตถุดิบอื่นมาทดแทนเนื้อไม้เพื่อนำมาใช้ผลิตกระดาษ เป็นการช่วยอนุรักษ์ธรรมชาติป่าไม้ไว้ได้ ขณะเดียวกันปัจจุบันนี้สถานการณ์ตลาดวุ้นมะพร้าวเพื่อใช้ในการบริโภค เช่น วุ้นในน้ำเชื่อม วุ้นในไอศกรีม มีสถานะอิ่มตัว จึงส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ผลิตในเรื่องสภาวะราคาของวุ้นน้ำมะพร้าวตกต่ำ งานวิจัยเรื่องนี้จึงได้สนใจที่จะใช้ประโยชน์จากวุ้นน้ำมะพร้าวไปในแนวทางอื่นๆ เช่น ใช้ในการผลิตกระดาษร่วมกับไคโตซาน และศึกษาสมบัติของกระดาษชนิดนี้ ทั้งในสมบัติเชิงกลและการสมบัติในการต้านทานเชื้อจุลินทรีย์ ซึ่งนอกจากจะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกระดาษที่มีสมบัติต่างจากกระดาษชนิดอื่นแล้ว ยังสามารถลดปัญหาจากการที่นำน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นของเหลือทิ้งไปปล่อยลงในแม่น้ำลำคลองทำให้เกิดการเน่าเหม็นขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

1.2.2 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมที่ผสมสารละลายไคโตซานลงไปในอาหารเจริญและการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

1.2.3 ศึกษาวิธีการผลิตกระดาษจากสูตรอาหารที่เหมาะสม ในข้อ 1.2.2

1.2.4 ศึกษาสมบัติเชิงกล และสมบัติอื่นๆของกระดาษที่ผลิตได้จากข้อ 1.2.3

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ศึกษาสูตรอาหารที่มีการผสมความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่เหมาะสม จากนั้นศึกษาวิธีการผลิตกระดาษจากสูตรอาหารดังกล่าว นำกระดาษที่ได้มาศึกษาสมบัติเชิงกลรวมทั้งสมบัติอื่นๆ

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นของเหลือทิ้งมาใช้ประโยชน์ โดยนำมาเลี้ยงด้วยเชื้อแบคทีเรีย ร่วมกับการผสมสารละลายโคโคซาน เพื่อเพิ่มสมบัติของกระดาษให้มีสมบัติที่แตกต่างจากกระดาษ ชนิดอื่น เช่น มีความแข็งแรงในเชิงกล ซึ่งจัดว่าเป็นแนวทางใหม่ในการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรีย มาใช้ประโยชน์



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

แบคทีเรียที่สร้างเซลลูโลส ได้แก่ *Acetobacter*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes* และ *Rhizobium* โดยแบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตเส้นใยเซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ เมื่อเลี้ยงในอาหารและเจริญบนผิวหน้าของอาหารจะมีการสร้างเส้นใยสีขาว (pellicle) ซึ่งประกอบกันเป็นเซลลูโลส ในระหว่างที่มีการเจริญของเชื้อจะมีการสร้างเส้นใยไปพร้อมๆ กัน เมื่อระยะเวลาการเจริญนานขึ้นจะมีปริมาณมากขึ้นจะสานและรวมตัวกันเป็นเส้นสาย ขุ่นขาวอยู่ในอาหารเหลวและจะค่อยๆ ลอยขึ้นสู่ผิวหน้าอาหาร เมื่อลอยขึ้นสู่ผิวหน้าอาหารเหลวจะเริ่มสานกันแน่นขึ้นเป็นแผ่นวุ้นมีลักษณะขุ่นและมีความเหนียว โดยสันนิษฐานได้ว่าการสร้างวุ้นของเชื้อที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องจากเชื้อที่ต้องการอากาศ สามารถลอยตัวอยู่บนผิวหน้าอาหารเหลวได้เพื่อรับออกซิเจนให้ได้มากที่สุด โดยเฉพาะเซลลูโลสที่สร้างโดย *Acetobacter* นั้น พบว่ามีความบริสุทธิ์โดยปราศจากกลีโคลิน และเฮมิเซลลูโลส

การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียนั้นมี 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกกลูโคสในรูปแบบของโมเลกุลอิสระเข้าไปภายในเซลล์และรวมตัวกันเป็นสารตั้งต้นพอลิกลูโคแซน โดยสารนี้จะถูกส่งสู่ภายนอกเซลล์ และขั้นตอนที่ 2 สารพอลิเมอร์เหล่านี้จะรวมตัวกันทำให้เกิดเป็นเส้นใยเล็กๆ (microfibril) ออกมา เมื่อมีจำนวนมากขึ้นจะมีความแข็งแรง เซลลูโลสที่เกิดขึ้นจะเป็นแผ่นวุ้นลอยอยู่บนผิวหน้าของอาหารเหลวที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ (Colvin และคณะ. 1977)

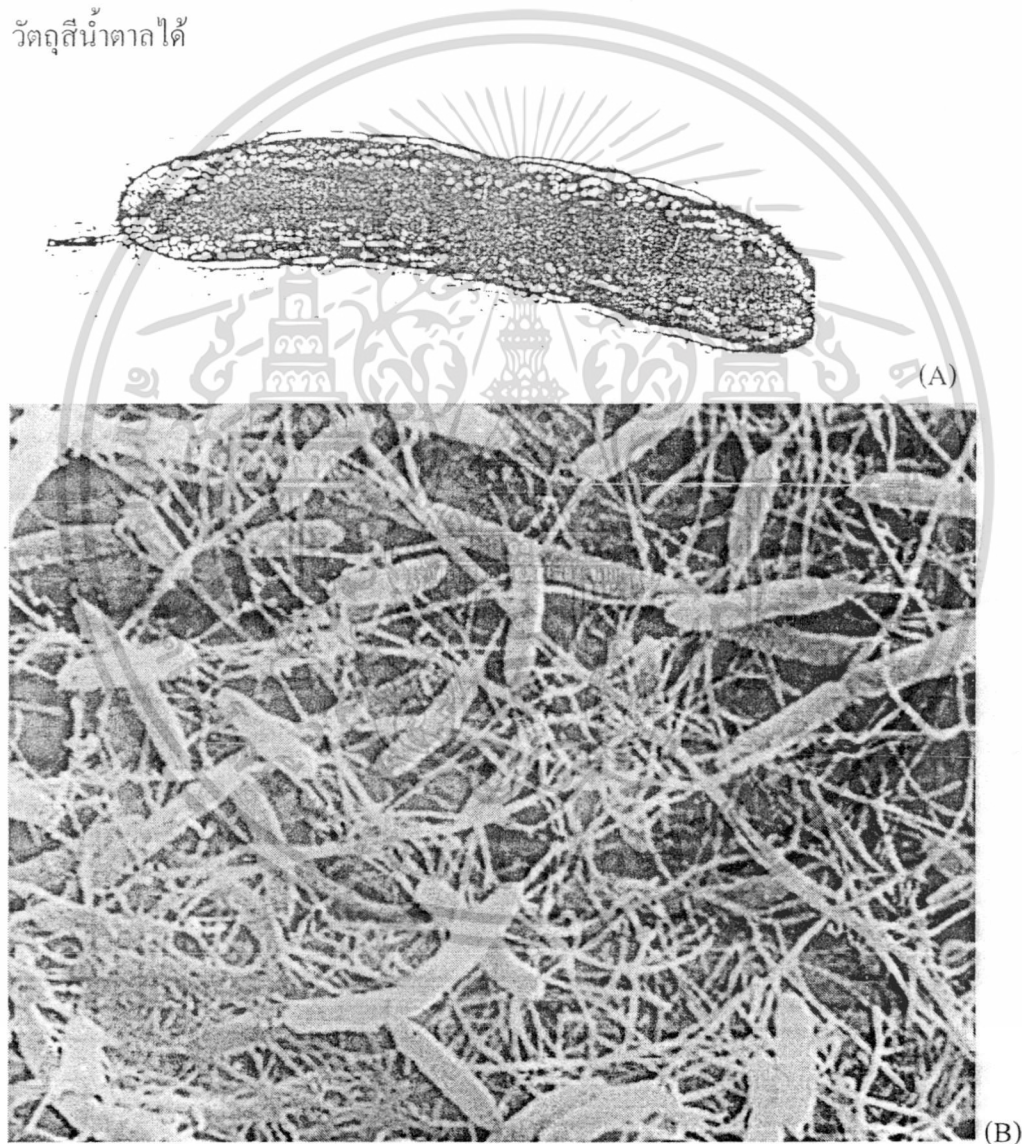
2.2 แหล่งที่มาของเชื้อแบคทีเรียที่สร้างเซลลูโลส

เชื้อในกลุ่มแบคทีเรียเซลลูโลสจะใช้เชื้อ *Acetobacter* เป็นตัวแทนในการศึกษาการสร้างเซลลูโลส และเป็นเชื้อที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้เป็นจำนวนมาก ซึ่งสามารถพบได้ทั่วไปจากแหล่งต่างๆ เช่น บนผัก ผลไม้ ไวน์ น้ำผลไม้ เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Krieg และ Holt. 1984) ดอกไม้ ถั่ว ดิน (Seto และคณะ. 1997 ; Toyosaki และคณะ. 1995) และยังสามารถแยกเชื้อได้จากผลไม้ที่เน่าเสีย เช่น มะม่วง ฝรั่ง สับปะรด และละมุด (Lapuz และคณะ. 1967) เป็นต้น

ค.ศ. 1861 ชาวฟิลิปปินส์นำเชื้อแบคทีเรียมาหมักในน้ำมะพร้าว ทิ้งเอาไว้จนเกิดเป็นแผ่นวุ้นขึ้น โดยจะเรียกแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักน้ำมะพร้าวว่า nata de coco และต่อมาได้มีการหมักในน้ำสับปะรด โดยจะเรียกแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักน้ำสับปะรดว่า nata de pina (Sanchez. 1990) ซึ่งพบว่าแบคทีเรียที่ใช้หมักนั้นเป็นเชื้อ *Acetobacter xylinum* (Brown.1886)

2.3 สมบัติทั่วไปของเชื้อ *Acetobacter*

โดยทั่วไปแล้วเซลล์ของ *Acetobacter* มีหลายลักษณะ แต่ปกติจะพบในรูปท่อนสั้น (rod) ตรง หรือโค้ง ขนาดกว้าง 0.6 – 0.8 ไมครอน และยาว 1.0 – 1.4 ไมครอน อาจพบเซลล์อยู่เดี่ยวๆ จับคู่ หรือต่อกันเป็นสายสั้นๆ บางครั้งจะพบเซลล์ที่มีรูปร่างลักษณะต่างจากที่กล่าวมา อาจจะมีลักษณะเป็นทรงกลม ยี่ดียววม หรือรูปกระบอก ไม่สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospore) เมื่อเลี้ยงในอาหารแข็งโคโลนีจะมีลักษณะกลมมน (pulvinate) แยกเป็นโคโลนีเดี่ยวๆ ชัดเจน สีขาวขุ่น และมีขนาดประมาณ 1-2 มิลลิเมตร ระยะแรกของการเจริญส่วนใหญ่ติดสีแกรมลบ แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะมีลักษณะเป็น gram variable ส่วนมากไม่สร้างรงควัตถุ แต่บางสายพันธุ์สามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาลได้



รูปที่ 2.1 (A) รูปร่างลักษณะของเชื้อ *Acetobacter xylinum*

(B) เชื้อ *Acetobacter xylinum* โดยดูจาก scanning electron microscope (SEM)

ที่มา : Haigler และ Chanzy (1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 เซลลูโลส

ผลไม้มีพอลิแซ็กคาไรด์เป็นองค์ประกอบของผนังเซลล์ ผนังเซลล์ประกอบด้วยเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส เพกติน และลิกนิน

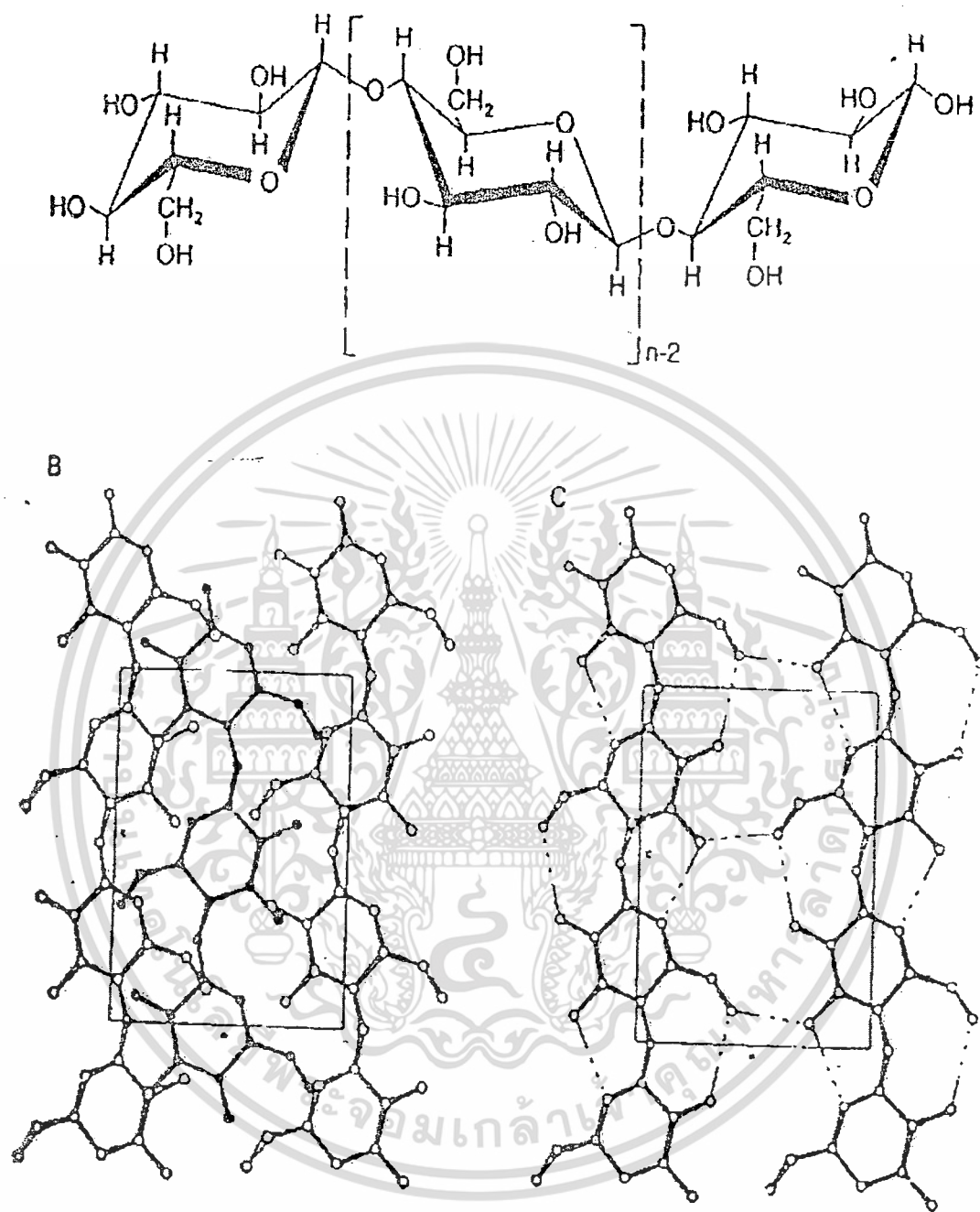
เซลลูโลสเป็นสารประกอบหลักที่สำคัญของผนังเซลล์ พบได้ในสิ่งมีชีวิตทั่วไป โดยเฉพาะในเซลล์พืชต่างๆ และมีปริมาณที่แตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิด อายุ และส่วนต่างๆ ของพืช พบมากในผัก ผลไม้ ธัญพืช ไม้เนื้ออ่อน สน และยูคาลิปตัส ซึ่งในต่างประเทศจะใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเซลลูโลสคุณภาพสูง นอกจากนี้ยังพบวัสดุที่เหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น หญ้า ฟางข้าว กากอ้อย สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเซลลูโลสได้

เซลลูโลสเป็นพอลิแซ็กคาไรด์ชนิดหนึ่งที่ประกอบด้วย D-glucose หลายๆ หน่วย ตั้งแต่ 15 ถึง 40,000 หน่วยมาต่อกันด้วยพันธะ β - 1,4 glucosidic เป็นพอลิเมอร์ แต่ละหน่วยย่อยของเซลลูโลส เรียกว่า anhydroglucose มีสูตรเคมีคือ $C_6H_{10}O_5$ ในแต่ละ anhydroglucose มีอนุมูลไฮดรอกซิล (OH) 3 หมู่ ซึ่งอนุมูลเหล่านี้จะเป็นตัวทำปฏิกิริยากับสารอื่นให้เกิดเป็นอนุพันธ์ และมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยประมาณ 1,500,000 คาลตัน ขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา โดยทั่วไปสามารถพบเซลลูโลสในลักษณะเป็นสารประกอบ ส่วนใหญ่ที่พบในพืชสามารถนำมาสกัดเป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์ได้ นอกจากนี้ยังพบในสิ่งมีชีวิตอื่นๆ เช่น รา สาหร่าย และแบคทีเรีย พันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลทำให้เซลลูโลสในธรรมชาติสามารถคงรูปอยู่ได้ รูปโครงสร้างมีการจัดตัวในลักษณะแบบขนาน (parallel) จนกลายเป็นผลึก

การจัดเรียงตัวของโครงสร้างเส้นใยเซลลูโลส ในระดับที่เป็น super molecular structure ในส่วนที่เป็น crystalline micelles จะมีการจัดเรียงตัวอย่างเป็นระเบียบ ดังรูปที่ 2.2

จากการจัดเรียงแสดงว่ามีการเชื่อมโยงโมเลกุลด้วยพันธะไฮโดรเจน คือ กลุ่มของไฮดรอกซิลบนคาร์บอนอะตอมตัวที่ 3 กับอะตอมของออกซิเจน pyranosring ตัวที่ 5 ของหน่วยกลูโคสใกล้เคียง และพันธะที่เกิดขึ้นระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของ กลุ่มไฮดรอกซิลบนคาร์บอนอะตอมตัวที่ 6 ของหน่วยกลูโคสใกล้เคียง

เซลลูโลส จัดเป็นใยอาหารชนิดหนึ่งที่ไม่ละลายน้ำ (insoluble dietary fiber, IDF) ไม่ทำปฏิกิริยากับสารอื่น ไม่ละลายในด่าง และตัวทำละลายส่วนใหญ่ เอนไซม์ในร่างกายมนุษย์ไม่สามารถย่อยได้ แต่จะถูกย่อยโดยจุลินทรีย์ในลำไส้ใหญ่ได้บ้างเล็กน้อย จัดได้ว่าเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย เป็นแหล่งอาหารที่ไม่ให้พลังงานแต่สามารถเพิ่มกากใยเพื่อช่วยระบบขับถ่ายให้แก่ง่ายๆ ได้

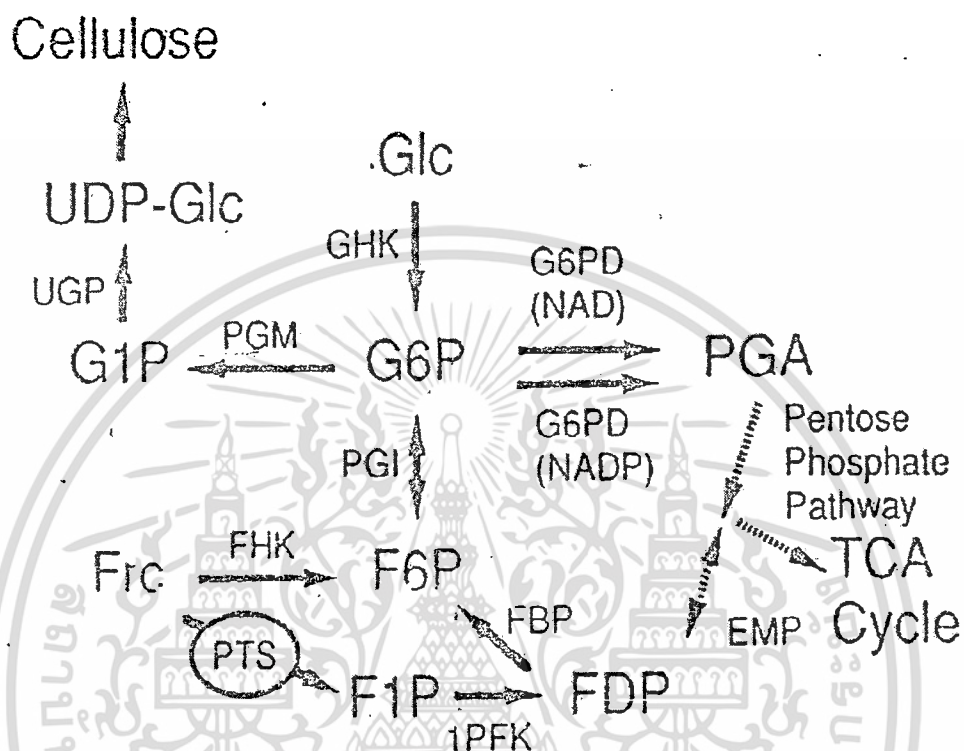


รูปที่ 2.2 โครงสร้างและการจัดเรียงตัวของเซลลูโลส
ที่มา : Ross และคณะ (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 กระบวนการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

การสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียมี กระบวนการดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กระบวนการสังเคราะห์เซลลูโลสในเชื้อ *Acetobacter xylinum*

Glc, glucose; G6P, glucose-6-phosphate; G1P, glucose-1-phosphate; PGA, phosphogluconic acid; Frc, fructose; F1P, fructose-1-phosphate; FDP, fructose-1,6-phosphoglucomutase; UGP, UDP-glucose pyrophosphorylase; PGM phosphoglucomutase; UGP, UDP-glucose pyrophorylase; G6PD, glucose-6-phosphate dehydrogenase; PGI, phosphoglucose isomerase; FHK, fructose hexokinase; 1PFK, fructose-1-phosphate kinase; FBP, fructose bis-phosphatase; PTS, phosphotransferase system; EMP, Embden-Myerhoff pathway.

ที่มา : Yoshinaga และคณะ (1997)

ได้มีการศึกษาถึงกระบวนการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส และพบว่าน้ำตาลกลูโคสจะถูก metabolized ผ่านทาง pentose phosphate pathway โดย cellulose pathway จะแยกออกที่ glucose-6-phosphate (G6P) และตัว direct precursor ของการสังเคราะห์เซลลูโลสก็คือ UDP-glucose ซึ่งการสังเคราะห์ UDP-glucose จาก G6PD นั้น จะประกอบด้วย 2 ขั้นตอนด้วยกัน โดยพบว่าการทำงานของเอนไซม์ phosphoglucose isomerase จะแตกต่างกันไป โดยมากเอนไซม์นี้จะมีกิจกรรม(activity) สูง เมื่อแหล่งคาร์บอนคือ น้ำตาล fructose UDP-glc จะถูก polymerized ไปเป็นเซลลูโลสและเซลลูโลสจะถูกปล่อยสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ โดยจะมีลักษณะเป็นเส้นใยเจริญอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ

2.6 การผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum*

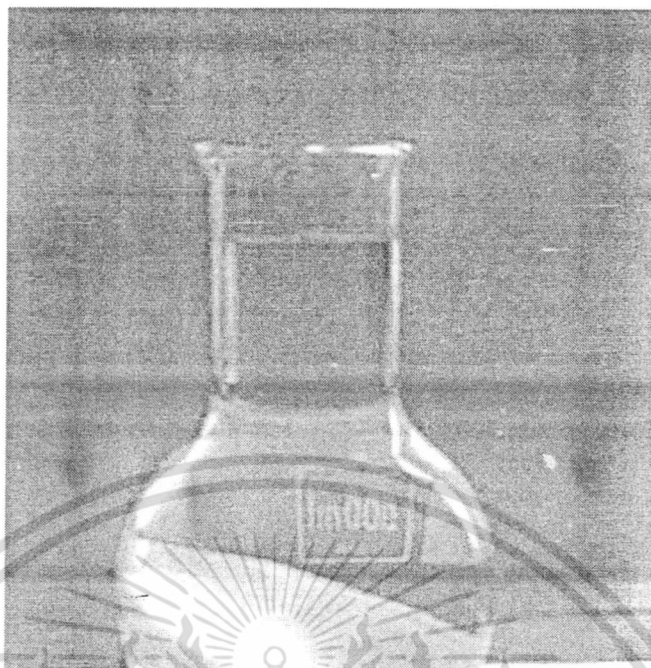
ลักษณะการสร้างเส้นใยเซลลูโลสในเชื้อ *Acetobacter xylinum* นั้นจะมีการสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสไปพร้อมๆกับการเจริญเติบโตของตัวเชื้อ ซึ่งการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียนั้นสามารถผลิตได้หลายวิธี

2.6.1 การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสถานะนิ่ง

เป็นวิธีการที่นิยมใช้ในการผลิตเป็นวุ้นมะพร้าวในประเทศไทย โดยมักจะทำการเลี้ยงในภาชนะจำพวกภาชนะพลาสติกหรือถาดอะลูมิเนียมในระดับอุตสาหกรรม หรือใช้ภาชนะเป็นหลอดทดลอง หรือพลาสติกในระดับการทดลองในห้องปฏิบัติการ

นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับการผลิตเซลลูโลสที่เป็นอาหารเหลว ทำการปรับพีเอชให้อยู่ในช่วง 4.0 – 6.0 นำไปฆ่าด้วยการต้มให้เดือด หรือใช้หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ ทิ้งไว้จนเย็นแล้วทำการเติมหัวเชื้อที่เตรียมไว้ลงไป หมักในสถานะนิ่งนาน 7 – 14 วัน จะมีการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียขึ้น โดยจะมีลักษณะเป็นแผ่นวุ้นสีขาวขุ่นลอยอยู่บนผิวหน้าของอาหารเหลว

การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสถานะนิ่งนี้ในช่วง 10 วันแรกจะมีอัตราการเซลลูโลสสูง แต่หลังจาก 10 วันจะพบว่าอัตราการผลิตลดลง เนื่องจากธาตุอาหารถูกใช้ไปจนเหลือน้อยลง และแผ่นเซลลูโลสบนผิวหน้าของอาหารที่หนาขึ้นจะทำให้การซึมผ่านของอากาศลงสู่เชื้อทำได้ยากขึ้น เป็นผลให้ทั้งอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อ และอัตราการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียลดลง



รูปที่ 2.4 ลักษณะของเซลล์ยีสจากเบคทีเรียที่ได้จากการผลิตในสภาวะนิ่ง
ที่มา : Tahara และคณะ (1997)

2.6.2 การผลิตเซลล์ยีสจากเบคทีเรียในสภาวะเขย่าหรือในถังหมัก

ในการผลิตแบบนี้เซลล์ยีสที่ผลิตได้จะมีลักษณะเป็นเม็ดกลมๆ (pellet) สีขาวขุ่น ซึ่งแตกต่างกับการผลิตในสภาวะนิ่งที่มีลักษณะเป็นแผ่นวุ้น โดยในการผลิตในสภาวะเขย่าหรือในถังหมักนั้น สามารถควบคุมสภาวะต่างๆ ได้ดีกว่า เช่น การให้อากาศ หรือ การเพิ่มอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปเพื่อเพิ่มระยะเวลาการผลิต แต่ก็มีต้นทุนการผลิตที่สูงขึ้นด้วยเช่นกัน

Kouda และคณะ (1997) ได้ทำการผลิตเซลล์ยีสจากเบคทีเรียในถังหมัก โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ CSL-Fru (corn steep liquor - fructose) 100 มิลลิลิตร ปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีค่าเท่ากับ 5.0 โดยใช้กรดซัลฟิวริก และให้ก๊าซแอมโมเนียที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ศึกษาผลของปริมาณออกซิเจนที่มีต่อการผลิตเซลล์ยีสจากเบคทีเรีย พบว่าปริมาณออกซิเจนที่สูงจะเป็นผลให้การผลิตเซลล์ยีสลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Toyosaki และคณะ (1995)ผลิตเซลล์ulos จากแบคทีเรียในสภาวะเขย่าในพลาสติกโดยศึกษาผลของพลาสติกที่มีลักษณะแตกต่างกัน ระหว่าง baffles flask และ smooth flask พบว่าในการผลิตโดยใช้ baffles flask ให้ปริมาณแบคทีเรียเซลล์ulos สูงกว่าใน smooth flask นอกจากนี้ยังพบว่าการเขย่าในพลาสติกอย่างต่อเนื่องทำให้เกิดการกลายพันธุ์ของเชื้อได้



รูปที่ 2.5 ลักษณะของเซลล์ulos จากแบคทีเรียที่ได้จากการผลิตในสภาวะเขย่า
ที่มา : Tahara และคณะ (1997)

2.7 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเซลล์ulos จากแบคทีเรีย

ในการผลิตเซลล์ulos จากแบคทีเรียจะต้องคำนึงถึงปัจจัยหลายอย่าง เช่น องค์ประกอบของอาหารที่ใช้ในการผลิต เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และสารที่จำเป็นอื่นๆ ส่วนสภาวะในการผลิต เช่น การให้อากาศ หรือค่าพีเอชที่ใช้ ก็มีความสำคัญเช่นกัน

2.7.1 แหล่งคาร์บอน

เนื่องด้วยคาร์บอนเป็นธาตุอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแทบทุกชนิด การเลือกแหล่งคาร์บอนให้เหมาะสมจึงมีความสำคัญมาก ในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* นั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเลือกใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายๆชนิด นอกจากกลูโคสซึ่งเป็นแหล่งคาร์บอนพื้นฐานแล้ว ยังมี ฟรักโทส ซูโครส แล็กโทส แมนนิทอล ที่สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้

ตารางที่ 2.1 แหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

แหล่งคาร์บอน	ปริมาณเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ได้ (เปอร์เซ็นต์)
<u>Monosaccharide</u>	
D-glucose	100
D-fructose	92
D-mannose	3
D-galactose	15
D-xylose	11
L-sorbose	11
L-arabinose	14
<u>Disaccharide</u>	
Lactose	16
Maltose	7
Sucrose	33
Cellobiose	7-11
<u>Polysaccharide</u>	
Starch	18
<u>Organic acid</u>	
Citric acid	20
No carbon source	2

ที่มา : Jonas และคณะ (1998)

Seto และคณะ (1997) ได้ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ CSL (com steep liquor) ที่มีซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการศึกษาการคัดเลือกเชื้อ *Acetobacter* ที่ใช้ผลิตเซลลูโลส

Oikawa และคณะ (1995) ศึกษาการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* KU-1 โดยเปรียบเทียบน้ำตาล D-glucose กับ D-arabitol พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำตาล D-arabitol ให้ปริมาณเซลลูโลสมากกว่า คือ 12.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ส่วนอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้น้ำตาล D-glucose ให้ปริมาณเซลลูโลสเพียง 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.2 แหล่งไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นอีกธาตุอาหารหนึ่งที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Acetobacter xylinum* ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบจะทำให้เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโต และผลิตเซลลูโลสได้ โดยแหล่งไนโตรเจนที่ใช้มีทั้งที่เป็นสารอนินทรีย์ เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$) และ แอมโมเนียมฟอสเฟต ($(\text{NH}_4)_3\text{PO}_4$) ส่วนที่เป็นสารอินทรีย์ เช่น สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) สารสกัดจากมอลท์ (malt extract) เปปโตน (peptone) โพลีเปปโตน (polypeptone) และ corn steep liquor เป็นต้น

Lapuz และคณะ (1967) พบว่าการใช้ $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$ สามารถผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียได้ในปริมาณที่สูงกว่าการใช้เปปโตน และ แอมโมเนียมซัลเฟต ขณะที่การใช้ KNO_3 และ NaNO_3 จะไม่มีการเจริญเติบโตและการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส เนื่องจากพบว่าสารประกอบไนเตรตเป็นพิษต่อเชื้อ

Son Hong - Joo และคณะ (2001) ทำการศึกษาผลของแหล่งไนโตรเจนต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสถานะเย้า พบว่าอาหารที่ประกอบด้วย corn steep liquor โพลีเปปโตน หรือยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้การผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้น และในระหว่างแหล่งไนโตรเจนเหล่านี้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดย *Acetobacter* sp. A9 ส่วนการใช้เนื้อสกัด (beef extract) มอลท์สกัด (malt extract) proteose peptone หรือ tryptone เป็นแหล่งไนโตรเจน ทำให้มีการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียค่อนข้างต่ำ

2.7.3 สารอื่นๆ

ในการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* นั้น ยังมีการเติมสารอื่นๆที่สามารถช่วยให้อัตราการผลิตเพิ่มสูงขึ้นได้

Naritomi และคณะ (1998) ทำการศึกษาผลของเอทานอลต่อการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* subsp. *Sucrofermentans* BPR3001A ในอาหารเลี้ยงเชื้อ CSL-Fru (corn steep liquor - fructose) ที่มีการเติมเอทานอลลงไป 10 กรัมต่อลิตร พบว่าปริมาณเซลลูโลสที่ได้เพิ่มขึ้น 46 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อทดลองเปลี่ยนจาก 10 กรัมต่อลิตร เป็น 15 กรัมต่อลิตรหรือมากกว่า พบว่าปริมาณเซลลูโลสที่ได้ลดลง ซึ่งเอทานอลไปยับยั้งการเจริญเติบโต และการใช้น้ำตาลในกระบวนการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

Son Hong - Joo และคณะ (2001) ศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลที่มีผลช่วยเพิ่มการผลิตเซลลูโลสโดย *Acetobacter* sp. A9 ในสถานะเย้าในพลาสติก พบว่าที่ความเข้มข้นของเอทานอล 1.4 เปอร์เซ็นต์ปริมาณต่อปริมาตรให้ปริมาณเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ได้สูงที่สุด

Toda และคณะ (1997) ศึกษาการผลิตเซลลูโลสในสภาวะนิ่ง โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน เติมกรดอะซิติกลงไป พบว่ามีการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจากเดิม 4 เท่า

2.7.4 พีเอช

ค่าพีเอช (หรือค่าความเป็นกรด - ด่าง) เป็นสิ่งที่สำคัญในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* เนื่องจากค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารที่เหมาะสมนั้นนอกจากทำให้อัตราการเจริญเติบโตและอัตราการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียสูงแล้ว ยังช่วยป้องกันการปนเปื้อนของเชื้อราและเชื้อที่ไม่ทนกรดอื่นๆ ได้อีกด้วย

Peter และคณะ (2000) ได้ทำการศึกษาผลของค่าพีเอชในช่วง 3.0 - 5.0 ต่ออัตราการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* ในสภาวะนิ่งโดยทำการหมักเป็นเวลา 16 วัน พบว่ามีการผลิตสูงสุดที่พีเอช 5.0 และที่พีเอช 4.0 สำหรับพีเอช 6.0 การผลิตเซลลูโลสในระยะแรกจะช้า แต่หลังจาก 3 วันผ่านไปแล้วอัตราการผลิตก็จะเป็นปกติ และหลังจากวันที่ 11 การผลิตเซลลูโลสจะลดลงมา 25 เปอร์เซ็นต์

Masaoka และคณะ (1993) ได้ทำการศึกษาการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยใช้เชื้อ *Acetobacter xylinum* ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ในช่วงพีเอช 2.5 - 7.0 โดยพบว่าที่ค่าพีเอช 4.0 - 6.0 เชื้อสามารถสร้างเซลลูโลสได้มากที่สุด โดยเฉพาะที่พีเอช 5.0

2.7.5 อุณหภูมิ

การเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสของ เชื้อ *Acetobacter xylinum* ส่วนใหญ่จะอยู่ในอุณหภูมิช่วง 10 - 40 องศาเซลเซียส มีการศึกษาพบว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อยังสามารถเจริญเติบโตได้แต่ไม่มีการผลิตเซลลูโลสเกิดขึ้น ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสอยู่ในช่วง 28 - 32 องศาเซลเซียส (Lapuz และคณะ. 1967)

Kouda และคณะ (2000) พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสอยู่ในช่วง 25 - 35 องศาเซลเซียส

2.7.6 การให้อากาศ

เชื้อ *Acetobacter xylinum* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต ดังนั้นในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสภาวะนิ่ง ควรใช้ภาชนะที่มีผิวหน้ากว้างเพื่อให้มีพื้นที่ในการซึมผ่านของอากาศมาก ส่วนการผลิตในสภาวะเขย่า หรือในถังหมักมีการศึกษาอัตราการเขย่า หรือลักษณะการกวนเพื่อเพิ่มอากาศแก่การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

Kouda และคณะ (1997) ศึกษาในถังหมัก พบว่าอาหารที่มีความหนืดสูงจะทำให้การส่งผ่านออกซิเจนลดลง ทำให้ออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงตามไปด้วย จึงเปรียบเทียบชนิดของใบกวนแบบต่างๆที่ใช้ในถังหมัก ซึ่งใบกวนแบบ maxblend และ gate with turbine

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สามารถเพิ่มการส่งผ่านออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ทำให้การละลายของออกซิเจนในอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นด้วย

2.8 ประโยชน์ของเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย

2.8.1 ด้านอาหาร

พบว่ามี การนำแผ่นวุ้นหรือเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในน้ำมะพร้าวมาทำเป็นส่วนประกอบของอาหารทั้งคาว หวาน และทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น วุ้นในสลัด เจลลี่ ไอศกรีม และวุ้นผสมน้ำผลไม้ นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ (healthy food) โดยใช้ในการเพิ่มเยื่อใยและกากอาหาร ซึ่งเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก

2.8.2 ด้านการแพทย์และอุตสาหกรรม

ในทางการแพทย์ ใช้เซลลูโลสที่ผลิตได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* โดยทำการเลี้ยงเชื้อในสภาวะหนึ่งให้เชื้อสร้างเซลลูโลสเป็นแผ่นวุ้น และนำแผ่นวุ้นที่ได้มาใช้ในการรักษาบาดแผลที่ผิวหนังอันเนื่องมาจากการไหม้ระยะที่ 2 และ 3 โดยใช้ซับแผลหรือใช้พันแผล และยังใช้ในการตกแต่งเนื้อเยื่อและอวัยวะต่างๆ นอกจากนี้ได้นำเซลลูโลสมาพัฒนารูปแบบการผลิตให้มีลักษณะเป็นรูปทรงกระบอกเพื่อใช้เป็นวัสดุแทนท่อเลือด ท่อน้ำเหลือง ท่อปัสสาวะและหลอดลม

2.8.3 กระจกยาลำโพง

กระจกยาลำโพงที่ใช้ทำลำโพงต้องมีสมบัติที่สำคัญคือ ต้องให้คลื่นเสียงความเร็วสูง (high sonic velocity) และต้องลดคลื่นที่รบกวนได้ดี เพื่อให้ได้คุณภาพเสียงที่ชัดเจนวัสดุที่ใช้ในการผลิตกระจกยาลำโพงมีหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันไป เช่น บางชนิดมีข้อเสียที่มีสมบัติในการลดคลื่นรบกวนได้ไม่ดี ในขณะที่บางชนิดให้ความเร็วคลื่นได้ต่ำเกินไป เช่น เพียง 1,500 เมตร/นาที่เท่านั้น แต่จากการนำเซลลูโลสที่ผลิตได้ *Acetobacter xylinum* มาทำเป็นกระจกยาลำโพง พบว่ามีข้อได้เปรียบหลายประการ คือ ให้เสียงสูงที่ดี มีความเร็วเท่ากับอลูมิเนียม และยังมีสมบัติในการลดเสียงรบกวนได้ดีเท่ากับกระจกยาลำโพง

2.8.4 ผลิตภัณฑ์กระจกยาลำโพง

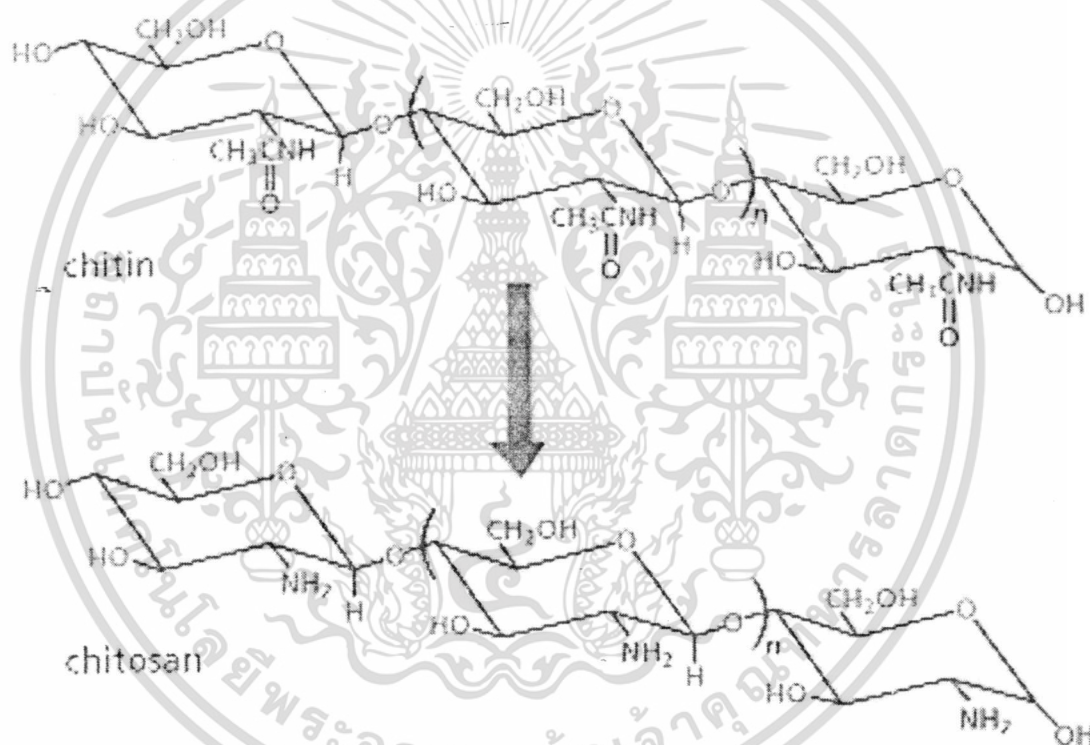
เส้นใยฟีนอลเรซิน (phenol resin fiber) หรือเส้นใยคาร์บอน (carbon fiber) ซึ่งโดยปกติไม่สามารถทำเป็นแผ่นได้ แต่เมื่อนำเซลลูโลสที่ผลิตได้จาก *Acetobacter xylinum* ที่ผ่านการอบแห้งและบดเป็นผงแล้วมาผสมเป็นตัวเชื่อม (binder) จะทำให้ขึ้นรูปเป็นแผ่นได้ ในการผลิตกระจกยาลำโพงเพื่อใช้ในการดูดซับสารพิษและการเติมเซลลูโลสลงไปช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับสารให้ดีขึ้น

2.8.5 สารให้ความหนืดและความคงตัว

การนำเซลล์โอสจากการผลิตในอาหารของ *Acetobacter xylinum* ผสมกับพอลิเมอร์อื่นๆ เช่น พอลิไวนิลแอลกอฮอล์ เพื่อผลิตวัสดุที่มีความแข็งแรงและทนทาน ใช้เป็นสารให้ความหนืดและความคงตัวในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง

2.9 ไคโตซาน (Chitosan)

ไคโตซานเป็นอนุพันธ์ (derivative) ชนิดหนึ่งของไคติน (chitin) ได้จากการทำปฏิกิริยาคีอะซิทธิเลชัน (deacetylation) ที่ทำการขจัดหมู่อะซิทธิลออกไป โดยไคโตซานจะประกอบด้วยโครงสร้างทางเคมี poly-(β -(1-4)-2-amino-D-glucose) คือเป็นสายโซ่ ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 โครงสร้างทางเคมีของไคตินและไคโตซาน

ที่มา : www.igb.fraunhofer.de

เพื่อที่จะจำแนกความบริสุทธิ์ของไคโตซาน จึงจำเป็นต้องมีดัชนีที่บอกระดับการเกิดปฏิกิริยาคีอะซิทธิเลชัน โดยเรียกดัชนีนี้ว่า ค่าการขจัดหมู่อะซิทธิล (degree of deacetylation, DD) โดยบอกค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ (percent degree of deacetylation : %DD) ค่านี้จะบอกถึงคุณภาพของไคโตซานได้ด้วย ซึ่งถ้าค่าการขจัดหมู่อะซิทธิลมีค่ามาก แสดงว่าไคโตซานที่ได้มีความบริสุทธิ์มาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.10 สมบัติของไคโตซาน

2.10.1 สมบัติทั่วไปของไคโตซาน

ตารางที่ 2.2 สมบัติทั่วไปของไคโตซาน

สมบัติ	ไคโตซาน
ปริมาณความชื้น	2 – 10 เปอร์เซ็นต์
ปริมาณไนโตรเจน	7 – 8.4 เปอร์เซ็นต์
ค่าการขจัดหมู่อะซีติก	มากกว่า 60 เปอร์เซ็นต์
ปริมาณเถ้า (ash) ที่ 900 องศาเซลเซียส	ต่ำกว่า 1 เปอร์เซ็นต์
ความหนืดของสารละลายไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรในกรดแอซีติกเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์	200 – 3000 เซนติพอยส์
น้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ย	$1 \cdot 10^5 - 5 \cdot 10^5$ ดาลตัน

ที่มา : Muzzarelli (1985)

2.10.2 สมบัติการละลายของไคโตซาน

ไคโตซานสามารถละลายได้ในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจางหลายชนิด เช่น กรดฟอร์มิก กรดอะซิติก กรดโพฟิโอนิก กรดมาโลนิก กรดซัคซินิก กรดแลคติก กรดไพรูวิก กรดมาลิก กรดทาร์ทริก กรดซิตริก และกรดแอซีติก เนื่องจากไคโตซานมีหมู่เอมิโนอิสระที่สามารถรับโปรตอนได้ ดังนั้นจึงสามารถละลายได้ในสารละลายกรดอินทรีย์เจือจางหลายชนิด นอกจากนี้ไคโตซานยังสามารถละลายได้ในกรดอินทรีย์บางชนิด เช่น กรดไฮโดรคลอริกเจือจาง กรดไนตริกเจือจาง และกรดเปอร์คลอริกเจือจาง แต่ต้องมีการให้ความร้อนและการกวนช่วยในการทำละลาย แต่อย่างไรก็ตามในบางครั้งอาจเกิดตะกอนขาวคล้ายเจลเกิดขึ้นอันเนื่องมาจากการละลายไม่สมบูรณ์ได้เช่นกัน แต่ไคโตซานไม่สามารถละลายได้ในกรดซัลฟิวริก เพราะจะเกิดไคโตซานซัลเฟตที่เป็นผลึกแข็งขึ้น และไคโตซานจะไม่ละลายน้ำและตัวทำละลายอินทรีย์ทั่วไป (Kienzle และคณะ. 1982)

ส่วนตัวทำละลายที่นิยมใช้ คือ กรดแอซีติก เนื่องจากกรดดังกล่าวสามารถแตกตัวทำให้หมู่เอมิโนเป็นไอออนบวก และสามารถสร้างพันธะไอออนกับไอออนลบที่แตกตัวอยู่ในกรด นอกจากนี้ กรดแอซีติกยังไม่ทำลายโครงสร้างของไคโตซาน ง่าย และราคาถูก จึงเป็นตัวทำละลายที่ใช้กันอย่างแพร่หลาย

2.10.3 สมบัติทางความร้อน

สมบัติทางความร้อนเป็นสมบัติที่บ่งชี้ถึงความเสถียรของไคโตซาน เมื่อพิจารณาว่าไคโตซานเป็นสายโซ่พอลิเมอร์ประเภทหนึ่งแล้ว เนื่องจากไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ที่มีโครงสร้างเป็นเส้นตรง จึงควรที่จะแสดงสมบัติเป็นเทอร์โมพลาสติก (thermoplastic) ซึ่งเมื่อให้ความร้อนแก่ไคโตซานจนถึงระดับหนึ่ง แต่ในความเป็นจริงไคโตซานจะไม่แปรสภาพเป็นสารหนืด แต่จะไหม้และสลายสภาพไปในที่สุด

ในประเทศไทยได้มีการทดสอบไคโตซานที่ผลิตได้ในประเทศ โดยใช้ไคโตซานที่มีค่าการขจัดหมู่อะซิติล 81.8 เปอร์เซ็นต์ ผลที่ได้คือไคโตซานเกิดการสลายสภาพที่อุณหภูมิประมาณ 320 องศาเซลเซียส ซึ่งจะเห็นได้ว่า ไคโตซานมีความเสถียรต่อความร้อน ทั้งนี้เนื่องจากการที่ไคโตซานมีพันธะไฮโดรเจนที่เป็นระเบียบยึดให้สายโซ่อยู่ด้วยกัน พลังงานความร้อนจึงไม่สามารถทำลายสายโซ่นี้ได้ ถึงจะให้พลังงานความร้อนอย่างต่อเนื่องก็ยังไม่สามารถทำลายพันธะไฮโดรเจนได้ แต่ทำให้โครงสร้างแซกคาไรด์เสียไปแทน

2.10.4 ความหนืด

ความหนืดของพอลิเมอร์เป็นตัวชี้วัดขนาดของสายโซ่พอลิเมอร์ได้เป็นอย่างดี กล่าวคือ ถ้าหากสายโซ่พอลิเมอร์มีความยาวมาก ความหนืดจะมากตามไปด้วย

สำหรับความหนืดของสารละลายไคโตซานขึ้นอยู่กับหลายปัจจัย เช่น เปอร์เซ็นต์การขจัดหมู่อะซิติล (%DD) มวลโมเลกุล ความเข้มข้น พีเอช และอุณหภูมิ โดยทั่วไปแล้วความหนืดของพอลิเมอร์จะลดลงเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และการเปลี่ยนแปลงพีเอชของสารละลายพอลิเมอร์ก็จะให้ความหนืดที่แตกต่างกัน เช่น ความหนืดของไคโตซานในกรดไฮโดรคลอริกจะเพิ่มขึ้นเมื่อพีเอชลดลง เป็นต้น

2.10.5 สมบัติเฉพาะตัวบางประการของไคโตซาน

จากการวิจัยพบว่าไคโตซานนั้นมีสมบัติในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ ดังมีการวิจัยผลของการเคลือบสารละลายไคโตซานลงบนผิวของสตรอเบอร์รี่ต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Botrytis cinerea* และ *Rhizopus stolonifer* โดยนำสตรอเบอร์รี่มาจุ่มลงในสารละลายของเชื้อราเข้มข้น 0.1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้อง 2 ชั่วโมง จากนั้นนำสตรอเบอร์รี่มาจุ่มลงในสารละลายของไคโตซานเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร เทียบกับชุดควบคุมที่จุ่มในน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแล้ว จากนั้นปล่อยให้แห้งที่อุณหภูมิห้องและนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 13 องศาเซลเซียส ติดตามการเน่าเสียของสตรอเบอร์รี่เป็นเวลา 1 เดือน พบว่าเมื่อถึงวันที่ 21 สตรอเบอร์รี่ของชุดควบคุมเน่าเสียไป 52 เปอร์เซ็นต์ ในขณะที่สตรอเบอร์รี่ซึ่งเคลือบด้วยไคโตซานเน่าเสียไป 11 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อครบ 1 เดือน สตรอเบอร์รี่ของชุดควบคุมเน่าเสียไป 87 เปอร์เซ็นต์

ส่วนสตรอบเบอร์รี่ซึ่งเคลือบด้วยไคโตซานนำเสียไป 22 เปอร์เซ็นต์ จึงสรุปได้ว่าไคโตซานสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อราได้ (Ghaouth และคณะ. 1992)

และยังมีการวิจัยที่พบว่าไคโตซานสามารถยับยั้งเชื้อแบคทีเรียได้ โดยนักวิจัยชาวญี่ปุ่น (Uchida และคณะ. 1988) ได้รายงานการเจริญเติบโตของเชื้อ *E. coli* ว่าถูกยับยั้งได้เมื่อมีสารไคโตซาน ทั้งนี้จากแนวโน้มของผลการทดลองดังกล่าว จึงมีการตั้งข้อสังเกตว่า ผลการยับยั้งการเจริญเติบโตนี้น่าจะมาจากหมู่อะมิโนในไคโตซานสร้างพันธะไฮออนกับผนังเซลล์ของเชื้อ *E. coli* ที่มีความเป็นลบอยู่ ทำให้เซลล์ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ ส่งผลให้ไคโตซานยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อเหล่านี้ และยังมีนักวิจัยอื่น ๆ ที่ได้ทดสอบสมบัติของไคโตซานในการยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่น ๆ ไม่ว่าจะเป็นเชื้อราและเชื้อแบคทีเรีย เช่น *Lactobacillus bulgaricus* *Streptococcus faecium* และ *Fusarium oxysporum* (Bell และคณะ. 1998)

2.10 ขั้นตอนการผลิตไคโตซาน

เนื่องจากไคโตซานเป็นอนุพันธ์ของไคติน จึงต้องมีขั้นตอนจากวัตถุดิบนำไปผลิตเป็นไคติน แล้วจึงผ่านขั้นตอนจนได้ไคโตซานออกมา โดยวัตถุดิบที่เป็นแหล่งสำคัญที่ใช้ในการผลิตไคโตซานได้แก่ แกนปลาหมึก เปลือกกุ้ง และเปลือกปู ที่เป็นของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมอาหารแช่แข็ง

2.11.1 การเตรียมไคติน

ในเปลือกของสัตว์ทะเลประเภทที่มีเปลือกแข็ง (crustaceous shell) พวกปลาหมึก กุ้ง และปู นั้น จะมีส่วนประกอบที่สำคัญ คือ โปรตีน (30 – 40 เปอร์เซ็นต์) แคลเซียมคาร์บอเนต (30 – 50 เปอร์เซ็นต์) ไคติน (20 – 30 เปอร์เซ็นต์) และสารอื่นๆอีกเล็กน้อย เช่น รงควัตถุ (pigment) เนื่องจากไคตินไม่สามารถละลายในตัวทำละลายที่ใช้กันทั่วไปได้ ดังนั้นจึงต้องใช้ตัวทำละลายสกัดแยกส่วนประกอบอื่นๆออกไป เหลือแต่ส่วนของไคตินที่ต้องการเอาไว้ ซึ่งการเตรียมไคตินสามารถแบ่งได้เป็น 3 ขั้นตอนคือ

2.11.1.1 ขั้นตอนการแยกแคลเซียมคาร์บอเนต

การแยกแคลเซียมคาร์บอเนต (decalcification หรือ demineralization) สามารถแยกออกได้โดยสารละลายกรด เช่น สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) สารละลายกรดไนตริก (HNO_3) และสารละลายกรดแอสติก (CH_3COOH) เป็นต้น แต่ที่ใช้กันมากคือ สารละลายกรดไฮโดรคลอริก ซึ่งเปลี่ยนแคลเซียมคาร์บอเนตให้อยู่ในรูปแคลเซียมคลอไรด์ ที่สามารถละลายในน้ำได้ โดยทำการแช่วัตถุดิบลงในสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเป็นเวลา 2 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ในระหว่างนี้ จะต้องมีการคนโดยใช้แท่งแก้วเป็นระยะๆ จนครบ 2 วัน ล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้งจนน้ำที่ล้างมีพีเอชเป็นกลาง

2.11.1.2 ขั้นตอนการแยกโปรตีน

การแยกโปรตีน (deproteinization) ซึ่งมีสารละลายที่เป็นต่างหลายชนิดที่สามารถใช้ในการแยกโปรตีนออกมาได้ เช่น สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) สารละลายโซเดียมไบคาร์บอเนต (NaHCO_3) และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่ใช้มากที่สุด คือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยจะใช้ที่ความเข้มข้น 1- 10 เปอร์เซ็นต์ และทำการต้มวัตถุดิบที่อุณหภูมิประมาณ 65 -100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 0.5 – 6 ชั่วโมงขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ และอุณหภูมิที่ใช้

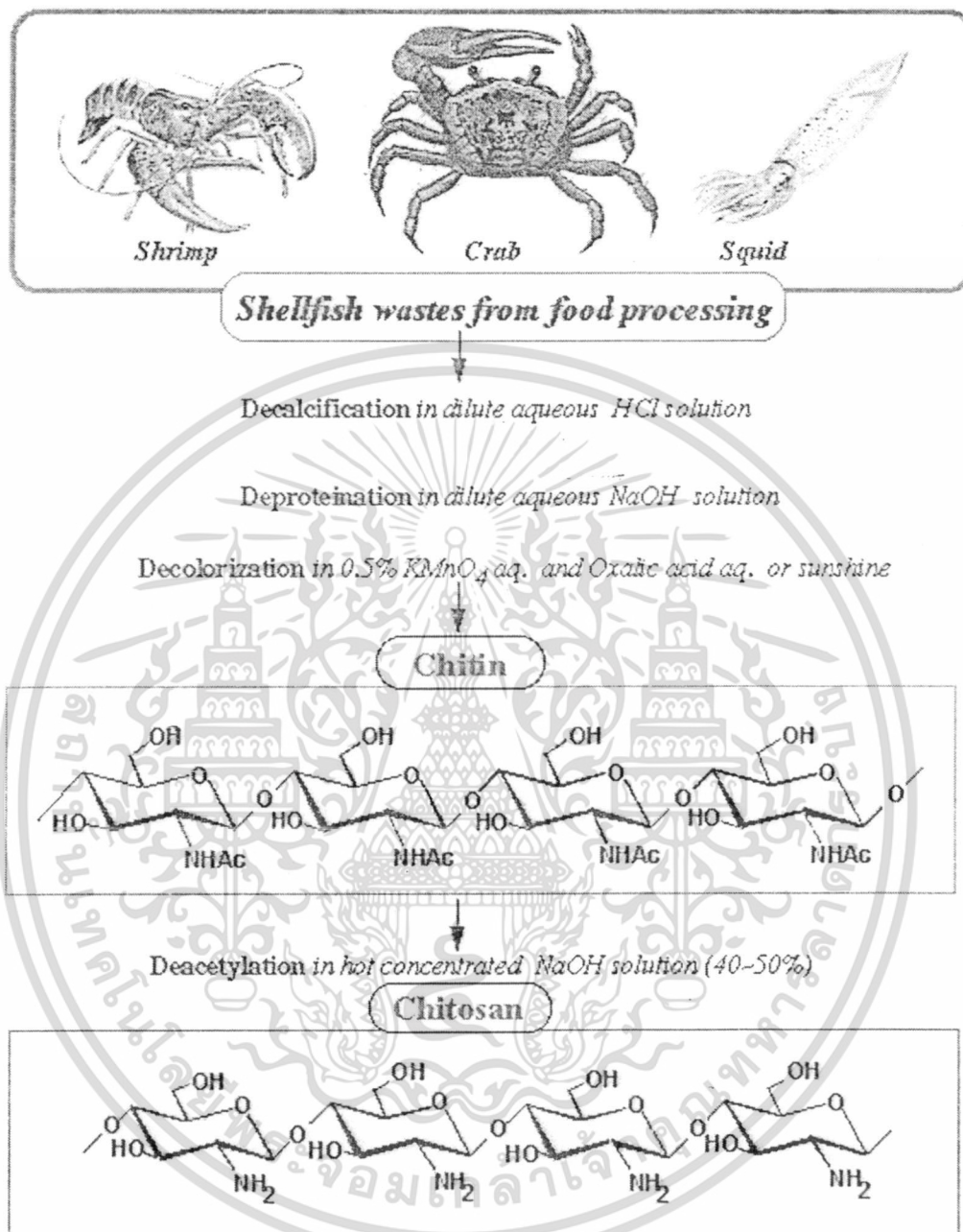
2.11.1.3 ขั้นตอนการแยกรงควัตถุ

การแยกรงควัตถุ (decoloration) โคลิตินที่ได้หลังจากผ่านการแยกแคลเซียมคาร์บอเนต และแยกโปรตีนออกไปแล้ว แต่ยังคงมีรงควัตถุหลงเหลืออยู่ ซึ่งรงควัตถุส่วนใหญ่เป็นสารจำพวกคาโรทีนอยด์ (carotenoids) เช่น แอสทาแซนทิน (astaxanthin) และ เบตาแคโรทีน (β -carotene) เป็นต้น ซึ่งสามารถแยกได้โดยการชะด้วยกรดออกซาลิก (oxalic acid) หรือเอทานอล (ethanol) และยังสามารถใช้สารจำพวกสารฟอกขาว เช่น ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) หรือ โพแทสเซียมเปอร์แมงกาเนต (KMnO_4) นอกจากนี้ยังใช้การตากแดดในการขจัดรงควัตถุออกไปได้อีกด้วย

2.11.2 การเตรียมโคโคซาน

ในการเตรียมโคโคซานนั้นสามารถเตรียมได้หลายวิธี แต่วิธีที่ใช้กันมาก คือการทำปฏิกิริยาคีอะซิทีลชั่น โคลิตินในสารละลายต่าง โดยสารละลายต่างที่ใช้กันมาก คือ สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยนำโคลิตินมาทำปฏิกิริยากับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 40 เปอร์เซ็นต์ ที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นลง กรองและล้างตะกอนด้วยน้ำจนกระทั่งมีค่าพีเอชเป็นกลาง โดยโคโคซานที่ได้จะมีค่าเปอร์เซ็นต์การขจัดหมู่คีทีลประมาณ 82 เปอร์เซ็นต์

ค่าเปอร์เซ็นต์การขจัดหมู่คีทีลของโคโคซานที่ได้จะขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของสารละลายต่าง อุณหภูมิ และระยะเวลาที่ใช้ในการทำปฏิกิริยาเป็นสำคัญ



รูปที่ 2.7 การเตรียมไคตินและไคโตซาน

ที่มา : www.mse.uiuc.edu

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.12 งานวิจัยอื่นๆที่เกี่ยวข้อง

ทิพวัลย์ (2543) ได้ศึกษาการผลิตฟิล์ม และศึกษาสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย-ไคโตซาน ที่ผลิตโดยการเติมสารละลายไคโตซานลงในสารแขวนลอยของเชื้อเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ซึ่งได้แปรปริมาณไคโตซานในสารแขวนลอยผสมระหว่างไคโตซานและเซลลูโลสจากแบคทีเรียในช่วง 0 – 30 เปอร์เซ็นต์ และค่าพีเอชของสารแขวนลอยผสม 4.5 7.0 และ 10.0 พบว่าที่ปริมาณของสารละลายไคโตซานที่ 10 เปอร์เซ็นต์ และค่าพีเอชที่ 10.0 ให้สมบัติทางกายภาพโดยรวมของแผ่นฟิล์มดีที่สุด

Pranee และคณะ (2002) ได้ศึกษาผลของไคโตซานต่อคุณสมบัติกระดาษที่ทำจากไม้ยูคาลิปตัส ศึกษาในการศึกษามีทั้งสถานะเป็นกรด กลางและด่าง ความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้มีดังนี้ 0 0.25 0.5 และ 1 เปอร์เซ็นต์น้ำหนักแห้งของเยื่อกระดาษ ผลการทดลองพบว่า การเติมไคโตซาน 1 เปอร์เซ็นต์ จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษได้ แต่อัตราการเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษจะมีสูงในช่วงความเข้มข้นไคโตซาน 0 – 0.5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับ 0.5 – 1 เปอร์เซ็นต์ ไคโตซานช่วยเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษได้ทั้งในสถานะกรดและกลาง แต่ในสถานะที่เป็นด่างจะมีประสิทธิภาพน้อย ซึ่งโดยทั่วไปแล้วไคโตซานจะมีศักยภาพที่จะใช้เป็นตัวเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษในสถานะที่เป็นกรด กลางและด่าง ขึ้นอยู่กับความต้องการของกระบวนการ

บทที่ 3

วิธีดำเนินการวิจัย

3.1 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. งานเพาะเลี้ยงเชื้อ
2. หลอดทดลอง
3. กระจกตวง
4. ขวดรูปชมพู่
5. บีกเกอร์
6. แท่งแก้วคน
7. แท่งแก้วรูปตัววี
8. ถาดพลาสติก
9. กระดาษหนังสือพิมพ์
10. หม้อต้มน้ำ
11. แผ่นปูนพลาสติก
12. กรอบยึดแผ่นเซลล์
13. ข่างยี่ครดาด
14. เครื่องอัดรีดน้ำ
15. โถดูดความชื้น
16. หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (autoclave) ของบริษัท HIRAYAMA รุ่น HA-300 MIV
17. เครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ของบริษัท SHIMADZU รุ่น LIBROR EB-4000H
18. เครื่องชั่ง 4 ตำแหน่ง ของบริษัท Sartorius analytic รุ่น A200s
19. ไมโครมิเตอร์
20. ตู้อบลมร้อน (hot air oven) ของบริษัท WTB binder รุ่น ED53
21. ตู้เขี่ยเชื้อ ของบริษัท ISSCO รุ่น BVT123
22. ตู้ดูดควัน ของบริษัท ASTEC รุ่น Astecair 5000E
23. เครื่องวัดพีเอช (pH meter) ของบริษัท Denver Instrument รุ่น Model 215
24. เครื่องทดสอบวัสดุ (universal testing machine) ของบริษัท Lloyd Instrument รุ่น TA plus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 สารเคมี

1. โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)
2. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H₂O₂)
3. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH₄OH)
4. แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ (ethanol)
5. กรดแอซติก (acetic acid)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

1. อาหารสูตรน้ำมะพร้าว
2. อาหารตามสูตรของ Hestrin and Schramm (HS medium) (1954)
3. อาหารตามสูตรของ Okiyama และคณะ (1992)
4. อาหาร Acetobacter agar

3.4 จุลินทรีย์

Acetobacter xylinum TISTR 976

จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.5 วิธีการวิจัย

3.5.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

3.5.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

เตรียมอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก) โดยผสมให้เข้ากันจากนั้นต้มให้เดือด นาน 15 นาที ปรับค่าพีเอชให้ได้ 5.0 ด้วยกรดแอซติกเข้มข้น แบ่งใส่ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ปิดจุกสำลีแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้จนเย็นจึงทำการถ่ายเชื้อลงไป 1-2 ลูกบ่มที่อุณหภูมิห้องในสภาพนิ่งเป็นเวลา 3 วัน

3.5.1.2 การหมักเซลลูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

เตรียมอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก) โดยผสมให้เข้ากันจากนั้นต้มให้เดือด นาน 15 นาที ปรับค่าพีเอชให้ได้ 5.0 ด้วยกรดแอซติกเข้มข้น ตวงอาหารขณะร้อนปริมาตร 1 ลิตร ใส่ลงในภาชนะพลาสติกที่ทำการฆ่าเชื้อโดยลวกน้ำร้อน ปิดภาชนะด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ที่ผ่านการ

นิ่งฆ่าเชื้อ ตั้งทิ้งไว้จนเย็น เติมหั่วเชื้อลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารที่ใช้ บ่มในสภาพนิ่ง ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน

3.5.1.3 การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสที่ได้

นำแผ่นเซลลูโลสที่ผลิตได้มาล้างด้วยน้ำหลายๆครั้งให้สะอาด นำแผ่นเซลลูโลส มาต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 20 นาทีเพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรีย ออกจากแผ่นเซลลูโลส ล้างน้ำหลายๆครั้งจนสะอาด นำมาเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ นำแผ่นเซลลูโลสที่รีด น้ำออกแล้วมาอบให้แห้งที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง นำมาใส่ในโถดูดความชื้นไว้ จนเย็น นำมาชั่งน้ำหนักแผ่นเซลลูโลสที่ได้ ซึ่งจะเป็นค่าของผลผลิตเซลลูโลส รายงานผลเป็น น้ำหนักแผ่นเซลลูโลสที่ได้ (กรัม) ต่อปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ (มิลลิลิตร)

3.5.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่เติมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเพื่อผลิต เซลลูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

3.5.2.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.5.1.1

3.5.2.2 การเตรียมสารละลายไคโตซาน

ในการวิจัยนี้ใช้ไคโตซานที่มีเปอร์เซ็นต์การขจัดหมู่อะซิทิล (percent degree of deacetylation) 85 เปอร์เซ็นต์(จากบริษัทสยามไบโอเนท จำกัด) เตรียมให้เป็นสารละลายโดยใช้ อัตราส่วนไคโตซาน 2 เปอร์เซ็นต์ต่อกรดแอซิดิก 1 เปอร์เซ็นต์ ในสภาพที่มีการกวนอย่างสม่ำเสมอและให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 70-80 องศาเซลเซียส เติมน้ำกลั่นลงไปจนได้ปริมาณตาม ต้องการ เมื่อผสมจนเข้ากันแล้วนำสารละลายไคโตซานที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบางอีกครั้ง เก็บใน ตู้เย็น

3.5.2.3 การหมักแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น ต่างๆ

เตรียมอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก) แล้วแบ่งใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยเติมอาหารสูตรน้ำมะพร้าวลงไป 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์(โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายไคโตซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ (จากหัวข้อ 3.5.2.2) ลงไป โดยในแต่ละความเข้มข้นจะทำ 3 ซ้ำ นำไปนิ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เติมหั่วเชื้อลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณอาหารเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เก็บแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาหาค่าผลผลิตเซลลูโลส เช่นเดียวกับข้อ

3.5.1.3 และคัดเลือกความเข้มข้นของโคโคซานที่ให้ความหนาและผลผลิตเซลล์สูง มาใช้ในการทดลองต่อไป

จากการศึกษาในหัวข้อนี้สามารถคัดเลือกช่วงความเข้มข้นของสารละลายโคโคซานที่เหมาะสม คือ 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายโคโคซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ มาทำการทดลองในขั้นตอนต่อไป เนื่องจากความเข้มข้นของสารละลายโคโคซานที่ 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) นั้น ผลผลิตของเซลล์ที่ได้มีปริมาณน้อยจนไม่สามารถก่อตัวเป็นแผ่นวุ้นได้

โดยการทดลองในหัวข้อ 3.5.1 และ 3.5.2 นี้ วางแผนการทดลองในรูปแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (Analysis of Variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของดินแดน (Duncan's New Multiple Range Test)

3.5.3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเซลล์โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ร่วมกับโคโคซานที่ความเข้มข้นต่างๆ

3.5.3.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.5.1.1

3.5.3.2 การหมักเซลล์ร่วมกับโคโคซานในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ

โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารที่เหมาะสม ดังนี้

อาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก)

อาหารสูตร Hestrin & Schramm หรือ HS medium (1954) (ภาคผนวก ก)

อาหารสูตรของ Okiyama (1992) (ภาคผนวก ก)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรแบ่งในพลาสติก ขนาด 500 มิลลิลิตร โดยเติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงไปปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายโคโคซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ โดยในแต่ละความเข้มข้นจะทำ 3 ซ้ำ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที เติมหัวเชื้อลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรอาหาร เลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เก็บแผ่นเซลล์ที่ได้มาหาค่าผลผลิตเซลล์ เช่นเดียวกับข้อ 3.5.1.3 เพื่อเปรียบเทียบผลผลิตเซลล์ที่ได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรต่างๆ และคัดเลือกสูตรอาหารที่ให้ความหนาและผลผลิตเซลล์สูง มาใช้ในการทดลองต่อไป

3.5.4 การผลิตกระดาษโดยการนำแบคทีเรียเซลลูโลสเลี้ยงร่วมกับไคโตซานในสูตรอาหารที่เหมาะสม

3.5.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.5.1.1

3.5.4.2 การเตรียมสารละลายไคโตซาน

เตรียมเช่นเดียวกับข้อ 3.5.2.2 เมื่อได้สารละลายไคโตซานแล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.5.4.3 การหมักเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ร่วมกับไคโตซานในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

เตรียมสูตรอาหารที่ได้จากหัวข้อ 3.5.3 ฆ่าเชื้อโดยต้มให้เดือดเป็นเวลา 30 นาที แบ่งอาหารเลี้ยงเชื้อใส่ถาดพลาสติกขนาด 35 x 21.5 x 9 เซนติเมตร ปริมาตรอาหาร 1,000 มิลลิลิตร (ถาดพลาสติกฆ่าเชื้อโดยการลวกด้วยน้ำร้อน) จากนั้นเติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นสารละลายไคโตซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ลงไป 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรอาหารเลี้ยง โดยในแต่ละความเข้มข้นทำ 3 ซ้ำ แล้วปิดถาดด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งให้อาหารเย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อลงไป 10 เปอร์เซ็นต์ของปริมาตรอาหารเลี้ยง ในสถานะหนึ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาผลิตเป็นกระดาษ

3.5.4.4 การผลิตกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส

ในศึกษาขั้นตอนนี้จะแบ่งเป็น 2 ช่วง โดยในช่วงแรกจะทำการศึกษาวิธีการผลิตกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส 2 วิธี คือ

3.5.4.4.1 วิธีที่ 1

โดยนำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปิดภาชนะทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที เข้าเครื่องอัดรีดน้ำ วางบนแผ่นปูนพลาสติก อบอุ่นด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตากด้วยพัดลม 2-3 ชั่วโมง จะได้เป็นแผ่นแห้ง นำแผ่นแห้งมาต้มในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที นำมาล้างให้สะอาด จากนั้นเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จึงให้เรียบตั้งด้วยกรอบยัด แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำแผ่นกระดาษแบคทีเรียเซลลูโลสออกมาจากกรอบยัด (Ochaikul. 2547)

3.5.4.4.2 วิธีที่ 2

นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปิดภาชนะทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง แล้วต้มในน้ำเดือด 30 นาที นำไปเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ นำวางบนแผ่นปูนพลาสติกครอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตากด้วยพัดลม 2-3 ชั่วโมง จะได้เป็นแผ่นแห้ง นำแผ่นแห้งที่ได้มาแช่ในสารละลายผสมระหว่าง สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ และ สารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 25-27 เปอร์เซ็นต์ ปรับพีเอชให้เป็น 10-11 แช่แผ่นแห้งไว้เป็นเวลา 5-10 นาที จากนั้นมีวนแผ่นเซลลูโลสลงในถุงพลาสติก แล้วนำไปแช่ในน้ำเดือดเป็นเวลา 15-30 นาที โดยเขย่าถุงตลอดเวลา นำแผ่นเซลลูโลสมาล้างน้ำให้สะอาด เข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จึงให้เรียงตั้งโดยใช้กรอบยึด อบในตู้ลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำแผ่นกระดาษแบคทีเรียเซลลูโลสออกจากกรอบยึด (นิโบล. 2545)

และในช่วงที่สอง จากการศึกษาในหัวข้อ 3.5.4.4 การผลิตกระดาษในวิธีที่ 1 ให้สมบัติเชิงกลที่ดีกว่าในวิธีที่ 2 ได้นำวิธีการผลิตกระดาษในวิธีที่ 1 มาทำการดัดแปลงเป็นวิธีการผลิตกระดาษเพิ่มขึ้นอีก 2 วิธี คือวิธีที่ 3 และวิธีที่ 4 เพื่อนำมาเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ได้และนำไปศึกษาสมบัติในด้านอื่นต่อไป

3.5.4.4.3 วิธีที่ 3

นำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปิดภาชนะทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที เข้าเครื่องอัดรีดน้ำ วางบนแผ่นปูนพลาสติก ครอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตากด้วยพัดลม 2-3 ชั่วโมง จะได้เป็นแผ่นแห้ง นำแผ่นแห้งมาแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที นำมาล้างให้สะอาด จากนั้นเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จึงให้เรียงตั้งด้วยกรอบยึด แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำแผ่นกระดาษแบคทีเรียเซลลูโลสออกมาจากกรอบยึด

3.5.4.4.4 วิธีที่ 4

นำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ 0.5 เปอร์เซ็นต์ ปิดภาชนะทิ้งไว้เป็นเวลา 12 ชั่วโมง ต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที เข้าเครื่องอัดรีดน้ำ วางบนแผ่นปูนพลาสติก ครอบด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตากด้วยพัดลม 2-3 ชั่วโมง จะได้เป็นแผ่นแห้ง นำแผ่นแห้งมาแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และปรับพีเอชให้เป็น 10-11 ด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 25-27 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 30 นาที นำมาล้างให้สะอาด จากนั้นเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จึงให้เรียงตั้งด้วย

กรอบยึด แล้วนำไปอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง นำแผ่นกระดาษแบคทีเรียเซลลูโลสออกมาจากกรอบยึด

3.5.5 ศึกษาโครงสร้างเส้นใยของเซลลูโลสจากแบคทีเรียด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

นำแผ่นเซลลูโลสแห้งที่ผลิตได้จากการคัดเลือกในหัวข้อ 3.5.3 มาวิเคราะห์โครงสร้างของเส้นใยด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด (scanning electron microscopy, SEM) ของ LEO รุ่น 1455VP โดยต้องทำการฉาบผิวหน้าของแผ่นเซลลูโลสตัวอย่างด้วยเครื่องฉาบทองก่อนด้วยเครื่อง sputter coater ของ Palaron รุ่น Range SC7620 และเครื่อง carbon accessory ของ Palaron รุ่น Range CA7625 แล้วจึงนำแผ่นเซลลูโลสตัวอย่างมาส่องดูพื้นผิวและถ่ายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน โดยนำตัวอย่างไปทดสอบที่ศูนย์บริการเครื่องมือวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.5.6 การทดสอบสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ผลิตได้

นำกระดาษที่ผลิตได้มาวัดสมบัติเชิงกลต่างๆ เช่น ค่าความแข็งแรงดึง (tensile strength) ค่าการยืด ณ จุดขาด (elongation at Break) และ ค่ามอดุลัสของยัง (Young's Modulus) ซึ่งเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ Texture Analyzer รุ่น TA plus (มอก. 1353 เล่ม 3-2540)

3.5.6.1 ค่าความแข็งแรงดึง

วิธีคำนวณ

ความแข็งแรงดึง (นิวตัน/ตารางมิลลิเมตร) = F/A

เมื่อ F = แรงดึงสูงสุดก่อนชิ้นงานเกิดการแตกหัก (นิวตัน)

A = พื้นที่หน้าตัดเริ่มต้นของชิ้นทดสอบ (ตารางมิลลิเมตร)

3.5.6.2 ค่าการยืด ณ จุดขาด

วิธีคำนวณ

$$\text{ค่าการยืด ณ จุดขาด (เปอร์เซ็นต์)} = \frac{L_t - L_0}{L_0} \times 100$$

เมื่อ L_0 = ระยะเริ่มต้น

L_t = ระยะที่ยืดจนขาด

3.5.6.3 ค่ามอดุลัสของยัง

วิธีคำนวณ

$$\text{ค่ามอดุลัสของยัง, } E = \frac{\text{tensile stress}}{\text{tensile strain}} \quad (1)$$

$$\begin{aligned} \text{tensile stress} &= \frac{\text{tensile force}}{\text{area of cross - section}} \\ &= Mg / A \end{aligned} \quad (2)$$

$$\begin{aligned} \text{tensile strain} &= \frac{\text{extension}}{\text{original length}} \\ &= l / L \end{aligned} \quad (3)$$

แทนค่า (2) และ (3) ใน (1) จะได้

$$E = (Mg / A) / (l / L) \quad (4)$$

tensile stress (ความเค้นดึง) คือความสามารถหรือความทนต่อแรงภายนอกที่มากระทำต่อวัตถุ (load) ต่อหน่วยพื้นที่หน้าตัด มีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางมิลลิเมตร (N/mm^2) หรือ เมกกะพาสคัล (mega pascal, MPa)

tensile strain (ความเครียดดึง) เป็นอัตราส่วนของการยืด (elongation) หรือการแปรรูป (deformation) ต่อความยาวของชิ้นงานที่ใช้ทดสอบนั้น คือ การเปลี่ยนแปลงขนาดจากขนาดเดิม ไม่มีหน่วย

ในการทดสอบสมบัติเชิงกลของกระดาษ ใช้ load cell ที่รับแรงได้ 1,000 นิวตัน ความเร็วในการดึงแผ่นกระดาษตัวอย่าง 20 มิลลิเมตรต่อนาที หัวจับแบบเหล็ก เตรียมแผ่นกระดาษตัวอย่าง โดยตัดให้ได้ความกว้าง 20 มิลลิเมตร ยาว 50 มิลลิเมตร โดยมีระยะจับชิ้นงาน (gauge length) 30 มิลลิเมตร ส่วนความหนาจะเปลี่ยนแปลงตามความหนาของกระดาษตัวอย่างแต่ละแผ่น โดยมีการทดสอบซ้ำ 10 ครั้ง

จากการทดสอบสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ผลิตได้ คัดเลือกค่าความเข้มข้นของไคโตซาน และวิธีการผลิตกระดาษ ที่ทำให้สมบัติเชิงกลของกระดาษดีขึ้นมาใช้ในการทดลองต่อไป

โดยการทดลองในหัวข้อ 3.5.3 3.5.4 และ 3.5.5 นี้ วางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล (factorial in CRD) และนำค่าที่ได้มาวิเคราะห์ทางสถิติ โดยวิเคราะห์ค่าความแปรปรวน (analysis of variance) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยของคันทันแคน (duncan's new multiple range test)

3.5.7 ศึกษาความสามารถในการดูดซึมน้ำของกระดาษที่ผลิตได้

วิธีทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำ (cobb test) อ้างอิงตามมาตรฐาน ISO 535 โดยใช้เครื่อง cobb sizing tester

โดยตัดกระดาษตัวอย่างให้มีขนาดความกว้าง 14 เซนติเมตร และความยาว 14 เซนติเมตร ซึ่งน้ำหนักของกระดาษตัวอย่างก่อนทดสอบ แล้วนำไปประกอบกับ cobb sizing tester เหน้าลงไป 100 ลูกบาศก์เซนติเมตร พร้อมทั้งจับเวลา 120 วินาที เมื่อเหลือเวลา 15 วินาทีก่อนครบกำหนดให้เทน้ำออกพร้อมทั้งซับกระดาษตัวอย่างด้วยกระดาษซับ แล้วจึงชั่งน้ำหนักเพื่อหาผลต่างของน้ำหนัก ทำการทดสอบซ้ำ 5 ครั้งแล้วนำมาหาค่าเฉลี่ย รายงานผลของน้ำหนักน้ำที่กระดาษดูดซับไว้เป็นกรัม ต่อตารางเมตร (g/m²)

วิธีคำนวณ

ความสามารถในการดูดซึมน้ำของกระดาษ (กรัมต่อตารางเมตร) = (B - A) x 100

A = น้ำหนักของกระดาษก่อนสัมผัสน้ำ (กรัมต่อ100ตารางเซนติเมตร, g/100 cm²)

B = น้ำหนักของกระดาษหลังสัมผัสน้ำ (กรัมต่อ100ตารางเซนติเมตร, g/100 cm²)

3.5.8 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของกระดาษที่ผลิตได้

ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability) โดยใช้เครื่อง water vapor permeation tester ; Lyssy L800 – 400 ทดสอบโดยใช้วิธี ISO 15106-1 : 2003 (E) plastic – film and sheeting – determination of water vapor transmission rate – part 1 : humidity detection sensor method โดยส่งตัวอย่างไปทดสอบที่ศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย

3.5.9 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดาษที่ผลิตได้

ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (oxygen gas permeability) โดยใช้เครื่อง oxygen permeation tester ; Illinois 8000 ทดสอบโดยใช้วิธี ASTM D3985-02 Oxygen gas transmission rate through plastic film and sheeting using a coulometer sensor โดยส่งตัวอย่างไปทดสอบที่ศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย

บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

จากการเลี้ยง *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ในสถานะนิ่ง นาน 12 วัน พบว่าในระยะแรกของการหมัก น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว โดยเฉพาะในช่วงวันที่ 6 ถึงวันที่ 10 ซึ่งในวันที่ 10 มีน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส 9.64 กรัมต่อลิตร (ดังตารางที่ 4.1) จากนั้นน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสยังคงเพิ่มขึ้นแต่เพิ่มในอัตราที่ช้าลง ในวันที่ 12 จะมีน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส 9.73 ซึ่งเพิ่มขึ้นจากน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสในวันที่ 10 เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ตารางที่ 4.1 น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ในสถานะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน

วันที่	น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)
2	1.37 ^c
4	3.26 ^d
6	5.83 ^c
8	8.16 ^b
10	9.64 ^a
12	9.73 ^a

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ อักษรต่างกันในสมมติเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

เมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่าน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในวันที่ 2 4 6 และ 8 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์ สำหรับน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในวันที่ 10 และ 12 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่จะมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับวันอื่นๆ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Ochaikul และคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(2547) ซึ่งได้รายงานว่าจากการเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน พบว่าความหนาและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6-8 วัน หลังจากนั้นความหนาและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสจะเพิ่มในอัตราที่ช้าลง และ Williams และ Cannon (1989) เลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* ATCC 23769 ด้วยอาหารสูตรของ Hestrin & Schramm (HS medium) โดยใช้ระยะเวลาในการเลี้ยง 7 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลส



รูปที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาในการเลี้ยงและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน

จากผลการศึกษาในช่วงต้นจึงใช้ระยะเวลา 10 วัน ในการเลี้ยงเชื้อเพื่อผลิตเซลลูโลส และนำมาใช้ทำการศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4.2 ศึกษาความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่เติมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเพื่อผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

จากการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวพร้อมทั้งเติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 2.0 3.0 4.0 5.0 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายไคโตซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 10 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัน ผลการศึกษาพบว่า การเติมสารละลายโคโตซานช่วงความเข้มข้น 10 - 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ให้น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลล์ูโลสน้อยกว่ามากและมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์กับแผ่นเซลล์ูโลสที่ไม่ได้เติมสารละลายโคโตซาน (ชุดควบคุม) (ดังรูปที่ 4.2) โดยการเติมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้น 10 20 และ 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ให้น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลล์ูโลส 0.19 0.16 และ 0.11 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ (ดังตารางที่ 4.2) ซึ่งการเติมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นสูงๆอาจจะขัดขวางการสร้างเซลล์ูโลสของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 รวมทั้งทำให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืดเพิ่มขึ้น โอกาสที่เชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 จะได้รับออกซิเจนลดลง มีผลทำให้เซลล์ูโลสที่ได้ลดลง

ตารางที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลล์ูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวร่วมกับเติมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้น โคโตซาน (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลล์ูโลส (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)
0	0.82 ^a
0.1	0.81 ^{ab}
0.2	0.78 ^{abc}
0.4	0.79 ^{ab}
0.6	0.76 ^{bc}
0.8	0.74 ^c
1.0	0.74 ^c
2.0	0.34 ^d
3.0	0.27 ^c
4.0	0.26 ^c
5.0	0.28 ^c
10	0.19 ^f
20	0.16 ^{fg}
30	0.11 ^g

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ อักษรต่างกันในสมมติเดียวกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 นำหนักแห้งของแผ่นเซลล์ูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวร่วมกับเติมสารละลายโคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ เติงเชื้อในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาดังกล่าว จึงคัดเลือกการเติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) เพื่อศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4.3 ศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเซลล์ูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ร่วมกับไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ

การศึกษาในขั้นตอนนี้เป็นการเปรียบเทียบสูตรอาหารที่นิยมใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 3 สูตร ซึ่งประกอบด้วยอาหารสูตรน้ำมะพร้าว อาหารสูตรของ Hestrin & Schramm (HS medium) และ อาหารสูตรของ Okiyama โดยในแต่ละสูตรอาหารจะทำการเติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 1.0 2.0 3.0 4.0 และ 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายไคโตซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงเชื้อในสถานะนิ่งนาน 10 วัน

พบว่าจากการใช้อาหารสูตรน้ำมะพร้าวผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในช่วง 0 – 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) จะมีค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ูโลสใกล้เคียงกันคืออยู่ในช่วง 0.81 – 0.87 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้น้ำหนักแห้งของเซลล์ูโลสที่ได้ลดลง สำหรับอาหารสูตร HS น้ำหนักแห้งของเซลล์ูโลสที่ได้จะมีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงเช่นเดียวกับอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเมื่อผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0 – 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) จะมีค่าน้ำหนักแห้งของเซลล์ูโลสอยู่ในช่วง 0.60 – 0.63 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานมากกว่า 1 เปอร์เซ็นต์จะทำให้น้ำหนักแห้งของเซลล์ูโลสลดลงเช่นกัน อาหารสูตรของ Okiyama เมื่อเติมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ลงผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าจะเกิดการตกตะกอนที่ก้นขวดรูปขมพู อาจเนื่องจากส่วนประกอบของอาหารสูตรนี้มีแร่ธาตุบางตัวที่ทำให้ปฏิกิริยากับสารละลายไคโตซาน แล้วได้ตะกอนเกิดขึ้นและน้ำหนักของแผ่นเซลล์ูโลสที่ได้จากการเติมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ มีค่าใกล้เคียงกันมาก และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 4.3) และเมื่อดูลักษณะของแผ่นเซลล์ูโลสที่ได้ทั้งที่ไม่ได้เติมสารละลายไคโตซานและที่เติมสารละลายไคโตซาน พบว่า ในอาหารสูตรของ Okiyama ลักษณะพื้นผิวของแผ่นเซลล์ูโลสจะมีลักษณะขรุขระไม่เรียบเหมือนกับในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และอาหารสูตร HS (ดังรูปที่ 4.4 4.5 และ 4.6)

เมื่อเปรียบเทียบสูตรอาหารทั้ง 3 สูตร จะเห็นว่าอาหารสูตรน้ำมะพร้าวจะให้ น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลล์ูโลสสูงกว่าการใช้อาหารสูตร HS และสูตรของ Okiyama และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่นำมาใช้ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าช่วงความเข้มข้น 0.1 – 1.0

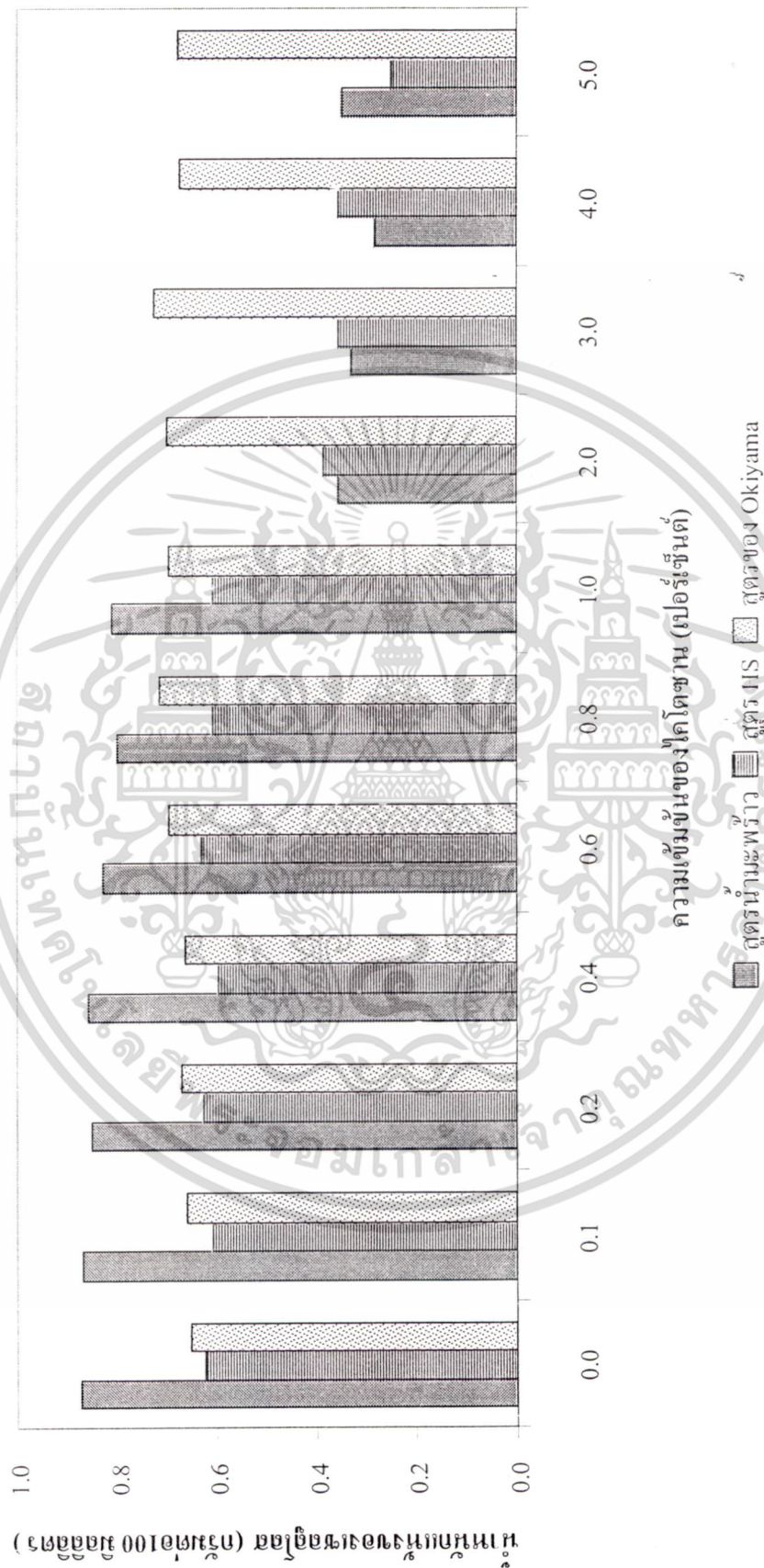
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) เหมาะที่จะนำมาใช้ในการศึกษา จึงคัดเลือกอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่ผสมสารละลายโคโคซานในช่วงความเข้มข้น 0.1 – 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายโคโคซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ มาใช้ศึกษาในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.3 การเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรร่วมกับเติมสารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้นต่างๆ

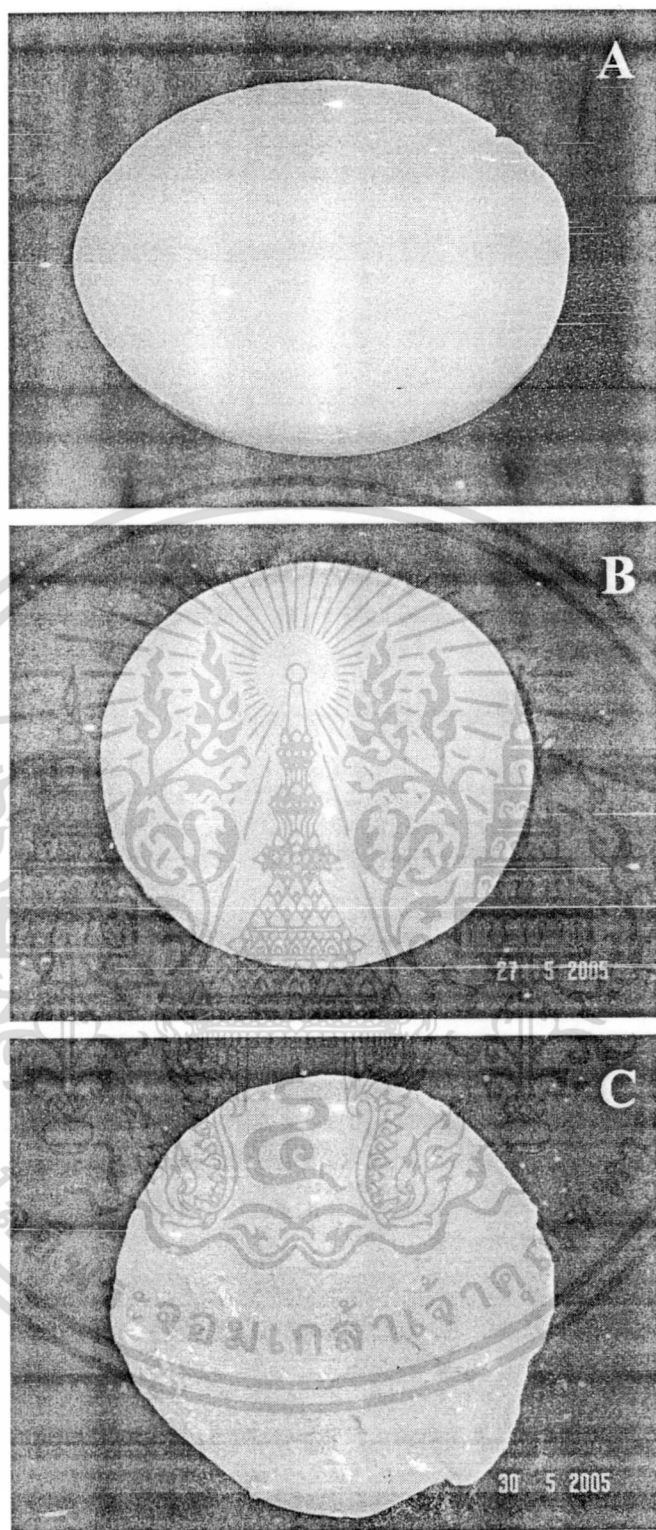
ความเข้มข้น โคโคซาน (เปอร์เซ็นต์)	น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)		
	สูตรน้ำมะพร้าว	สูตร HS	สูตรของ Okiyama
0	0.87 ^a	0.62 ^{defg}	0.65 ^{cdefg}
0.1	0.87 ^a	0.61 ^{cfg}	0.66 ^{cdefg}
0.2	0.85 ^{ab}	0.63 ^{defg}	0.67 ^{cde}
0.4	0.86 ^{ab}	0.60 ^g	0.66 ^{cdef}
0.6	0.83 ^{ab}	0.63 ^{defg}	0.70 ^c
0.8	0.80 ^b	0.61 ^{fg}	0.71 ^c
1.0	0.81 ^{ab}	0.61 ^{cfg}	0.70 ^c
2.0	0.36 ^h	0.38 ^h	0.70 ^c
3.0	0.33 ^{hi}	0.36 ^h	0.73 ^c
4.0	0.28 ^{ij}	0.35 ^h	0.68 ^{cd}
5.0	0.35 ^h	0.25 ^j	0.68 ^{cd}

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ อักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4 3 การเปรียบเทียบน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลล์โกลด์ที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารเลี้ยงเชื้อแต่ละสูตรร่วมกับเติมสารละลายโคโคซานที่ ความเข้มข้นต่างๆ เลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 10 วัน

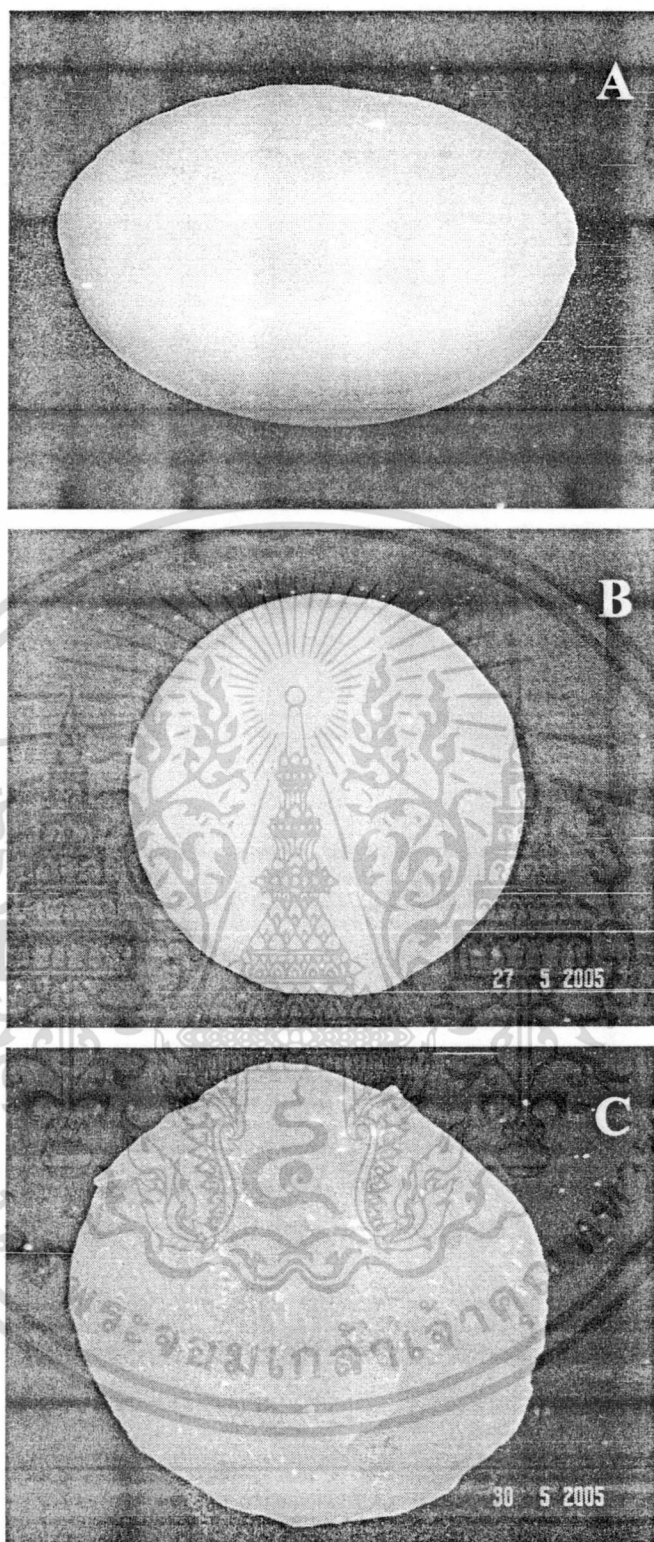
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 แผ่นเซลลูโลสที่ได้ในอาหารแต่ละสูตร

- (A) อาหารสูตรน้ำมะพร้าว
- (B) อาหารสูตรของ Hestrin and Schramm
- (C) อาหารสูตรของ Okiyama

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.5 แผ่นเซลลูโลสที่ได้ในอาหารแต่ละสูตรร่วมกับเติมสารละลาย

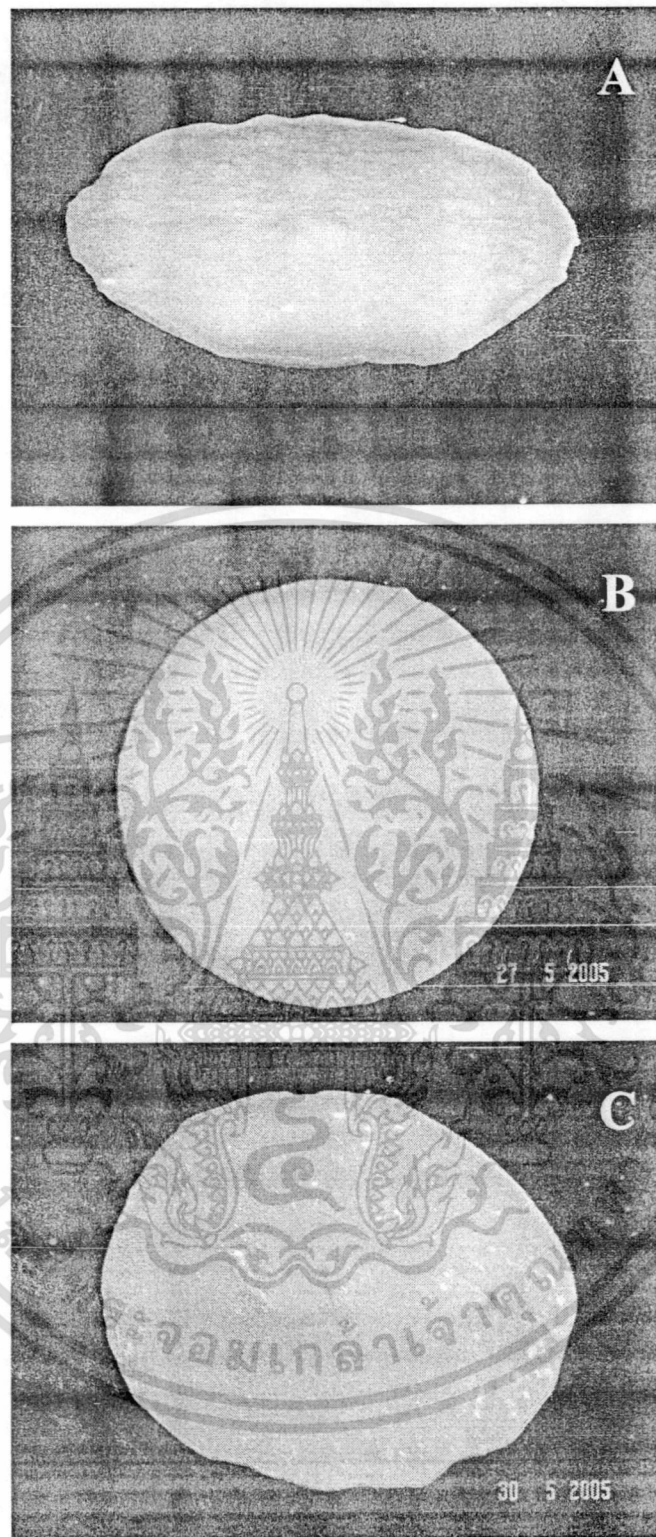
โคโคซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์

(A) อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

(B) อาหารสูตรของ Hestrin and Schramm

(C) อาหารสูตรของ Okiyama

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 แผ่นเซลลูโลสที่ได้ในอาหารแต่ละสูตรร่วมกับเติมสารละลาย

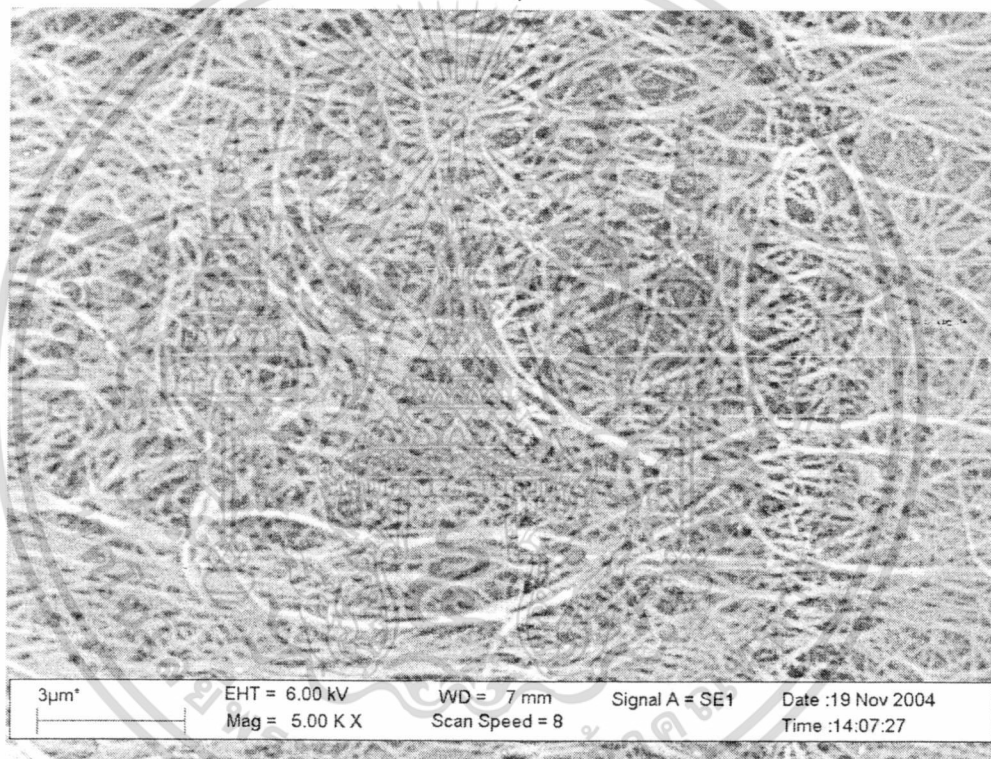
โคโคซานความเข้มข้น 2.0 เปอร์เซ็นต์

- (A) อาหารสูตรน้ำมะพร้าว
- (B) อาหารสูตรของ Hestrin and Schramm
- (C) อาหารสูตรของ Okiyama

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 การศึกษาโครงสร้างเส้นใยของกระดาษด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด

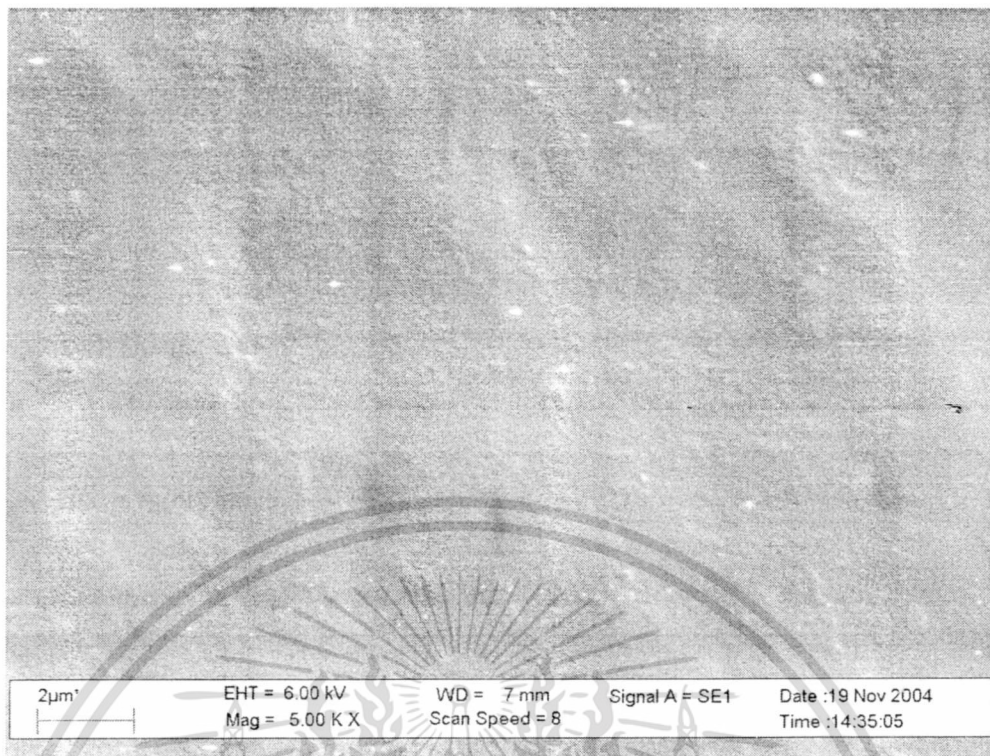
เมื่อนำกระดาษเซลลูโลสที่ผลิตจากอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่ผ่านการต้มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 เปอร์เซ็นต์เป็นเวลา 20 นาที (จากหัวข้อ 3.5.3.2) นำมาดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราด แสดงลักษณะของกระดาษเซลลูโลสที่ไม่ผสมไคโตซานดังรูปที่ 4.7 จะเห็นลักษณะของเส้นใยเซลลูโลสสานกันอยู่หนาแน่น และมีลักษณะเป็นโครงสร้างโปร่ง ซึ่งเส้นใยที่มีลักษณะยาวและต่อเนื่องนี้จะสามารถรับแรงและถ่ายเทแรงได้ดี รูปที่ 4.8 เป็นภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดที่แสดงลักษณะของแผ่นไคโตซาน พบว่าจะเห็นลักษณะเป็นแผ่นของพื้นผิวที่มีทั้งส่วนที่เรียบ และส่วนที่ขรุขระ



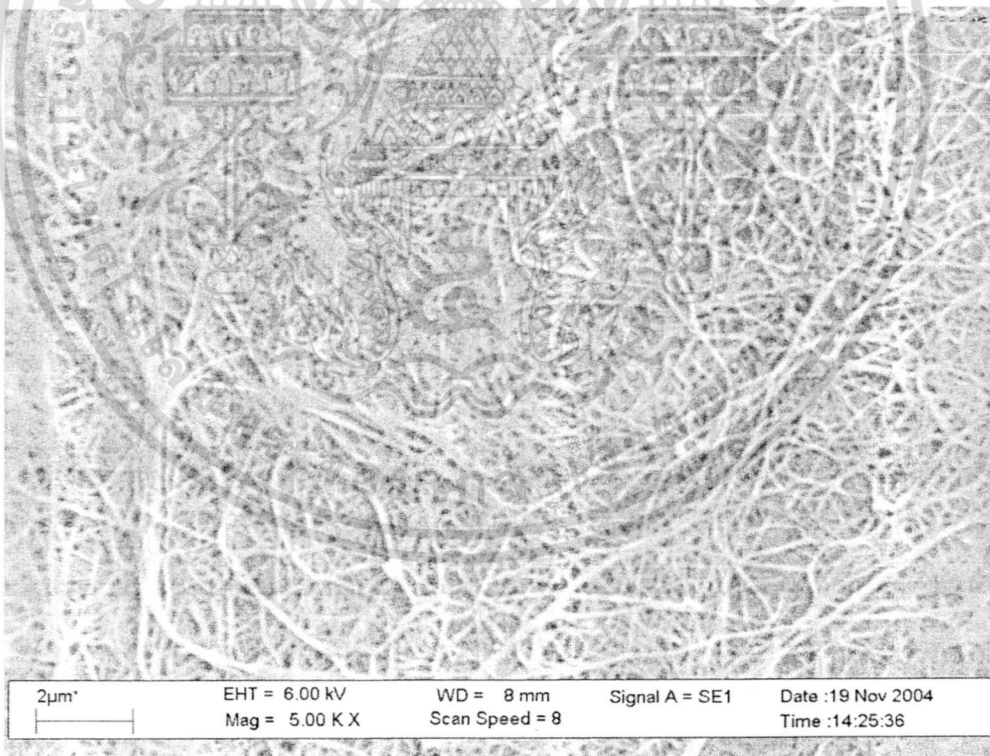
รูปที่ 4.7 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดแสดงพื้นผิวที่แตกหักของกระดาษเซลลูโลสที่ไม่ผสมไคโตซานที่กำลึงขยาย 5000 เท่า

และเมื่อดูจากโครงสร้างเส้นใยของกระดาษเซลลูโลสที่ผสมไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ดังรูปที่ 4.9 พบว่ามีส่วนของเส้นใยที่มีความต่อเนื่องเป็นเส้นสายสานกันอยู่ และมีส่วนที่มีลักษณะเป็นพื้นผิว ซึ่งมีทั้งพื้นผิวที่เรียบ และพื้นผิวในส่วนที่ขรุขระกระจายอยู่ทั่วไปในโครงสร้างเส้นใยของกระดาษ ซึ่งจากภาพที่เห็นเส้นใยของเซลลูโลสมีบางสิ่งที่มีลักษณะเป็นแผ่นแทรกทับอยู่ระหว่างช่องว่างของเส้นใยเซลลูโลสนั้น คาดว่าเป็นสารละลายไคโตซานที่ผสมลงไป จากภาพแสดงให้เห็นว่าไคโตซานที่ไปแทรกทับอยู่นั้นไปขัดขวางทำให้เส้นใยของเซลลูโลสมีความต่อเนื่องลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

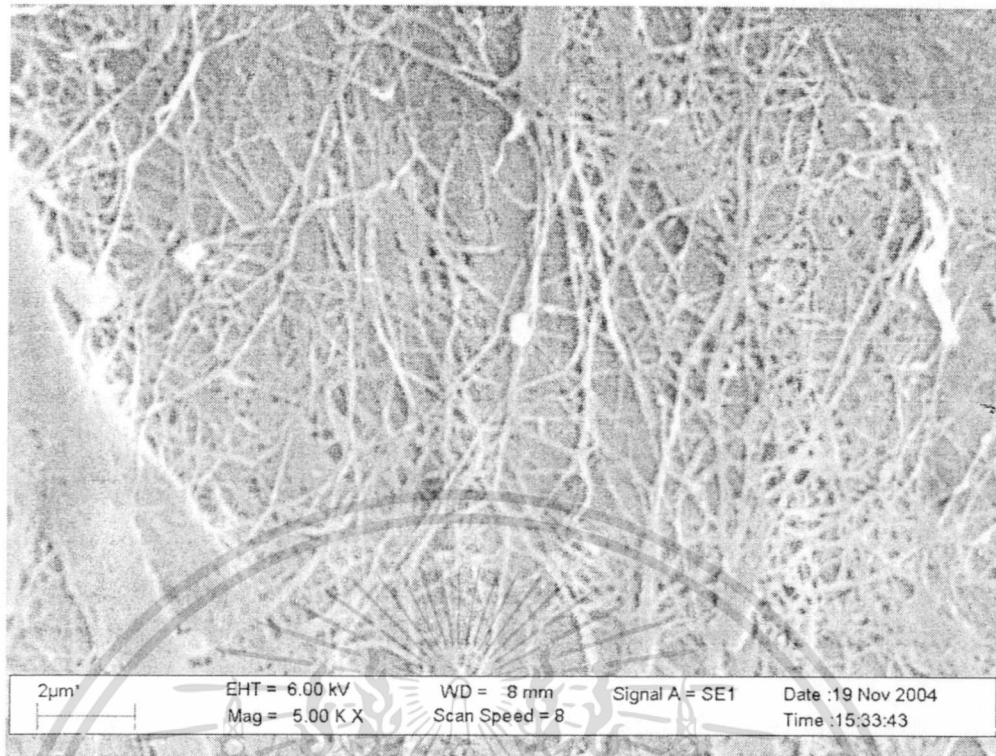


รูปที่ 4.8 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดแสดงพื้นผิวที่แตกหักของแผ่น
โคโตะซานที่กำลังขยาย 5000 เท่า



รูปที่ 4.9 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดแสดงพื้นผิวที่แตกหักของ
กระดาษ เซลลูโลสที่ผสมโคโตะซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ที่กำลังขยาย 5000
เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.10 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดแสดงพื้นผิวที่แตกหักของกระดาษเซลลูโลสที่ผสมโคโคซานที่ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ที่กำลังขยาย 5000 เท่า

ส่วนลักษณะของกระดาษเซลลูโลสที่ผสมโคโคซานที่ความเข้มข้น 0.8 เปอร์เซ็นต์ ดังรูปที่ 4.10 พบว่ามีส่วนที่มีลักษณะเป็นเส้นใยสายยาวลดลง และมีส่วนที่เป็นพื้นผิวส่วนที่เรียบและในส่วนที่ขรุขระกระจายทั่วไป ซึ่งจะเห็นว่าโครงสร้างเส้นใยของกระดาษจะมีส่วนของพื้นผิวที่มีลักษณะเป็นแผ่นที่คาดว่าเกิดจากการมีโคโคซานผสมอยู่ในขณะสร้างเซลลูโลส ทำให้ลักษณะเส้นใยบางส่วนเกิดติดกันเป็นแผ่นที่บวมมากขึ้นมากกว่าที่จะอยู่ในลักษณะเป็นเส้นใยเดี่ยวๆ

4.5 การศึกษาการผลิตกระดาษโดยการนำแบคทีเรียเซลลูโลสเลี้ยงร่วมกับโคโคซาน

ในการศึกษาการผลิตกระดาษนี้ เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ร่วมกับสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 0.0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายโคโคซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ เลี้ยงในสภาพนิ่งที่อุณหภูมิห้องนาน 10 วัน จนได้เป็นแผ่นเซลลูโลสจากนั้นนำมาศึกษาวิธีการผลิตกระดาษ โดยแบ่งการศึกษาวิธีการผลิตกระดาษเป็นสองช่วง ในช่วงแรกเป็นการเปรียบเทียบวิธีการผลิตกระดาษ 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 (หัวข้อ 3.5.4.4.1) และ วิธีที่ 2 (หัวข้อ 3.5.4.4.2) นำกระดาษที่ได้มาเปรียบเทียบกับแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คัดเลือกวิธีการผลิตกระดาษและความเข้มข้นของไคโตซานที่ให้สมบัติเชิงกลที่ดีที่สุด จากนั้นนำมาทำการทดลองในช่วงที่ 2 โดยนำวิธีผลิตกระดาษที่คัดเลือกได้จากช่วงแรกมาทำการดัดแปลง เป็นวิธีที่ 3 (หัวข้อ 3.5.4.4.3) และวิธีที่ 4 (หัวข้อ 3.5.4.4.4) จากนั้นนำกระดาษที่ได้มาเปรียบเทียบสมบัติเชิงกล

4.5.1 ผลการเปรียบเทียบวิธีการผลิตกระดาษจากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2

เลี้ยง *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของ ความเข้มข้นสารละลายไคโตซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์เลี้ยงในสภาพหนึ่งที่อุณหภูมิห้องนาน 10 วัน จากนั้นนำเซลล์โกลด์ที่ได้มาผลิตกระดาษโดยใช้วิธีการผลิตกระดาษ 2 วิธีดังนี้ วิธีที่ 1 ของ Ochaikul (2547) และวิธีที่ 2 ของนิโลบล (2545) นำกระดาษที่ได้จากทั้งสองวิธีมาวัดความหนาของกระดาษตัวอย่างก่อนนำไปศึกษาสมบัติเชิงกล แสดงดังตารางที่ 4.4 พบว่าความหนาของชิ้นกระดาษตัวอย่างที่นำมาศึกษามีค่าใกล้เคียงกัน จึงสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบสมบัติต่างๆของกระดาษได้

ตารางที่ 4.4 ค่าความหนาเฉลี่ยของกระดาษจากการผลิตวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 เมื่อผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าความหนาเฉลี่ยของกระดาษ (มิลลิเมตร)	
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 2
0	0.068 ± 0.007	0.077 ± 0.013
0.1	0.053 ± 0.006	0.057 ± 0.010
0.2	0.077 ± 0.006	0.090 ± 0.018
0.4	0.068 ± 0.004	0.066 ± 0.007
0.6	0.071 ± 0.006	0.081 ± 0.007
0.8	0.068 ± 0.005	0.072 ± 0.025
1.0	0.064 ± 0.006	0.088 ± 0.009

4.5.1.1 ค่าความแข็งแรงดึง

จากการผลิตกระดาษ โดยวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 พบว่ากระดาษที่ผลิตได้จากวิธีที่ 1 ที่ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุด 112.61 เมกกะพาสคาล ขณะที่กระดาษที่ผลิตได้จากวิธีที่ 2 ที่ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุด 68.26 เมกกะพาสคาล เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของสารละลายไคโตซาน กระดาษที่ผลิตได้จากทั้งสองวิธีมีค่าความแข็งแรงดึงลดลง (ตารางที่ 4.5)

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า เมื่อพิจารณาค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผลิตได้จากวิธีที่ 1 จะมีค่าสูงกว่ากระดาษที่ผลิตได้จากวิธีที่ 2 และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อพิจารณาความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่ผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว พบว่า จากการผลิตกระดาษทั้งสองวิธี การใช้ความเข้มข้นสารละลายไคโตซาน 0.2 เปอร์เซ็นต์ จะมีความแข็งแรงดึงสูงกว่าการใช้ความเข้มข้นอื่น และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์กับการใช้ความเข้มข้นอื่น รวมทั้งกระดาษที่เป็นชุดควบคุมซึ่งไม่ได้เติมสารละลายไคโตซาน

การที่ค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ได้จากการผลิตกระดาษทั้งสองวิธีแตกต่างกัน อาจเนื่องจากการผลิตกระดาษในวิธีที่ 2 นั้นใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 5 เปอร์เซ็นต์ (โดยเมื่อเปรียบเทียบกับวิธีที่ 1 ที่ใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 1.5 เปอร์เซ็นต์) เป็นความเข้มข้นที่สูงเกินไป เนื่องจากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ สามารถแตกตัวเป็นหมู่ไฮดรอกซิลอิสระ (hydroxyl radical) โดยจะเข้าไปทำลายพันธะ β -(1,4) glycosidic (ดังรูปที่ 4.12) ภายในเส้นใยเซลลูโลส (Guay และคณะ. 2002) ทำให้เส้นใยเซลลูโลสในกระดาษสั้นลงและส่งผลให้ความสามารถในการรับแรงกระทำน้อยลง

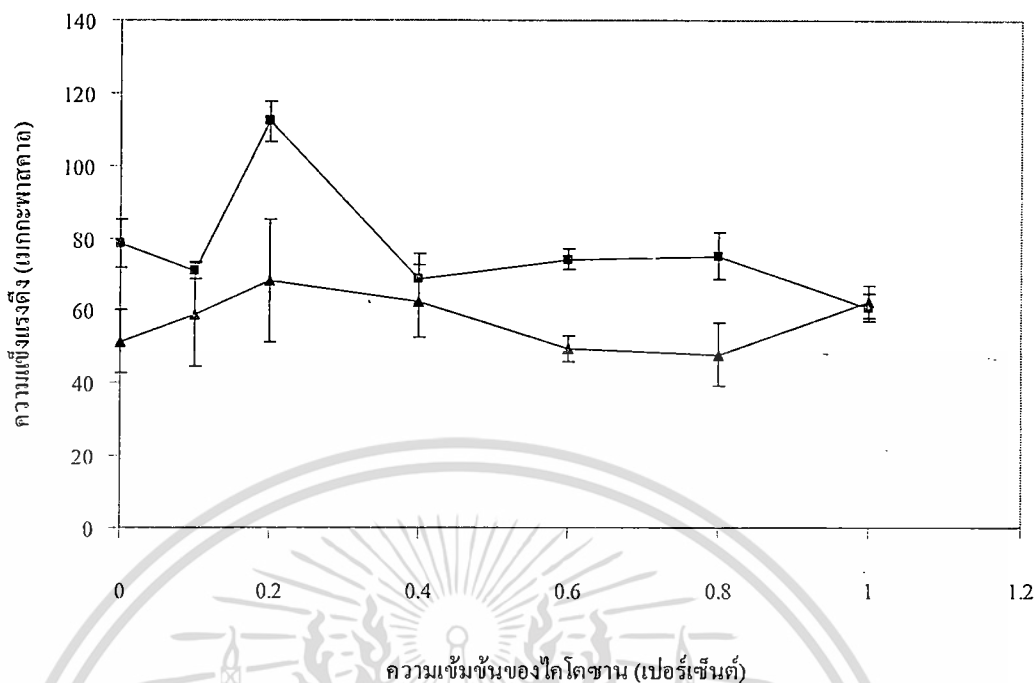
เมื่อเปรียบเทียบกับกระดาษที่ไม่มีการผสมไคโตซานในการเลี้ยงเชื้อ (ชุดควบคุม) ที่ผลิตจากวิธีที่ 1 ซึ่งมีค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษเท่ากับ 78.34 เมกกะพาสคาล พบว่าค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 ที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 0.2 เปอร์เซ็นต์ ให้ค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่ากระดาษซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม 30 เปอร์เซ็นต์ อาจเนื่องมาจากสารละลายไคโตซานที่เติมลงไป ในปริมาณที่เหมาะสมคือที่ความเข้มข้นของไคโตซาน 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถเพิ่มค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษได้

ตารางที่ 4.5 การเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 เมื่อผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

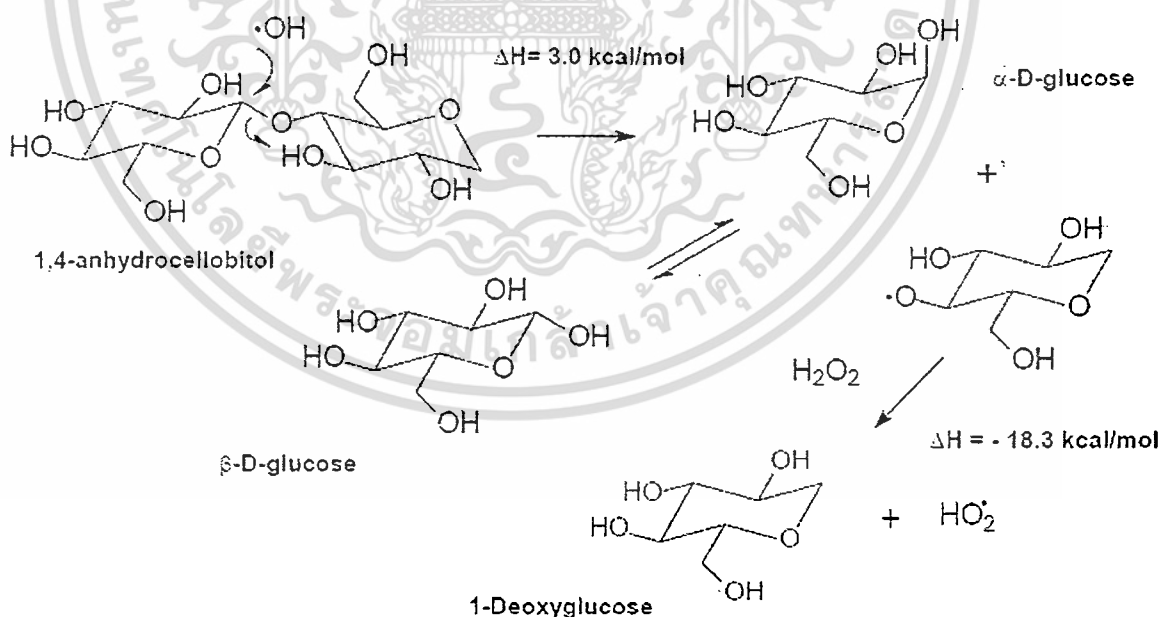
ความเข้มข้นของ ไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าความแข็งแรงดึง (เมกกะพาสกาล)	
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 2
0	78.34 ^b	51.32 ^{gh}
0.1	70.98 ^{bcd}	58.73 ^{fg}
0.2	112.16 ^a	68.26 ^{cdc}
0.4	68.80 ^{cdc}	62.62 ^{dcf}
0.6	69.68 ^{bcde}	50.00 ^h
0.8	75.16 ^{bc}	47.83 ^h
1.0	60.84 ^{cf}	62.39 ^{dcf}

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ อักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ทั้งนี้ปัจจัยที่มีผลต่อความแข็งแรงของกระดาษนั้น ต้องคำนึงถึงความต่อเนื่องของเส้นใยซึ่งเป็นส่วนที่ส่งผ่านและรับแรงกระทำของกระดาษ ซึ่งถ้าเส้นใยมีความต่อเนื่องเป็นเส้นใยยาวต่อเนื่องไปโดยไม่มีสิ่งที่มาขัดขวางก็จะทำให้กระดาษมีความแข็งแรงขึ้น การผสมไคโตซานลงไปสามารถเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษ โดยที่ความสามารถในการรับแรงยังคงมีอยู่อย่างต่อเนื่อง นั่นคือมีความต่อเนื่องของเส้นใย ปริมาณของไคโตซานมีผลต่อความต่อเนื่องของเส้นใย โดยพบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณไคโตซาน โครงสร้างที่มีลักษณะเป็นแผ่นเรียบจะเพิ่มขึ้น ทำให้เส้นใยขาดความต่อเนื่องจึงส่งผ่านแรงกระทำจากภายนอกได้ไม่ดี ส่งผลให้ความแข็งแรงของกระดาษลดลงได้ (รูปที่ 4.9 และ รูปที่ 4.10)



รูปที่ 4.11 การเปรียบเทียบค่าความเข้มแรงดึงของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 เมื่อผสมสารละลายโคโคซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

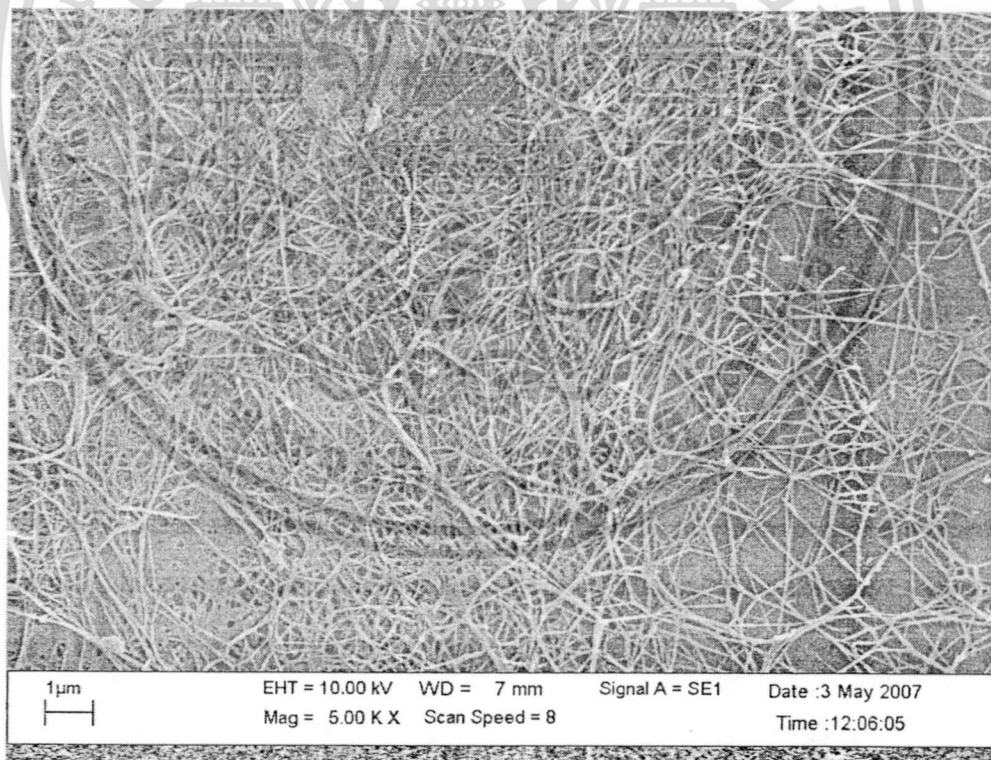


รูปที่ 4.12 กลไกการเกิดปฏิกิริยาระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลอิสระจากสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ และพันธะ glycosidic ของเส้นใย

ที่มา : Guay และคณะ (2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากปัจจัยที่มีต่อความแข็งแรงของกระดาษทั้งในเรื่องความต่อเนื่องในการรับแรงของเส้นใยดังกล่าว แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเป็นสิ่งสำคัญ โดยที่การผสมสารละลายไคโตซาน 0.2 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้นสารละลายไคโตซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ไคโตซานที่ผสมลงไปจะไปเสริมความแข็งแรงของกระดาษ ขณะเดียวกันไคโตซานไปขัดขวางความต่อเนื่องของเส้นใยเซลลูโลสแบบเดี่ยวในกระดาษด้วย แต่ด้วยความเข้มข้นของไคโตซานที่น้อยจึงทำให้เกิดการขัดขวางการต่อเนื่องของเส้นใยเดี่ยวไม่มากนัก ผลที่ได้จึงทำให้ค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผสมของสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าสูงขึ้น แต่เมื่อผสมไคโตซานที่ความเข้มข้นสูงขึ้น (ดังรูปที่ 4.11) พบว่าไคโตซานไปขัดขวางความต่อเนื่องของเส้นใยเซลลูโลสมากขึ้น จะส่งผลต่อความแข็งแรงของกระดาษมากกว่าความแข็งแรงของพันธะไฮโดรเจนที่มาจากไคโตซาน จึงทำให้ค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผสมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.4 - 1 เปอร์เซ็นต์ของความเข้มข้นสารละลายไคโตซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์มีค่าน้อยกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับกระดาษที่ผสมของสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งจากรูปที่ 4.13 จะเห็นว่ากระดาษที่ได้จากวิธีที่ 1 ที่ผสมไคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ยังคงมีความต่อเนื่องของเส้นใยอยู่สูง จึงทำให้กระดาษมีความแข็งแรง



รูปที่ 4.13 ภาพจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนชนิดส่องกราดแสดงพื้นผิวที่แตกหักของกระดาษเซลลูโลสที่ผสมไคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ซึ่งผลิตโดยวิธีที่ 1 ที่กำลังขยาย 5000 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.1.2 ค่ามอดุลัสของยัง

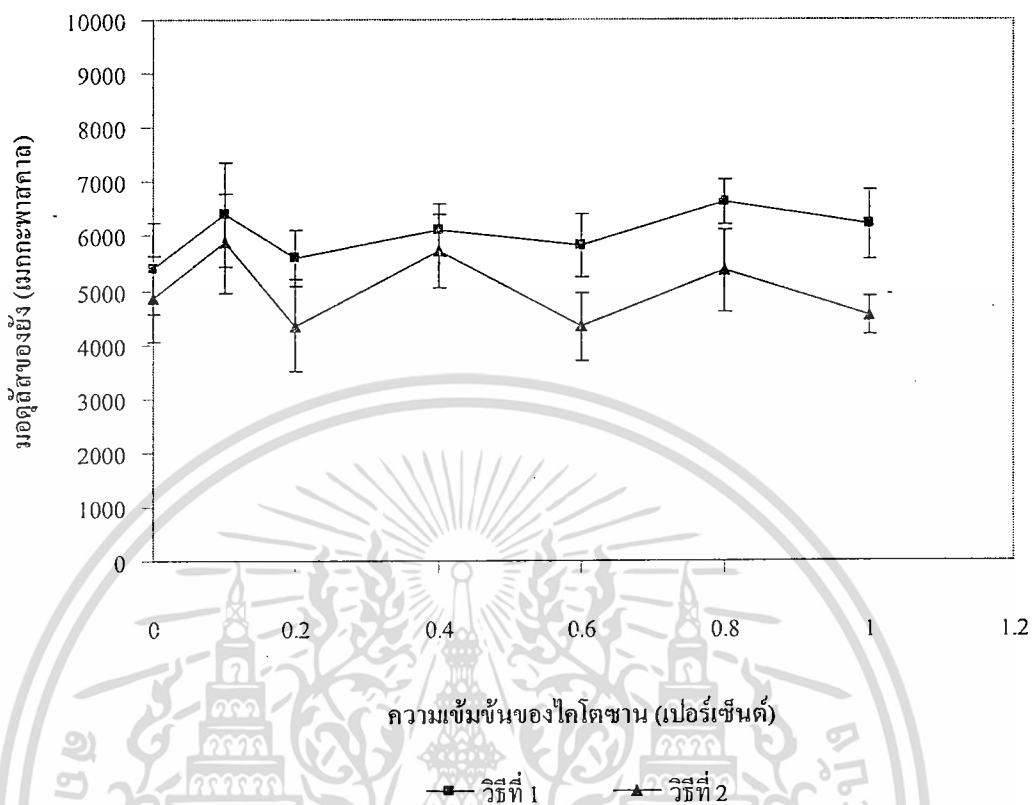
จากการเปรียบเทียบค่ามอดุลัสของยัง ที่ผลิตจากวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 พบว่ากระดาศที่ผลิตจากวิธีที่ 1 มีค่ามอดุลัสของยัง สูงกว่ากระดาศที่ผลิตจากวิธีที่ 2 และมีแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 4.6) เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้ความเข้มข้นของไคโตซานต่างกันไม่มีผลทำให้ค่ามอดุลัสของยังของกระดาศที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.6 การเปรียบเทียบค่ามอดุลัสของยังของกระดาศที่ผลิตจากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 เมื่อผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่ามอดุลัสของยัง (เมกกะพาสกาล)	
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 2
0	5409.86 ^{cd}	4841.35 ^{dc}
0.1	6395.00 ^{ab}	5869.53 ^{abc}
0.2	5590.97 ^{bcd}	4351.59 ^c
0.4	6110.53 ^{abc}	5719.34 ^{abc}
0.6	5819.79 ^{abc}	4333.47 ^c
0.8	6626.25 ^a	5362.23 ^{cd}
1.0	6199.21 ^{abc}	4537.88 ^c

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ อักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์

ในการวัดค่ามอดุลัสของยังเป็นการวัดแรงกระทำที่ทำให้กระดาศเริ่มเกิดการเปลี่ยนแปลงรูปร่างโดยที่ยังไม่ไปทำลายโครงสร้างหลักของเส้นใยกระดาศ ซึ่งจากผลที่ได้พบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของไคโตซานต่างกัน ค่ามอดุลัสของยังของกระดาศที่ได้มีค่าใกล้เคียงกัน อาจจะเป็นเพราะค่ามอดุลัสของยังของแผ่นไคโตซานมีค่า 3738 เมกกะพาสกาล (ภาคผนวก ค) ซึ่งมีค่าน้อยกว่าค่ามอดุลัสของยังของกระดาศที่ไม่มีการผสมไคโตซาน (ชุดควบคุม) และความเข้มข้นของไคโตซานที่เติมไม่เกิน 1 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ซึ่งเป็นปริมาณที่ต่ำและคาดว่ายังไม่ส่งผลต่อการรับแรงในช่วงเริ่มต้น ทำให้ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเส้นใยเซลลูโลสไม่เปลี่ยนแปลงเหมือนที่แสดงในรูปของความแข็งแรงดึง



รูปที่ 4.14 การเปรียบเทียบค่ามอดูลัสของยังของกระดากที่ผลิตจากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 เมื่อผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

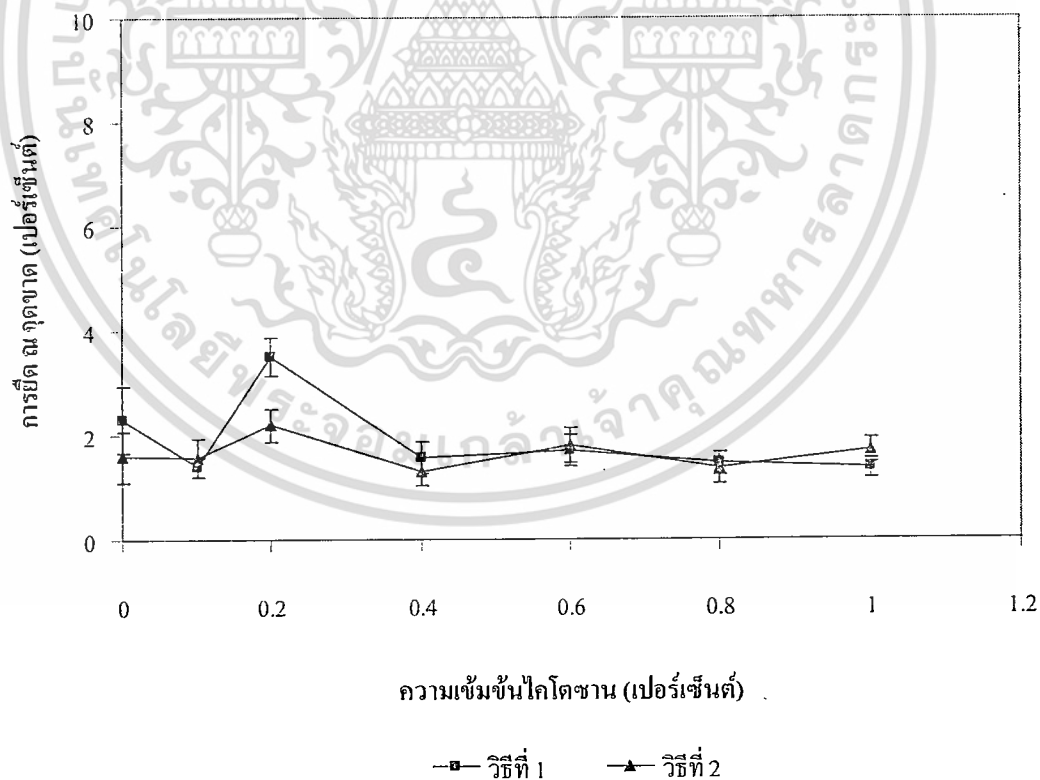
4.5.1.3 ค่าการยืด ณ จุดขาด

จากการเปรียบเทียบค่าการยืด ณ จุดขาด ของกระดากที่ผลิตได้จากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 พบว่าไม่มีความแตกต่างกัน (ดังตารางที่ 4.7) ทั้งนี้ปริมาณไคโตซานในช่วง 0.1 - 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ไม่สามารถเพิ่มความยืดหยุ่นของกระดากได้ เพราะความสามารถในการเคลื่อนที่ของสายโซ่ไม่เปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบค่าการยี้ด ณ จุดขาดของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 เมื่อผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าการยี้ด ณ จุดขาด (เปอร์เซ็นต์)	
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 2
0	2.30 ^b	1.59 ^{dc}
0.1	1.39 ^{dc}	1.57 ^{dc}
0.2	3.51 ^a	2.19 ^{bc}
0.4	1.56 ^{dc}	1.29 ^c
0.6	1.71 ^{dc}	1.80 ^{cd}
0.8	1.46 ^{dc}	1.37 ^{dc}
1.0	1.36 ^{dc}	1.70 ^{dc}

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ อักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.15 การเปรียบเทียบค่าการยี้ด ณ จุดขาดของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 เมื่อผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลการศึกษาที่ได้พบว่ากระดาศที่มีการผสม ไคโตซานในการเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ผลิตรกระดาศด้วยวิธีที่ 1 ให้ค่าความแข็งแรงดิ่งสูงสุด จึงคัดเลือกการใช้สารละลาย ไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ผสมในอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นนำเซลล์ูโลสที่ได้มาผลิต กระดาศโดยวิธีการที่ 1 และนำกระดาศที่ได้มาศึกษาในขั้นตอนต่อไป

4.5.2 ผลการเปรียบเทียบผลการผลิตกระดาศ วิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4

จากการคัดเลือกวิธีการผลิตกระดาศในหัวข้อ 4.5.1 พบว่า การผลิตกระดาศโดยวิธีที่ 1 และใช้ สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้กระดาศที่ได้มีค่าความแข็งแรงดิ่งสูง กว่ากระดาศที่ผลิตได้จากวิธีที่ 2 จึงนำวิธีการผลิตกระดาศจากวิธีที่ 1 มาศึกษาต่อ โดยเปรียบเทียบ กับวิธีที่ 3 และวิธีที่ 4 ซึ่งวิธีที่ 3 และวิธีที่ 4 จะต่างกับวิธีที่ 1 ในขั้นตอนการฟอกสี โดยวิธีที่ 1 ฟอก สีโดยต้มในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที แต่ในวิธีที่ 3 จะฟอกสี โดยแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ นาน 30 นาที สำหรับวิธีที่ 4 ฟอกสี โดยแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ และปรับพีเอชของสารละลายให้ได้ 10 – 11 โดยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ เท่านั้น 30 นาที หลังจากนั้นขั้นตอนการผลิต กระดาศทั้งสามวิธีจะเหมือนกันหมด จนได้เป็นกระดาศออกมานำกระดาศที่ได้จากทั้งสามวิธีมา ศึกษาสมบัติเชิงกลต่อไป เมื่อวัดความหนาของกระดาศตัวอย่างก่อนนำไปศึกษาสมบัติเชิงกลได้ค่า ความหนาเฉลี่ย แสดงค่าดังตารางที่ 4.8 พบว่าความหนาของชั้นกระดาศตัวอย่างที่นำมาศึกษามีค่า ใกล้เคียงกัน จึงสามารถนำมาใช้เปรียบเทียบสมบัติต่างๆของกระดาศได้

ตารางที่ 4.8 ค่าความหนาเฉลี่ยของกระดาศจากการที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 เมื่อผสม สารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆ ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของ ไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าความหนาเฉลี่ยของกระดาศ (มิลลิเมตร)		
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 3	วิธีที่ 4
0	0.068 ± 0.007	0.075 ± 0.006	0.081 ± 0.012
0.2	0.077 ± 0.006	0.070 ± 0.006	0.085 ± 0.010

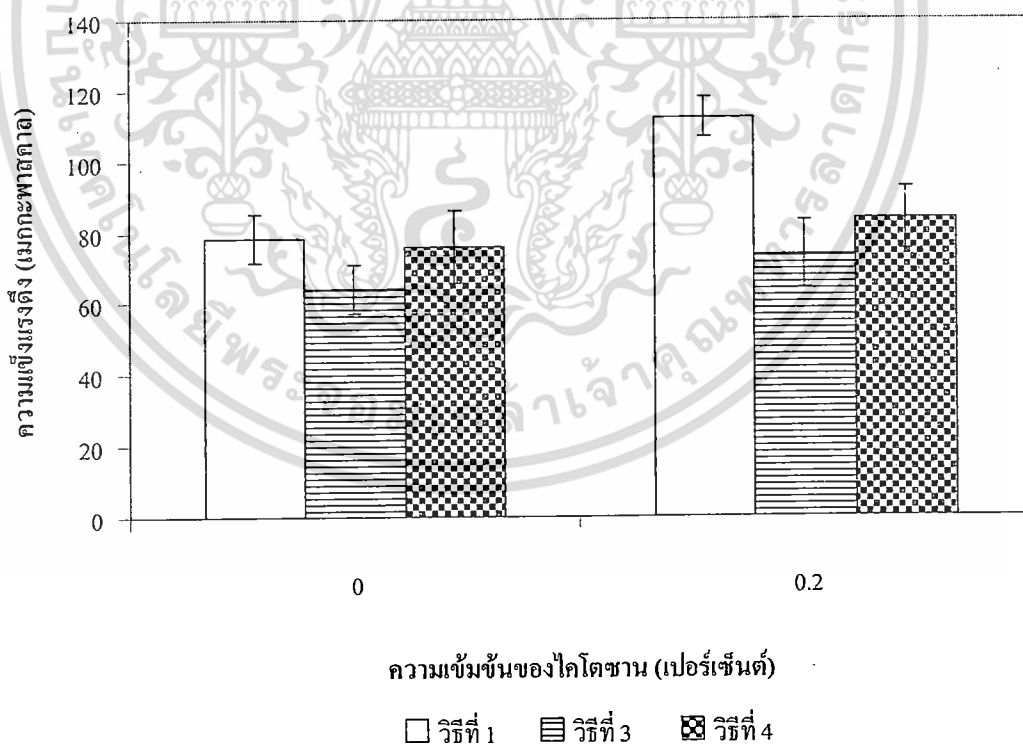
4.5.2.1 ค่าความแข็งแรงดึง

เมื่อจากการทดลองพบว่า กระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 จะให้ค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่า กระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 และจากการเปรียบเทียบกระดาษที่มีการผสมสารละลายไคโตซานในการเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ พบว่า กระดาษที่ได้จากวิธีที่ 1 จะมีค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่าวิธีที่ 3 35 เปอร์เซ็นต์ และสูงกว่าวิธีที่ 4 26 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 4.9)

ตารางที่ 4.9 การเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 และผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าความแข็งแรงดึง (เมกกะพาสกาล)		
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 3	วิธีที่ 4
0	78.34 ^{bc}	64.21 ^d	75.92 ^c
0.2	112.16 ^a	73.55 ^c	83.68 ^b

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ อักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.16 การเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 และผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองในหัวข้อนี้แสดงให้เห็นว่าวิธีผลิตกระดาษวิธีที่ 1 มีขั้นตอนในการฟอกสีกระดาษโดยต้มในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 30 นาที มีการใช้ความร้อนช่วยในการฟอกสีกระดาษให้ขาวขึ้น ซึ่งกระดาษที่ได้จากวิธีนี้มีความแข็งแรงมากกว่ากระดาษที่ได้จากวิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 ซึ่งไม่ได้ใช้ความร้อนช่วยในการฟอกสี จึงมีความเป็นไปได้ว่าการใช้ความร้อน โดยการต้มช่วยในการกำจัดสิ่งตกค้างอื่นๆบนแผ่นเซลลูโลส เช่น โปรตีน และตัวเซลล์จุลินทรีย์ที่ยังเหลือค้างอยู่ระหว่างเส้นใยเซลลูโลส ซึ่งเป็นการช่วยกำจัดสิ่งกีดขวางการเกิดพันธะไฮโดรเจนระหว่างเส้นใย ทำให้เส้นใยมีความบริสุทธิ์มากขึ้น

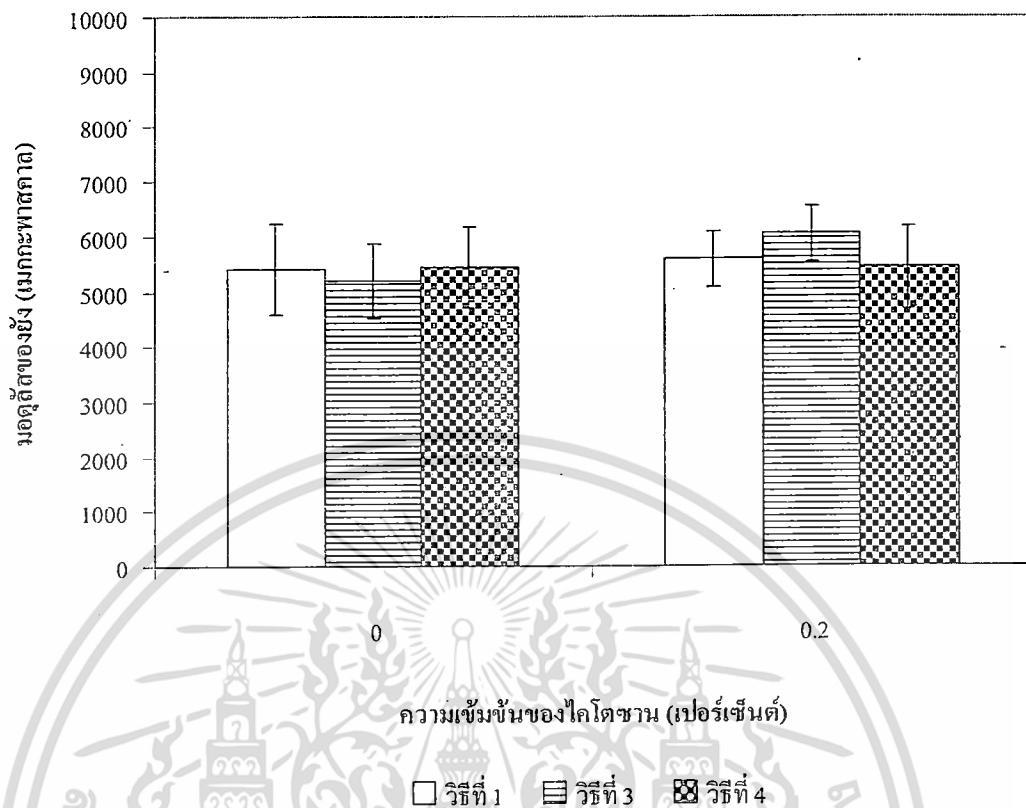
4.5.2.2 ค่ามอดุลัสของยัง

จากการเปรียบเทียบค่ามอดุลัสของยังของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 พบว่า ค่ามอดุลัสของยังของกระดาษที่ผลิตได้จากทั้งสามวิธีมีค่าใกล้เคียงกัน และไม่มี ความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ (ดังตารางที่ 4.10) แสดงว่า ความสามารถในการเปลี่ยนแปลงรูปร่างของเส้นใยเซลลูโลสไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง ดังที่กล่าว มาแล้วในหัวข้อ 4.5.1.2

ตารางที่ 4.10 การเปรียบเทียบค่ามอดุลัสของยังของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 และผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของ ไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่ามอดุลัสของยัง (เมกะพาสคาล)		
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 3	วิธีที่ 4
0	5409.36 ^{ab}	5196.27 ^{ab}	5450.29 ^{ab}
0.2	5590.97 ^{ab}	6041.57 ^a	5431.34 ^{ab}

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ อักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.17 การเปรียบเทียบค่ามอดุลีของยังของกระดาศที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 และผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

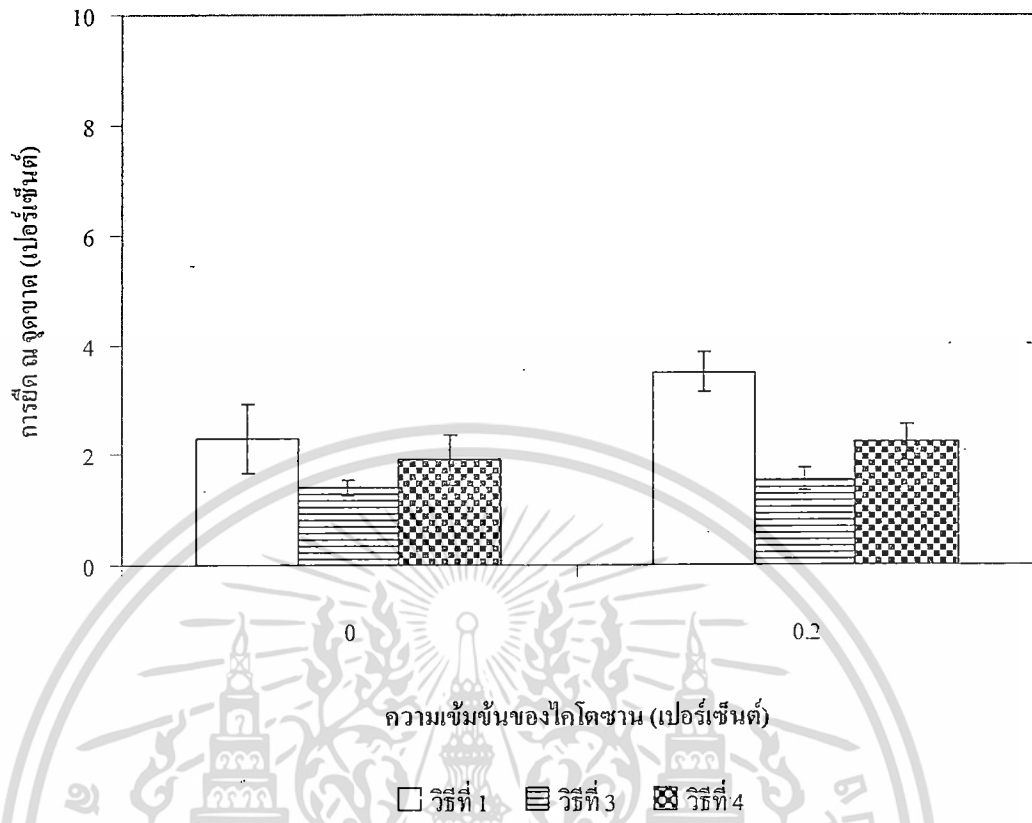
4.5.2.3 ค่าการยี้ด ณ จุดขาด

จากการเปรียบเทียบค่าการยี้ด ณ จุดขาด ของกระดาศที่ผลิตได้จากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 พบว่า ในการประยุกต์ใช้แล้วไม่มีความแตกต่างกันเลย แสดงให้เห็นว่าความสามารถในการเคลื่อนที่ของสายโซ่ของเส้นใยเซลลูโลสไม่เปลี่ยนแปลง

ตารางที่ 4.11 การเปรียบเทียบค่าการยี้ด ณ จุดขาดของกระดาศที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 และผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของไคโตซาน(เปอร์เซ็นต์)	ค่าการยี้ด ณ จุดขาด (เปอร์เซ็นต์)		
	วิธีที่ 1	วิธีที่ 3	วิธีที่ 4
0	2.30 ^b	1.41 ^d	1.91 ^{bc}
0.2	3.51 ^a	1.56 ^{cd}	2.22 ^b

ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 10 ซ้ำ อักษรต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.18 การเปรียบเทียบค่าการยึด ผน จูดยาคของกระดาศที่ผลิตจากวิธีที่ 1 วิธีที่ 3 และ วิธีที่ 4 และผสมสารละลายไอโอดีนความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

จากผลการศึกษาวิธีการผลิตกระดาศพบว่ากระดาศที่มีการผสมไอโอดีนในการเลี้ยงเชื้อที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ผลิตกระดาศด้วยวิธีที่ 1 ให้ค่าความแข็งแรงถึงสูงสุด จึงคัดเลือกการใช้ไอโอดีนที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ มาผลิตกระดาศโดยวิธีการที่ 1 มาศึกษาในขั้นต่อไป

4.6 ศึกษาความสามารถในการดูดซึมน้ำของกระดาศที่ผลิตได้

เมื่อทำการทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำของกระดาศโดยใช้ Cobb sizing tester ตามมาตรฐาน ISO 535 พบว่า กระดาศจากแบคทีเรียเชลลูโลสผสมไอโอดีนที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ สามารถต้านทานการซึมของน้ำได้นานกว่ากระดาศจากแบคทีเรียเชลลูโลสที่ไม่ได้เติมสารละลายไอโอดีนซึ่งเป็นชุดควบคุม โดยสามารถต้านทานการซึมของน้ำได้นาน 120 วินาที และมีค่าการดูดซึมน้ำเท่ากับ 45.52 กรัมต่อตารางเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกระดาศจากแบคทีเรีย

เซลลูโลส ซึ่งต้านทานการซึมของน้ำได้เพียง 30 วินาที และมีค่าการดูดซึมน้ำเท่ากับ 23.08 กรัมต่อตารางเมตร ดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ผลการเปรียบเทียบความสามารถในการดูดซึมน้ำของกระดาษ

ชนิดของกระดาษ	การดูดซึมน้ำ (กรัมต่อตารางเมตร)	
	ที่ 30 วินาที	ที่ 120 วินาที
กระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส	23.08	กระดาษขาด
กระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสผสมไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์	-	45.52

จากการผลการทดลองพบว่า การเติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีผลทำให้ความสามารถในการดูดซึมน้ำ และการต้านทานต่อการซึมของน้ำเพิ่มขึ้น อาจเป็นเพราะว่าไคโตซานที่ผสมอยู่ในขณะที่สร้างเซลลูโลส ทำให้ลักษณะเส้นใยบางส่วนเกิดติดกันเป็นแผ่นที่บีบมากขึ้นทำให้ช่องว่างในโครงสร้างของกระดาษน้อยลง น้ำจึงซึมเข้าไปในกระดาษได้ยากขึ้น จึงทำให้กระดาษสามารถทนการซึมของน้ำโดยที่ยังไม่เกิดความเสียหายได้นานขึ้น และเนื่องจากกระดาษสามารถทนการซึมของน้ำได้นานทำให้สามารถดูดซึมน้ำได้มากขึ้นตามไปด้วย

4.7 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำของกระดาษที่ผลิตได้

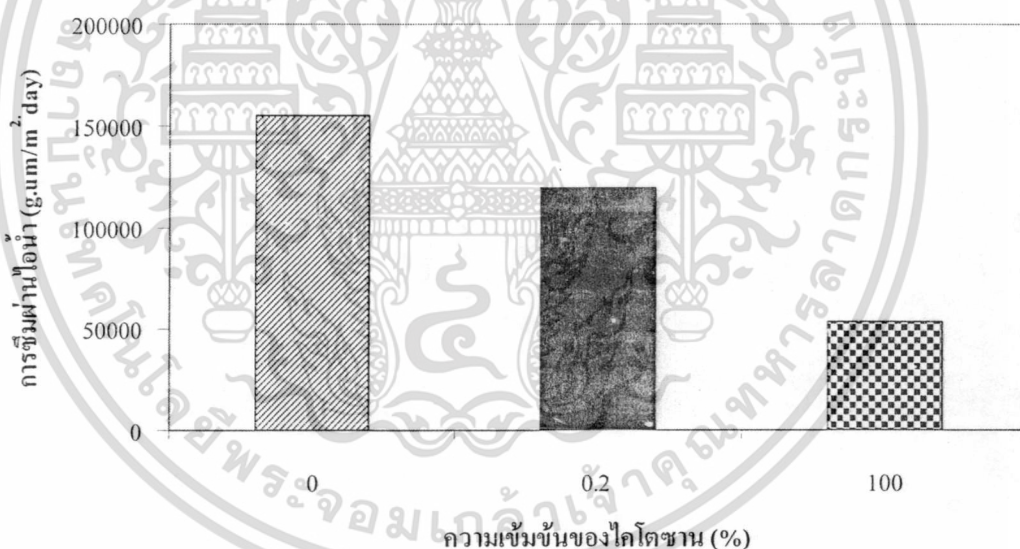
จากการศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability) โดยใช้เครื่อง water vapor permeation tester ; Lyssy L800 – 400 ตามมาตรฐาน ISO 15106-1 ทำการวัดค่าอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor transmission rate) ดังที่แสดงในตารางที่ 4.13

เนื่องจากกระดาษตัวอย่างมีความหนาที่แตกต่างกัน จึงคำนวณหาค่าการซึมผ่านของไอน้ำ โดยนำค่าความหนาของกระดาษตัวอย่างมาใช้ในการคำนวณด้วย (ดังตารางที่ 4.13) ซึ่งจากผลการทดลองพบว่า การซึมผ่านของไอน้ำของกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสผสมไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 119,490 กรัม.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งน้อยกว่าค่าการซึมผ่านของไอน้ำของกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีค่า 154,886 กรัม.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ดังในรูปที่ 4.16 ซึ่งแสดงว่าการเติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ ลงไปในการผลิตเซลลูโลสนั้น มีผลทำให้การซึมผ่านของไอน้ำลดลง 23 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.13 ผลการเปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำของกระดาษ

ชนิดของกระดาษ	อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (กรัม ต่อตารางเมตรต่อวัน)	ความหนา (ไมโครเมตร)	การซึมผ่านของไอน้ำ (กรัม. ไมโครเมตร ต่อ ตารางเมตรต่อวัน)*
กระดาษจากแบคทีเรีย เซลลูโลส	1,801	86	154,886
กระดาษจากแบคทีเรีย เซลลูโลสผสมไคโตซานที่ ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์	1,707	70	119,490
แผ่นฟิล์มไคโตซาน	1,184	45	53,280

*ค่าการซึมผ่านของไอน้ำ = อัตราการซึมผ่านของไอน้ำ x ความหนา



รูปที่ 4.19 การเปรียบเทียบค่าการซึมผ่านของไอน้ำของกระดาษ

เนื่องจากไคโตซานที่ผสมอยู่ในขณะสร้างเซลลูโลส ทำให้ลักษณะเส้นใยบางส่วนเกิดเป็นแผ่นที่บวมมากขึ้นส่วนของเส้นใยที่มีลักษณะเป็นเส้นใยเดี่ยวๆจึงมีน้อยลง (ดังรูปที่ 4.9) ทำให้โครงสร้างโดยรวมของกระดาษจากเดิมที่เป็นช่องว่างกระจายอยู่ทั่วไปถูกปิดทับส่วนของเส้นใยที่เป็นแผ่นที่บวมนี้ช่องว่างในโครงสร้างของกระดาษจึงลดลง ทำให้ไอน้ำสามารถซึมผ่านได้น้อยลง ส่งผลให้ความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของไอน้ำดีขึ้นตามไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดาษที่ผลิตได้

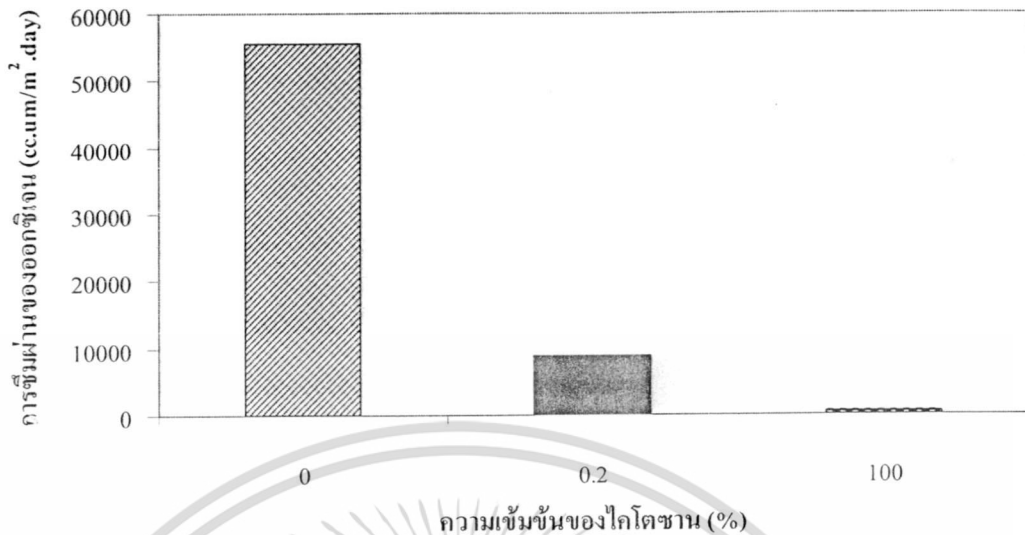
จากการศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (oxygen gas permeability) ของกระดาษ โดยใช้เครื่อง oxygen permeation tester; Illinois 8000 ตามมาตรฐาน ASTM D3985-02 ซึ่งทำการวัดค่าอัตราการซึมผ่านของออกซิเจน (oxygen gas transmission rate) ดังแสดงในตารางที่ 4.14

เนื่องจากกระดาษตัวอย่างแต่ละชนิด มีความหนาที่แตกต่างกัน จึงทำการคำนวณหาค่า การซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน จากค่าที่ได้พบว่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสผสมไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 8,785 ลูกบาศก์เซนติเมตร.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสที่มีค่าถึง 55,685 ลูกบาศก์เซนติเมตร.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ดังในรูปที่ 4.20 ซึ่งแสดงว่าการเติมสารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ลงไปในการผลิตเซลลูโลสนั้น มีผลทำให้การซึมผ่านของออกซิเจนลดลงถึง 84 เปอร์เซ็นต์

ตารางที่ 4.14 การเปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดาษ

ชนิดของกระดาษ ตัวอย่าง	อัตราการซึมผ่านของ ออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตร ต่อตาราง เมตรต่อวัน)	ความหนา (ไมโครเมตร)	การซึมผ่านของออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตร. ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อ วัน)*
กระดาษจากแบคทีเรีย เซลลูโลส	647	86	55,685
กระดาษจากแบคทีเรีย เซลลูโลสผสมไคโต ซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์	126	70	8,785
แผ่นฟิล์มไคโตซาน	11.4	45	513

*ค่าการซึมผ่านของออกซิเจน = อัตราการซึมผ่านของออกซิเจน x ความหนา



รูปที่ 4.20 การเปรียบเทียบค่าการซึมผ่านของออกซิเจนของกระดวย

จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การผสมโคโตซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ในการผลิตกระดวยนั้น ช่วยลดการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนลงได้อย่างมาก เป็นเพราะว่าโคโตซานที่ผสมอยู่ในขณะสร้างเซลล์โลส ทำให้ลักษณะเส้นใยบางส่วนเกิดเป็นแผ่นทึบ ช่องว่างระหว่างเส้นใยเดี่ยวๆของเซลล์โลสจึงมีน้อยลง ทำให้โครงสร้างโดยรวมของกระดวยที่บวมขึ้น (ดังรูปที่ 4.9) ประกอบกับสมบัติของตัวโคโตซานเองที่มีค่าการซึมผ่านของออกซิเจนต่ำมากอยู่แล้ว (ดังตารางที่ 4.14) จึงทำให้ค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดวยลดลงมาก ส่งผลให้ความสามารถในการป้องกันการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนดีขึ้น

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว พบว่า ในวันที่ 10 จะให้ปริมาณ น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส 9.64 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นอัตราการเพิ่มจะลดลงและคงที่ในที่สุด จึงเลือกระยะเวลาการเลี้ยงเชื้อ 10 วันมาใช้ศึกษาต่อ จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวพร้อมทั้งเติมสารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้น 0 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายโคโคซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ เพื่อศึกษาความเข้มข้นของสารละลายโคโคซานที่เติมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวพบว่า การเติมสารละลายโคโคซานช่วงความเข้มข้น 10 ถึง 30 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ให้น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสน้อย ในการศึกษาต่อไปจึงใช้สารละลายโคโคซานความเข้มข้นช่วง 0 ถึง 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) จากนั้นเปรียบเทียบสูตรอาหาร 3 สูตรอาหาร คืออาหารสูตรน้ำมะพร้าว อาหารสูตรของ Hestrin & Schramm (HS medium) และ อาหารสูตรของ Okiyama โดยในแต่ละสูตรอาหารจะทำการเติมสารละลายโคโคซานที่ความเข้มข้น 0 ถึง 5.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายโคโคซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ จากการศึกษพบว่าอาหารสูตรน้ำมะพร้าวให้น้ำหนักแห้งแผ่นเซลลูโลสสูงที่สุด ที่ความเข้มข้นของสารละลายโคโคซานในช่วง 0 0.1 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) ของความเข้มข้นสารละลายโคโคซานเริ่มต้น 2 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาผลิตเป็นกระดาษ โดยเปรียบเทียบวิธีการผลิตกระดาษ 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 และ วิธีที่ 2 นำกระดาษที่ได้มาเปรียบเทียบสมบัติเชิงกล พบว่าค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 ที่ความเข้มข้นของโคโคซาน 0.2 เปอร์เซ็นต์ มีค่าความแข็งแรงดึงสูงที่สุด 112.16 เมกกะพาสคาล ค่ามอดุลัสของยังและค่าการยืด ณ จุดขาด ของกระดาษที่ได้จากทั้งสองวิธีให้ค่าใกล้เคียงกัน จากนั้นนำวิธีผลิตกระดาษวิธีที่ 1 มาเปรียบเทียบกับวิธีที่ 3 และวิธีที่ 4 นำกระดาษที่ได้มาศึกษาสมบัติเชิงกล จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า กระดาษที่ผลิตจากวิธีที่ 1 มีค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่าวิธีที่ 3 35 เปอร์เซ็นต์ และสูงกว่าวิธีที่ 4 26 เปอร์เซ็นต์ แต่ค่ามอดุลัสของยังและการยืด ณ จุดขาดของกระดาษให้ค่าที่ใกล้เคียงกัน

ดังนั้นจึงใช้วิธีที่ 1 ในการผลิตกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสและผสมสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (โดยปริมาตร) มาทดสอบความสามารถในการดูดซึมน้ำของกระดาษ พบว่าสามารถต้านทานการซึมของน้ำได้นาน 120 วินาที และมีค่าการดูดซึมน้ำเท่ากับ 45.52 กรัมต่อตารางเมตร เมื่อเปรียบเทียบกับกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส ซึ่งต้านทานการซึมของน้ำได้เพียง 30 วินาที และมีค่าการดูดซึมน้ำเท่ากับ 23.08 กรัมต่อตารางเมตร สำหรับค่าการซึม

ผ่านของไอน้ำของกระดาษที่ผสมสารละลายโคโคซานความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 119,490 กรัม.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งน้อยกว่ากระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส (ชุดควบคุม) ซึ่งมีค่า 154,886 กรัม.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งลดลง 23 เปอร์เซ็นต์ และค่าการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสผสมโคโคซานที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์มีค่าเท่ากับ 8,785 ลูกบาศก์เซนติเมตร.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งลดลงอย่างมากเมื่อเทียบกับกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส (ชุดควบคุม) ซึ่งมีค่า 55,685 ลูกบาศก์เซนติเมตร.ไมโครเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน โดยลดลงถึง 84 เปอร์เซ็นต์

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาการเติมสารบางชนิดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อเพิ่มสมบัติให้แผ่นเซลลูโลสมียืดหยุ่นมากขึ้น ง่ายต่อการขึ้นรูป เช่น กลีเซอรอล
2. ศึกษาการประยุกต์ใช้กระดาษที่ผลิตได้ เช่น การนำไปขึ้นรูปทำเป็นบรรจุภัณฑ์อาหาร



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

- นีโลบล สุวรรณภินันท์. 2545. กระดาษ parchment ชนิดใหม่จากวุ้นมะพร้าว เอกสารประกอบการอบรมหลักสูตร “เทคนิควิธีการผลิตกระดาษด้วยวุ้นมะพร้าวและนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ต้นแบบ” 20-23 พฤษภาคม 2545.
- ทิพวัลย์ วัชรอาภากร. 2543. “การผลิตฟิล์มและสมบัติทางกายภาพของฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรียไคโตซาน.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
- Bell, A. A., Hubbard, J. C. and Liu, L. 1998. Effects of chitin and chitosan on the incidence and severity of fusarium yellows of celery. **Plant Disease**. 82(3) : 322-328.
- Brown, A.J. 1886. On an acetic ferment which from cellulose. **J. Chem. Soc.** 49 : 432-439.
- Colvin, J. R. 1977. The biosynthesis of cellulose. **CRC Crit. Rev. Macromol. Sci.** 1 : 47-81.
- Embuscado, M.E., Marks, J.S. and Miller, J.N. 1994. Bacterial cellulose. I. Factor affecting the production of cellulose by *Acetobacter xylinum*. **Food Hydrocol.** 8 : 407-418.
- Ghaouth, E. L., Arul, J. and Asselin, A. 1992 Potential use of chitosan in postharvest preservation of fruits and vegetables. pp. 440-452. In C.J. Brine (ed.) **Advances in chitin and chitosan.** England : Elsevier Science Publisher Ltd.
- Guay, D. F., Cole, B. J. W., Fort Jr., R. C., Hausman, M. C. and Genco, J. M. 2002. Mechanisms of Oxidative Degradation of Carbohydrates during Oxygen Delignification. III. Reaction of Photochemically Generated Hydroxyl Radicals with 1,5-Anhydrocellobitol and Cellulose. **2002 TAPPI Fall Conference & Trade Fair.**
- Haigler, C.H. and Chanzy, H. 1988. Electron diffraction analysis of altered cellulose synthesized by *Acetobacter xylinum* in the presence of fluorescent brightening agents and direct dyes. **J. Ultrastruct. Mol. Struct.** 98 : 299-311.
- Hestrin, S. and Schramm, M. 1954. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. II. Preparation of freeze-dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. **Biochem. J.** 58 : 345-352.
- Holt, J.C. 1994. **Bergey's manual of determinative bacteriology.** 9th ed. Baltimore : Williams & Wilkins.
- Isikawa, A., Matsuoka, M., Tsuchida, T. and Yoshinaka, F. 1995. Increase in cellulose production by sulfaguanidine-resistant mutants derived from *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermantans*. **Biosci. Biotech. Biochem.** 59 : 2259-2262.

- Johnson, D.C. 1990. **Pulp & paper**. May : 105-107.
- Jonas, L. F. and Farah, F. 1998. Production and application of microbial cellulose. **Polymer Degradat. Stabil.** 59 : 101-106.
- Kienzle, S. C., Rodriguze, S. D. and Rha, C. 1982. Dilute solution behavior of a cationic polyelectrolyte. **J. Appl. Polymer Sci.** 27 : 4467-4470.
- Kouda, T., Yano, H., Yoshinaga, F., Kaminoyama, M. and Kamiwano, M. 1996. Characterization of non-Newtonian behavior in the mixing of bacterial cellulose in a bioreactor. **J. Ferment. Bioeng.** 82 : 382-386.
- Kouda, T., Yano, H. and Yoshinaga, F. 1997. Effect of agitator configuration on bacterial cellulose productivity in aerated and agitated culture. **J. Ferment. Bioeng.** 83 : 371-376.
- Kouda, T., Yano, H., and Yoshinaga, F. and Kaminoyama, M. 2000. US Patent. 6.017.740.
- Krieg, N.R. and Holt, J.C. 1984. **Bergey's manual of systematic bacteriology**. Baltimore : Williams & Wilkins.
- Lapuz, M.M., E.G. Gallardo and M.A. Palo 1967. The nata organism-cultural requirements characteristics and identify. Philippines. **J. Science.** 96 : 91-109.
- Lertsutthiwong, P., Chandkrachang, S., Mousa M. Nazhad and Willem F. Stevens. 2002. Chitosan as a dry strength agent for paper. **Appita Journal.** 55(3): 208-212.
- Masaoka, S., Ohe, T. and Sakota, N. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. **J. Ferment. Bioeng.** 75 : 18-22.
- Matsuoka, M., Tsuchita, T., Matsushita, K., Adachi, O. and Yoshinaga, F. 1996. A synthetic medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* subsp. *Sucrofermantans*. **Biosci. Biotech. Biochem.** 60 : 575-579.
- Muzzarelli, R. A. A. 1977. **Chitin**. Oxford : Clarendon Press.
- Muzzarelli, R. A. A. 1985. **Polysaccharides**. New York : Academic press.
- Naritomi, T., Kouda, T., Yano, H. and Yoshinaga, F. 1998. Effect of lactate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. **J. Ferment Bioeng.** 85(6) : 598-603.
- Ochaikul, D., Rakchonlatee, S., Fapratanchai, T., Soisant, P. and Aramruang, S. 2004. Studied on optimal condition for paper production from bacterial cellulose *Acetobacter xylinum* TISTR 976. **Proceedings of The 1st KMITL International Conference**, Thailand.
- Oikawa, T., Morino, T. and Aneyana, M. 1995. Production of cellulose from D-Arabitol by *Acetobacter xylinum* KU-1 **Biosci. Biotech. Biochem.** 59 : 1564-1565.

- Okiyama, A., Motoki, M. and Yamanaka, S. 1992. Bacterial Cellulose. II. Processing of the gelatinous cellulose for food Material. **Food Hydrocol.** 6 : 479-489.
- Peter, T. 2000. Location and limitation of cellulose production by *Acetobacter xylinum* established from oxygen profiles. **J. Biosci. Bioeng.** 89(5) : 414-419.
- Ross, P., Mayer, R. and Benziman, M. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. **Micro. Rav.** 55 : 35-58.
- Sanchez, P.C. 1990. Nata de coco. In **Coconut as food. Phil. Coco. Res. Dev. Foundation** Publication. Philippines. 185-199.
- Schramm, M., Gromet, Z. and Hestrin, S. 1957. Synthetic of cellulose by *Acetobacter xylinum*. III. Substrates and inhibitors. **Biochem. J.** 67 : 669-679.
- Seto, A., Kojima, Y., Tonuchi, N., Tsuchida, T. and Yoshinaga, F. 1997. Screening of bacterial cellulose producing *Acetobacter* strain suitable for sucrose as a carbon source. **Biosci. Biotech. Biochem.** 61(4) : 735-736.
- Son, H-J., Heo, M-S., Kim, Y-G. and Lee, S-J. 2001. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter* sp. A9 in shaking cultures. **Biotechnol. Appl. Biochem.** 33 : 1-5.
- Tahara, N., M. Tabuchi. K. Watanabe. H. Yano. Y. Morinaga and F. Yoshinaga. 1997. Degree of polymerization of cellulose from *Acetobacter xylinum* BPR2001 decrease by the strain. **Biosci. Biotech. Biochem.** 61(11) : 1862-1865.
- Toda, K., Asakura, T., Fukaya, M., Entani, E. and Kawamura, Y. 1997. Cellulose production by acid-resistant *Acetobacter xylinum*. **J. Ferment. Bioeng.** 84 : 225-231.
- Toyosaki, H., Naritomi, T., Seto, A., Tsuchida, T. and Yoshinaga, F. 1995. Screening of bacterial cellulose-producing *Acetobacter* strains suitable for agitation culture. **Biosci. Biotech. Biochem.** 59 : 1498-1502.
- William W. Scott. and Robert E. Cannon. 1989. Alternative environmental roles for cellulose produced by *Acetobacter xylinum*. **Appl. Environ. Microbiol.** 55(10) : 2448-2452.
- Yamanaka, S., Watamabe, K. and Kitamura, N. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. **J. Mat. Sci.** 24 : 3141-3145.
- Yang, Y.K., Park, S.H., Hwang, J.W., Pyun, Y.R. and Kim Y.S. 1998. Cellulose production by *Acetobacter xylinum* BCR5 under agitated condition. **J. Ferment. Bioeng.** 85 : 312-317.

Yoshinaga, F., Tonouchi, N. and Watanabe, K. 1997. Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as a new industrial material.

Biosci. Biotech. Biochem. 59 : 219-224.

Fraunhofer Institute. “Chitosan”. [Online]. Available : www.igb.fraunhofer.de. 2005.

Professor Russ Jamison. “Chitosan”. [Online]. Available : www.mse.uiuc.edu. 2005

Wikipedia. “Hydrogen bond”. [Online]. Available : http://en.wikipedia.org/wiki/hydrogen_bond.

2007.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

น้ำตาลทราย	50 กรัม
กรดอะซีติก	10 มิลลิลิตร
แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH ₄) ₂ SO ₄)	1 กรัม
น้ำมะพร้าวแก่	1,000 มิลลิลิตร

กรองน้ำมะพร้าวแก่ด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาลทรายและแอมโมเนียมซัลเฟตผสมจนละลายเข้ากันหมด นำมาต้มให้เดือดเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้จนเย็นเติมกรดอะซีติกลงไปคนด้วยแท่งแก้วจนเข้ากัน แยกใส่ภาชนะที่ต้องการ

2. อาหารสูตรของ Hestrin and Schramm (BSH medium)

กลูโคส (glucose)	20 กรัม
สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract)	5 กรัม
เปปโตน (peptone)	5 กรัม
ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (Na ₂ HPO ₄)	2.7 กรัม
กรดซิตริก (citric acid)	1.2 มิลลิลิตร
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

3. อาหารสูตรของ Okiyama

ซูโครส (sucrose)	100 กรัม
สารสกัดจากยีสต์	5 กรัม
(NH ₄) ₂ SO ₄	5 กรัม
KH ₂ PO ₄	3 กรัม
MgSO ₄ ·7H ₂ O	0.2 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร

4. อาหาร Acetobacter agar

กลูโคส	18 กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	1 กรัม
เปปโตน	3 กรัม
กลูโคส	18 กรัม
สารสกัดจากยีสต์	2 กรัม
วุ้น	17 กรัม
น้ำกลั่น	1,000 มิลลิลิตร
สารละลาย A	5 มิลลิลิตร
สารละลาย B	5 มิลลิลิตร

สารละลาย A : ไคโรโตสเติมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) 50 กรัม โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4) 50 กรัม และน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

สารละลาย B : แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต ($MgSO_4 \cdot 7H_2O$) 1 กรัม โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) 1 กรัม เฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4$) 1 กรัม แมงกานีสซัลเฟตเตตราไฮเดรต 1 กรัม กรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น (HCl) 1 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

อาหารทุกสูตรนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที