ผลของออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่อการผลิตเซลลูโลส จากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

EFFECT OF DISSOLVED OXYGEN ON BACTERIAL CELLULOSE PRODUCTION BY *Acetobacter xylinum*

TT032896

ณัฐพล ฟ้าภิญโญ

NATHAPOL FARPINYO

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาวิทยาศาสตร์การอาหาร
บัณฑิตวิทยาลัย
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2542

ISBN 974-622-403-4

TT
2542
เลขหมู่ 32896
เลขทะเบียน
วัน, เดือน, ปี 14 ส.ค. 2542

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

EFFECT OF DISSOLVED OXYGEN ON BACTERIAL CELLULOSE PRODUCTION BY *Acetobacter xylinum*

NATHAPOL FARPINYO

THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF
MASTER OF SCIENCE IN FOOD SCIENCE
SCHOOL OF GRADUATE STUDIES
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
1999

ISBN 974-622-403-4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 1999

SCHOOL OF GRADUATE STUDIES

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	**ผลของออกซิเจนที่ละลายน้ำต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum***
นักศึกษา	**นายณัฐพล ฟ้าภิญโญ**
รหัสประจำตัว	39066005
ปริญญา	**วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต**
สาขาวิชา	**วิทยาศาสตร์การอาหาร**
พ.ศ.	2542
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	**รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง**

บทคัดย่อ

การเขย่า และ การกวน/การให้อากาศมีผลกระทบต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK เนื่องจากปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (Dissolved Oxygen, DO) ที่สูงจนเกินไป ทำให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้ลดลง ซึ่งเรียกว่าผลกระทบในทางลบ การใช้ Microaerophilic carrier อาทิเช่น Cellulose Porous Bead (CPB) และ Cellulose powder (CP) สามารถลดปัญหาดังกล่าวและสามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสจากสภาพการเลี้ยงแบบเขย่าฟลาสก์และในถังหมัก

ความเร็วรอบของการเขย่าและอัตราการกวนที่ 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่ 30 °ซ มีผลทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสจาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK สูงที่สุด และเป็นอัตราการกวนที่เหมาะสม โดยปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการเขย่าและการกวนเท่ากับ 2.14, 5.27 g dry wt/L ตามลำดับ และปริมาณเซลล์เท่ากับ 0.95, 1.95 g dry wt/L ตามลำดับ การเติม CPB ร้อยละ 0.05 เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลส จาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเขย่าและการกวนในถังหมัก อีกทั้งทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักมีปริมาณลดลงในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสมีค่าเพิ่มขึ้น โดยปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการเขย่าและการกวนเท่ากับ 2.65, 8.4 g dry wt/L ตามลำดับ และปริมาณเซลล์ เท่ากับ 1.48, 5.82 g dry wt/L ตามลำดับ ในขณะที่การเติม CP ร้อยละ 0.075 เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเขย่าและการกวนในถังหมักโดยปริมาณเซลลูโลสที่ได้เท่ากับ 2.36, 8.22 g dry wt/L ตามลำดับ และปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.26, 5.27 g dry wt/L ตามลำดับ ดังนั้นการเติม CPB และ CP จึงช่วยลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำขณะเดียวกันว่าจำนวนเซลล์ซึ่งอยู่ในวุ้นเซลลูโลสยังมีค่าที่สูง โดยพบว่าระยะเวลาของการหมัก 7 วัน ที่ 30 °ซ เซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จากการกวนอย่างต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนที่ได้จากการเติม CPB และ CP มีปริมาณสูงกว่าการไม่เติม CPB และ CP ที่ใช้เป็นตัวควบคุม สำหรับในการหมักโดยใช้ถังหมักแบบ Air-lift พบว่าในการให้อากาศ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

vvm. เป็นปริมาณที่ให้เซลลูโลสและปริมาณเซลล์สูงที่สุด โดยมีปริมาณเท่ากับ 0.93 และ 0.67 g dry wt/L ตามลำดับ การเติม CPB ร้อยละ 0.05 เป็นปริมาณที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK โดยปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีปริมาณลดลง ซึ่งมีลักษณะเช่นเดียวกับการกวน โดยได้ปริมาณเซลลูโลส 2.12 g dry wt/L และปริมาณเซลล์ 1.62 g dry wt/L ในขณะที่การเติม CP ร้อยละ 0.075 ให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการให้อากาศที่เหมาะสม 1.82 g dry wt/L และปริมาณเซลล์ 1.35 g dry wt/L ทั้งนี้พบว่าจำนวนเซลล์ที่ได้จากการเติม microaerophilic carrier ทั้งสองชนิดยังคงมีจำนวนที่เพิ่มขึ้น

Thesis Title	Effect of Dissolved Oxygen on Bacterial Cellulose Production by *Acetobacter xylinum*
Student	Mr. Nathapol Farpinyo
Student ID	39066005
Degree	Master of Science
Programme	Food Science
Year	1999
Thesis advisor	Assoc.Prof.Dr.Warawut Krusong

Abstract

The shaking and agitation/aeration affected the cellulose formation by *Acetobacter xylinum* DK strain. The decrease of cellulose yield was found resulting from the effect of higher amount of dissolved oxygen (DO), calls negative effect. Microaerophilic carrier such as Cellulose Porous Bead (CPB) and Cellulose Powder (CP) was used for enhancing the cellulose prodution in both shaken flask and fermentor.

The effect of shaking and agitation speed on cellulose production by *A. xylinum* DK strain was observed. The shaken flask and fermentor, a 100 rpm of shaking and agitation speed provided the highest amount of cellulose and cell content, were 2.14, 5.27 g dry wt/L and 0.95, 1.95 g dry wt/L, respectively, within 7 days of fermentation time at 30 ^{0}C. The 0.05% CPB was an optimum concentration for cellulose production by *A. xylinum* DK strain in both cultivation methods. The DO content was decreased while the cellulose gel was increased. There was a low DO content during high cellulose gel formation. The amount of cellulose and cell content were 2.65, 8.4 g dry wt/L and 1.48, 5.82 g dry wt/L, respectively, in shaken flask and fermentor. In case of CP, the 0.075% CP was an optimum concentration for cellulose production by *A. xylinum* DK strain. The yield of cellulose and cell content were 2.36, 8.22 g dry wt/L and 1.26, 5.27 g dry wt/L, respectively, in shaken flask and fermentor, respectively. It was noticed that both CPB and CP could provide the low DO condition which was suitable for cellulose gel formation. In continuous stirred tank reactor, cellulose and cell content obtained in both CPB and CP addition were higher than that without CPB and CP addition. In Air-lift fermentor, the effect of aeration rate on *A. xylinum* DK strain cellulose production was observed. The 0.05 vvm. of aeration rate provided the highest amount of cellulose and cell content were 0.93 g dry wt/L and 0.67 g dry

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

wt/L, respectively. While 0.05% CPB was an optimum concentration for cellulose production by *A. xylinum* DK strain. The decrease of DO content was observed during cellulose was produced. The similar result was found in agitated condition. The amount of cellulose produced and cell content were 2.12 g dry wt/L and 1.62 g dry wt/L, respectively. The 0.075% CP was an optimum concentration for cellulose production. The yield of cellulose and cell content were 1.82 g dry wt/L and 1.35 g dry wt/L, respectively, was obtained.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงได้เนื่องจากความกรุณาจากรองศาสตราจารย์ ดร. วราวุฒิ ครูส่ง ที่ได้ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และกรุณาให้ความรู้และคำแนะนำอันมีค่าและเป็นประโยชน์ ตลอดจนช่วยตรวจทานและแก้ไขวิทยานิพนธ์ฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ระติพร หาเรือนกิจ และผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ประภาพร ขอไพบูลย์ ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ อีกทั้งช่วยตรวจสอบและแก้ไขรวมทั้งให้คำแนะนำจนวิทยานิพนธ์ฉบับนี้สมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์และประสาทวิชาความรู้ในด้านวิทยาศาสตร์การอาหารแก่ข้าพเจ้าตลอดระยะเวลาการศึกษาจนข้าพเจ้ามีโอกาสประสบความสำเร็จ ตลอดจน คุณกรวิกา สุขศรีวงษ์-ครูส่งและครอบครัว, ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ลักขณา อมรสิน, ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง, อาจารย์พันนิภา มสุการัตน์, อาจารย์ปราณีต พจนมณี, อาจารย์อพัชชา วงศ์เจริญสถิตย์ และคณาจารย์โปรแกรมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารสถาบันราชภัฏสวนดุสิต และ เพื่อนๆชาวครุทายาท ที่เป็นกำลังใจแก่ข้าพเจ้าตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ ดร. ปราโมทย์ ศิริโรจน์ ภาควิชาจุลชีววิทยา มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ได้กรุณาให้ความรู้และคำแนะนำในเรื่องต่างๆเกี่ยวกับถังหมัก และวิศวกรรมการหมัก แก่ข้าพเจ้าเป็นอย่างดียิ่ง

ขอขอบพระคุณ นพ. พัฒน์พงศ์ - คุณรุ้งระวี นาวีเจริญ และครอบครัว ที่ให้ทุนและค่าใช้จ่ายต่างๆในการศึกษาเล่าเรียนตลอดมาจนสำเร็จการศึกษา

ขอขอบพระคุณ ทุนครุทายาท ระดับอุดมศึกษา, ราชกรีฑาสโมสร และบัณฑิตวิทยาลัยสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังที่ให้ทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์

ขอขอบคุณ เจ้าหน้าที่ของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรทุกท่าน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือในงานวิจัยครั้งนี้ ขอขอบคุณ คุณนุจรีย์ อินอุดม, คุณธัมรงค์ จิตรกสิกร, คุณองอาจ บริบูรณ์พานิชกิจ , น้องๆสาขาเทคโนโลยีการหมักรุ่น 2 ตลอดจน เพื่อนๆพี่ๆและน้องๆในภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตรที่ให้ความช่วยเหลือที่ดีตลอดมา

สุดท้ายนี้ขอรำลึกถึงพระคุณมารดา และความปรารถนาดีของ พี่ๆ และหลานๆ ที่เป็นกำลังใจและให้การสนับสนุนด้วยดีตลอดระยะเวลาที่ผ่านมา คุณค่าและประโยชน์อันมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

ณัฐพล ฟ้าภิญโญ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ III

สารบัญ VI

สารบัญตาราง IX

สารบัญภาพ X

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1

1.2 ขอบเขตของการศึกษา 2

1.3 วัตถุประสงค์ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 น้ำมะพร้าวแก่ 3

2.2 วุ้นเซลลูโลส 4

2.3 เซลลูโลส 6

2.4 ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* 12

2.5 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างวุ้นเซลลูโลส จากแบคทีเรีย *A. xylinum* 13

2.6 การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* 16

2.7 การใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย *A. xylinum* 18

2.8 กระบวนพื้นฐานในการหมักจุลินทรีย์ 19

2.9 อุปกรณ์และเครื่องมือในการหมัก 20

2.10 ผลของออกซิเจนต่อการเจริญเติบโตและการสร้างเซลลูโลส จากแบคทีเรีย *A. xylinum* 31

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ 34

3.1 วัตถุดิบ 34

3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.3 อุปกรณ์การผลิต 34
3.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์ 35
3.5 สถานที่ทดลอง 35
3.6 วิธีการทดลอง 36

บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 40
4.1 ผลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า (Shaked cultivation) 40
4.2 ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่เติมสารตัวกลาง microaerophilic carrier 43
4.3 ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนอย่างต่อเนื่อง (continuous stirred tank reactor) ขนาด 5 ลิตร 50
4.4 ผลของชนิดและปริมาณของการเติมสาร Microaerophilic carrier ต่อความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนอย่างต่อเนื่อง (continuous stirred tank reactor) ขนาด 5 ลิตร 54
4.5 ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift 65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.6 ผลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift ที่มีการเติม Microaerophilic carrier 68
4.7 ผลการวิเคราะห์ทางเคมี 80

บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง 82

ข้อเสนอแนะ 87

บรรณานุกรม 88

ภาคผนวก 95
ก. วิธีการทางเคมี 96
ข. วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา 103
ประวัติผู้เขียน 105

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ข้อพิจารณาการออกแบบถังหมักพื้นฐาน 24

2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ร่วมกับถังหมัก 25

4.1 ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีของวุ้นเซลลูโลส (Dry basis) 80

4.2 องค์ประกอบทางเคมีของวุ้นน้ำมะพร้าว (Dry basis) 80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

2.1 Scanning electron micrograph ของผิวหน้าวุ้นน้ำมะพร้าว ที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง 6

2.2 กลไกการแตกกิ่งก้านของไฟบริลเซลลูโลสจากแบคทีเรีย 7

2.3 โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส 7

2.4 พันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลของเซลลูโลส 8

2.5 โมเดล fringe-micellar ของเส้นใยเซลลูโลส 9

2.6 การเรียงตัวของเซลลูโลสตามธรรมชาติในหน่วยเซลล์ 9

2.7 วิถีการเปลี่ยนแปลงของกลูโคสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* 17

2.8 ฟลาสก์ที่ใช้ในการหมัก 21

2.9 ลักษณะการยึดฟลาสก์บนฐานเครื่องเขย่า 22

2.10 ลักษณะของถังหมักที่ใช้ในอุตสาหกรรม 23

2.11 ลักษณะของแผ่นกั้น (Baffle) 23

2.12 ลักษณะของใบพัด (Impellers) 26

2.13 รูปแบบถังหมักที่มีใบกวน 1 ชุด และรูปแบบถังหมักที่มีใบกวน 3 ชุด 27

2.14 การเชื่อมต่อของแกนกวนที่ด้านบนของถังหมักเป็นชุดใหญ่ (packed-gland stirrer) 27

2.15 ลักษณะของแท่งวัดการเปลี่ยนแปลง pH ที่ใช้ในถังหมัก 30

3.1 ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK 36

4.1 ผลของความเร็วรอบของการเขย่าต่อจำนวนเซลล์จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่ 50 75 100 และ125 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 42

4.2 ผลของความเร็วรอบของการเขย่าต่อปริมาณเซลล์ (Cell content) ปริมาณเซลลูโลส (Cellulose content) และค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ในการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะเขย่า เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.3 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เมื่อเลี้ยงในสภาวะแบบเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 45

4.4 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณเซลล์ ปริมาณเซลลูโลส และค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะเขย่าที่ 30 °ซ 45

4.5 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เมื่อเลี้ยงในสภาวะแบบเขย่าที่ 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 47

4.6 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณเซลล์ ปริมาณเซลลูโลส และค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 47

4.7 ผลของการเปรียบเทียบการใช้ CPB และCP ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์ จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าอย่างต่อเนื่อง ที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ . 49

4.8 ผลของความเร็วรอบของการกวนต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลส จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 52

4.9 ผลของความเร็วรอบของการกวนต่อปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 52

4.10 ผลของความเร็วรอบของการกวนต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 53

4.11 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.12 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณเซลล์และปริมาณเซลลูโลสจาก แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวน อย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 55

4.13 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 56

4.14 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 58

4.15 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณเซลล์และปริมาณเซลลูโลสจาก แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 58

4.16 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 59

4.17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Reducing sugar, pH, ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 62

4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเมื่อเลี้ยง แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนอย่างที่ต่อเนื่อง ที่อัตรา การกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ในสภาพที่ไม่มี การเติม CPB หรือ CP, การเติม CPB ร้อยละ 0.05 และการเติม CP ร้อยละ 0.075 63

4.19 ผลของออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักต่อผลผลิตเซลลูโลส (เซลลูโลส/น้ำตาล กลูโคสที่ใช้ไป) ในการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวน แบบต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ในสภาพที่ไม่มีการเติม CPB หรือ CP, การเติม CPB ร้อยละ 0.05 และการเติม CP ร้อยละ 0.075 64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.20 ผลของการเติม อากาศต่อปริมาณเซลลูโลส และเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 67

4.21 ผลของการเติมอากาศต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่วัดการให้อากาศ 0.5 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 67

4.22 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในถังหมักในการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่วัดการให้อากาศ 0.5 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 70

4.23 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณเซลลูโลส และเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 70

4.24 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 71

4.25 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักในการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่การให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 73

4.26 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 73

4.27 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 74

4.25 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ Reducing Sugar, pH, ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ เมื่อเลี้ยง *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm.เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ 77

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.29 การเปลี่ยนแปลงออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเมื่อเลี้ยง *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะแบบAir-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm.เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ในสภาวะที่ไม่มีการเติม CPB หรือ CP, การเติม CPB ร้อยละ0.05 และ การเติม CP ร้อยละ 0.075 78

4.10 ผลของความเข้มข้นของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักต่อผลผลิตเซลลูโลส (เซลลูโลส/น้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป) ในการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK แบบ Air- lift เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ที่ไม่มีการเติม CPB หรือ CP, เติม CPB ร้อยละ 0.05 และเติม CP ร้อยละ 0.07579 79

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สารโพลิเมอร์มีความสำคัญกับอุตสาหกรรมหลายประเภทไม่ว่าจะนำไปทำเครื่องอุปโภคหรือบริโภค โดยส่วนใหญ่แล้วสารโพลิเมอร์มีทั้งที่ผลิตจากธรรมชาติและโพลิเมอร์ที่ได้จากการสังเคราะห์ สำหรับโพลิเมอร์ที่ได้จากธรรมชาติส่วนใหญ่ผลิตได้จากเซลลูโลสและอนุพันธ์เซลลูโลส แหล่งของเซลลูโลสที่ได้จากธรรมชาติส่วนใหญ่จะได้จากพืชนอกจากนี้ยังมีการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียหลายชนิด แต่แบคทีเรียที่นิยมศึกษากันมากได้แก่แบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

ในปัจจุบันการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* กำลังประสบปัญหาอันเนื่องมาจากการผลิตที่ไม่ได้มาตรฐาน ตลอดจนไม่สามารถควบคุมคุณภาพทางกายภาพของเซลลูโลสให้แน่นอนได้ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรียดังกล่าว ปัจจัยที่สำคัญประการหนึ่งได้แก่ปริมาณอากาศที่ละลายอยู่ในน้ำหมักจะมีผลต่อลักษณะทางกายภาพของเซลลูโลส ถ้ามีปริมาณออกซิเจนเหมาะสมจะมีผลทำให้ได้เซลลูโลสที่มีลักษณะโครงสร้างเป็นเนื้อเดียวกัน มีความเหนียว และได้เซลลูโลสที่มีคุณภาพที่ดี (Okiyama *et al.*, 1992) ดังนั้นในการศึกษาครั้งนี้จะศึกษาผลของออกซิเจนและการควบคุมออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมัก (dissolved oxygen) ในการผลิตเซลลูโลสโดยการเขย่า (shaken flask) และในถังปฏิกรณ์ชีวภาพในระดับห้องปฏิบัติการ เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการขยายขนาดการผลิต รวมทั้งเป็นการปรับปรุงคุณภาพต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

1.2 ขอบเขตการวิจัย

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย *A. xylinum* โดยทำการศึกษาในสภาวะที่มีการเติมและไม่มีการเติมสาร microaerophilic carriers โดยใช้การเขย่าและถังปฏิกรณ์ชีวภาพในห้องปฏิบัติการ เพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสและผลิตเซลลูโลสที่มีคุณภาพออกมา

1.3 วัตถุประสงค์

1.3.1 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของอากาศที่ละลายอยู่ในน้ำหมัก (dissolved oxygen) ที่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum*

1.3.2 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* ในสภาวะที่มีการเติมและไม่มีการเติมสาร microaerophilic carriers

1.3.3 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ร่วมกันของความเร็วรอบที่ได้จากการเขย่าและการกวนร่วมกับการใช้ microaerophilic carriers ที่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum*

1.3.4 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ของการเติมอากาศที่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* ภายในถังหมักแบบหอคอย (airlift fermentor)

1.3.5 เพื่อศึกษาความสัมพันธ์ร่วมกันของการเติมสาร microaerophilic carriers กับการเติมอากาศในถังหมักแบบหอคอย

1.3.6. เพื่อศึกษาการขยายขนาดการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* โดยศึกษาจากการควบคุมออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่เหมาะจากการเขย่า (shaken flask) และ ในถังปฏิกรณ์ชีวภาพภายในห้องปฏิบัติการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

2.1. น้ำมะพร้าวแก่

น้ำมะพร้าวแก่เป็นวัสดุเหลือใช้จากการเกษตร โดยประเทศไทยสามารถผลิตมะพร้าวได้ปีละไม่ต่ำกว่าหกพันล้านลูก (กองเศรษฐกิจการเกษตร, 2520) มะพร้าวแต่ละลูกจะมีน้ำมะพร้าวแก่ที่ไม่มีราคาอยู่ประมาณครึ่งลิตร ฉะนั้นน้ำมะพร้าวแก่จะมีปริมาณ 3,000 ล้านลิตรต่อปี ซึ่งมีคุณค่าอาหารพอสมควร

อัจฉรา (2510) ได้วิเคราะห์น้ำมะพร้าวพบว่าในน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร ประกอบด้วย น้ำ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต และเถ้าประกอบอยู่ (ร้อยละ) 94.6 1.0 2.1 และ0.5 ตามลำดับ โดยมีแคลเซียม ฟอสฟอรัส เหล็ก และวิตามินซี เท่ากับ 20.7 25.4 0.4 และ 1.4 มิลลิกรัม ตามลำดับ และยังมีวิตามินบีรวม ไม่พบไขมันหรือพบในปริมาณเล็กน้อย

Verderbelt (1945) ทำการวิเคราะห์วิตามินบีรวมในน้ำมะพร้าว พบว่า น้ำมะพร้าว 1 มิลลิลิตร มีกรดนิโคทินิก กรดแพนโททีนิก ไอโอดีน ไรโบฟลาวิน และกรดฟอลิก เท่ากับ 0.64 : 0.52 : 0.02 : 0.01 และ0.003 ไมโครกรัม ตามลำดับ

นอกจากนี้น้ำมะพร้าวยังมีสารเร่งการเจริญประเภทฮอร์โมนอยู่ด้วย และมีการใช้ประโยชน์จากน้ำมะพร้าวได้หลายลักษณะ อาทิเช่น เป็นส่วนผสมเลี้ยงเนื้อเยื่อพืช เช่น กล้วยไม้ แวนด้า ฯลฯ เลี้ยงจุลินทรีย์ เช่น เห็ดรัสเซีย หรือเชื้อแบคทีเรียแอซิติก ซึ่งประเทศฟิลิปปินส์ได้พัฒนามานานกว่า 30 ปี ปัจจุบันถือเป็นสินค้าออกในรูปของอาหารสุขภาพ และติดตลาดโลก

ส่วนประเทศไทยมีการนำน้ำมะพร้าวมาผสมเลี้ยงเชื้อรา (วิภา และนภา, 2517) เชื้อยีสต์ (อโณทัย, 2519) แบคทีเรียแลคติค (สายชล, 2520) เลี้ยงแบคทีเรีย *Bacillus megaterium* ATCC 13639 เพื่อผลิตวิตามินบี 12 (วิเชียร, 2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2. วุ้นเซลลูโลส

วุ้นเซลลูโลส หรือที่นิยมเรียกว่า วุ้นน้ำมะพร้าว วุ้นสวรรค์หรือเห็ดรัสเซีย เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักน้ำมะพร้าวด้วยเชื้อแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติกได้ โดยเฉพาะเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* (Tayama *et al.*, 1985) ในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวพบว่า น้ำมะพร้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นจะต้องเป็นน้ำมะพร้าวแก่ที่สดและใหม่ มีไขมันน้อยในปริมาณร้อยละ 10-20 (โดยปริมาตร) ปรับสภาวะให้มีค่าความเป็นกรด 4-5 โดยใช้กรดอะซิติก และให้ปริมาณออกซิเจนเพียงพอ มีการเติมน้ำตาลและสารประกอบไนโตรเจน โดยน้ำตาล ได้แก่ กาแลคโตส เด็กซ์โตส แลคโตส และมอลโตส ใส่ในปริมาณร้อยละ 5-8 น้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อเป็นแหล่งของคาร์บอนให้เชื้อเจริญเติบโต (สมคิด, 2531ก) ส่วนสารประกอบไนโตรเจน ได้แก่ แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต แอมโมเนียมซัลเฟต ใส่ในปริมาณร้อยละ 0.5-0.6 น้ำหนักต่อปริมาตร เพื่อเร่งให้เชื้อผลิตแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวได้หนาในเวลาอันสั้น ถ้าใส่ในปริมาณมากจะทำให้ผลผลิตลดลง (Alaban, 1962)

วุ้นเซลลูโลสมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบร้อยละ 95-97 ของของแข็งทั้งหมด (Watanabe and Yamanaka, 1995) เซลลูโลสในวุ้นเซลลูโลสมีโครงสร้างแบบเดียวกับเซลลูโลสในพืช แต่เส้นใยจะมีขนาดเล็กละเอียด (microfibril) ไม่มีลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเปคตินปะปน (Hestrin and Schramm, 1954) ทำให้สามารถแยกเซลลูโลสบริสุทธิ์ออกจากวุ้นน้ำมะพร้าวได้ง่าย

องค์ประกอบทางเคมีของวุ้นเซลลูโลสประกอบด้วยคาร์โบไฮเดรตและเส้นใยมากถึงร้อยละ 53.57-59.26 และร้อยละ 19.64-21.30 ตามลำดับ โดยที่เส้นใยที่พบคือเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบที่สำคัญในวุ้นเซลลูโลส ถ้าทำการย่อยเซลลูโลสของวุ้นเซลลูโลสด้วยกรด พบว่า มีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 81.9 แต่ถ้าย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูโลส พบว่ามีน้ำตาลกลูโคสร้อยละ 95.9 (Kochler, 1952) คาร์โบไฮเดรตที่ละลายน้ำได้ในวุ้นเซลลูโลสมีมวลโมเลกุลเฉลี่ยคือ 300,000 ถึง 500,000 (Savidge and Colvin, 1985)

สำหรับเซลลูโลสที่ได้จากการสังเคราะห์ด้วยแบคทีเรีย *A. xylinum* พบการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรียมี 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรกกลูโคสในรูปของโมเลกุลอิสระเข้าไปภายในเซลล์และรวมตัวกันเป็นสารตั้งต้นคือ พอลีกลูโคแซน สารนี้ถูกส่งผ่านออกมาภายนอกเซลล์ ขั้นที่สองพอลิเมอร์เหล่านี้รวมตัวกันเป็นเส้นใยเซลลูโลสขนาดเล็ก (microfibril) ซึ่งมีความแข็งมากขึ้น เซลลูโลสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นเมือกและเป็นแผ่นฝ้าที่ผิวหน้าของอาหารเหลว (Colvin , 1972)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียสร้างเซลลูโลสขึ้นมาเพื่อทำหน้าที่เชื่อมระหว่างเซลล์กับอนุภาคหรือสารประกอบอาหารอื่นๆ ทำหน้าที่ป้องกันเซลล์ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น สภาวะที่แห้งและอุณหภูมิต่ำ และทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อจากไวรัส (Lilly, *et al.*, 1958; Blanshard and Mitchell, 1978)

ปริมาณเซลลูโลสในวุ้นน้ำมะพร้าวเพิ่มขึ้นเมื่อเวลาการหมักเพิ่มขึ้น แต่จะเริ่มคงที่เมื่อเวลาในการหมักประมาณ 10 วัน โดยมีปริมาณเซลลูโลสในแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวเป็นร้อยละ 0.7 โดยน้ำหนัก และความหนาของแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวเป็น 10 มิลลิเมตร (Yamanaka *et al.*, 1989) พบว่าลักษณะไฟบริลมีการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบและมีขนาดความกว้าง 20-50 นาโนเมตร ความยาวอย่างน้อย 10 ไมโครเมตร ไฟบริลประกอบด้วยไมโครไฟบริลซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นาโนเมตรจำนวนมาก ไฟบริลแตกกิ่งก้านแบบ tree-way branching points ตลอดความยาว การแตกกิ่งก้านของไฟบริลเกิดจากการแบ่งเซลล์ในการแพร่พันธุ์ของแบคทีเรียซึ่งเกิดขึ้นเรื่อยๆ ทำให้เกิดการแตกกิ่งก้านกันต่างไป (ดังแสดงในภาพที่ 2.1) ความยาวของไฟบริลระหว่างจุดที่แตกกิ่งก้านจะมีความยาวประมาณ 180-960 นาโนเมตร (Brown *et al.*, 1976)

เซลลูโลสจากวุ้นน้ำมะพร้าวมีลักษณะดังนี้คือ

1. ไม่มีเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพคติน เจือปนทำให้ง่ายต่อการทำให้เซลลูโลสบริสุทธิ์

2 มีความเป็น hydrophilic สูงเนื่องจากการมีพื้นที่ผิวในโครงสร้างมากจึงสามารถอุ้มน้ำ (water holding capacity) สูงถึง 60-700 เท่าของน้ำหนักแห้ง

3. ทนต่อแรงดึงได้สูงกว่าไฟเบอร์สังเคราะห์ต่างๆ โดยมีค่า Young's modulus ประมาณ 30,000 เมกกะปาสคาล ซึ่งสูงกว่า organic fiber ถึง 4 เท่า (Nichi *et al.*, 1990) และค่าความต้านแรงดึงซึ่งมีค่าสูงกว่าฟิลม์โพลีเอทธิลีน (polyethylene) หรือไวนิลคลอไรด์ (vinyl chloride) ถึง 5 เท่า

4. ในการสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลสสามารถเลือก substrate ซึ่งมีราคาถูกและหาได้ง่ายในท้องถิ่น ทำให้ต้นทุนของการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวมีราคาต่ำ

5. การสร้างเซลลูโลสวุ้นน้ำมะพร้าวในช่วงไมโครไฟบริลเริ่มเกาะกันเป็นสายจนเป็น amorphous cellulose (ดังแสดงในภาพที่ 2.2) สามารถควบคุมให้มีสมบัติทางกายภาพตามที่ต้องการ โดยจัดการเกี่ยวกับความหนาแน่นของเซลล์ สภาวะในการหมัก ลักษณะของอุปกรณ์ที่ใช้ในการหมัก และองค์ประกอบของอาหารที่ใช้เลี้ยง ซึ่งทำให้สามารถควบคุมสมบัติเกี่ยวข้องกับ

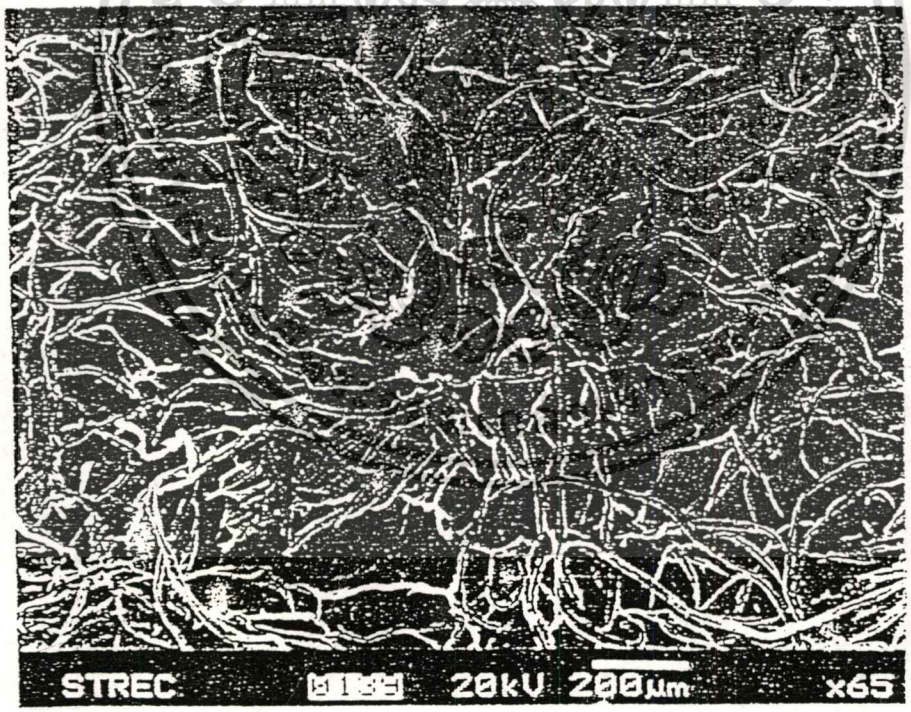
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความขาวสว่าง ความแข็งแรงและความยืดหยุ่นของเซลลูโลสจากแบคทีเรียได้ (White and Brown, 1989)

2.3. เซลลูโลส

เซลลูโลสได้จากผนังเซลล์ของสิ่งมีชีวิตต่างๆ เช่นจากพืช ได้จาก ไม้เนื้ออ่อน (softwood) หรือไม้ใยยาว เช่น สน 2 ใบ สน 3 ใบ ไม้เนื้อแข็ง (hardwood) หรือไม้ใยสั้น เช่น ยูคาลิปตัส และพืชที่ไม่ใช่ไม้ (nonwood) เช่น ฝ้าย ปอ ชานอ้อย เป็นต้น นอกจากนี้ อะมีบา ราเมือก สาหร่ายทะเล และแบคทีเรีย *Acetobacter* ก็สามารถผลิตเซลลูโลสจำนวนมากได้เช่นกัน แหล่งเซลลูโลสที่ใช้ในอุตสาหกรรมส่วนใหญ่ได้จากพืช แต่ในปัจจุบันพบว่าได้มีการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ประโยชน์กับมากขึ้น

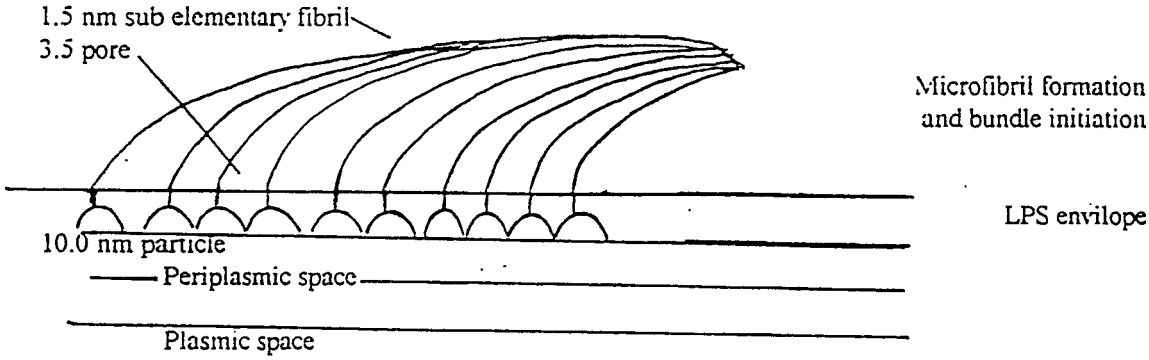
ไมโครไฟบริลของเซลลูโลสที่พบจากแหล่งต่างๆมีขนาดที่แตกต่างกัน ไมโครไฟบริลของเซลลูโลสที่ได้จากพืชหรือจากแบคทีเรียมีขนาดประมาณ 10 นาโนเมตร ส่วนเซลลูโลสที่พบจากสาหร่ายทะเลมีขนาด 25-30 นาโนเมตร (กองการวิจัย, 2531)



ภาพที่ 2.1 Scanning electron micrograph ของผิวหน้าวุ้นน้ำมะพร้าวที่ผ่านการทำแห้งแบบเยือกแข็ง

ที่มา : Krusong *et al.* (1998b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

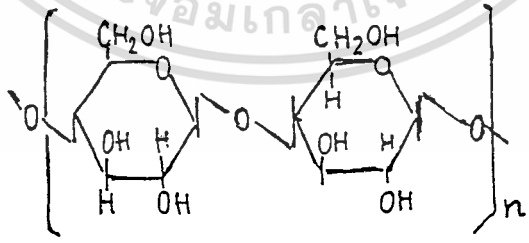


ภาพที่ 2.2 กลไกการแตกกิ่งก้านของไฟบริลเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ที่มา : Brown *et al.* (1976)

เซลลูโลสเป็นสารโพลีแซคคาไรด์ซึ่งมีสูตรโมเลกุลเป็น $(C_6H_{10}O_5)$ มีชื่อทางเคมีว่า 1,4 β-D-polyanhydroglucopyranose โครงสร้างของเซลลูโลสจะประกอบด้วยกลูโคสตั้งแต่ 15 ถึง 40,000 หน่วย ต่อกันเป็นสายด้วยพันธะ β-(1,4) glycosidic และมีน้ำหนักโมเลกุลเฉลี่ยขึ้นอยู่กับแหล่งที่มา ซึ่งประมาณ 1,500,000 ดาลตัน โดยเฉลี่ย ดังแสดงในภาพที่ 2.3 (Cowling and Kirl. 1976)

พันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลทำให้เซลลูโลสในธรรมชาติสามารถคงรูปอยู่ได้และทำให้สายโซ่ในโมเลกุลมีการจัดเรียงตัวในลักษณะขนาน (parallel) จนกลายเป็นผลึก (Krassing, 1985) การจัดเรียงตัวทำให้เกิดโครงสร้างของเส้นใยเซลลูโลสในระดับ supermolecular structure โดยส่วนที่เป็น crystalline micelles มีการจัดเรียงโมเลกุลของเซลลูโลสอย่างเป็นระเบียบล้อมรอบอยู่ในดาข่ายของส่วนที่เป็นอสัณฐานซึ่งมีการจัดเรียงโมเลกุลไม่เป็นระเบียบ (Mark, 1940)



β-1,4-glucosidic linkage

ภาพที่ 2.3 โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลส

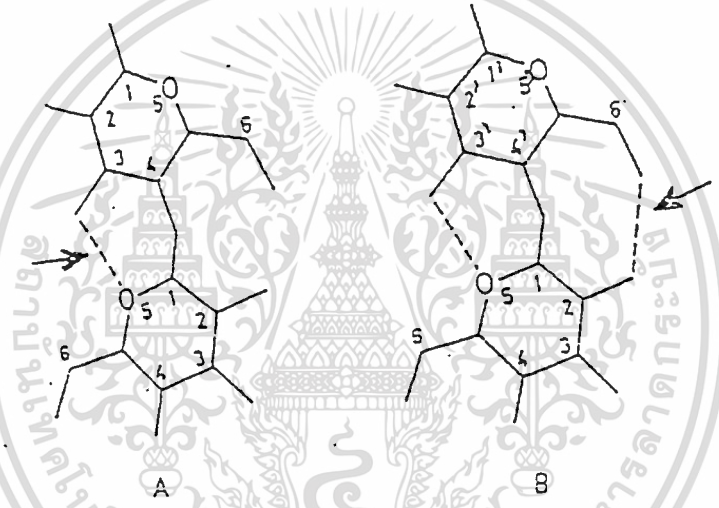
ที่มา : Cowling and Kirl (1976)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาการเรียงโมเลกุลเซลลูโลสโดยวิธี infrared spectroscopy nuclear magnetic resonance และ x-ray diffraction (Blackwell and Marchessault, 1971) แสดงว่ามีพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลของเซลลูโลส คือ

-พันธะที่เกิดขึ้นระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของกลุ่มไฮดรอกซิลบนอะตอมคาร์บอนตัวที่ 3 กับอะตอมออกซิเจนของ pyranose ring ของหน่วยกลูโคสข้างเคียงตามโมเดลของ Liang and Marchess (1959) (ภาพที่ 2.4 A)

-พันธะที่เกิดขึ้นระหว่างอะตอมไฮโดรเจนของกลุ่มไฮดรอกซิลบนอะตอมคาร์บอนตัวที่ 2 กับคาร์บอนตัวที่ 6 ของหน่วยกลูโคสข้างเคียงตามโมเดลของ Blackwell *et al.* (1977) (ภาพที่ 2.4 B)



ภาพที่ 2.4 พันธะไฮโดรเจนที่เกิดขึ้นภายในโมเลกุลเซลลูโลส

A : ตามโมเดลของ Liang and Marchessault

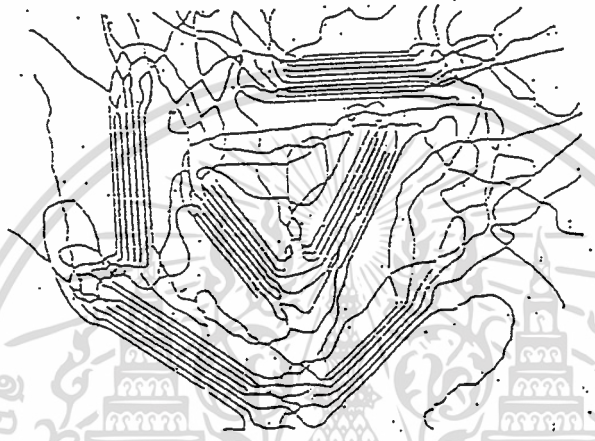
B : ตามโมเดลของ Blackwell และคณะ

ที่มา : Krassig (1985)

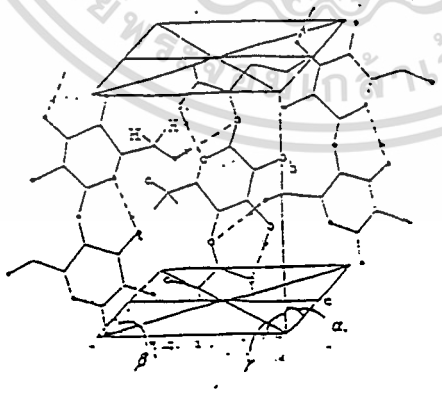
พันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลนี้เป็นเหตุให้สายโซ่ของเซลลูโลสยึดตรงและไม่ยืดหยุ่น และเกิดโครงสร้าง "Two-fold screw axis" ซึ่งมีเสถียรภาพสูง พันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลนี้ยังกำหนดระยะห่างระหว่างผลึกที่แน่นอนเป็น 1.03 นาโนเมตร (Sarko, 1976) ซึ่งทำให้โครงสร้างโมเลกุลเซลลูโลสในธรรมชาติคงรูป และการมีพันธะไฮโดรเจนยังทำให้สายโซ่มีการจัดเรียงในลักษณะ parallel จนกลายเป็นผลึก (Krassig, 1985) การเรียงตัวนี้ทำให้เกิดโครงสร้างของเซลลูโลสในระดับ supermolecular structure ตามโมเดล Fringe-micellar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mark (1940) อธิบายได้ว่าส่วนที่เป็น crystalline micelles มีการจัดเรียงโมเลกุลของเซลลูโลสอย่างเป็นระเบียบล้อมรอบอยู่ในโครงร่างตาข่ายของส่วนที่เป็นอสัณฐาน ซึ่งมีการจัดเรียงโมเลกุลไม่เป็นระเบียบ จากการศึกษาโครงสร้างผลึกของเซลลูโลสด้วยวิธี x-ray diffraction พบว่าการจัดเรียงตัวของเซลลูโลสมี 4 แบบ คือ เซลลูโลส I II III และ IV ซึ่งมีการจัดเรียงตัวในหน่วยเซลล์ต่างกันตามชนิดและขนาด (ความยาวแกนและมุม) ของหน่วยเซลล์ (Honeyman, 1959) และแสดงการจัดเรียงตัวเซลลูโลสชนิด I และ II ในหน่วยเซลล์ดังภาพที่ 2.5 และ 2.6



ภาพที่ 2.5 โมเดล fringe-micellar ของเส้นใยเซลลูโลส
ที่มา : Mark (1940)



ภาพที่ 2.6. การจัดเรียงตัวของเซลลูโลสตามธรรมชาติในหน่วยเซลล์
ที่มา : Liang and Marchessault (1959)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลส I เป็นรูปแบบที่พบทั้งหมดในธรรมชาติ มีการจัดเรียงตัวของไมโครไฟบริลแบบ parallel มากกว่าแบบ random หรือ antiparallel ตามหลักเทอร์โมไดนามิกส์ เซลลูโลส I ไม่เสถียรเท่าเซลลูโลส II เมื่อนำเซลลูโลส I มาละลายแล้วทำให้ตกผลึกใหม่หรือทำให้พองตัวในด่าง พบว่าเซลลูโลส I เปลี่ยนเป็นเซลลูโลส II ซึ่งเสถียรกว่า เซลลูโลส II มีการจัดเรียงตัวของไมโครไฟบริลแบบ antiparallel ตัวอย่างของเซลลูโลส II คือ regenerated cellulose ได้แก่ เรยอน (reyon) เซลโลเฟน (cellophane) และ mercerized cellulose (Delmer, 1983)

การจัดเรียงตัวของเซลลูโลส I เป็นแบบ parallel และของเซลลูโลส II เป็นแบบ antiparallel ส่วนเซลลูโลส III และ IV เป็นรูปแบบผลึกที่มีการจัดเรียงตัวที่ไม่เป็นระเบียบของเซลลูโลส II และ I ตามลำดับ (Howsmon and Sisson, 1954)

สายโซ่เซลลูโลสที่อยู่ติดกันภายในหน่วยเซลล์ของเซลลูโลส I ทำให้มีการเกิดพันธะ secondary valence และแรง van-der-Waals ระหว่างสายโซ่ที่อยู่ติดกัน

สำหรับโครงสร้างของเซลลูโลส II กลุ่มไฮดรอกซิลทุกกลุ่มอยู่ในตำแหน่งที่สามารถทำให้เกิดพันธะได้ทั้งภายในและระหว่างโมเลกุล โดยที่การเกิดพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลเป็นเช่นเดียวกับการเกิดขึ้นในเซลลูโลส I และการมีพันธะไฮโดรเจนทั้งภายในโมเลกุลและระหว่างโมเลกุล ทำให้โครงร่างผลึกของเซลลูโลส II มีโครงสร้างที่อัดแน่นมากกว่าโครงร่างผลึกของเซลลูโลส I

โครงสร้าง crystalline มีผลต่อการเกิดปฏิกิริยาใดๆกับเซลลูโลส เช่นในการย่อยเซลลูโลสด้วยกรดไฮโดรคลอริกที่มีความเข้มข้น 1 นอร์มอล อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นการย่อยที่เปลี่ยนแปลงตามเวลา คือ ในช่วงแรกการย่อยเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ต่อมาการย่อยจะเกิดช้าลงจนกระทั่งหยุดอย่างสมบูรณ์ เพราะเป็นการย่อยของส่วนอสัณฐาน ซึ่งจะย่อยได้เฉพาะไฟบริลที่ผิวหน้าของผลึก และส่วนที่อยู่ระหว่างรอยต่อระหว่างผลึก แต่จะไม่ย่อยบริเวณผลึกและเรียกจุดที่หยุดการย่อยอย่างสมบูรณ์นี้ว่า "limiting degree of polymerization" (Krassig, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลสที่ได้จากการสกัดเซลลูโลสจากพืชออกจากสิ่งเจือปน สามารถแบ่งได้ตามความบริสุทธิ์ซึ่งพิจารณาจากสมบัติการละลายเซลลูโลสในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ดังนี้ แอลฟา-เซลลูโลส (α-cellulose) บีตา-เซลลูโลส (β-cellulose) และแกมมา-เซลลูโลส (γ-cellulose) (Heuser, 1944; Whistler and Teng, 1970) แอลฟา-เซลลูโลสไม่ละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 17.5 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และมีน้ำหนักโมเลกุลมากกว่า 570,000 ส่วนบีตา-เซลลูโลส ละลายได้ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 น้ำหนักต่อปริมาตร ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส และตกตะกอนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ คือมีน้ำหนักโมเลกุลในช่วง 3,000-15,000 และแกมมา-เซลลูโลสละลายในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 17.5 น้ำหนักต่อปริมาตร ไม่ตกตะกอนที่ค่าความเป็นกรด-ด่างเป็นกลาง มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำกว่า 3,000

ลักษณะของเซลลูโลสที่ได้จาก *A. xylinum* เป็นเยื่อเหนียวสีขาวหรือสีครีม มีปริมาณเซลลูโลสอยู่ประมาณร้อยละ 2.92-5.94 (เทียบต่อน้ำหนักเปียก) และไม่พบลิกนิน เฮมิเซลลูโลส และเพคตินเจือปน ทำให้ง่ายต่อการทำให้เซลลูโลสบริสุทธิ์ สูตรโครงสร้างของเซลลูโลสจะประกอบด้วยกลูโคสประมาณ 10,000 หน่วย ต่อเข้ากันเป็นโพลิเมอร์ด้วยพันธะ β-(1,4) glycosidic แต่ละหน่วยของเซลลูโลสเรียกว่า แอนไฮโดรกลูโคส (anhydroglucose) เพราะเกิดจากการดึงน้ำออกจากกลูโคส ในแต่ละหน่วยของแอนไฮโดรกลูโคสจะมีหมู่ไฮดรอกซิล 3 หมู่ โดยหมู่ไฮดรอกซิลเหล่านี้จะทำปฏิกิริยากับสารอื่นเกิดเป็นอนุพันธ์ของเซลลูโลส

การสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* มี 2 ขั้นตอนคือ ขั้นแรกกลูโคสในรูปของโมเลกุลอิสระเข้าไปภายในเซลล์และรวมตัวกันเป็นสารตั้งต้นคือ โพลีกลูโคแซน สารนี้ถูกส่งผ่านออกมานอกเซลล์ ขั้นที่สอง โพลิเมอร์เหล่านี้รวมตัวกันเป็นเส้นใยเซลลูโลสขนาดเล็ก (microfibril) ซึ่งมีความแข็งมากขึ้น เซลลูโลสที่เกิดขึ้นมีลักษณะเป็นเมือกและเป็นแผ่นฝ้าที่ผิวหน้าของอาหารเหลว (Colvin, 1972) แบคทีเรียสร้างเซลลูโลสขึ้นมาเพื่อทำหน้าที่เชื่อมระหว่างเซลล์กับสารอื่นๆ ทำหน้าที่ป้องกันเซลล์ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่นสภาวะที่แห้งและอุณหภูมิที่ต่ำ (Blanshard and Mitchell, 1978)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยปกติแล้วปริมาณเซลลูโลสในวุ้นเซลลูโลสจะเพิ่มมากขึ้นเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น แต่จะเริ่มคงที่เมื่อเวลาในการหมักประมาณ 10 วัน โดยปริมาณเซลลูโลสในแผ่นวุ้นเซลลูโลสเป็นร้อยละ 7 โดยน้ำหนัก และความหนาเป็น 10 มิลลิเมตร (Yamanaka *et al.*, 1988) จากการศึกษาสัณฐานวิทยาของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* ด้วย scanning electron micrograph พบว่าลักษณะไฟบริลมีการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ และมีขนาดกว้าง 20-50 นาโนเมตร ความยาวอย่างน้อย 10 ไมโครเมตร ไฟบริลประกอบด้วยไมโครไฟบริลซึ่งมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 4 นาโนเมตร จำนวนมาก

เซลลูโลสของวุ้นเซลลูโลสมีลักษณะที่สำคัญ คือ ไม่มีเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพคติน เจือปน ทำให้ง่ายต่อการทำให้เซลลูโลสบริสุทธิ์ มีความเป็น hydrophilic สูง เนื่องจากการมีพื้นที่ผิวในโครงสร้างมากจึงอุ้มน้ำได้สูงถึง 60-70 เท่าของน้ำหนักแห้ง ทนต่อแรงดึงได้สูงกว่าไฟเบอร์สังเคราะห์ต่างๆ (Nichi *et al.*, 1990)

2.4. ลักษณะของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

แบคทีเรีย *A. xylinum* เป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต สามารถสร้างอากาศในการเจริญเติบโต สามารถสร้างเอนไซม์ catalase สามารถเจริญในอาหารที่มีเอทธานอลเป็นส่วนประกอบอยู่ร้อยละ 3 ได้ เชื้อจะไม่สร้างสี แต่จะสร้างวุ้นเซลลูโลสเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ เชื้อไม่สามารถรีดิวซ์ไนเตรทหรือย่อยเจลาตินได้ นอกจากนั้นไม่สร้างอินโดลและไฮโดรเจนซัลไฟด์ ไม่สามารถย่อยแป้งเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกด้วย การสร้างวุ้นเซลลูโลสจะใช้น้ำตาลเป็นแหล่งของคาร์บอน เช่น กลูโคส กาแลคโตส มอลโตส แลคโตส และซูโครส เป็นต้น เชื้อสามารถใช้อะซิเตทและแลคเตทเป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญได้อีกด้วย โดยจะสามารถออกซิไดซ์กรดทั้งสองเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (สุเมธและวราวุฒิ, 2537)

ลักษณะของวุ้นเซลลูโลสคล้ายวุ้นธรรมดาที่ใช้ทำขนมแต่เหนียวกว่า และมีองค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางกายภาพแตกต่างกัน โดยวุ้นธรรมดาจะประกอบด้วยน้ำตาลกาแลคโตสและ 3,6 แอนไฮโดรกาแลคโตส ต่อกันด้วยพันธะ β-(1,4) หลอมเหลวที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส และแข็งตัวที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (นัยทัศน์, 2527) แต่วุ้นเซลลูโลสมีองค์ประกอบของเซลลูโลส ซึ่งประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเป็นส่วนใหญ่ ต่อด้วยพันธะ β-(1,4) เมื่อต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสจะไม่ละลายน้ำ (Dimaguila, 1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *A. xylinum* มีลักษณะเป็นท่อนสั้นๆ ขนาด 0.5 X 0.8 ถึง 1.0 ไมครอน จัดเรียงตัวต่อกันเป็นสายสั้นๆ ไม่เคลื่อนที่ สร้างแคปซูลได้ เมื่อเซลล์ยังอ่อนจะย้อมติดสีแกรมลบ และเมื่อเซลล์มีอายุมากขึ้นพบว่าสามารถย้อมติดสีได้ทั้งแกรมบวกและลบ การเจริญบนอาหารแข็งจะมีโคโลนีที่มีลักษณะเป็นทรงกลมนูน ผิวเรียบ แยกโคโลนีเดี่ยวๆ ชัดเจน ขุ่นเหนียว มีสีน้ำตาลอ่อน เมื่ออายุมากขึ้นความเหนียวจะเพิ่มขึ้น มีผิวขรุขระ และยึดเซลล์ของเชื้อเข้าด้วยกันทำให้แต่ละโคโลนีจับรวมตัวกัน เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนจะเห็นว่ามีชั้นเมือกห่อหุ้มผนังเซลล์ของเชื้อไว้ (Dimaguila, 1967)

2.5. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการสร้างวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* ประกอบด้วย

2.5.1. ปริมาณเชื้อตั้งต้น (inoculum)

ปริมาณเชื้อที่ใช้ต้องมีมากพอเพื่อให้เชื้อเจริญได้อย่างรวดเร็วจนมีปริมาณมากเกินกว่า เชื้ออื่นที่อาจติดมากับน้ำมะพร้าวหรืออาจปนเปื้อนในระหว่างการหมัก ปริมาณเชื้อที่เหมาะสมที่ใช้ในการหมักอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 และใช้เชื้อที่มีอายุ 3 วัน จะทำให้ได้ผลผลิตที่ดีที่สุด เมื่อเชื้อเจริญและมีปริมาณมากพอถึงระดับหนึ่งจะมีการสร้างวุ้นขึ้น โดยจะสร้างสายเซลลูโลส (cellulose microfibril) และเมื่อมีมากขึ้นจะสานและรวมตัวกันเห็นเป็นเส้นขุ่นขาวอยู่ในอาหารเหลว โดยจะค่อยๆลอยตัวขึ้นที่ผิวหน้าอาหารและเมื่ออยู่ที่ผิวหน้าของอาหารจะเริ่มสานตัวกันแน่นจนเป็นแผ่นวุ้น เพื่อสามารถรับออกซิเจนให้ได้มากที่สุด

2.5.2. อุณหภูมิ

เชื้อ *A. xylinum* สามารถสร้างเซลลูโลสได้ที่อุณหภูมิห้องโดยอุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ที่ 28-32 องศาเซลเซียส (Lapuz and Gallardo, 1967) และเนื่องจากการสร้างเซลลูโลส เกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์เป็นอย่างมาก ดังนั้นเมื่อเชื้อเจริญได้ดี การสร้างวุ้นก็จะเกิดได้อย่างรวดเร็วด้วย อุณหภูมิที่ต่ำหรือสูงกว่าอุณหภูมิห้องมากๆ จะทำให้เชื้อไม่สามารถเจริญได้ โดยเฉพาะอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียสหรือสูงเกินกว่า 40 องศาเซลเซียส การสร้างเซลลูโลสก็จะไม่เกิดขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3. ความเป็นกรด-ด่าง

ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วงระหว่าง 4.0-5.0 ซึ่งจะให้เซลลูโลสที่ได้มีความหนามากที่สุด แต่ถ้าความเป็นกรด มีมากเกินไปหรือเป็นด่างมากเกินไป จะไม่มีการสร้างเซลลูโลสขึ้น

กรดที่ใช้ปรับค่าความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อให้ได้วุ้นที่หนา ควรเป็นกรดอะซิติก เพราะกรดจะเป็นตัวยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการเพื่อให้เชื้อ *A. xylinum* สามารถเจริญได้รวดเร็ว

สมคิด (2531ข) ได้ใช้กรดอะซิติกปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำมะพร้าวที่ใช้เลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* ทำให้มีการสร้างสร้างวุ้นเซลลูโลสได้มากที่สุด

2.5.4. เอธานอล และกรดอะซิติก

เนื่องจากเชื้อในกลุ่ม Acetobacter สามารถออกซิไดซ์เอธานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้ แต่การสร้างเซลลูโลสจะไม่เกิดขึ้น ถ้าหากไม่มีกลูโคสในอาหารและนอกจากนี้ยังไม่สามารถเจริญในอาหารที่มีเอธานอลถ้าหากไม่มีการเติมกรดอะซิติก เกลืออะซิเตทหรือกลูโคสด้วยโดยที่ทั้งเอธานอลและกรดอะซิติกเป็นแหล่งของคาร์บอนและพลังงานทำให้ได้เซลลูโลสสูงขึ้นในระยะเวลาสั้น นอกจากนี้เอธานอลยังมีคุณสมบัติในการยับยั้งจุลินทรีย์ชนิดอื่นซึ่งอาจปนเปื้อนมากับอาหารและกรรมวิธีในการผลิต ความเข้มข้นของเอธานอลที่ร้อยละ 6 โดยปริมาตร สามารถสร้างเซลลูโลสได้มากที่สุด (สมคิด, 2531ข) และเติมกรดอะซิติกความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะได้วุ้นเซลลูโลสมากที่สุด (วราวุฒิ และคณะ, 2535)

2.5.5. แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้ในการเจริญเติบโตและสร้างวุ้นเซลลูโลส คือ น้ำตาล ซึ่งเชื้อสามารถใช้ได้หลายชนิด เช่น ซูโครส มอลโตส แลคโตส และเดกซ์โตรส เป็นต้น (Lapuz and Gallardo, 1967) โดยทั่วไปนิยมใช้ซูโครสเนื่องจากหาซื้อได้ง่ายและมีราคาถูก โดยปริมาณที่เหมาะสมในการสร้างเซลลูโลสของเชื้อคือร้อยละ 10 (ทิพรัตน์, 2536) ในขณะที่ Alaban (1962) รายงานว่าปริมาณซูโครสที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* ที่ใช้ คือ ร้อยละ 5-8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.6. แหล่งไนโตรเจน

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไนโตรเจนอยู่เลยจะทำให้แบคทีเรีย *A. xylinum* ไม่สามารถเจริญและสร้างเซลลูโลสได้ การเติมสารที่เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยเฉพาะสารที่อยู่ในรูปของแอมโมเนียม จะช่วยเร่งการเจริญเติบโตและการสร้างเซลลูโลสให้เร็วขึ้น จากการศึกษาของ Lapuz and Gallardo (1967) พบว่าการใช้ $NH_4H_2PO_4$ ร้อยละ 0.5 สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดเมื่อเทียบกับ $(NH_4)_2SO_4$ และเปปโตน ในขณะที่การใช้ KNO_3 และ $NaNO_3$ ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรียและการสร้างวุ้นเซลลูโลสเลยเนื่องจากสารประกอบไนเตรทเป็นพิษต่อแบคทีเรียชนิดนี้ การเติมสารประกอบไนโตรเจนในการหมักช่วยการผลิตวุ้นได้หนาในเวลาสั้น สารประกอบไนโตรเจนที่ให้ วุ้นดีที่สุดคือ $(NH_4)_2SO_4$ ส่วนไนเตรทในรูปโซเดียมไนเตรทและโปตัสเซียมไนเตรทเชื้อจะไม่สามารถนำมาใช้ได้ (สุเมธ และวราวุฒิ, 2537) เชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่ได้จากธรรมชาติ จะต้องเติมสารที่ช่วยในการเจริญเติบโต เช่น ยีสต์สกัด (yeast extract) ด้วยเนื่องจากยีสต์ สกัดประกอบด้วยวิตามินและกรดอะมิโนหลายชนิดที่ใช้ในการเจิญเติบโตของเชื้อ *A. xylinum*

2.5.7. ออกซิเจน

ตามปกติแล้วแบคทีเรีย *A. xylinum* สามารถสร้างเซลลูโลสในสภาพการหมักที่ผิวแบบนิ่ง (static and surface fermentation) ได้เป็นอย่างดี และประสิทธิภาพการผลิตเซลลูโลสจะลดลงเมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* ในสภาพที่มีการให้อากาศหรือสภาพที่มีการเขย่า (Hestrin and Shramm, 1954) นอกจากนี้ Joris *et al.* (1993) ได้รายงานว่า ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (dissolved oxygen) ในระดับที่สูงจะส่งผลกระทบทำให้การสร้างเซลลูโลสของเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* ลดลง

อย่างไรก็ตามได้มีการศึกษาเพื่อลดผลกระทบดังกล่าวโดยการเติมเม็ดแก้ว (Joris *et al.*, 1993) algenate gel beads (Krusong and Yoshida, 1995) และ cellulose porous bead (Krusong *et. al.*,1995b) ลงในน้ำหมัก นอกจากนี้ Watanabe and Yamanaka (1995)ได้รายงานว่าถ้าน้ำหมักมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในปริมาณที่เหมาะสมจะทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสที่มีลักษณะโครงสร้าง เป็นเนื้อเดียวกัน (homogeneous texture) ซึ่งเป็นแผ่นเซลลูโลสที่มีคุณภาพดี (high quality pellicle) เนื่องจากมีองค์ประกอบที่เป็นของแข็งในปริมาณสูง (high solid content) และมีค่า syneresis ต่ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6. การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum*

Glavez (1985) ได้ทำการทดลองโดยใช้ยูริดีนไดฟอสโฟกลูโคส (uridine diphosphoglu cose) เพื่อสังเกตคาร์บอน-14 ในกลูโคส ซึ่งแสดงให้เห็นการรวมตัวของกลูโคสเพื่อได้เซลลูโลส โดยทางยูริดีนไดฟอสโฟกลูโคส ดังแสดงในปฏิกิริยาต่อไปนี้

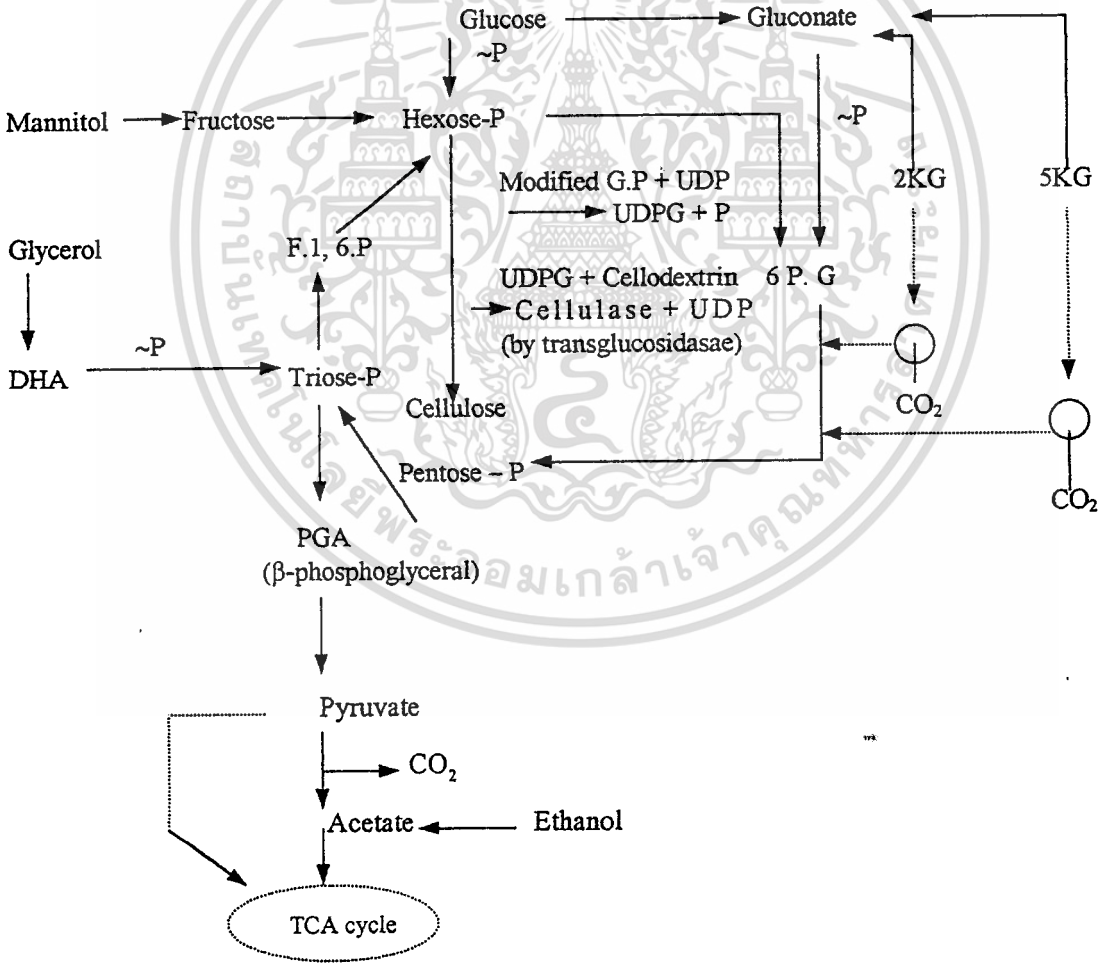
$$\text{Uridine diphosphoglucose} + (\text{Glucose})_n \longrightarrow \text{Uridine diphosphate} + (\text{Glucose})_{n+1}$$

Gromet *et al.* (1957) แสดงวิถีการเปลี่ยนแปลงของการใช้กลูโคสใน *A. xylinum* โดยพบว่าเซลล์สร้างเซลลูโลสจากเฮกโซสที่มีคาร์บอน-14 เป็นตัวชี้เฉพาะ โดยจะเข้าวงจรเพนโตสทางเดียวกับเฮกโซส-ฟอสฟอรัส

ในการสังเคราะห์เซลลูโลสนอกจากจะใช้กลูโคสเป็นวัตถุดิบแล้วยังสามารถใช้กลูโคเนท (Gluconate 2-OG_n, 5-OG_n) วัตถุดิบที่มีคาร์บอน 3 ตัว (กลีเซอรอลและไดไฮดรอกซีอะซิโตน) และฟรุกโตส เป็นต้น กลูโคสที่อยู่ในเซลล์ถูกเปลี่ยนแปลงเป็นกลูโคเนทได้อย่างรวดเร็ว จากนั้นกลูโคสในเซลล์ส่วนนี้จะถูกเซลล์เปลี่ยนไปเป็น 5-OG_n และ 2-OG_n ซึ่งทั้งสองตัวนี้อาจถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งอาจเข้าร่วมหรือไม่เข้าร่วมในการสร้างเซลลูโลสก็ได้ ส่วนไพรูเวทอะซิเตทและตัวกลางในวงจรซิเตรทถูกออกซิไดส์จนได้คาร์บอนไดออกไซด์ แต่คาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้นี้ไม่เกี่ยวข้องกับการสร้างเซลลูโลสเลย วัตถุดิบที่สร้างเซลลูโลสได้ต้องสามารถเข้าสู่วงจรเพนโตสได้ ในขณะที่วัตถุดิบที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์แต่ไม่ได้เข้าร่วมในการสังเคราะห์เซลลูโลสก็จะถือว่าเป็นส่วนที่ผ่านวงจรเพนโตสไป วงจรเพนโตสที่แสดงนี้เป็นส่วนหนึ่งในการเข้าสู่วงจรหลายทางวิถีที่จะต้องใช้กลูโคไคเนสต้องผ่านตัวกลางก่อน และยังมีอีกหลายวิถีที่ต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงจากกลูโคสไปเป็นกลูโคเนทก่อน ซึ่งกลูโคเนทนี้สามารถเข้าสู่วงจรได้ 2 วิธี คือ การเข้าโดยตรง ซึ่งจะต้องใช้กลูโคไคเนส และโดยทางอ้อมซึ่งจะผ่านทาง 5-OG_n และ 2-OG_n การสังเคราะห์เซลลูโลสสามารถถูกขัดขวางโดยตัวยับยั้งการหายใจที่เหมาะสม และสารหนูมีผลให้การสังเคราะห์ช้าลง แต่สามารถแก้ไขได้โดยการเติมสารออโทรฟอสเฟต (วราวุฒิ และคณะ, 2535)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากสารเริ่มต้นที่ *A. xylinum* สร้างขึ้นนั้นถูกนำมารวมกันภายนอกเซลล์โดยไม่เกิดการขยายตัว การเจริญได้ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองปลายในอัตรา 0.1 ไมครอนต่อนาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การรวมตัวของเส้นใยเซลลูโลสภายนอกเซลบนผิวหน้าของอาหารแข็งเกิดขึ้นได้ในส่วนที่ไกลออกไปจากเยื่อหุ้มเซลล์ เส้นใยแต่ละเส้นจะเจริญที่บริเวณปลายเท่านั้น อัตราการยืดเป็น 0.2 ไมครอนต่อนาทีที่ 34 องศาเซลเซียส ลักษณะการเจริญของเซลลูโลสบนผิวหน้าของแผ่นวุ้นเกิดรวมตัวกันเป็นกลุ่มของเส้นใย พร้อมๆกับมีการตัดอย่างหยาบในแนวขนาน ระบบเอนไซม์จากเชื้อที่บ่มไว้กับยูริดีนไดฟอสโฟกลูโคสแสดงให้เห็นว่ามีสารโพลิเมอร์เกิดขึ้นในระหว่างการสังเคราะห์เซลลูโลส สารตัวกลางเหล่านี้จะติดอยู่กับอนุภาคหนักในสารแขวนลอย แต่จะเป็นอิสระได้เมื่อถูกย่อยสลายที่เหนือกว่านั้น คือ จะมีการดูดซับส่วนที่รวมกันเป็นเซลลูโลส ซึ่งอาจทำให้เกิดการก่อตัวกันเป็นเส้นใยสั้นได้เมื่อทำการตกตะกอนด้วยเอทธานอลในสารละลายเกลือ (Kjosbakken and Colvin, 1975)



ภาพที่ 2.7 วิถีการเปลี่ยนแปลงของกลูโคสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

ที่มา : Hestrin and Schramm (1954)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 การใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย *A. xylinum*

เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย *A. xylinum* ได้มีการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่างๆ อาทิเช่น ใช้เป็นสารให้ความคงตัว และเป็นสารให้ความหนืดในอุตสาหกรรมอาหาร หรือในอุตสาหกรรมยา ใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ (healthy food) เพิ่มใยและกากอาหาร นอกจากนี้ยังพบว่ายังเป็นวัตถุดิบในการผลิตกระดาษคุณภาพสูง เช่นกระดาษลำโพง กระดาษคาร์บอน เป็นต้น

Collado (1987) พบว่าสามารถนำเซลลูโลสจาก *A. xylinum* เป็นวัตถุดิบหรือส่วนประกอบทางด้านอิเลคทรอนิก อีกทั้งใช้เป็นสารเพิ่มความคงตัวให้กับอาหาร และยังใช้เป็นตัวอิมัลซิไฟเออร์ ในขณะที่ Benzon *et al.* (1990) พบว่าวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อดังกล่าวมีคุณสมบัติคล้ายยาง แต่ไม่เหนียว สามารถนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอาหารอาทิเช่น ไอศครีม ฟลุทคอคเทลและผลิตภัณฑ์ลูกกวาด

Asian Business (1994) ได้รายงานว่าสามารถนำวุ้นเซลลูโลสมาเป็นสารเพิ่มความคงตัวในผลิตภัณฑ์นม น้ำผลไม้ และยังสามารถนำมาใช้กับผลิตภัณฑ์เครื่องสำอาง รวมทั้งยังสามารถนำมาใช้กับอุปกรณ์เครื่องดนตรีได้อีกด้วย

นอกจากนี้สามารถนำเซลลูโลสจาก *A. xylinum* มาทำปฏิกิริยาทางเคมีเพื่อให้ได้อนุพันธุ์ของเซลลูโลส (cellulose derivatives) เช่น ไฮดรอกซีเมทธิลเซลลูโลส (hydroxymethylcellulose) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethylcellulose) หรือ เซลลูโลสอะซิเตท (cellulose acetate) จะทำให้สามารถใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสได้กว้างขวางยิ่งขึ้น (วราวุฒิ และกรวิกา, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 กระบวนการพื้นฐานในการหมักจุลินทรีย์

โดยทั่วไปกระบวนการหมักสามารถเกิดขึ้นได้เมื่อประกอบด้วยวัตถุดิบ สับสเตรท และจุลินทรีย์ รวมทั้งสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ โดยมีการปล่อยให้จุลินทรีย์เจริญโดยใช้สับสเตรท หรือทำปฏิกิริยากับสับสเตรทภายใต้สภาวะที่มีการควบคุมภายในระยะที่กำหนดก็จะได้ผลิตภัณฑ์ออกมา กระบวนการหมักพื้นฐานมี 2 ประเภทใหญ่ คือ การหมักในอาหารเหลว (submerged fermentation) เช่น การเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เจริญในอาหารเหลวโดยพ่นอากาศเข้าไป (aerated cultivation) การเลี้ยงจุลินทรีย์ให้เจริญที่ผิวอาหารเหลว (surface culture) และการหมักบนอาหารแข็ง (solid-state fermentation)

การเลี้ยงเซลล์จุลินทรีย์ในอาหารเหลว (submerged cultivation) มี 2 แบบหลัก คือ การเลี้ยงเซลล์แบบคราวเดียว (batch cultivation) และแบบต่อเนื่อง (continuous cultivation) ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบพื้นฐานที่สำคัญที่ใช้ผลิตผลิตภัณฑ์ (Pirt, 1975)

2.8.1 การเลี้ยงเซลล์แบบคราวเดียว

เป็นการเลี้ยงจุลินทรีย์ในภาชนะซึ่งเป็นหลอดแก้วหรือฟลาสก์หรือถังหมัก โดยไม่มีการเปลี่ยนอาหาร จุลินทรีย์จะมีการเจริญตามปกติโดยที่จะมีระยะเวลาต่างๆคือ ระยะฟักตัว (lag phase) ระยะทวีคูณ (exponential phase) ระยะคงที่ (stationary phase) และ ระยะตาย (death phase) วิธีการเลี้ยงแบบนี้พบว่าสิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายและพื้นที่

2.8.2 การเลี้ยงเซลล์แบบต่อเนื่อง

เป็นการเลี้ยงจุลินทรีย์โดยให้เซลล์เจริญในช่วงระยะกำลังเจริญทวีคูณตลอดเวลา โดยการเติมอาหารที่ผ่านการหมักแล้วออกติดต่อกันตลอดเวลา เป็นการทำให้เซลล์จุลินทรีย์อยู่ในสภาพว่องไวแข็งขันและคงที่ (steady state) โดยมีอัตราการไหลเข้าของอาหารเท่ากับการไหลออกตลอดเวลา การที่จะคงสภาพดังกล่าวได้ก็นิยมใช้วิธีการปั๊มช่วยดึงอาหารเข้าและออกตลอดเวลา หรืออาจใช้วิธีการไหลล้น (overflow method) ช่วย หรืออีกนัยหนึ่งอาจกล่าวได้ว่าการหมักแบบต่อเนื่อง ก็คือการหมักแบบคราวเดียวที่ถูกควบคุมไว้ให้คงที่ซึ่งปริมาตรคงที่ (chemostat) หรือปริมาณคงที่ (turbidostat) ในขณะที่อาหารถูกเติมลงไปอย่างต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8.3 การเลี้ยงเซลล์แบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-coninuous culture)

เป็นการเลี้ยงเซลล์แบบ batch culture แต่เมื่อได้เซลล์ตามต้องการแล้วก็ให้ดูดออกเสียให้เหลือในถังหมักเพียงประมาณ 1/4 เป็นอย่างมากแล้วเติมอาหารใหม่ (fresh medium) ลงไปอีกให้เท่าเดิม อาหารเก่าที่อยู่ 1/4 เท่ากับเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นนั่นเอง วิธีการนี้นิยมกับการศึกษาจุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อโรค (บุษบา, 2540)

2.8.4 การเลี้ยงเซลล์แบบเติมอาหารเป็นระยะ (Fed-batch cultivation)

วิธีดังกล่าวคือ batch culture ที่มีการเติมอาหารต่อเนื่อง หรือเป็นระยะๆ โดยไม่มีการถ่ายอาหารออกไปเลย (Yoshida *et al.*, 1973) ซึ่งเป็นการพบว่าการเลี้ยงเชื้อหากอาหารที่เติมเป็นพิษต่อจุลินทรีย์ได้ เช่นเมทานอลที่ใช้เป็นแหล่งอาหารคาร์บอนนั้น จึงมีการเติมเมทานอลลงไปทีละน้อยเพื่อรักษาระดับสารอาหารให้คงที่ที่ความเข้มข้นต่ำ ทำให้เซลล์สามารถเจริญได้เรื่อยๆ เป็นวิธีการอีกแบบหนึ่งที่พบว่าสามารถเพิ่มผลผลิตได้อย่างมาก (Whitaker, 1980) รวมทั้งการเพิ่มผลผลิตวิตามินบี 12 โดยแบคทีเรียได้ในอาหารเมทานอล (Toraya *et al.*, 1975, 1976)

2.9. อุปกรณ์และเครื่องมือในการหมัก

โดยทั่วไปในกระบวนการหมักนอกจากจะมีสับสเตรทและจุลินทรีย์แล้ว ยังต้องคำนึงถึงอุปกรณ์และเครื่องมือที่ใช้ในการหมักด้วย เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมและประหยัดที่สุดในการผลิตขนาดใหญ่ขึ้นไป สภาวะการเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่สุดต้องมีการดูแลในหลายด้าน ตั้งแต่ภาชนะขนาดต่างๆ วัสดุในการผลิตภาชนะ อัตราส่วนของปริมาตรภาชนะต่อปริมาตรอาหาร วิธีการฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อก่อนทำการหมัก การเกิดฟอง รูปแบบและความเข้มของการให้อากาศและการกวนด้วยใบพัด การขยายการผลิตก็มีหลักอยู่ว่าต้องเริ่มจากถังหมักขนาดเล็ก ศึกษาความเป็นไปได้ทางเศรษฐศาสตร์ของปัญหาต่างๆ แล้วจึงศึกษาถึงขั้นโรงงานต่อไป (บุษบา, 2540)

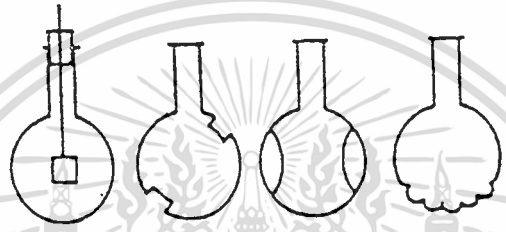
2.9.1 ฟลาสก์เลี้ยงเชื้อและเครื่องเขย่า (culture flasks and shakers)

การเลี้ยงเชื้อในฟลาสก์เพื่อการศึกษาและประเมินค่าความสามารถในการผลิตของจุลินทรีย์ ฟลาสก์ที่ใช้หมักมักมีขนาดเล็ก ไม่สะดวกในการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางเมตาบอลิซึม การศึกษาของผลของการให้อากาศ อุณหภูมิ การเติมสาร และการปรับ pH

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.1.1 ฟลาสก์เลี้ยงเชื้อ (culture flask)

ขนาดและรูปร่างที่นิยมใช้กันคือ ฟลาสก์แบบฟลาสก์ทรงกรวยป้าน (แบบ Erlenmeyer) และทรงกลม (conical flask) ขนาดจุ 500 มิลลิตร อัตราการถ่ายเทออกซิเจน (oxygen transfer rate) ภายในฟลาสก์ขึ้นอยู่กับลักษณะกลไกของฟลาสก์หรืออัตราส่วนของปริมาตรอาหารต่อปริมาตรของฟลาสก์ หรือโดยรูปร่างของฟลาสก์ ฟลาสก์ก้นแบนจะให้ค่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนสูงกว่าฟลาสก์ก้นกลม แต่ฟลาสก์ก้นกลมจะไม่ทำให้อาหารหลวเปื้อนจุกสำลีได้ง่าย เพิ่มอัตราการถ่ายเทออกซิเจนในฟลาสก์โดยการทำรอยเว้าในตัวฟลาสก์ให้มีลักษณะต่างๆ (ภาพที่ 2.8) ก็สามารถเพิ่มอัตราการถ่ายเทอากาศตามต้องการได้ (บุษบา, 2540)



ภาพที่ 2.8 ฟลาสก์ที่ใช้ในการหมัก
ที่มา : Sikyta (1983)

โดยทั่วไปฟลาสก์ทำด้วยแก้ว นิยมนำมาใช้เลี้ยงจุลินทรีย์ เพราะมีราคาถูก สามารถมองเห็นการเจริญของจุลินทรีย์และอาหารได้ดี นึ่งฆ่าเชื้อได้ง่าย ทำความสะอาดได้ดี แก้วที่นำมาทำฟลาสก์ควรมีคุณสมบัติที่ไม่ทำปฏิกิริยากับ กรด ด่าง หรือความร้อน แก้วมีข้อเสียบางประการเช่น แตกง่าย และในบางครั้งจุลินทรีย์สามารถเจริญตามผิวด้านในฟลาสก์ได้

2.9.1.2 เครื่องเขย่า

เครื่องเขย่า ควรมีลักษณะเงียบ เขย่าได้จำนวนรอบต่อนาทีที่ต้องการโดยไม่ผิดพลาดและเครื่องต้องไม่สั่นคลอน และทำงานติดต่อในช่วงเวลานานตามที่ต้องการโดยไม่มีการผิดพลาด และสามารถเปลี่ยนถาดเขย่าให้พอดีกับขนาดของฟลาสก์ได้ตามต้องการ

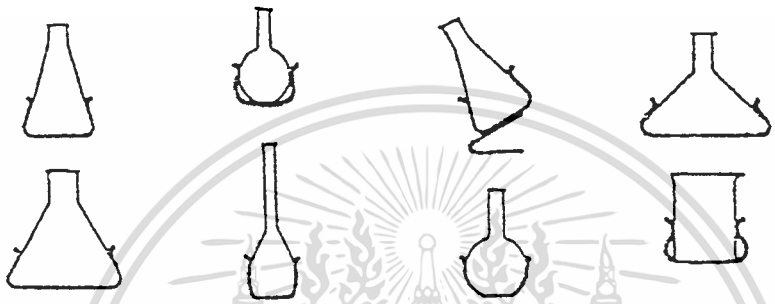
Reciprocal shaker เครื่องเขย่าแบบเขย่าไปมาซ้าย-ขวา จะมีราคาไม่แพง เหมาะสำหรับการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียและยีสต์ แต่ถ้านำมาเลี้ยงเชื้อราพบว่าทำให้เกิดชั้นแข็งๆของผิวหน้าอาหารได้ ใช้ค่าความถี่ 1-3 Hz และค่าแอมพลิจูด (amplitude) 30-80 มิลลิเมตร (บุษบา, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Rotary shaker เครื่องเขย่าแบบเขย่าเป็นวงกลม พบว่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนสูงกว่าแบบแรก ใช้ค่าความถี่ 1.5-7 Hz ค่า excentricity 10-15 มิลลิเมตร (บุษบา, 2540)

2.9.1.3 วิธีการเลี้ยงเชื้อในฟลาสก์ (culture procedures)

ฟลาสก์ถูกยึดบนถาดเครื่องเขย่ามีลักษณะต่างๆกันตามขนาดและรูปร่างของฟลาสก์ (ภาพที่ 2.9) และฟลาสก์ทำมุม 15-30 องศา พบว่าอัตราการถ่ายเทออกซิเจนจะดีขึ้นกว่าวางแบบปกติ สามารถวางถาดซ้อนกันได้ถึง 4 ชั้น (บุษบา, 2540)

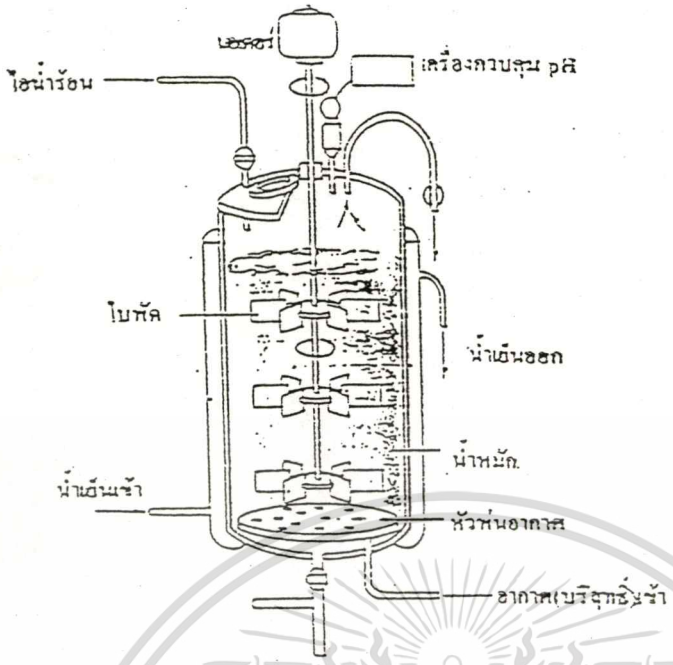


ภาพที่ 2.9 ลักษณะการยึดฟลาสก์บนถาดเครื่องเขย่า
ที่มา : Sikyta (1983)

2.9.2 ถังหมัก

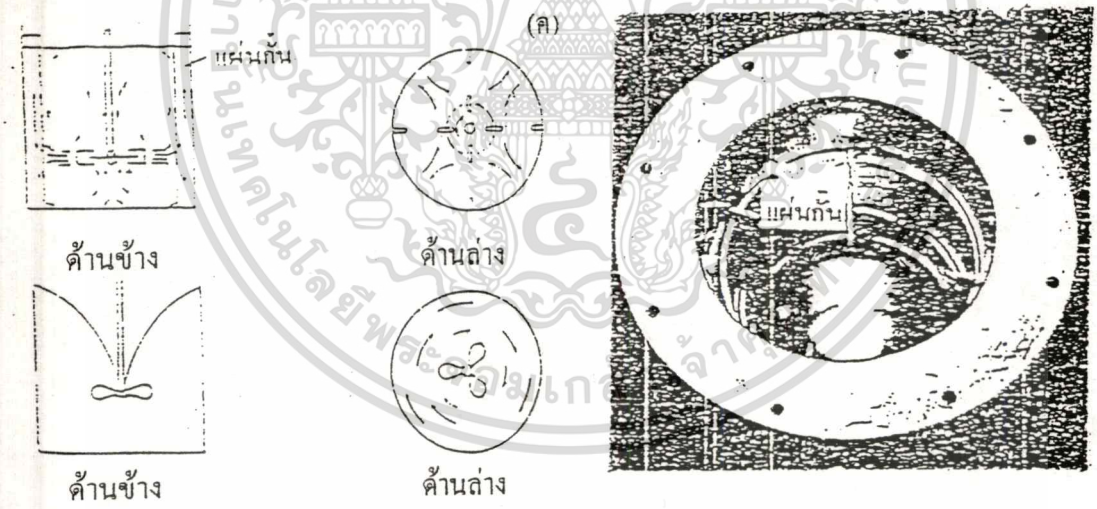
ถังหมักหรือถังเฟอร์เมนเตอร์ (fermentor) เป็นสิ่งจำเป็นพื้นฐานที่จะต้องมีในการศึกษาเกี่ยวกับการหมัก และเป็นอุปกรณ์ที่สำคัญมากในอุตสาหกรรมการหมัก มีรูปร่างหลายแบบขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ของการใช้งาน ภายในถังหมักประกอบด้วยใบพัดสำหรับกวนอาหาร ท่อพ่นอากาศ และแผ่นกั้น (baffle) ซึ่งช่วยให้สารอาหาร อากาศและเชื้อจุลินทรีย์สามารถผสมและคลุกเคล้ากันได้ดี ป้องกันไม่ให้เกิดปรากฏการณ์ที่เรียกว่า "สะดือทะเล" (Vortex phenomena) ซึ่งเกิดขึ้นเนื่องจากอาหารเกิดการหมุนไปตามแรงของใบพัดจนทำให้เกิดลักษณะเป็นโพรงตรงกลาง ลักษณะคล้ายสะดือทะเล โดยจะทำให้อากาศที่ได้จากการหมุนของใบพัดเกิดการสูญเสียไปตามช่องว่างตรงบริเวณสะดือทะเล อย่างไรก็ตามปรากฏการณ์ดังกล่าวสามารถแก้ไขได้โดยการติดแผ่นกั้น เพื่อต้านทานการหมุนในลักษณะดังกล่าว (วราวุฒิ และกรวิกา, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.10 ลักษณะของถังหมักที่ใช้ในอุตสาหกรรม

ที่มา : Creuger และ Creuger (1990)



ภาพที่ 2.11 ลักษณะของแผ่นกั้น (Baffle)

ก. มีแผ่นกั้น ข. ไม่มีแผ่นกั้น

ค. แผ่นกั้นในถังหมัก จำนวน 4 แผ่น

ที่มา : Smith (1985) ; Solomon (1969); วราวุฒิ และกรวิกา (2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัสดุที่นำมาใช้โดยทั่วไปมี แก้ว เหล็กไร้สนิม หรือทองแดง ในระดับห้องปฏิบัติการนิยมใช้แก้วหรือเหล็กไร้สนิม แต่ขนาดใหญ่ขึ้นมักใช้เหล็กไร้สนิม บางแห่งใช้โลหะหุ้มแก้ว หรือใบบางครั้งใช้เหล็กหุ้มด้วย phenolic epoxy มักนิยมใช้เหล็กไร้สนิมเพราะมีอายุการใช้งานมากกว่า และทนกว่า

Glacken *et al.* (1983) ได้เสนอการออกแบบถังหมักพื้นฐานควรพิจารณา ดังตารางที่ 2.1 และเครื่องมือที่ใช้ในถังหมัก เสนอโดย Atkinson and Mavituna (1983) ในตารางที่ 2.2

ตารางที่ 2.1 ข้อพิจารณาการออกแบบถังหมักพื้นฐาน

ลำดับที่	การพิจารณาการออกแบบถังหมักพื้นฐาน
1	คุณลักษณะทางชีวเคมีของเซลล์
2	คุณลักษณะ hydrodynamic ของถังหมัก
3	คุณลักษณะมวลสาร และความร้อนของถังหมัก
4	จลนพลศาสตร์ (kinetics) ของการเจริญของเซลล์ และการสร้างสารผลิตภัณฑ์
5	ความคงตัวด้านพันธุกรรมของระบบเซลล์
6	การออกแบบเครื่องมือแบบปลอดเชื้อ
7	การควบคุมสิ่งแวดล้อมของถังหมัก (ทั้งสิ่งแวดล้อมใหญ่และเล็ก)
8	การออกแบบถังหมักเพื่อการแยกสาร
9	ค่าใช้จ่ายในการลงทุน และค่าเดินเครื่องถังหมัก
10	ศักยภาพการขยายขนาดของถังหมัก

ที่มา : Glacken *et al.* (1983)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 เครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ร่วมกับถังหมัก

ปัจจัย	เครื่องมือที่ใช้
ความดัน	เซนเซอร์ที่เกี่ยวกับลม (pneumatic sensor) หรือ strain guage sensor
ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	อีเล็คโทรดแก้ว และอีเล็คโทรดเรฟเฟอเรนซ์ (reference eletrode)
อัตราการกวน	ทาโคมีเตอร์ (Tacometer)
การไหลของอากาศ	โฟลมีเตอร์ (flowmeter), orific plate
การเกิดคาร์บอนไดออกไซด์	เครื่องวิเคราะห์อินฟราเรด
การใช้ออกซิเจน	เครื่องวิเคราะห์เซอร์โคเนีย (zirconia analyser)
ออกซิเจนละลายน้ำ	โพลาโรกราฟฟิค ออกซิเจนอิเล็กโทรด
อุณหภูมิ	เทอร์โมคัปเปิล, เทอร์โมมีเตอร์

ที่มา : Atkinson และ Mavituna (1983)

ถังหมักโดยทั่วไปมีการพัฒนาทางด้านการให้อากาศและการกวน จึงมีวิธีการออกแบบถังหมักออกเป็น 2 แนวทาง คือ

1. ระบบการกวนและการให้อากาศโดยเชิงกล (mechanical agitation and aeration system) ถังหมักลักษณะแบบนี้เป็นพื้นฐานของถังหมักที่เรียกว่า ถังหมักที่มีระบบการกวนอย่างต่อเนื่อง (continuous stirred tank reactor, CSTR) นิยมใช้กันมากในห้องปฏิบัติการและในการหมักระดับอุตสาหกรรม และได้มีการออกแบบเพื่อลดพลังงานที่ใช้ในการกวนลงโดยอาศัยการใช้ท่อที่เรียกว่า draft tube เพื่อช่วยในการหมุนเวียนของอาหารที่ดีขึ้น ได้แก่ ถังหมักระบบย้อนกลับหรือแบบลูป (recycle หรือ loop fermenter)

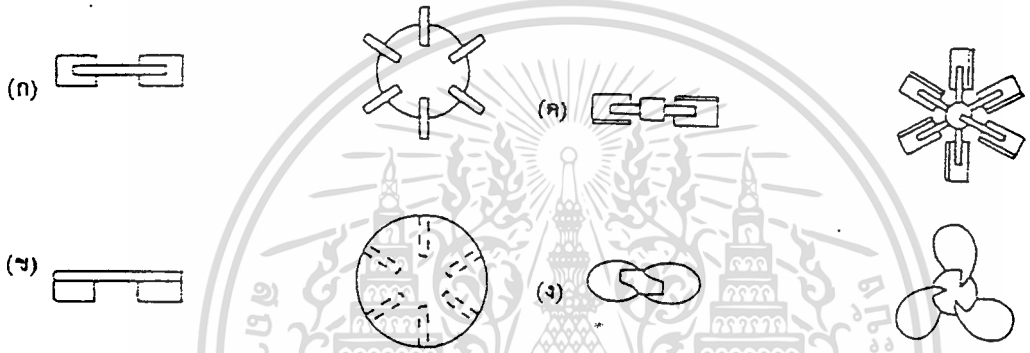
2. ระบบการกระจายอากาศ (air distribution system) เพื่อต้องการให้ใช้พลังงานต่ำจึงให้อากาศโดยการปั๊มอากาศที่สะอาดเข้าไปทางด้านล่างของถังหมัก และภายในถังหมักจะมีท่อ draft tube อยู่ด้วย อากาศจะเกิดการไหลเวียนเป็นวงจรเนื่องจากการลอยตัวของอากาศซึ่งจะลอยขึ้นตามทิศทางเดียวกัน และความแรงของอากาศที่ถูกปั๊มจะช่วยบังคับทิศทางของอากาศให้ไหลกระจายอยู่ในลักษณะลูป ถังหมักดังกล่าวเรียกว่า ถังหมักระบบการยกอากาศ (airlift fermenter)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.2.1 ใบพัดหรือใบกวน (impeller, agitator)

ในการเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารแบบ submerged cultivation ต้องพ่นอากาศลงไปและใช้ใบพัดกวนให้อาหาร จุลินทรีย์และอากาศผสมคลุกเคล้า โครงสร้างถังหมักที่เกี่ยวข้องกับระบบดังกล่าวจึงต้องมี ใบพัดหรือใบกวน (impeller หรือ agitator) stirrer glands and bearings, baffles และระบบการให้อากาศ (aeration system หรือ sparger)

ใบพัดทำหน้าที่สำคัญ 2 ประการ คือ ลดขนาดของฟองอากาศ เพื่อเพิ่มพื้นที่ผิวสำหรับการถ่ายเทออกซิเจนให้มากขึ้น และเพื่อให้สภาวะแวดล้อมคงที่ทั่วภายในถังหมักตลอดเวลา ใบพัดมีหลายแบบ เช่น disc turbine, vaned discs, open turbines, marine propeller ดังภาพที่ 2.12



ภาพที่ 2.12 ลักษณะของใบพัด (imperllers)

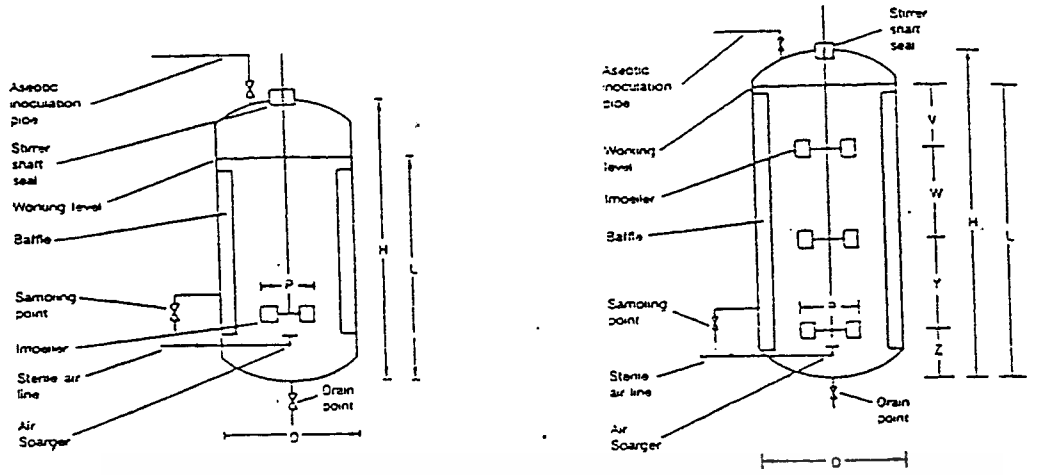
ก. disc turbine ค. open turbine

ข. vaned disc ง. marine properller

ที่มา : Solomon (1969)

โดยทั่วไปใบพัดจะรวมแท่งยึดจะมีขนาดประมาณ 1/3-1/2 ของส่วน D (ภาพที่ 2.13) และความถี่ของ impeller ว่าจะมีกี่ชุดในถังหมัก ก็จะต้องดูความสูงของถังหมัก ถ้าค่า L/D มีค่าสูงกว่า 1 ก็ต้องเติมใบพัดอีก 1 ชุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

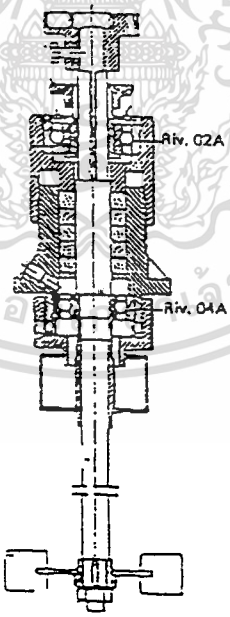


ภาพที่ 2.13 รูปแบบถังหมักที่มีใบกวน 1 ชุด และรูปแบบถังหมักที่มีใบกวน 3 ชุด

ที่มา : Stanbury and Whitaker (1984)

2.9.2.2 Stirrer glands and bearings

แกนหมุนใบพัดและฝาประเก็นกับเพลา เป็นส่วนหนึ่งที่สำคัญของการกวนให้อากาศ และต้องมีการออกแบบการประกอบให้ดี เพื่อให้ทำงานได้นานและไม่เกิดการปะปนของเชื้อแปลกปลอมได้ (ภาพที่ 2.14)



ภาพที่ 2.14 การเชื่อมต่อของแกนกวนที่ด้านบนของถังหมักเป็นชุดใหญ่ (packed-gland stirrer)

ที่มา : Stanbury and Whitaker (1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การประกอบแกนหมุนใบพัดเข้ากับถังหมักค่อนข้างซับซ้อน มีการใช้ไขหินหรือเส้นใยฝ้าย อัดแน่นเป็นวงหลายๆชั้นๆ รอบแกนหมุนและมีปลอกหุ้ม

2.9.2.3 ฉากกั้น (Baffle)

เป็นฉากกั้นที่ยึดติดกัน 4 ตัวด้วยฐานเดียวกัน 4 ทิศ มีความกว้าง 1/10 ของเส้นผ่าศูนย์กลางถังหมัก เช่น ถังหมักขนาด 10,000 ลิตร ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 150 เซนติเมตร จะมี baffles 4 ใบ แต่ละใบมีความกว้าง 10 เซนติเมตร และห่างจากข้างถังหมัก 3.5 เซนติเมตร

2.9.2.4 ระบบการให้อากาศ (The aeration system หรือ sparger)

เป็นเครื่องมือที่ให้อากาศผ่านเข้าไปในถังหมัก โดยต้องทราบว่าการหมักจะมีแต่ sparger พร้อมด้วยการกวนด้วยใบพัด เพราะจะส่งผลต่อการออกแบบและหาขนาดของฟองอากาศได้ มีอยู่ 3 แบบ คือ

1. แบบ porous sparger ทำด้วย sintered glass ซีรามิก (ceramics) หรือ โลหะ ให้ฟองอากาศขนาดใหญ่ 10-100 เท่าของรูอากาศของวัตถุที่ใช้

2. แบบ orifice sparger ทำด้วยโลหะเป็นแท่งกลวง มักทำเป็นแท่งกลวง หรือแท่งกากบาท มีเส้นผ่าศูนย์กลาง 3/4 ของใบพัด ท่อโลหะเหล่านี้เจาะรูให้อากาศออกด้านใต้ท่อ สามารถใช้ได้โดยไม่มีการกวนด้วยใบพัด

3. แบบ nozzle sparger มักจะวางท่อใต้ impeller และมีรูให้อากาศออกเพียง รูเดียวและให้ห่าง impeller ให้มากที่สุด เพื่อมิให้ใบพัดสำลักกระแสอากาศได้ แบบนี้นิยมใช้กับถังหมักที่มีใบพัดประกอบอยู่ด้วย

โดยทั่วไปการให้อากาศแก่ถังหมักโดยการเครื่องปั๊มอากาศผ่านเข้าไปในท่อผ่านเครื่องกรองอากาศ และอากาศจะออกมาทาง sparger ที่จะมีรูให้อากาศออกขนาด 1/4-1/32 นิ้ว ซึ่งจำเป็นต้องอาศัยการกวน หรือใบพัดหมุนด้วย ซึ่งช่วยแลกเปลี่ยนหมุนเวียนก๊าซออกซิเจนในอาหารและในส่วนที่ว่างเหนืออาหาร (head space) ส่วนฉากกั้นในถังหมักช่วยทำให้อาหารเหลวที่เคลื่อนที่ด้วยแรงหมุนของใบพัดมาปะทะอาหารแตกกระจาย และมีการปะทะกลับทำให้เกิดการผสมระหว่างอากาศและอาหารมีมากขึ้น (บุษบา, 2540)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.2.5 การควบคุมอุณหภูมิ

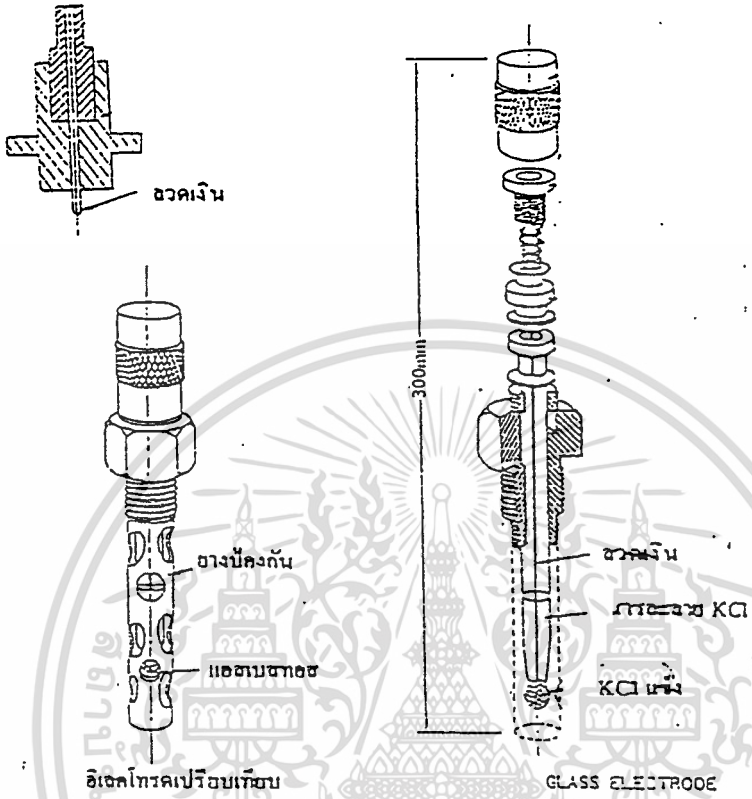
ในระหว่างการหมัก จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโต ทำให้เกิดพลังงานความร้อนขึ้น ซึ่งเป็นผลมาจากปฏิกิริยาทางชีวเคมีในการออกซิไดซ์สารอาหารของจุลินทรีย์ และจุลินทรีย์แต่ละชนิดมีสภาพอุณหภูมิที่เหมาะสม (optimum temperature) ในการเปลี่ยนแปลงสาร ดังนั้นจำเป็นต้องมีการควบคุมอุณหภูมิในระหว่างการหมัก

ในการควบคุมอุณหภูมิของน้ำหมักในถังหมัก จะประกอบด้วย ระบบหล่อเย็นกับตัวทำความร้อน โดยอาศัยการทำงานจากแท่งวัดการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิที่อยู่ภายในถังหมัก ซึ่งจะมีขั้ววัดอุณหภูมิ (temperature sensing device) สอดเข้าไปสัมผัสกับน้ำหมักโดยตรง เมื่ออุณหภูมิสูงขึ้นสัญญาณจากแท่งวัดจะส่งเข้าเครื่องควบคุมเพื่อเปรียบเทียบกับสัญญาณมาตรฐานที่ตั้งไว้ตามอุณหภูมิที่ต้องการ ถ้าสัญญาณสูงกว่ามาตรฐานที่ตั้งไว้ก็จะไปกระตุ้นให้วาล์วโซลินอยด์ (solenoid valve) เปิดออก น้ำเย็นก็จะเข้ามาหล่อเย็น ในขณะที่อุณหภูมิต่ำกว่าที่กำหนดก็จะมีสัญญาณไปกระตุ้นให้เครื่องทำความร้อน (heat exchanger) ทำงาน

2.9.2.6 การควบคุม pH

ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในการหมักมักมีคุณสมบัติที่เป็นบัฟเฟอร์ (buffer) อยู่แล้ว แต่ถ้ามีการหมักหลายชนิดอาจเกิดการเปลี่ยนแปลงของ pH อย่างรวดเร็วมากและอยู่ในช่วงกว้างมากจนกระทั่งไม่สามารถผลิตผลิตภัณฑ์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการควบคุมให้ pH ของน้ำหมักอยู่ในช่วงที่พอเหมาะ โดยอาศัยเครื่องมือวัดและการควบคุมซึ่งประกอบด้วย เครื่องควบคุมซึ่งมีหน้าปัทม์สำหรับอ่านค่า pH pH probe และปั๊ม (pump) สำหรับเติมกรดและด่างเข้าถังหมัก แท่งวัดการเปลี่ยนแปลง pH (ภาพที่ 15) ที่ใช้ในอุตสาหกรรมการหมักควรทนอุณหภูมิในการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมงได้ และควรมีอายุการใช้เป็นเวลานานติดต่อกันไม่ต่ำกว่า 200 ชั่วโมง โดยไม่ต้องเติมโปแตสเซียมคลอไรด์ (KCl) ที่ขั้วของมัน (วราวุฒิ และกรวิกา, 2539)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า



ภาพที่ 2.15 ลักษณะของแท่งวัดการเปลี่ยนแปลง pH ที่ใช้ในถังหมัก

ที่มา : Aiba *et al.* (1965); วราวุฒิ และกรวิกา (2539)

2.9.2.7 การควบคุมออกซิเจน

ปริมาณออกซิเจนในอาหารเหลวมีผลโดยตรงต่อการเจริญและการผลิตผลิตภัณฑ์ของจุลินทรีย์ นอกจากนี้เป็นปัจจัยหนึ่งในการพิจารณาการขยายถังหมัก ดังนั้นจึงจำเป็นต้องมีการควบคุมปริมาณออกซิเจน การวัดปริมาณออกซิเจนสามารถทำได้โดยการเก็บอาหารเหลวออกมาทำการวัดโดยการไตเตรท (Winkler method) วิธีการนี้ไม่สะดวกและอาจเกิดการผิดพลาดได้ง่าย ดังนั้นจึงใช้การควบคุมปริมาณออกซิเจนที่ละลาย (dissolved oxygen หรือ D.O.) ในถังหมักแทน โดยสามารถวัดและควบคุมปริมาณออกซิเจนได้ด้วยการใช้แท่งวัดการเปลี่ยนแปลงออกซิเจน (oxygen probe) ที่สามารถทนอุณหภูมิสูง 121 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมง โดยแท่งวัดการเปลี่ยนแปลงออกซิเจนประกอบด้วย ขั้วบวก ขั้วลบ และน้ำยาอิเลคโตรไลท์ (electrolyte)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

2.9.2.8 การกำจัดฟอง

เมื่อพ่นอากาศ เข้าไปในถังหมักและถูกใบพัดกวนตีจนฟองอากาศเล็กๆ จำนวนมาก ทำให้เกิดฟองขึ้นบนผิวหน้าของอาหารเหลวเกิดขึ้นมากขณะที่มีการเจริญของจุลินทรีย์ เนื่องมาจากสารประกอบจำพวกโปรตีนและเปปไตด์ถูกขับถ่ายออกมา ทำให้อาหารเหลวมีความหนืดสูงขึ้น ฟองที่เกิดขึ้นทำให้ประสิทธิภาพการถ่ายเทอากาศระหว่างอาหารเหลวกับบรรยากาศลดต่ำลง เนื่องจากการระเหยน้ำและสารที่ระเหยได้ง่าย และถ้ามีฟองอากาศล้นออกนอกถัง ฟองอากาศที่แตกสลายกลับลงไปในถังอาจก่อให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์จากชนิดอื่นได้

การกำจัดฟองสามารถทำได้โดยการใช้ใบพัดตีฟองให้แตก และอาจใช้สารกำจัดฟอง (antifoam) โดยทั่วไปในอุตสาหกรรมการหมักพบว่าระบบการกำจัดฟองจะเป็นระบบอัตโนมัติ อาศัยเครื่องควบคุมที่ต่อเข้ากับแท่งวัดฟองที่อยู่ภายในถังหมัก

2.10 ผลของออกซิเจนต่อการเจริญเติบโตและการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

A. xylinum

ออกซิเจนนับว่าเป็นกาซที่มีความสำคัญมากในการดำรงชีวิตของคน สัตว์ และพืช เพราะต้องถูกนำไปใช้ในขบวนการต่างๆ เพื่อก่อให้เกิดพลังงานขบวนการต่างๆ ที่ต้องการออกซิเจนเรียกว่า aerobic process

การหาค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (Dissolved Oxygen, DO) คือการหาปริมาณออกซิเจนซึ่งละลายอยู่ในน้ำ โดยใช้เครื่องมือ DO meter หรือ Oxygen meter วัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำเนื่องจากแบคทีเรีย *A. xylinum* เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต ดังนั้นในการหมักโดยทั่วไปเพื่อให้เชื้อดังกล่าวเจริญได้อย่างรวดเร็วและสร้างวุ้นเซลลูโลสได้ดี ควรทำการหมักในภาชนะที่มีผิวหน้ากว้าง เพื่อให้มีการซึมผ่านของออกซิเจนเข้ามาในอาหารได้ดี และโดยทั่วไปแล้วแบคทีเรียดังกล่าวต้องการออกซิเจนในการเจริญ เชื้อจุลินทรีย์จึงลอยตัวอยู่บนผิวหน้าของอาหารเหลวที่ผิวนิ่ง (Hestrin and Schramm, 1954) และเมื่อเชื้อมีจำนวนและความหนาแน่นของปริมาณเชื้อในระดับหนึ่ง ก็จะสร้างวุ้นขึ้นมา แผ่นวุ้นเซลลูโลสที่สร้างขึ้นอาจจมลงได้เมื่อมีการกระทบกระเทือน ซึ่งเมื่อวุ้นแผ่นเดิมจมลง เชื้อก็จะสร้างวุ้นขึ้นมาที่ผิวหน้าใหม่ แต่โดยทั่วไปแล้วการหมักในสภาวะผิวนิ่งจำเป็นต้องใช้เวลาในการหมักที่นาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Williums and Cannon (1989) ได้รายงานว่าสามารถเลี้ยง *A. xylinum* ในอาหารเหลวที่มีการกวนหรือการเขย่าได้ พบว่าการกวนหรือการเขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้เชื้อเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว แต่พบว่ามีปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักที่มากเกินไป ส่งผลให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้มีปริมาณที่ลดลง (negative effect) และนอกจากนี้ยังพบว่า *A. xylinum* ต้องการอากาศเพียงเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (microaerophilic)

อย่างไรก็ตามจากการศึกษาของ Joris *et al.* (1993) พบว่าสามารถลดผลกระทบจาก negative effect ที่เกิดจากปริมาณออกซิเจนในน้ำหมักที่มากเกินไปจากการกวน หรือการเขย่าอาหารเลี้ยงเชื้อได้โดยการเติมสารจำพวก micro-particle ลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ โดยสามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสจากแบคทีเรียดังกล่าวได้ ทั้งนี้สาร micro-particle ที่เติมลงในอาหารเหลวจะสร้างสภาวะที่เรียกว่า microaerophilic condition ให้แบคทีเรียดังกล่าวสามารถใช้ออกซิเจนในปริมาณที่จำกัด

นอกจากนี้ Joris *et al.* (1993) ได้ทำการเปรียบเทียบผลของการใช้ micro-particle และผลของความเร็วรอบของการเขย่า ต่อการสร้างเซลลูโลสจาก *A. xylinum* โดยในด้านความเร็วรอบ
ของการเขย่าหรือการกวน พบว่าถ้าเพิ่มความเร็วรอบของการเขย่าหรือการกวน จะส่งผลให้เกิดปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำที่มากเกินไป ส่งผลให้การสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* มีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อทำการเปรียบเทียบผลของการใช้ micro-particle ชนิดต่างๆ ที่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณเซลลูโลส โดยเลี้ยงเชื้อในสภาวะที่มีการเขย่า พบว่าการใช้ diatomaceous earth และเม็ดแก้วเติมลงในอาหารที่ใช้ในการหมัก ทำให้น้ำหนักสุทธิของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เติมสาร micro-particle

การใช้ micro-particle เพื่อเพิ่มปริมาณของเซลลูโลส เป็นแนวทางหนึ่งที่ใช้ในการแก้ปัญหาอัตราการผลิตเซลลูโลสที่ต่ำในการหมักแบบให้อากาศและในสภาพที่มีการเขย่า เพราะการเติมสาร micro-particle ลงในอาหารช่วยในการลดปริมาณออกซิเจนที่มากเกินไป และเพิ่มปริมาณเซลลูโลสให้มากขึ้นได้ พบว่าการเติมสาร micro-particle ลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* จะเป็นตัวดึงอากาศเข้ามาอยู่ภายใน particulate carriers ทำให้เชื้อดังกล่าวสามารถใช้อากาศในการผลิตเซลลูโลสในปริมาณที่เหมาะสม ทำให้ผลิตเซลลูโลสในปริมาณที่สูงขึ้น และยังเป็นตัวที่ทำให้สายเส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อดังกล่าวเกาะรวมตัวกันได้ดีอีกด้วย (Joris *et al.*, 1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการทดลองของ Krusong *et al.* (1995) พบว่าสามารถลดปัญหาของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินไปให้ลดลงได้โดยการเติม Alginate Gel Beads (AG beads) สำหรับการสร้างเซลลูโลสจาก *A.xylinum* ที่ได้จากการกวนแบบ Reciprocal และ Rotary โดยจากการทดลองพบว่าการใช้ AG beads ในปริมาณร้อยละ 5 สามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสที่ได้จาก *A. xylinum* โดย Reciprocal agitated culture ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุด และเมื่อเปรียบเทียบการเขย่าที่ได้จาก Reciprocal กับ Rotary Shaker พบว่า Rotary มีแรงในการเขย่าที่มากกว่า Reciprocal ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักสูงเกินไปส่งผลให้การสร้างเซลลูโลสมีปริมาณที่น้อยกว่า

ผลของการขยายขนาดในการหมักโดยใช้ถังปฏิกรณ์ชีวภาพ (Fermentor) โดยจากการศึกษาของ Krusong and Yoshida (1995) พบว่าเมื่อทำการเลี้ยง *A. xylinum* ภายในถังหมักขนาด 3 ลิตร โดยใช้ปริมาตรน้ำหมัก 1 ลิตร ทำการควบคุมความเร็วรอบของการกวน 100 รอบต่อนาที โดยใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเติม AG beads ร้อยละ 5 พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสให้เพิ่มขึ้นได้เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่เติม AG beads

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 น้ำมะพร้าวแก่

3.1.2 น้ำตาลทราย (น้ำตาลซูโครส)

3.1.3 Cellulose Porous Bead (CPB)

3.1.4 Cellulose Powder (CP)

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK 1

3.3 อุปกรณ์การผลิต

3.3.1	เครื่องตีปั่น (Blender)	Warning	อเมริกา
3.3.2	เครื่องชั่งน้ำหนัก	Mettler PE3000	ญี่ปุ่น
3.3.3	หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)	Tomy ss-245	ญี่ปุ่น
3.3.4	pH Meter	Suntex SP-701	ญี่ปุ่น
3.3.5	เครื่องวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ (Dissolved oxygen, Do)	Mettler	สวิสเซอร์แลนด์
3.3.6	ถังปฏิกรณ์ชีวภาพแบบมีใบพัดกวนขนาด 5 ลิตร และแบบ air-lift	B.Braun	เยอรมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 อุปกรณ์สำหรับการวิเคราะห์

3.4.1	เครื่องชั่งน้ำหนัก	Mettler PE3000	ญี่ปุ่น
3.4.2	Hot air oven	Memmert	เยอรมัน
3.4.3	เตาเผา	Carbolite Furnance	เยอรมัน
3.4.4	เครื่องวิเคราะห์โปรตีน	Buchi 425	เยอรมัน
3.4.5	เครื่องวิเคราะห์ไขมัน	Buchi B810	สวิสเซอร์แลนด์
3.4.6	เครื่องวิเคราะห์ Dietary Fiber	Gerharat	เยอรมัน
3.4.7	Centrifuge	Kontron T 42 K	อิตาลี
3.4.8	ครูซิเบิ้ลกระเบื้อง		
3.4.9	Aluminium Can		
3.4.10	อุปกรณ์เครื่องแก้วและเคมีภัณฑ์		

3.5 สถานที่ทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ห้องปฏิบัติการแปรรูปอาหารและห้องปฏิบัติการโปรแกรมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสวนดุสิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6 วิธีการทดลอง

3.6.1 วิธีการเตรียมหัวเชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK

เตรียมหัวเชื้อ *A. xylinum* ตามวิธีของ วราวุฒิ และคณะ (2535) โดยเลี้ยงในอาหารน้ำ มะพร้าวในหลอดทดลอง แล้วถ่ายใส่น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นถ่ายเชื้อ *A xylinum* ลงในหลอดทดสอบแล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่า 3 วัน จึงถ่ายลงในฟลาสก์ชมพู่ นำเข้าเครื่องเขย่าอีก 3 วัน ให้นำเชื้อที่อยู่ในฟลาสก์ชมพู่ไปตีปั่นกับอาหารสังเคราะห์ (Hestrin and Schramm, 1954) 500 มิลลิลิตร เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตเซลลูโลสต่อไป ดังแสดงในภาพที่ 3.1

ภาพที่ 3.1. ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.2 การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลสของ *A.xylinum* โดยทำการศึกษาในสภาวะการหมักแบบเขย่า (shaked condition)

ทำการศึกษาโดยเลี้ยงเชื้อในอาหารสังเคราะห์ (Hestrin and Shramm, 1954) ทำการหมัก ในฟลาสก์ขนาด 250 มล โดยให้มีปริมาตรของน้ำหมักเท่ากับ 100 มล โดยใช้ความเร็วรอบของ การเขย่าต่างๆกัน คือ 50 75 100 125 รอบต่อนาที ทำการนับจำนวนเซลล์ที่ 0 1 3 5 และ 7 วันตาม ลำดับ และวิเคราะห์ค่า DO ของน้ำหมัก ภายหลังการหมักครบ 7 วัน โดยทำการ calibrate DO probe ด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์

หลังการทำการหมักครบ 7 วัน นำวุ้นเซลลูโลสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณเซล (cell content) ของ *A. xylinum* ตามวิธีของ Watanabe and Yamanaka (1995) และวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส (Krusong *et al.*, 1995) ที่ได้โดยเทียบกับปริมาตรของน้ำหมักที่ใช้ เพื่อเลือกความเร็วรอบที่เหมาะสมที่จะใช้ศึกษาในข้อต่อไป โดยทำการทดลองแบบ Complete Randomized Design (CRD)

3.6.3.การศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* ในสภาวะที่มีการเติม microaerophillic carrier

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้มีองค์ประกอบและวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 3.6.2 ศึกษาสภาวะการหมักแบบเขย่าที่มีการเติมสาร microaerophillic carriers โดยทำการศึกษาชนิดและ ปริมาณของสาร microaerophillic carriers ดังนี้คือ cellulose porous bead และ cellulose powder โดย เติมลงในน้ำหมักในปริมาณ (ร้อยละของน้ำหนักต่อปริมาตร) 0 0.025 0.05 0.075 และ 0.1 ศึกษาการหมัก เป็นระยะเวลา 7 วัน โดยใช้ความเร็วรอบของการเขย่าที่เหมาะสมแล้วตามผลการทดลองจากข้อ 3. 6.2 ทำการนับจำนวนเซลล์ที่ 0 1 3 5 และ 7 วันตามลำดับ และวัดค่า DO ของน้ำหมักภายหลังการหมัก ครบ 7 วัน calibrate DO probe ด้วยสารละลายโซเดียมซัลไฟต์

ภายหลังสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณเซล (cell content) ของเชื้อ *A. xylinum* ตามวิธีของ Watanabe and Yamanaka (1995) และวิเคราะห์ปริมาณ เซลลูโลส (Krusong *et al.*, 1995) ที่ได้เทียบกับปริมาตรของน้ำหมักที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.4.ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลส ของ *A. xylinum* โดยทำการศึกษาแบบ batch ในระดับการผลิตภายใน ถังหมัก แบบกวนขนาด 5 ลิตร โดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษาดังนี้

3.6.4.1 ค่า DO ที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum*

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้มีองค์ประกอบเดียวกับอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อในข้อ 3.6.2 แต่ใช้ปริมาตร 5 ลิตร ทำการหมักในสภาวะของการกวนโดยความเร็วรอบที่ใช้คือ 50 75 100 125 รอบต่อนาที ทำการหมักเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์ที่ 0 1 3 5 และ 7 วันตามลำดับ บันทึกค่า DO ของน้ำหมักทุกๆ 24 ชั่วโมง โดยทำการ calibrate DO probe โดยใช้สารละลายโซเดียมซัลไฟด์

หลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณเซล (cell content) ของเชื้อ *A. xylinum* ตามวิธีการของ Watanabe and Yamanaka (1995) และวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส (Krusong *et al.*, 1995) ที่ได้โดยเปรียบเทียบกับปริมาตรของน้ำหมักที่ใช้

3.6.4.2 ผลของชนิดและปริมาณของการเติมสาร microaerophillic carriers

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้มีองค์ประกอบเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในข้อเดียวกับการทดลองข้อ 3. 6.2

ปัจจัยที่ทำการศึกษาคือปริมาณของสาร microaerophillic carriers (ร้อยละของน้ำหนักต่อ ปริมาตร) 0 0.025 0.05 0.075 และ 0.1

ทำการหมักในสภาวะที่มีการกวนที่เหมาะสมจากการทดลองจากข้อ 3.6.4.1ทำการหมักเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์ที่ 0 1 3 5 และ 7 วันตามลำดับ บันทึกค่า DO ของน้ำหมักทุกๆ 24 ชั่วโมง โดยทำการ calibrate DO probe โดยใช้สารละลายโซเดียมซัลไฟด์

ภายหลังสิ้นสุดระยะเวลาการหมักนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณเซล (cell content) ของ *A. xylinum* ตามวิธีการของ Watanabe and Yamanaka (1995) และวิเคราะห์ปริมาณ เซลลูโลส (Krusong *et al.*, 1995) ที่ได้โดยเทียบกับปริมาตรของน้ำหมักที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.6.5.ศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลส ของเชื้อ *A. xylinum* โดยทำการศึกษาแบบ batch ในระดับการผลิตในถังหมัก air-lift ขนาด 2 ลิตร โดยมีปัจจัยที่ทำการศึกษาดังนี้

3.6.5.1 ค่า DO ที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นเซลลูโลสของเชื้อ *A.xylinum*

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้มีองค์ประกอบและวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อในข้อ 3.6.2 ทำการหมักในสภาวะที่มีการให้อากาศโดยทำการศึกษาศึกษาความเข้มข้นของออกซิเจนต่างๆคือ หมักเป็นระยะเวลา 7 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์ที่ 0 1 3 5 และ 7 วันตามลำดับ และทำการบันทึกค่า DO ของน้ำหมักทุกๆ 24 ชั่วโมง โดยทำการ calibrate DO probe โดยใช้สารละลายโซเดียมซัลไฟด์

หลังจากสิ้นสุดระยะเวลาในการหมักหมักนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณเซล (cell content) ของ *A.xylinum* ตามวิธีการของ Watanabe and Yamanaka (1995) และวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส (Krusong *et al.*, 1995) ที่ได้โดยเทียบกับปริมาตรของน้ำหมักที่ใช้

3.6.5.2 ผลของชนิดและปริมาณของการเติมสาร microaerophillic carriers

อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้มีองค์ประกอบเดียวกับอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ในข้อเดียวกับการทด ลองข้อ 3.6.2

ทำการหมักในสภาวะที่มีการให้อากาศจากการทดลองจากข้อ 3.6.5.1 ทำการหมักเป็นระ ยะเวลา 7 วัน ทำการนับจำนวนเซลล์ที่ 0 1 3 5 และ 7 วันตามลำดับ บันทึกค่า DO ของน้ำหมักทุกๆ 24 ชั่วโมง โดยทำการ calibrate DO probe โดยใช้สารละลายโซเดียมซัลไฟด์

ภายหลังสิ้นสุดระยะเวลาการหมักนำเจลเซลลูโลสที่ได้มาวิเคราะห์ปริมาณเซล (cell content) ของ *A. xylinum* ตามวิธีการของ Watanabe and Yamanaka (1995) และวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส (Krusong *et al.*, 1995) ที่ได้โดยเทียบกับปริมาตรของน้ำหมักที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า (Shaken cultivation)

จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถการสร้างวุ้นเซลลูโลสของ *A. xylinum* โดยทำการศึกษาในสภาวะแบบเขย่า (Shaken cultivation) โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารสังเคราะห์ (Hestrin and Schramm, 1954) ในฟลาสก์ขนาด 250 มล. ปริมาตรของน้ำหมักเท่ากับ 100 มล. พบว่าเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* ที่เจริญจะอยู่ใน 2 สภาพ คือ เชื้อที่เจริญอยู่ในน้ำหมัก (viable cell) และเชื้อที่เจริญอยู่ในวุ้นเซลลูโลส (cell content) โดยทำการนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตอยู่ในน้ำหมัก ที่ 0 1 3 5 7 วันในสภาวะแบบเขย่าที่ความเร็วรอบที่ 50 75 100 และ125 รอบต่อนาที ดังแสดงในภาพที่ 4.1

เมื่อทำการตรวจนับแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK บนอาหารแข็ง Hestrin and Schramm (1954) พบว่ามีโคโลนีมีลักษณะเป็นทรงกลมนูน ผิวเรียบ แยกเป็นโคโลนีเดี่ยวๆอย่างชัดเจน โคโลนีขุ่นเหนียว สีน้ำตาลอ่อน โดยลักษณะโคโลนีที่พบดังกล่าวมีลักษณะคล้ายกับที่รายงานโดย Dimaguila (1967)

จากผลของความเร็วรอบของการเขย่าต่อการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK พบว่าเมื่อความเร็วรอบเพิ่มขึ้นจาก 50 75 100 และ125 รอบต่อนาที จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเมื่อเวลาของการหมักเพิ่มขึ้น และเมื่อทำการหมักครบ 7 วัน พบว่าความเร็วรอบของการเขย่า 100 รอบต่อนาที มีจำนวนเซลล์มากที่สุด ดังนั้นความเร็วรอบของการเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เหมาะสมต่อการเพิ่มปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK

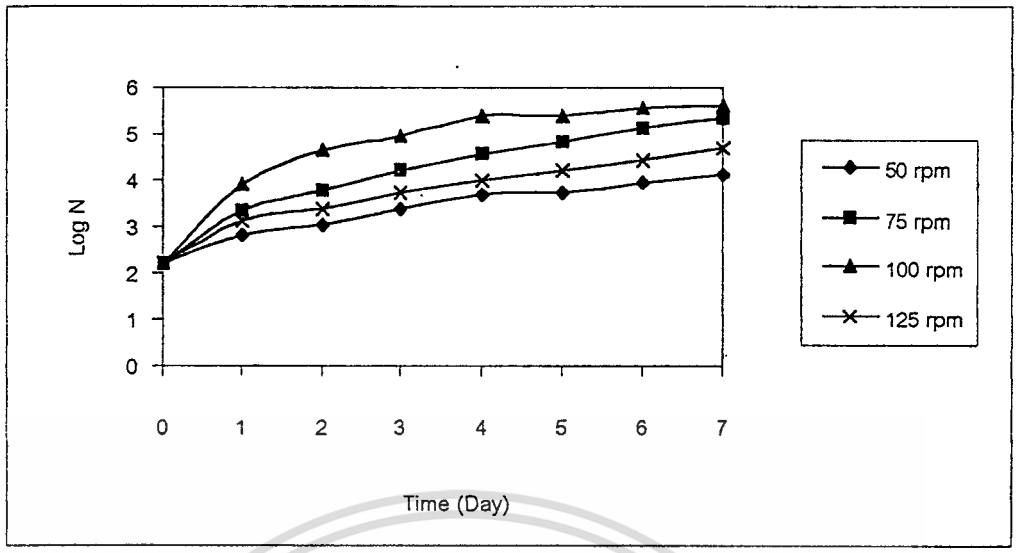
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อทำการหมักครบ 7 วัน พบว่าที่ระดับความเร็วรอบของการเขย่า 100 รอบต่อนาที ให้ปริมาณเซลลูโลส (cellulose content) และปริมาณเซลล์ (cell content) สูงสุด โดยมีปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มีค่าเท่ากับ 2.14 g dry wt/L และ 0.95 g dry wt/L ตามลำดับ ซึ่งพบว่าการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* ขึ้นอยู่กับปริมาณเซลล์ที่อยู่ในวุ้นเซลลูโลสที่เชื้อสร้างขึ้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hestrin and Schramm (1954) ที่ระบุว่าการสร้างเซลลูโลสในวุ้นเซลลูโลสมีความสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณเซลล์ที่อยู่ในวุ้นเซลลูโลสนั้น ดังนั้นในสภาวะการเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที ให้ปริมาณเซลล์ สูงที่สุดจึงทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสในปริมาณที่สูงที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.2

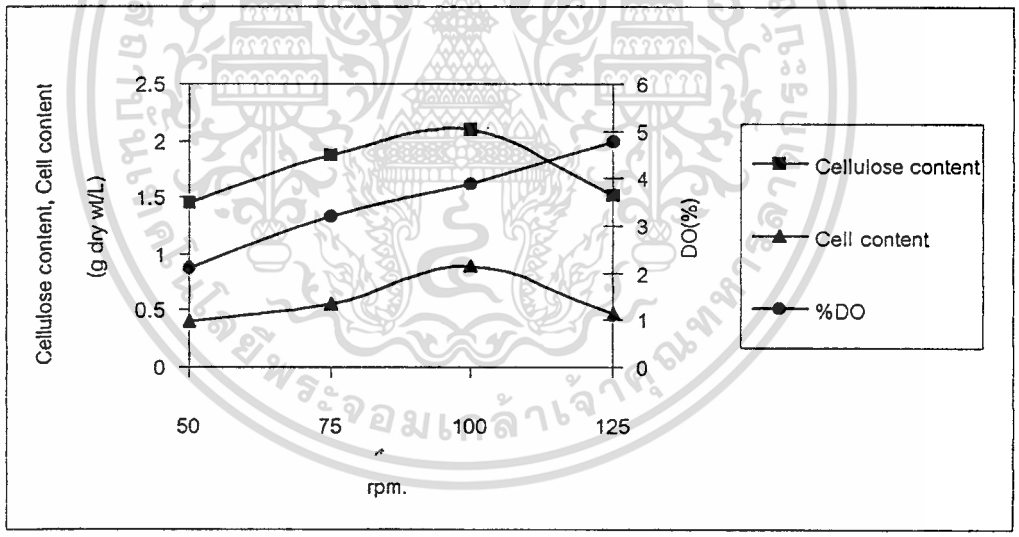
จากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (Dissolved Oxygen, DO) กับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ได้จากการเขย่าด้วยความเร็วรอบของการเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที มีผลต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลสให้ได้ปริมาณมากที่สุด ในขณะที่การใช้ความเร็วรอบของการเขย่าที่ 125 รอบต่อนาที ทำให้ได้ปริมาณ DO ที่ละลายในน้ำมากเกินไปส่งผลให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้ลดลง ทั้งนี้เนื่องจากผลกระทบของปริมาณออกซิเจนในน้ำหมักที่สูงจนเกินไป (negative effect) ดังรายงานของ Hestrin and Schramm (1954) ที่พบว่าการเขย่า หรือการกวนหรือการให้อากาศระหว่างการสร้างวุ้นเซลลูโลสพบว่าปริมาณเชื้อ *A. xylinum* เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว แต่การสร้างเซลลูโลสลดลงหรือไม่สร้าง เนื่องจากมีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำสูง ทำให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้มีปริมาณที่ต่ำ (negative effect)

ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าความเร็วรอบของการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นความเร็วรอบที่เหมาะสมที่ใช้ในการผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ผลของความเร็วรอบของการเขย่าต่อจำนวนเซลล์จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่ 50 75 100 125 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ



ภาพที่ 4.2 ผลของความเร็วรอบของการเขย่าต่อปริมาณเซลล์ (Cell content) ปริมาณเซลลูโลส (Cellulose content) และค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ในการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะเขย่า เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่เติมสารตัวกลาง microaerophilic carrier

จากการทดลองโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อและวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 1 ทำการศึกษาสภาวะการหมักแบบเขย่าโดยมีการเติมสารตัวกลาง Microaerophilic carrier ดังนี้ Cellulose Porous Bead (CPB) และ Cellulose Powder เติมลงในน้ำหมักและทำการหมักเป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ โดยใช้ความเร็วรอบของการเขย่าคือ 100 รอบต่อนาที

4.2.1 ผลของการใช้ Microaerophilic carrier ชนิด Cellulose Porous Bead (CPB)

จากภาพที่ 4.3 พบว่า เมื่อทำการนับจำนวนเซลล์ที่ได้จากการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะแบบเขย่าที่เติม CPB ความเข้มข้นร้อยละ 0 0.025 0.05 0.075 และ 0.1 ที่ใช้ความเร็วรอบในการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ จำนวนเซลล์ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ที่พบในน้ำหมักที่เติม CPB ร้อยละ 0.05 มีจำนวนเซลล์มากที่สุด

เมื่อทำการติดตามค่า DO (%) ปริมาณเซลล์ (Cell content) และปริมาณเซลลูโลส (cellulose content) ภายหลังการหมักครบ 7 วัน พบว่าค่า DO (%) ในน้ำหมักที่เติม CPB ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่มีการเติม CPB ในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ ในสภาพที่เติม CPB ร้อยละ 0.05 ได้ปริมาณเซลลูโลส 2.65 g dry wt/L และมีปริมาณเซลล์ 1.48 g dry wt/L สูงสุด ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ไม่เติม CPB ทั้งนี้สอดคล้องกับรายงานของ Krusong *et al.* (1995) ซึ่งได้ทำการทดลองเปรียบเทียบการเติม CPB และไม่เติม CPB โดยใช้การเขย่าฟลาสก์และถังหมัก พบว่าการเติม CPB สามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสและสามารถลด negative effect ลงได้ อย่างไรก็ตามค่า DO (%) ที่พบในสภาพที่เติม CPB ร้อยละ 0.5 อยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 0.1) ดังแสดงในภาพที่ 4.4

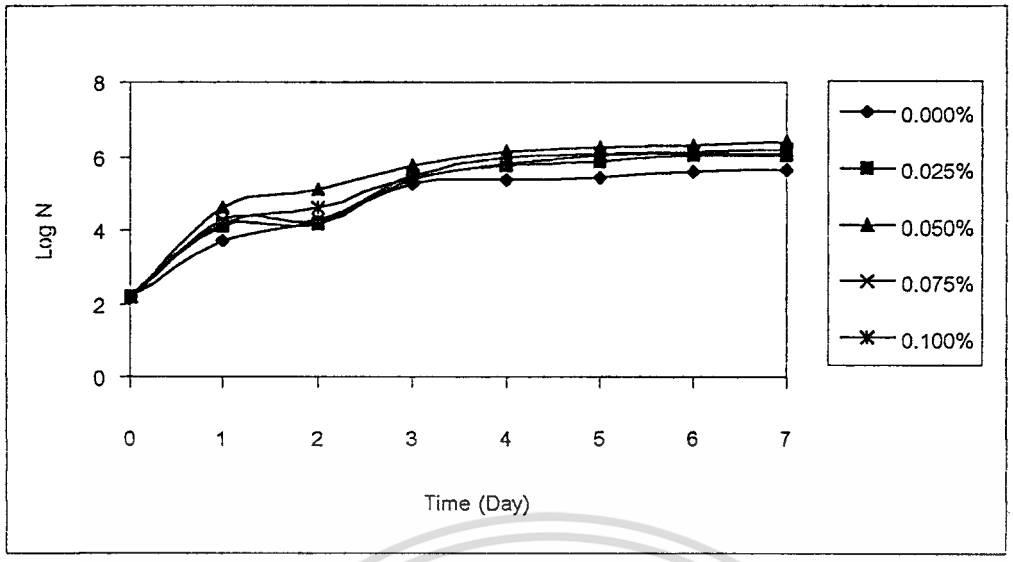
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทั่วไปพบว่า CPB ถูกใช้เป็นตัวกลาง (carrier) ในการยึดเหนี่ยวเซลล์ของสัตว์ และสามารถนำมาใช้ในการเพิ่มปริมาณเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* ในกระบวนการหมักที่มีการกวนหรือการให้อากาศ (Krusong *et. al*, 1998c) โดยแบคทีเรีย *A. xylinum* จะหุ้มตัวกลางไว้อยู่ภายใน เป็นการตรึงให้เซลล์ล้อมรอบและตัวเซลล์จะสร้างเส้นใย (microfibril) ล้อมรอบตัวกลางเอาไว้ (Joris *et al.*, 1993)

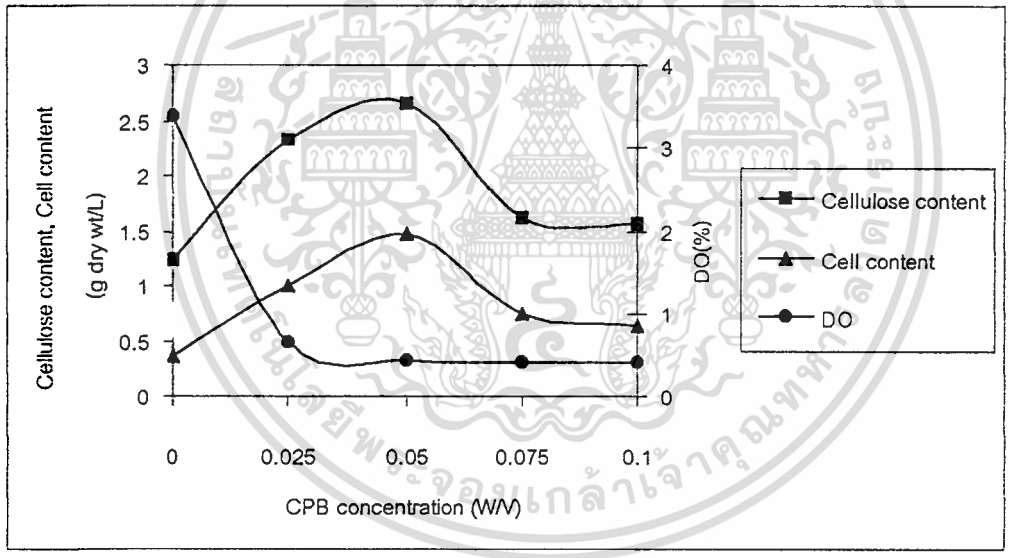
ผลการทดลองในการเติม CPB ลงในน้ำหมักให้ผลที่สอดคล้องกับผลการทดลองในการเพิ่มปริมาณเซลลูโลสของ Joris *et al.* (1993) ซึ่งอาศัยการเติม micro-particle ลงในอาหารที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* เพื่อสร้างเซลลูโลสในสภาพเขย่า โดยใช้ diatomaceous earth หรือเม็ดแก้วทำให้น้ำหนักสุทธิของเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้นและทำให้เกิดสภาวะที่มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง เนื่องจาก micro-particle ดึงอากาศเข้าไปทำให้มีอากาศที่เหมาะสมที่เชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้ในการผลิตเซลลูโลสได้ ซึ่งช่วยลดผลกระทบของ negative effect จากอากาศลงได้ นอกจากนี้ micro-particle ยังสามารถทำให้สายเส้นใยของเซลลูโลสยึดเกาะรวมตัวกันได้ดีอีกด้วย

ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้ CPB สามารถช่วยลด negative effect ลงได้ เนื่องจาก CPB เป็นสารตัวกลางที่ช่วย ทำให้เกิดสภาวะที่มีออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง โดยทำหน้าที่ดึงอากาศเข้ามาไว้ภายในทำให้แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK สามารถใช้อากาศในปริมาณเล็กน้อย (microaerophilic) และผลิตเซลลูโลสในปริมาณที่เหมาะสมออกมาดังเช่นที่พบในรายงานของ Williums and Cannon (1989) ที่กล่าวว่า แบคทีเรีย *A. xylinum* สามารถเจริญได้ในสภาวะที่เป็น microaerophilic (ภาพที่ 4.4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เมื่อเลี้ยงในสภาวะแบบเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ



ภาพที่ 4.4 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณเซลล์ ปริมาณเซลลูโลส และค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

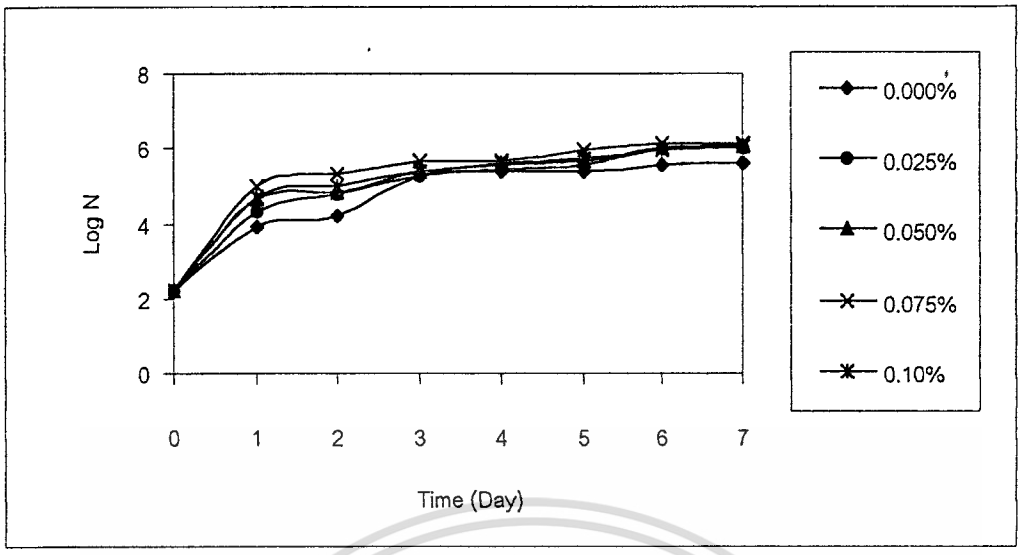
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ผลของการใช้ Microaerophilic carrier ชนิด Cellulose Powder (CP)

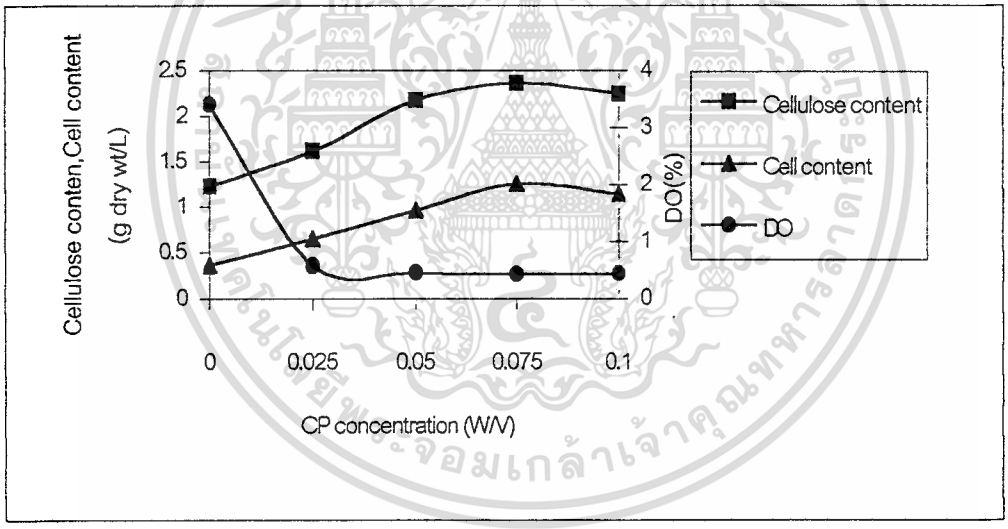
เมื่อทำการตรวจนับแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่เติม CP เป็น microaerophilic carrier พบว่า จำนวนเซลล์ที่ได้จากที่เติม CP ร้อยละ 0.075 มีจำนวนเซลล์มากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 4.5

เมื่อทำการติดตามค่า DO (%) ปริมาณเซลล์ และปริมาณเซลลูโลส ภายหลังการหมักครบ 7 วัน ดังแสดงในภาพที่ 4.6 พบว่าค่า DO (%) ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อความเข้มข้นของ CP ที่สูงขึ้น และให้ปริมาณเซลลูโลส 2.36 g dry wt/L และได้ปริมาณเซลล์ 1.26 g dry wt/L. และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับการเติม CP ระดับความเข้มข้นอื่นๆ โดยที่มีค่า DO (%) เท่ากับ 0.43 % ดังนั้นจากผลการทดลองที่ได้รับจึงสามารถกล่าวได้ว่า CP มีคุณสมบัติเป็นสาร microaerphilic carrier ชนิดหนึ่งที่สามารถลดปริมาณออกซิเจนในน้ำหมักลงได้ จึงทำให้สามารถช่วยลด negative effect ลงได้ ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Krusong and Yoshida (1995) ซึ่งได้ทำการทดลองโดยใช้ Algenate Gel Beads เป็น Microaerophilic carrier เพื่อลดผล negative effect ที่เกิดจากการเขย่าหรือกวนจากถังหมักลงได้ และเป็นตัวยึดเหนี่ยวให้เส้นใยเซลลูโลสมาเกาะและสร้างเซลลูโลสขึ้น โดยเซลล์ของ *A. xylinum* จะสร้างเซลลูโลสหุ้ม CP ไว้อยู่ภายใน เช่นเดียวกับที่หุ้ม Algenate Gel Beads

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อจำนวนเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เมื่อเลี้ยงในสภาวะแบบเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ



ภาพที่ 4.6 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณเซลล์ ปริมาณเซลลูโลส และค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DKในสภาวะเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 ผลการเปรียบเทียบการใช้ Cellulose Porous Bead และ Cellulose Powder ในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า (Shaken cultivation)

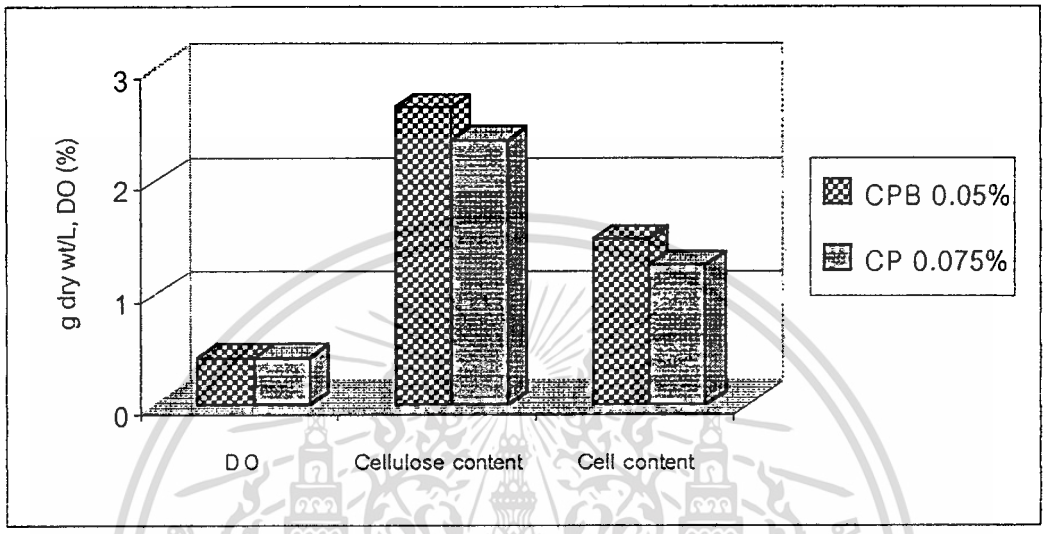
จากการศึกษาความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า ที่มีการเติม Microaerophilic carrier ได้แก่ Cellulose Porous Bead (CPB) และ Cellulose Powder (CP) พบว่าทั้ง CPB และ CP สามารถลดการเกิด negative effect จากการเขย่า ซึ่งทำให้มีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักสูงจนเกินไปจนมีผลกระทบต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลสทำให้เซลลูโลสที่ได้มีปริมาณต่ำ ลงได้ โดยทั้ง CPB และ CP ที่เติมลงลงในน้ำหมักในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าทำให้ตัวเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ถูกตรึงเซลล์ให้ล้อมรอบ carrier ทั้งสองชนิดและจะสร้างเซลลูโลสหุ้ม carrier เอาไว้ข้างใน

จากภาพที่ 4.7 เมื่อเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก และปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะแบบเขย่าที่มีการเติม CPB หรือ CP พบว่าค่า DO ในน้ำหมักที่ได้จากการเติม CPB ร้อยละ 0.05 และ CP ร้อยละ 0.075 มีค่าที่เท่ากันคือ 0.43 โดยที่การเติม CPB ร้อยละ 0.05 ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์เท่ากับ 2.65 g dry wt /L และ 1.48 g dry wt/L ตามลำดับ ในขณะที่การเติม CP ร้อยละ 0.075 ให้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้เท่ากับ 2.36 g dry wt/ L และ 1.26 g dry wt/L ตามลำดับ ซึ่งเมื่อพิจารณาปริมาณเซลลูโลสที่ได้จาก CPB กับเซลลูโลสที่ได้จาก CP พบว่า ปริมาณเซลลูโลสที่ได้จาก CP มีปริมาณใกล้เคียงกับเซลลูโลสที่ได้จาก CPB แต่การใช้ CP เป็น carrier พบว่ามีราคาถูกกว่าการใช้ CPB เนื่องจาก CP เตรียมขึ้นได้จากวุ้นเซลลูโลสที่ผ่านการทำแห้ง (Krusong *et al.*, 1998b)

ดังนั้นจากการทดลอง สามารถสรุปได้ว่าการเติม CPB และ CP สามารถลดปริมาณออกซิเจนในน้ำหมักที่ได้จากการเขย่า และทำให้เซลล์ของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK สานเส้นใยล้อมรอบและเพิ่มปริมาณเซลลูโลสให้มากขึ้นเมื่อเปรียบเทียบกับสภาพการเลี้ยงแบบเขย่าไม่เติม carrier

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ Dudman (1959) ได้รายงานไว้ว่าฟลาสก์ที่ใช้เลี้ยง *A. xylinum* ที่ได้จากการเขย่าควรมีการติด baffle หรือใช้ baffled flask จะได้ปริมาณเซลลูโลสมากกว่าการใช้ smooth walled flask ที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 4.7 ผลการเปรียบเทียบการใช้ CPB และCP ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (DO) ปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์ จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่ 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนอย่างต่อเนื่อง (continuous stirred tank reactor) ขนาด 5 ลิตร

ทำการหมักในสภาวะของการกวนแบบต่อเนื่องโดยใช้ใบพัดแบบ Turbine (Turbine impellers) ทำการหมักเป็นระยะเวลา 7 วัน เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแบคทีเรีย *A. xylinum* ถูกกวนโดยการใช้ใบพัดแบบ Turbine พบว่าเมื่อทำการหมักวุ้นเซลลูโลสจะเกิดคุณสมบัติ Non-Newtonion ซึ่งจะมีความหนืดเพิ่มมากขึ้น ทำให้การควบคุมออกซิเจนที่ละลายในน้ำ และ การควบคุม pH เป็นไปได้ลำบาก (Kouda *et al.*, 1997)

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า DO ในน้ำหมักในระหว่างการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนแบบต่อเนื่องที่อัตราการกวนต่างๆ ดังแสดงในภาพที่ 4.8 พบว่าปริมาณ DO ที่ละลายในน้ำในช่วงเริ่มต้นของการหมักมีปริมาณสูงและจะค่อยๆลดลงตามลำดับแสดงว่าแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK มีการใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโตเป็นอย่างมาก โดยปริมาณ DO ที่ลดลงเป็นผลมาจากเชื้อใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโตอย่างมากในระยะแรก

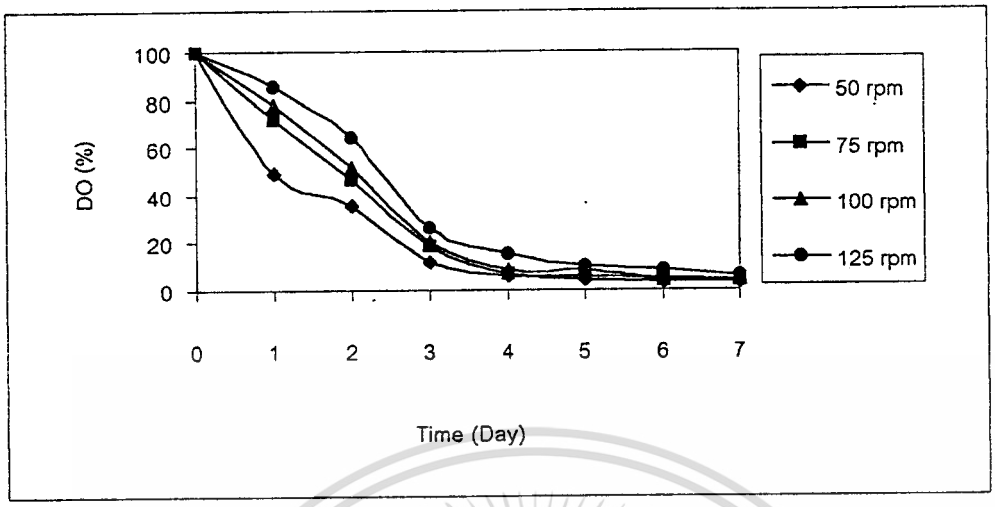
จากภาพที่ 4.9 พบว่าความเร็วรอบของการกวนมีผลต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK โดยที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด เท่ากับ 5.27 g dry wt /L และมีปริมาณเซลล์ 1.95 g dry wt/L โดยมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากความเร็วรอบของการกวนในระดับต่างๆ ในขณะที่การใช้ความเร็วรอบของการกวน 75 และ 125 รอบต่อนาที ให้ผลของปริมาณเซลลูโลสที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อพิจารณาปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์ที่ได้จากความเร็วรอบของการกวนที่ 100 รอบต่อนาที พบว่าเป็นอัตราการกวนที่ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด และเหมาะสมที่ใช้ศึกษาต่อไป และเมื่อตรวจนับการเจริญของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เมื่อเลี้ยงในสภาพการกวนแบบต่อเนื่องที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที พบว่า จำนวนเซลล์เพิ่มมากขึ้นในทุกระดับของอัตราการกวนดังแสดงในภาพที่ 4.10 แสดงให้เห็นว่าการกวนหรือการเขย่าทำให้จำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในน้ำหมักเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่การสร้างเซลลูโลสกลับ

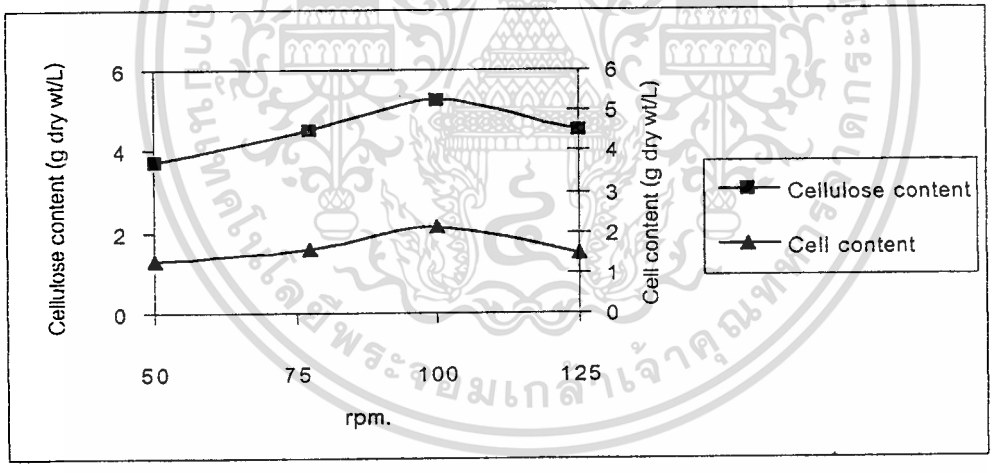
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลดลงทั้งนี้ให้ผลสอดคล้องกับ Hestrin and Schramm (1954) ดังนั้นจึงแสดงให้เห็นว่าแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK มีการใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำในปริมาณจำกัด ซึ่งสอดคล้องกับ Williums และ Cannon (1989) ที่กล่าวไว้ว่า แบคทีเรีย *A. xylinum* สามารถเจริญได้ในสภาวะที่เป็น microaerophilic

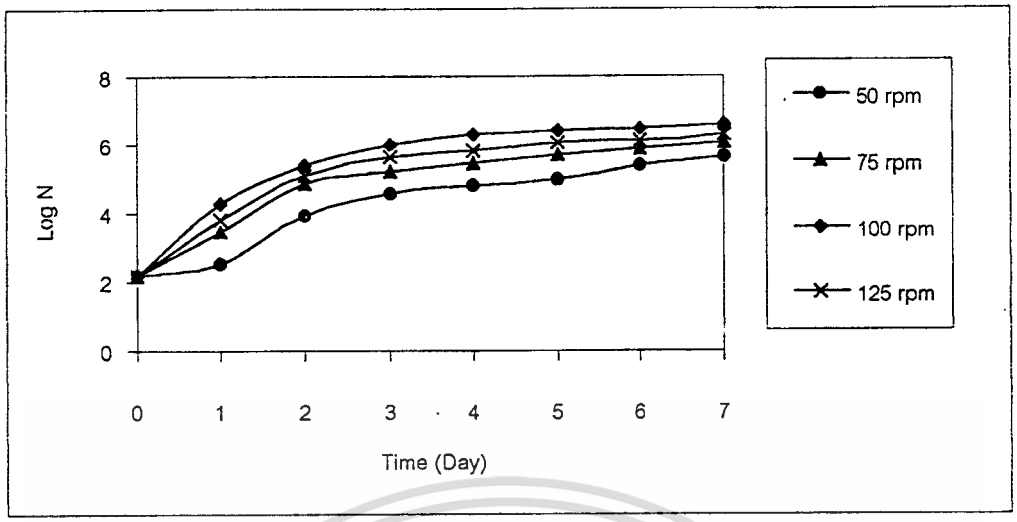
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 ผลของความเร็วรอบของการกวนต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลส จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ



ภาพที่ 4.9 ผลของความเร็วรอบของการกวนต่อปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ



ภาพที่ 4.10 ผลของความเร็วรอบของการกวนต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

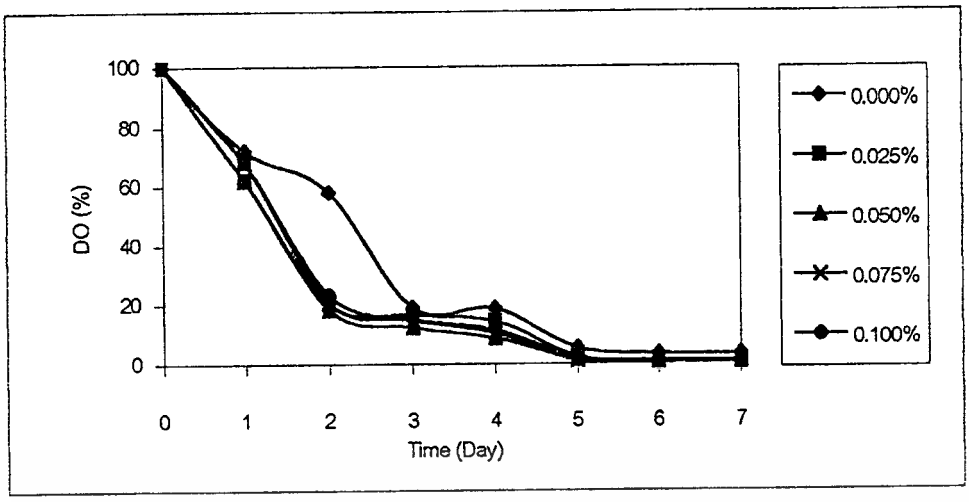
4.4 ผลของชนิดและปริมาณของการเติมสาร Microaerophilic carrier ต่อความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนอย่างต่อเนื่อง (continuouse stirred tank reactor) ขนาด 5 ลิตร

4.4.1 ผลของการใช้ Microaerophilic carrier ชนิด Cellulose Porous Bead (CPB)

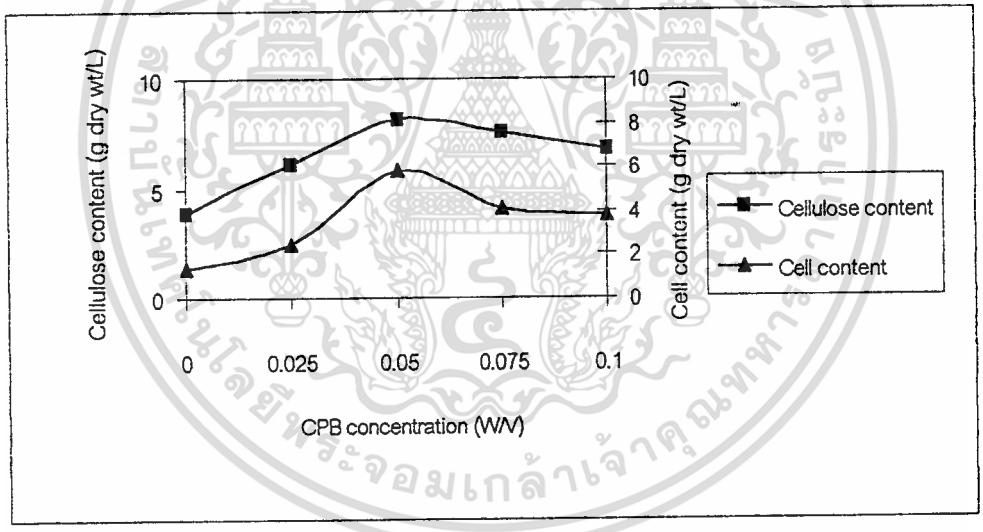
จากภาพที่ 4.11 พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าการใช้ CPB เติมลงในถังหมัก โดยใช้ความเร็วรอบในการกวน 100 รอบต่อนาที สามารถลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินไปลงได้ และจากภาพที่ 4.12 เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ของปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก พบว่าการใช้ CPB ร้อยละ 0.05 ให้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์สูงที่สุดโดยมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 8.4 g dry wt/L และปริมาณเซลล์เท่ากับ 5.82 g dry wt/L ในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสที่ได้จาก CPB ร้อยละ 0.075 กับ 0.1 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

จากการตรวจนับเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK (ภาพที่ 4.13) พบว่าจำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นเป็นลำดับ โดยการเติม CPB ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อมีจำนวนเซลล์ของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ที่ไม่เติม CPB ซึ่งแสดงให้เห็นว่า CPB มีคุณสมบัติช่วยเพิ่มปริมาณเซลล์ โดย CPB ทำหน้าที่ลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินไปซึ่งให้ผลเช่นเดียวกับผลการทดลองที่ได้จากการเลี้ยง *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า แต่พบว่าการเติม CPB ในปริมาณร้อยละ 0.05 ทำให้จำนวนเซลล์มากที่สุด ซึ่งเมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของเซลลูโลสและจำนวนเซลล์กับการเติม CPB พบว่าปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ทำให้จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้นตามด้วย อีกทั้งยังมีความสัมพันธ์กับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกล่าวคือถ้าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลง ทำให้ปริมาณเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้นในขณะที่จำนวนเซลล์ของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เพิ่มมากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

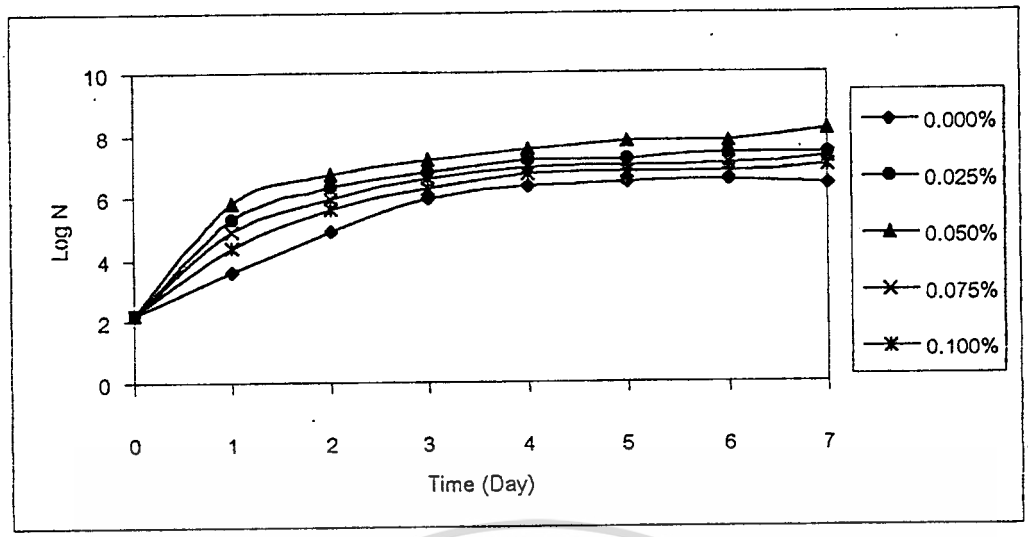


ภาพที่ 4.11 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่องที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ



ภาพที่ 4.12 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณเซลล์และปริมาณเซลลูโลส จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่องที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.13 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2 ผลของการใช้ Microaerophilic carrier ชนิด Cellulose Powder (CP)

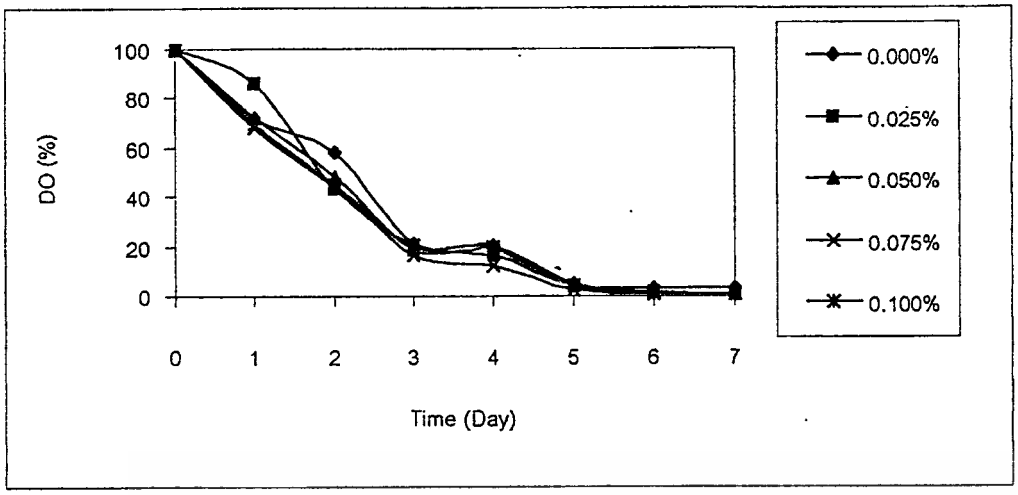
จากภาพที่ 4.14 พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่เติม CP มีปริมาณลดลงเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำหมักที่ไม่ได้เติม CP

การเติม CP ลงในน้ำหมัก สามารถแสดงคุณสมบัติในการเป็น Microaerophilic carrier โดย CP ทำหน้าที่ดึงออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินเข้าไว้ภายใน ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงทำให้ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ใช้ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมสำหรับผลิตเซลลูโลสออกมา โดยพบว่าการใช้ CP ร้อยละ 0.075 ให้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่มากที่สุด โดยได้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 8.22 g dry wt/L และปริมาณเซลล์เท่ากับ 5.27 g dry wt/L ตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.15 อย่างไรก็ตามเซลลูโลสที่ผลิตได้มีคุณสมบัติแบบเดียวกับเซลลูโลสที่ได้จากการเติม CPB และนอกจากนี้พบว่าการเติม CP ร้อยละ 0.025 0.05 0.1 ให้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์สูงกว่าการไม่เติม CP

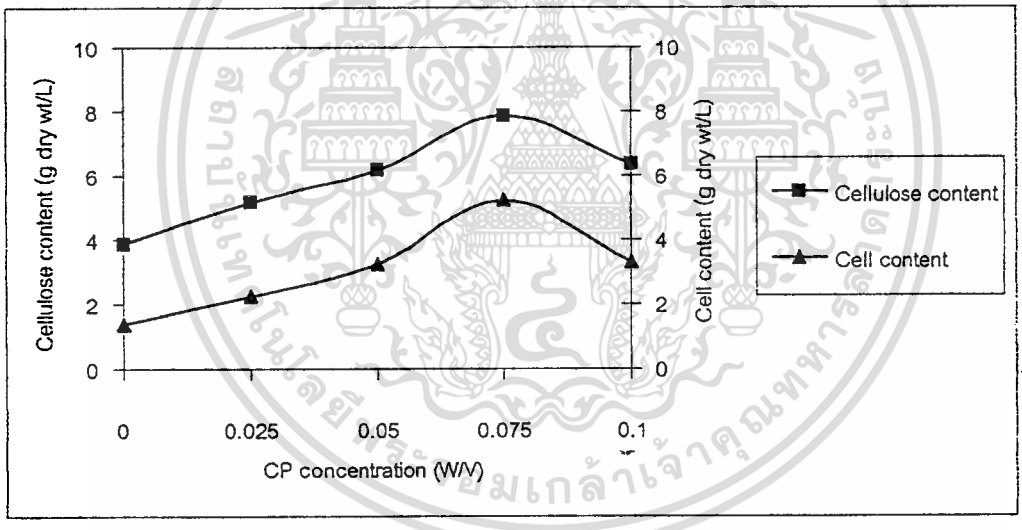
เมื่อพิจารณาจำนวนเซลล์ที่ได้ในน้ำหมักที่มีการเติม CP พบว่าจำนวนเซลล์ที่ได้จากการเติม CP มีค่ามากกว่าที่ไม่เติม CP แสดงให้เห็นว่าการเติม CP ลงในน้ำหมักสามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสได้ ซึ่งได้จากจำนวนเซลล์ที่มากขึ้น โดยการสร้างเซลลูโลสที่ได้จากการเติม CP คล้ายกับการเติม CPB ลงในน้ำหมักที่ได้จาการกวน หรือการเขย่า โดยเซลล์ *A. xylinum* สายพันธุ์ DKเมื่อได้รับการเขย่าหรือการกวนจะเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว และถ้ามีตัวที่ทำหน้าที่ให้เซลล์ยึดเกาะได้ เซลล์จะสร้างเซลลูโลสออกมาหุ้ม carrier เอาไว้และใช้ออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำได้อย่างเหมาะสม

ดังนั้นการเติม CP ในปริมาณร้อยละ 0.075 ทำให้จำนวนเซลล์มากที่สุด ดังแสดงในภาพที่ที่ 4.16 และให้ปริมาณเซลลูโลสสูง แต่พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลงต่ำสุดเท่ากับ 0.72% แสดงให้เห็นว่า *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ใช้ปริมาณออกซิเจนในปริมาณเพียงเล็กน้อยในการเจริญเติบโต ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Williums and Cannon (1989) ที่กล่าวว่า *A. xylinum* เป็นแบคทีเรียที่ใช้ออกซิเจนเพียงเล็กน้อยในการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

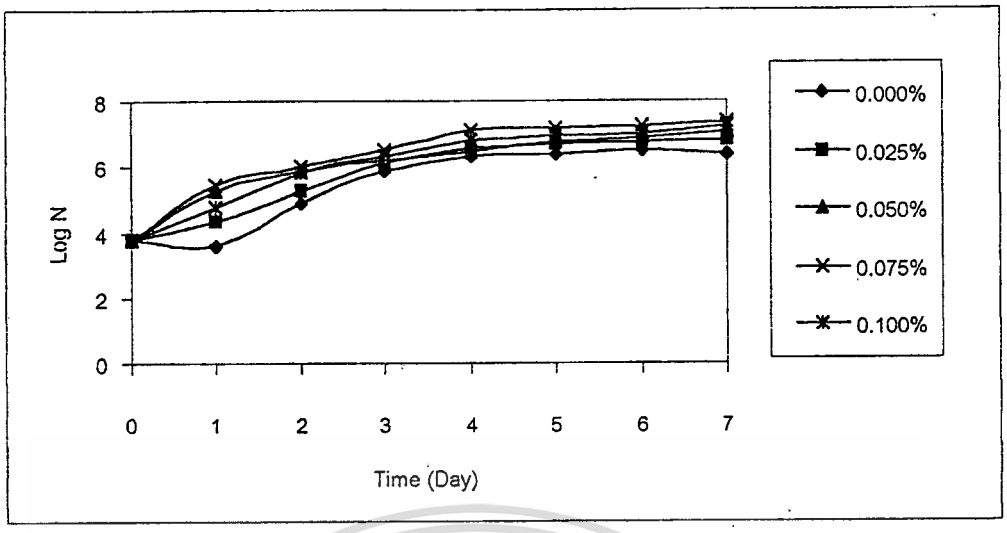


ภาพที่ 4.14 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่องที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที



ภาพที่ 4.15 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณเซลล์และปริมาณเซลลูโลส จากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่องที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.16 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 ผลการเปรียบเทียบของการใช้ Cellulose Porous Bead และ Cellulose Powder ในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการกวน อย่างต่อเนื่อง

ในระหว่างการหมักเป็นระยะเวลา 7 วันที่ได้จากถังหมักแบบกวนอย่างต่อเนื่องขนาด 5 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 °ซ (ปริมาตรที่ใช้ในการหมักเท่ากับ 1 ลิตร) พบว่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเติม CPB และ CP มีปริมาณสูงกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP

ปริมาณ CPB ร้อยละ 0.05 เป็นปริมาณที่ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสสูงที่สุด ในขณะที่การและ CP ร้อยละ 0.075 ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดในแต่ละชนิดของ microaerophilic carrier โดยCPB ร้อยละ 0.05 ให้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 8.45 g dry wt/L ในขณะที่การเติม CP 0.075 ให้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 8.22 g dry wt/L ซึ่งพบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่า CP สามารถใช้ แทน CPB ในการเพิ่มปริมาณเซลลูโลสได้ โดยสามารถช่วยลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักได้ดีเช่นกัน อีกทั้งพบว่า CP มีคุณสมบัติเป็น microaerophilic carrier ที่มีราคาถูกกว่า CPB เนื่องจาก CP ได้จากเซลลูโลสที่ได้จาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ที่ผ่านการอบแห้ง ดังที่รายงานของ Krusong *et al* .(1998b)

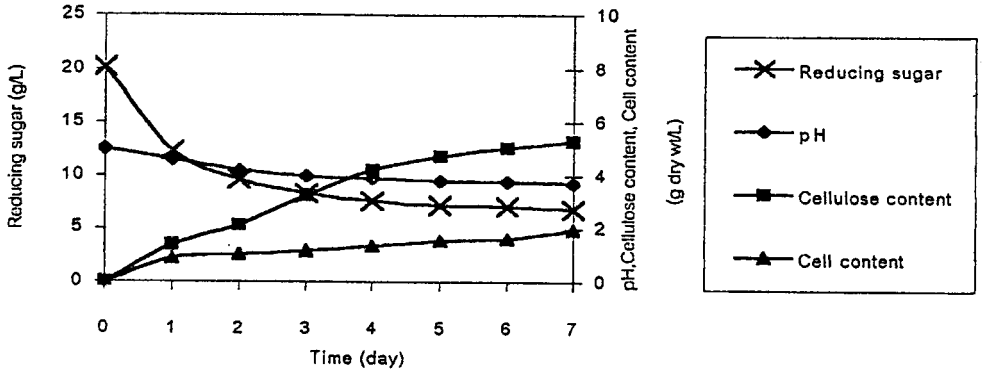
เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ของการใช้น้ำตาลรีดิวส์ (Reducing sugar) ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ดังแสดงในภาพที่ 4.17 และ 4.18 ที่มีผลต่อปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีปริมาณลดลงตามลำดับ เมื่อระยะเวลาของการหมักเพิ่มขึ้น ในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นตามลำดับ แสดงว่า *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการสร้างเซลลูโลส โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวส์จะลดลง ในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสจะมากขึ้นและสร้างกรดเพิ่มขึ้น ทำให้ pH มีค่าลดลง รวมทั้งใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ทำให้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำมีค่าลดลงตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำตาลรีดิวส์พบว่าการเติม CPB และ CP มีการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลลูโลสมากกว่าการไม่เติม microaerophilic carrier ทั้งสองชนิด ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์พบว่าการเติม CPB และ CP มีค่าที่มากกว่าที่ไม่เติม microaerophilic carrier ทั้งสองเช่นกัน ในขณะที่ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่ได้จากการเติม CPB และ CP พบว่ามีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงมากกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

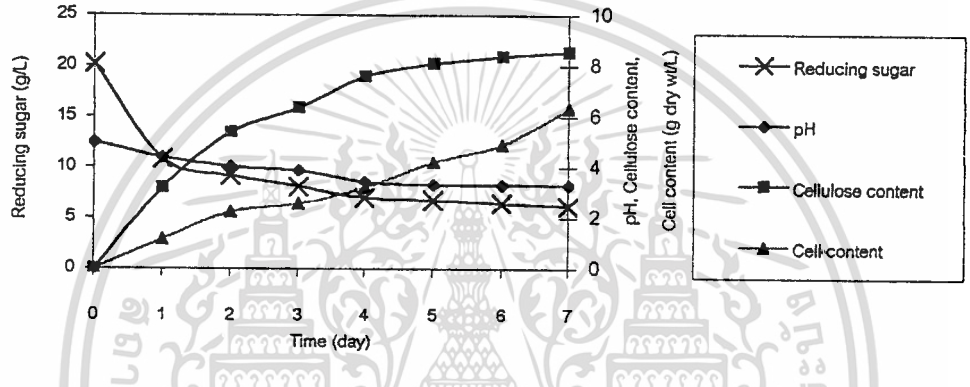
จากภาพที่ 4.19 เมื่อพิจารณาความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเซลลูโลส (เซลลูโลสที่สร้างต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการสร้าง) กับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักในสภาพที่มีการเติม CPB ร้อยละ 0.05 และ CP ร้อยละ 0.075 และสภาพที่ไม่มีการเติม microaerophilic carrier ทั้งสองชนิด ทำการหมักในสภาวะการกวนแบบต่อเนื่องที่อัตรา 100 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ เป็นระยะเวลา 7 วัน พบว่าค่าความสัมพันธ์ดังกล่าวเป็นปฏิภาคกลับต่อกัน กล่าวคือ เมื่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณผลผลิตของเซลลูโลสจะต่ำลง แสดงให้เห็นว่า *A.xylinum* สายพันธุ์ DK มีคุณสมบัติในการใช้ออกซิเจนในปริมาณเพียงเล็กน้อยในการเจริญเติบโต (microaerophilic) จากผลการทดลองยังพบว่า การใช้ CPB ร้อยละ 0.05 และ CP ร้อยละ 0.075 ให้ผลผลิตของเซลลูโลสที่ไม่มีความแตกต่างกัน แต่มีความแตกต่างจากการไม่เติม CPB และ CP

ดังนั้นจึงสามารถสรุปได้ว่าการใช้ CPB และ CP เติมลงในน้ำหมักในสภาวะการกวนแบบต่อเนื่องที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที สามารถช่วยลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักได้ ในระดับที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ทำให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้จาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK สูงขึ้น

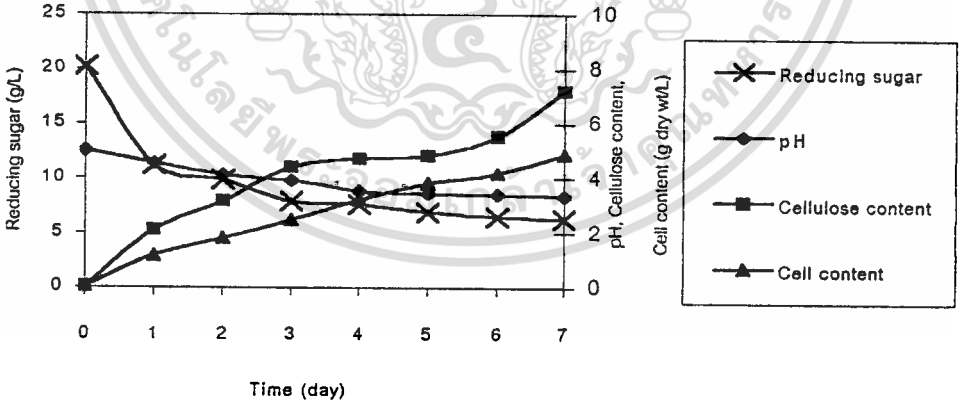
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



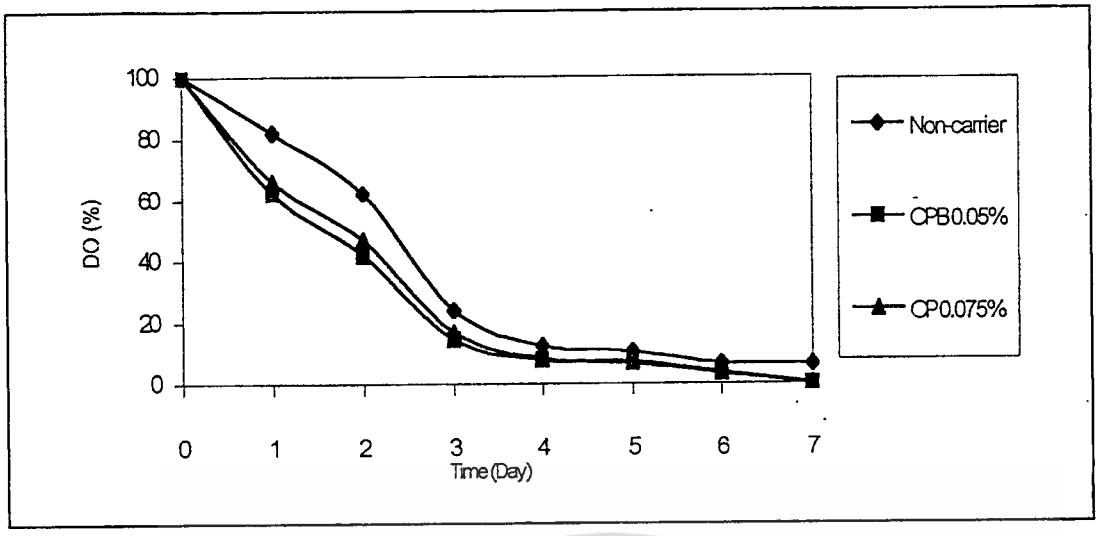
(ข)



(ค)

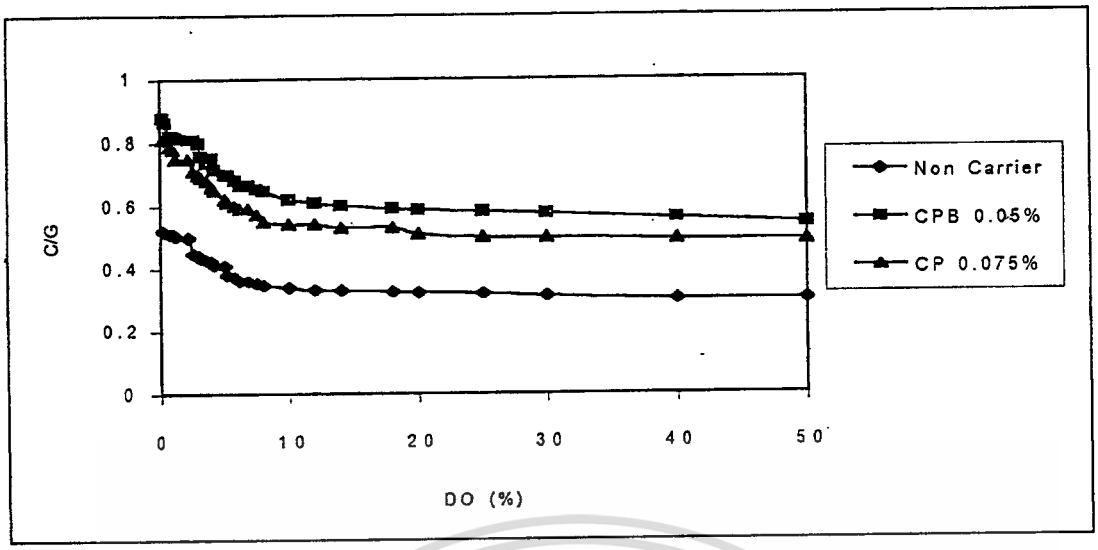
ภาพที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณ Reducing sugar, pH, ปริมาณเซลลูโลส, ปริมาณเซลล์ และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ
(ก) ไม่มีการเติม CPB หรือ CP; (ข) เติม CPB ร้อยละ 0.05; (ค) เติม CP ร้อยละ 0.075

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำเมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่อง ที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ ในสภาวะที่ไม่มีการเติม CPB หรือ CP, การเติม CPB ร้อยละ 0.05 และการเติม CP ร้อยละ 0.075

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.19 ผลของออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักต่อผลผลิตเซลลูโลส (เซลลูโลส/น้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป) ในการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการกวนแบบต่อเนื่องที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ ในสภาวะที่มีในสภาวะที่ไม่มีการเติม CPB หรือ CP, การเติม CPB ร้อยละ 0.05 และการเติม CP ร้อยละ 0.075

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift

การเปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift ที่เติมอากาศ 0.05 กับ 0.1 vvm. (ภาพที่ 4.20) พบว่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเติมอากาศที่ 0.05 vvm. มีค่าเท่ากับ 0.93 g dry wt/L และ 0.67 g dry wt/L ตามลำดับ ซึ่งมีค่ามากกว่าการเติมอากาศที่ 0.1 vvm. มีค่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์เท่ากับ 0.82 g dry wt /L และ 0.58 g dry wt/L ตามลำดับ และเมื่อเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ พบว่า การเติมอากาศที่ 0.01 vvm มีค่าสูงกว่าการเติมอากาศ 0.05 vvm. ซึ่งหมายความว่าถ้ามีการเติมอากาศที่สูงหรือมากเกินไปทำให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้มีปริมาณลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Hestrin and Schramm (1954)

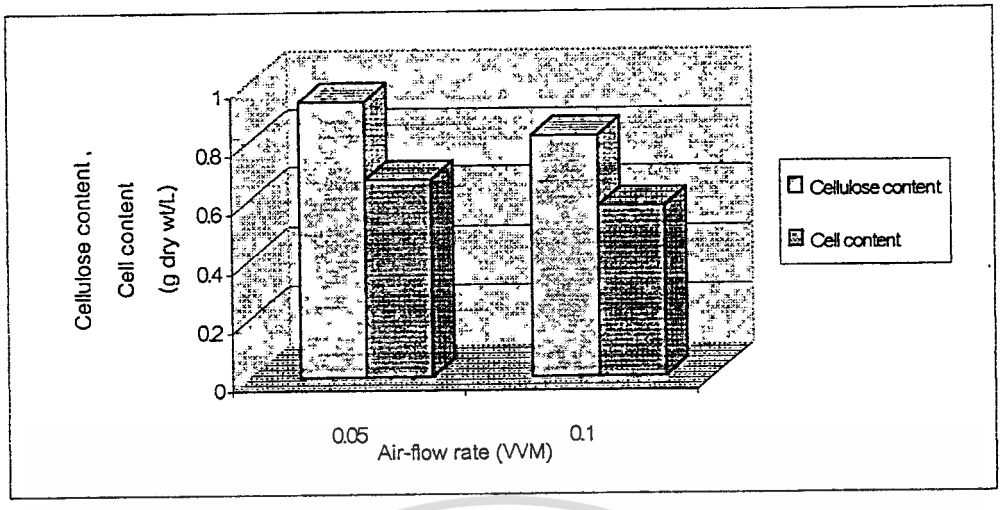
Dudman (1960) รายงานว่า การกวนหรือการให้อากาศแก่อาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลสเป็นวิธีที่เหมาะสมสำหรับการขยายขนาด (scale up) ในระดับอุตสาหกรรม ซึ่งจากการทดลองพบว่าการเติมอากาศในระดับ 0.05 vvm ให้ปริมาณเซลลูโลสที่สูงที่สุด และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำต่ำกว่า 0.1 vvm. (ภาพที่ 4.21) ดังนั้นจึงใช้อัตราการเติมอากาศ 0.05 vvm. เป็นปริมาณอากาศที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

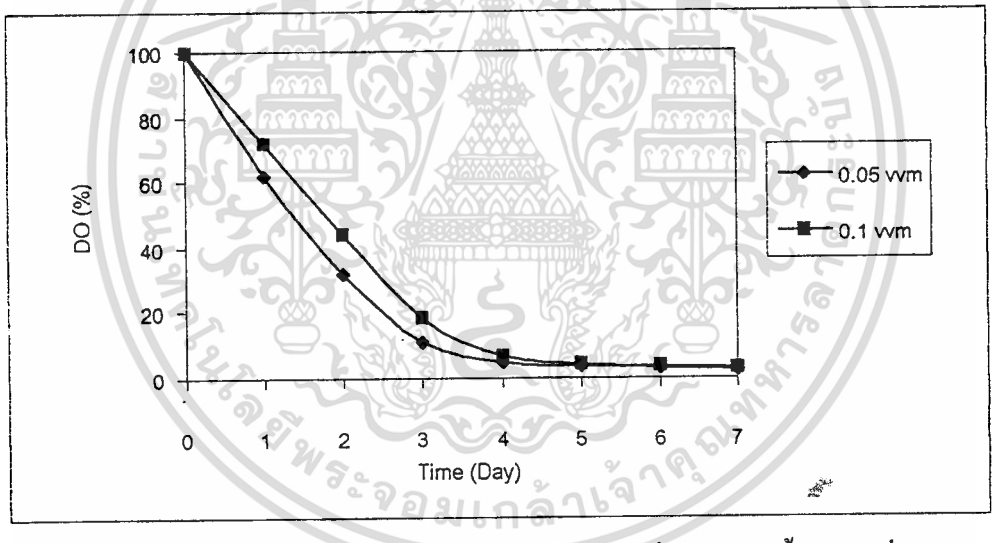
ในการทดลองพบว่าลักษณะของถังหมักแบบให้อากาศที่ใช้ในการทดลองมีระยะห่างระหว่าง draft tube ซึ่งเป็นท่อให้อากาศมีการหมุนเวียนโดยยกอากาศให้มีการหมุนเวียนเกิดขึ้น พบว่าหัวพ่นอากาศ (sparger) ใกล้กันมากเกินไปจนทำให้การหมุนเวียนของอากาและอาหารเลี้ยงเชื้อหมุนเวียนเกิดได้ไม่ดี โดยเมื่อเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญ ร่วมกับปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ พบว่าเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK จะหุ้มตัวพ่นอากาศ ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักลดลง มีผลทำให้ไม่สามารถตรวจสอบปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักได้ โดยเซลลูโลสที่ได้จะหุ้ม DO probe ทำให้ membrane ไม่สามารถตรวจสอบออกซิเจนที่ละลายในน้ำได้อย่างเที่ยงตรง จึงต้องทำการสุ่มน้ำหมักออกมาวิเคราะห์ ปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมัก เช่นเดียวกับที่รายงานโดย Chao *et al.* (1997) และพบว่าวุ้นเซลลูโลสที่ได้มีปริมาณน้อยกว่าการใช้การกวน เนื่องจากไม่มีการกระจายตัวของเซลล์และ microfibril ซึ่งเป็นปัญหาที่พบในขณะทำการทดลอง

แต่อย่างไรก็ตามพบว่าเมื่อมีการให้อากาศแก่น้ำหมักที่มากเกินไปส่งผลให้ปริมาณเซลลูโลสที่ได้มีปริมาณลดลง เช่นเดียวกับการทดลองของ Yamanaka *et al.* (1988) ที่พบว่า การให้อากาศแก่น้ำหมักในการเลี้ยง Bacterial Cellulose ในสภาวะผิวนิ่ง โดยปริมาณออกซิเจนในน้ำที่ความเข้มข้นสูงขึ้นจะมีผลกระทบต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* ทั้งนี้สอดคล้องกับการทดลองของ Hestrin and Schramm (1954) ที่รายงานว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของอากาศให้มากขึ้น ปริมาณเซลลูโลสที่ได้กลับมีปริมาณลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.20 ผลของการเติมอากาศต่อปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ



ภาพที่ 4.21 ผลของการเติมอากาศต่อปริมาณ ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (DO) ที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 ผลความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift ที่มีการเติม Microaerophilic carrier

จากการทดลองโดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ และวิธีการเตรียมเช่นเดียวกับข้อ 4.1 ทำการศึกษาการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการให้อากาศ ร่วมกับการเติมสาร Microaerophilic carrier ทั้ง Cellulose Porous Bead (CPB) และ Cellulose Powder (CP) เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ โดยการให้อากาศ 0.05 vvm. ที่ได้จากการทดลองในข้อ 4.5 ซึ่งเป็นปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลส

4.6.1 ผลของการใช้ Microaerophilic carrier ชนิด Cellulose Porouse Bead (CPB)

ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักในสภาพที่เติม CPB ในความเข้มข้นต่างๆ มีค่าต่ำกว่าที่ไม่มีการเติม CPB และยังลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อระยะเวลาในการหมักสูงขึ้น ทั้งนี้ดังแสดงในภาพที่ 4.22

การเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาพที่มีการเติม CPB ร้อยละ 0.05 ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดต่ำลงมากที่สุด

จากการศึกษาปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ (ภาพที่ 4.23) พบว่าสภาพที่มีการเติม CPB ร้อยละ 0.05 ที่ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงมากที่สุดแล้วยังมีผลทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มากด้วย โดยมีปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์เท่ากับ 2.12 g dry wt/L และ 1.62 g dry wt/L ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับที่ไม่ได้เติม CPB แสดงให้เห็นว่าการใช้ CPB เติมลงในน้ำหมัก มีผลทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงและสามารถเพิ่มปริมาณเซลลูโลสให้มากขึ้น โดย CPB จะมีการลอยตัวจากการให้อากาศและหมุนเวียนอยู่ภายในถังหมัก ทำให้มีการดึงอากาศที่มากเกินไปให้ลดลง ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Krusong *et al.*(1998b)

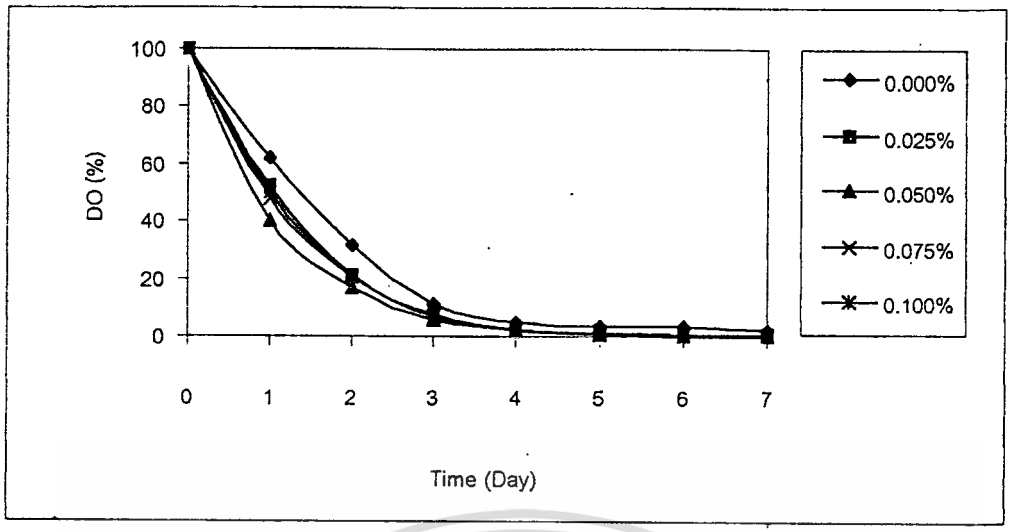
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การใช้ CPB เติมลงในน้ำหมักเพื่อเพิ่มปริมาณเซลลูโลส โดยใช้เป็น microaerophilic carrier เพื่อลดผล negative effect โดยตัวเซลล์แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK จะจับกับตัวกลาง และสร้าง microfibril หุ้มตัวกลางไว้ภายใน ทำให้จำนวนเซลล์เพิ่มมากกว่าสภาพที่ไม่เติม CPB (ภาพที่ 4.24) โดยจำนวนเซลล์จากการเติม CPB มีความสัมพันธ์ กับปริมาณเซลลูโลสที่ได้ โดยที่จำนวนเซลล์เพิ่มขึ้น ปริมาณเซลลูโลสก็จะเพิ่มมากขึ้นด้วย (Krusong *et al.*, 1998c)

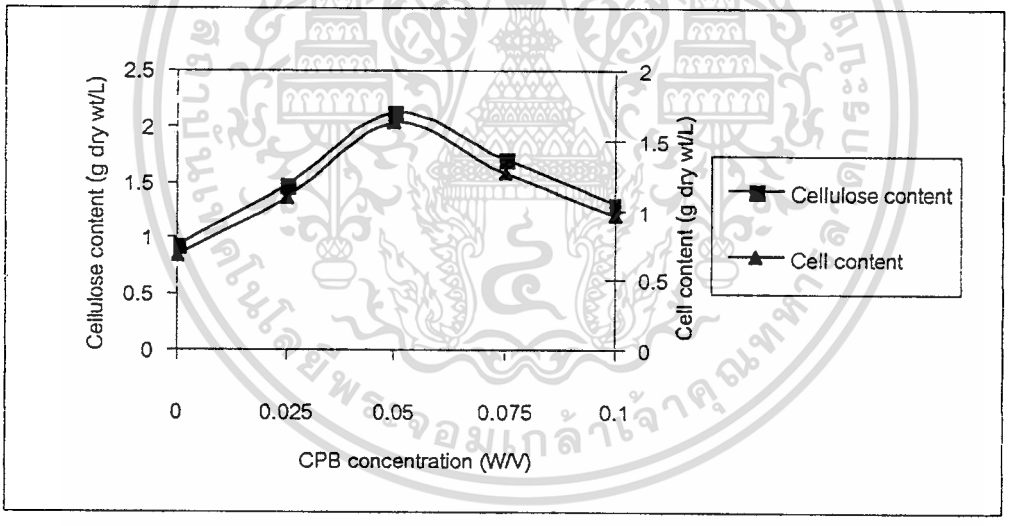
ดังนั้น CPB จึงมีคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณเซลลูโลส และลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินไปลงได้ และแสดงให้เห็นว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (DO) มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสจาก *A. xylinum*

ดังนั้น CPB จึงมีคุณสมบัติในการเพิ่มปริมาณเซลลูโลส และลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินไปลงได้ และแสดงให้เห็นว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก (DO) มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสจาก *A. xylinum* ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hestrin and Schramm (1954)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

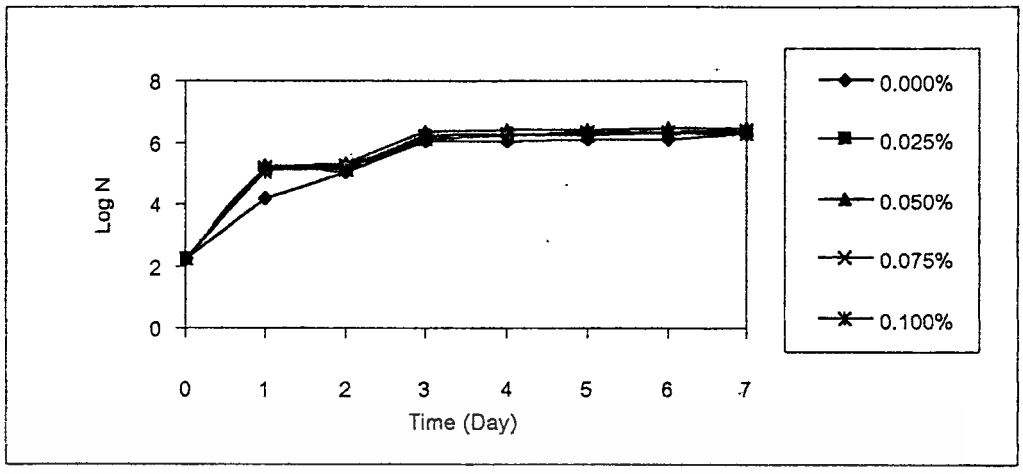


ภาพที่ 4.22 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ในการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่วัดการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ



ภาพที่ 4.23 ความเข้มข้นของ CPB ต่อปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.24 ผลของความเข้มข้นของ CPB ต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

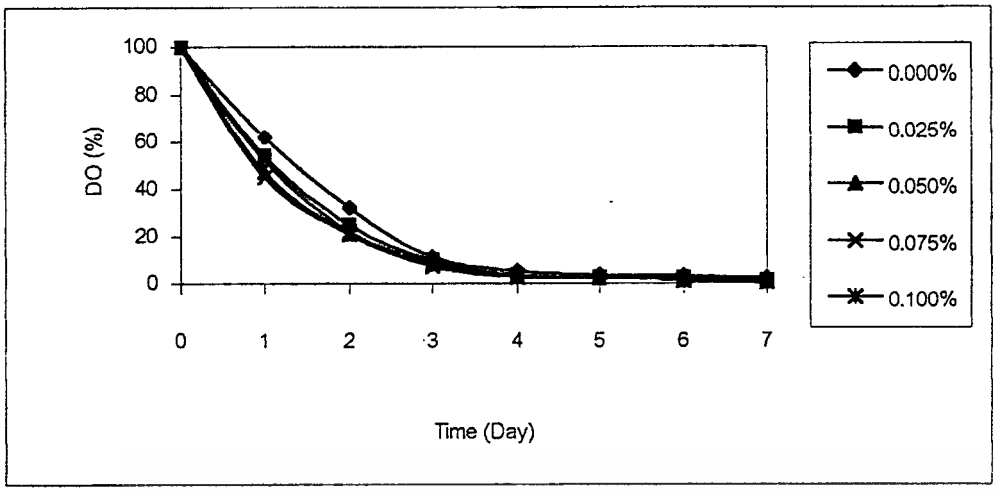
4.6.2 ผลของการใช้ Microaerophilic carrier ชนิด Cellulose Powder (CP)

เมื่อทำการติดตามปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่ได้จากการเติม CP ลดลงอย่างมีนัยสำคัญ (ภาพที่ 4.25) แสดงว่าแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK สามารถใช้ออกซิเจนในระหว่างการเจริญเติบโตอย่างมาก จึงทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลง และเพียงพอต่อการสร้างเซลลูโลสจากเชื้อสายพันธุ์ที่ได้

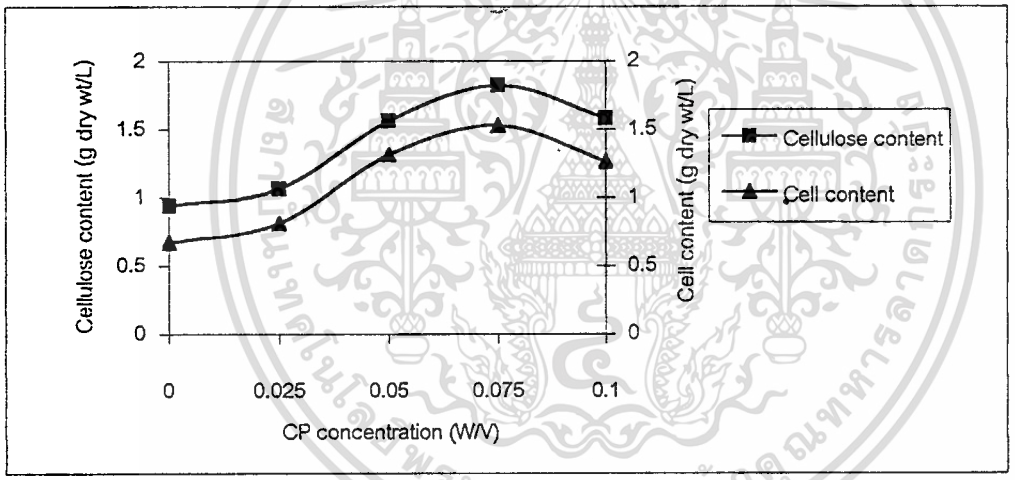
ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ที่ได้จากสภาพการเติม CP เปรียบเทียบกับที่ไม่เติม CP (ภาพที่ 4.26) พบว่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเติม CP มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการไม่เติม CP โดยพบว่าปริมาณ CP ที่ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มากที่สุดได้จากการเติม CP ร้อยละ 0.075 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการเติม CP ในปริมาณร้อยละ 0.025 0.05 และ 0.1 ในขณะที่การเติม CP ร้อยละ 0.5 และ CP ร้อยละ 0.1 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

สภาพการเติม CP ร้อยละ 0.075 ในน้ำหมักที่เลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylium* สายพันธุ์ DK ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.82 g dry wt/L และ 1.35 g dry wt/L ตามลำดับ โดยพบจำนวนเซลล์มีจำนวนเพิ่มมากขึ้นตามลำดับ (ภาพที่ 4.27) แต่เมื่อเปรียบเทียบจำนวนเซลล์จากการเติม CP กับที่ไม่เติม CP พบว่าจำนวนเซลล์ที่ได้จากการเติม CP มีปริมาณสูงกว่าที่ไม่เติม CP และพบว่าจำนวนเซลล์ที่ได้จากการเติม CP ร้อยละ 0.075 มีปริมาณจำนวนเซลล์สูงที่สุดเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณ CP ร้อยละ 0.025 0.05 0.1 แต่พบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แสดงให้เห็นว่าเมื่อแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เจริญเติบโตจะสร้างเส้นใย (microfibril) หุ้ม CP ภายใต้สภาวะการใช้ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสม นอกจากนี้แล้วความเข้มข้นของ CP ที่เหมาะสมมีผลต่อการเจริญเติบโตของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK โดย CP จะทำหน้าที่ เป็น microaerophilic carrier ซึ่งหมายความว่า *A. xylinum* สายพันธุ์ DK จะสร้างเซลลูโลสขึ้นมาในสภาวะที่เป็น microaerophilic condition ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ William and Cannon (1989) และสมมติฐานของ Krusong *et al.* (1998b) ที่กล่าวว่าเมื่อ *A. xylinum* เจริญจะสร้าง cellulose microfibril ล้อมรอบ microaerophilic carrier และสร้างสภาวะให้ใช้ปริมาณออกซิเจนเพียงเล็กน้อยในการเจริญเติบโต microaerophilic condition) และทำการสร้าง cellulose microfibril ต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

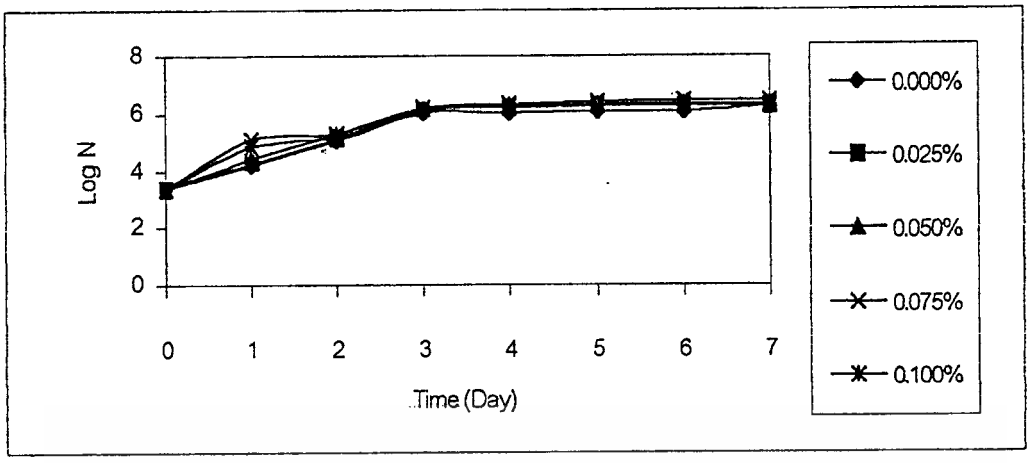


ภาพที่ 4.25 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ในการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่วัดการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ



ภาพที่ 4.26 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบ Airlift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.27 ผลของความเข้มข้นของ CP ต่อจำนวนเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.3 ผลการเปรียบเทียบการใช้ Cellulose Porous Bead และ Cellulose Powder ในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Airl-lift

จากการทดลองทำการหมักวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เป็นระยะเวลา 7 วัน อุณหภูมิ 30 °ซ ในถังหมัก Air-lift ขนาด 2 ลิตร (ปริมาตรที่ใช้เท่ากับ 1.5 ลิตร) พบว่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มีค่ามากกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP ในขณะที่เมื่อพิจารณา ถึงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลงได้ในระดับที่เหมาะสม ทำให้การสร้างเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้นโดยสามารถลดผลกระทบทางด้าน negative effect ลงได้

ปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากสภาพการเติม CPB ร้อยละ 0.05 เป็นปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด โดยมีค่าปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 2.12 g dry wt/L ส่วนกรณีสภาพการเติม CP พบว่าการเติม CP ร้อยละ 0.075 เป็นความเข้มข้นที่ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด โดยได้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 1.82 g dry wt/L อย่างไรก็ตามสามารถสังเกตได้ว่าปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการเติม CPB ลงในน้ำหมักมีค่าสูงกว่า CP แต่ พบว่าการนำ CP มาใช้เป็น microaerophilic carrier สามารถนำมาใช้แทน CPB ได้เช่นกัน เนื่องจาก CP มีราคาถูกกว่า CPB อีกทั้ง CP ได้จากวุ้นเซลลูโลสของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ที่ผ่านการทำแห้งตามวิธีการของ Krusong *et al.* (1998b)

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวส์ ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ในระหว่างการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift พบว่ามีความสัมพันธ์กันดังแสดงในภาพที่ 4.28 และ4.29 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักมีปริมาณลดลงในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มีค่าเพิ่มมากขึ้น เนื่องมาจากขณะที่ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เจริญจะใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญเติบโตและสังเคราะห์เซลลูโลส รวมทั้งสร้างกรดออกมา มีผลทำให้ค่า pH ลดลง และใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพียงเล็กน้อยในการสร้างเซลลูโลส นอกจากนี้แล้วยังพบว่าในสภาพที่เติม CPB และ CP ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และ pH มีค่าลดลงมากกว่าที่ไม่เติม CP แสดงให้เห็นว่าการเติม CPB และ CP ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสมากกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.3 ผลการเปรียบเทียบการใช้ Cellulose Porous Bead และ Cellulose Powder ในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Airl-lift

จากการทดลองทำการหมักวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เป็นระยะเวลา 7 วัน อุณหภูมิ 30 ^{o}ซ ในถังหมัก Air-lift ขนาด 2 ลิตร (ปริมาตรที่ใช้เท่ากับ 1.5 ลิตร) พบว่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มีค่ามากกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP ในขณะที่เมื่อพิจารณา ถึงปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลงได้ในระดับที่เหมาะสม ทำให้การสร้างเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้นโดยสามารถลดผลกระทบทางด้าน negative effect ลงได้

ปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากสภาพการเติม CPB ร้อยละ 0.05 เป็นปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด โดยมีค่าปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 2.12 g dry wt/L ส่วนกรณีสภาพการเติม CP พบว่าการเติม CP ร้อยละ 0.075 เป็นความเข้มข้นที่ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด โดยได้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 1.82 g dry wt/L อย่างไรก็ตามสามารถสังเกตได้ว่าปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการเติม CPB ลงในน้ำหมักมีค่าสูงกว่า CP แต่ พบว่าการนำ CP มาใช้เป็น microaerophilic carrier สามารถนำมาใช้แทน CPB ได้เช่นกัน เนื่องจาก CP มีราคาถูกกว่า CPB อีกทั้ง CP ได้จากวุ้นเซลลูโลสของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ที่ผ่านการทำแห้งตามวิธีการของ Krusong *et al.* (1998b)

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวส์ ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก ในระหว่างการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift พบว่ามีความสัมพันธ์กันดังแสดงในภาพที่ 4.28 และ4.29 โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักมีปริมาณลดลงในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มีค่าเพิ่มมากขึ้นซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Krusong *et al.* (1998a) เนื่องมาจากขณะที่ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เจริญจะใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญเติบโตและสังเคราะห์เซลลูโลส รวมทั้งสร้างกรดออกมา มีผลทำให้ค่า pH ลดลง และใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพียงเล็กน้อยในการสร้างเซลลูโลส นอกจากนี้แล้วยังพบว่าในสภาพที่เติม CPB และ CP ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์และ pH มีค่าลดลงมากกว่าที่ไม่เติม CP แสดงให้เห็นว่าการเติม CPB และ CP ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสมากกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP

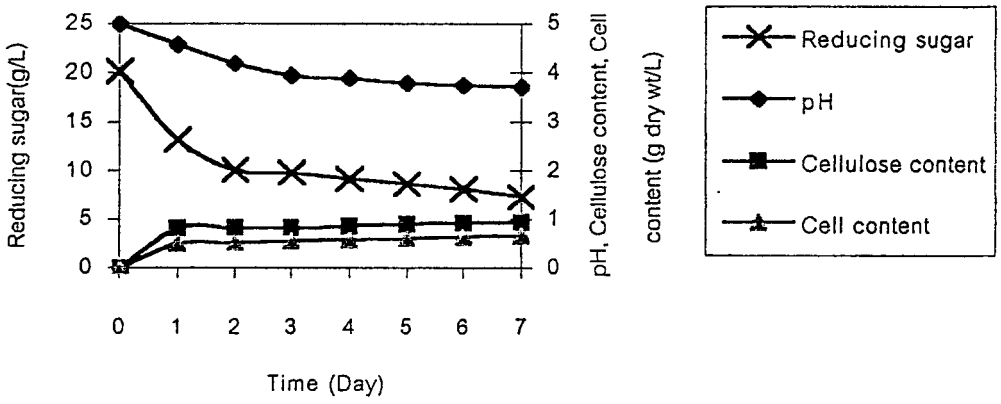
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อพิจารณาถึงความสัมพันธ์ของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับผลผลิตเซลลูโลสจากเซลลูโลสที่ผลิตขึ้น (ภาพที่ 4.30) พบว่าสภาพที่ไม่เติม CPB และ CP และเติม CPB ร้อยละ 0.05 และเติม CP ร้อยละ 0.075 เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ พบว่าเมื่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักสูงขึ้น ปริมาณเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK กลับลดลง แสดงให้เห็นว่า แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK สามารถใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพียงเล็กน้อยในการสร้างเซลลูโลส

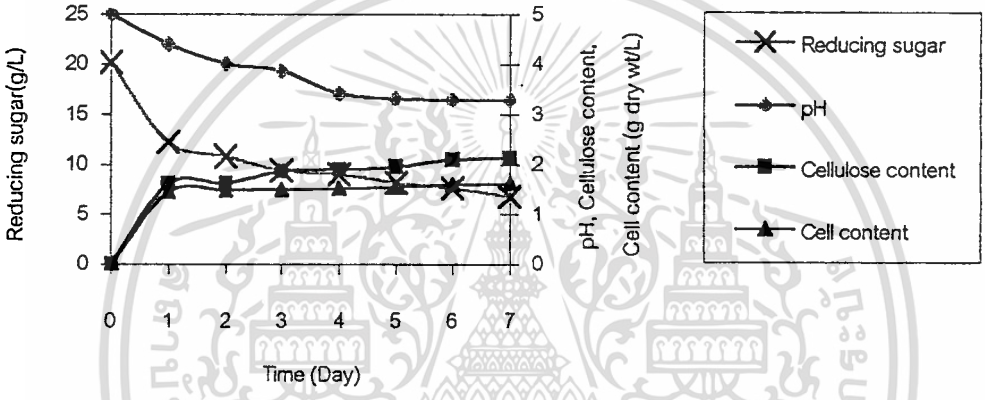
จากการทดลองพบว่าการใช้อากาศจากถังหมักแบบให้อากาศ (Air-lift) มีค่าปริมาณเซลลูโลสต่ำกว่าการให้อากาศจากการกวน ดังนั้นการให้อากาศจากการกวนจึงน่าจะเป็นวิธีที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK และยังพบว่าการให้อากาศจากการกวนทำให้เกิดผลกระทบ negative effect น้อยกว่าการให้อากาศจากถังหมักแบบ Air-lift

อย่างไรก็ตามสรุปได้ว่าสามารถใช้ microaerophilic carrier ทั้ง CPB และ CP เติมลงในน้ำหมักเพื่อเพิ่มปริมาณการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ได้เนื่องจากสามารถลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินไปลงได้

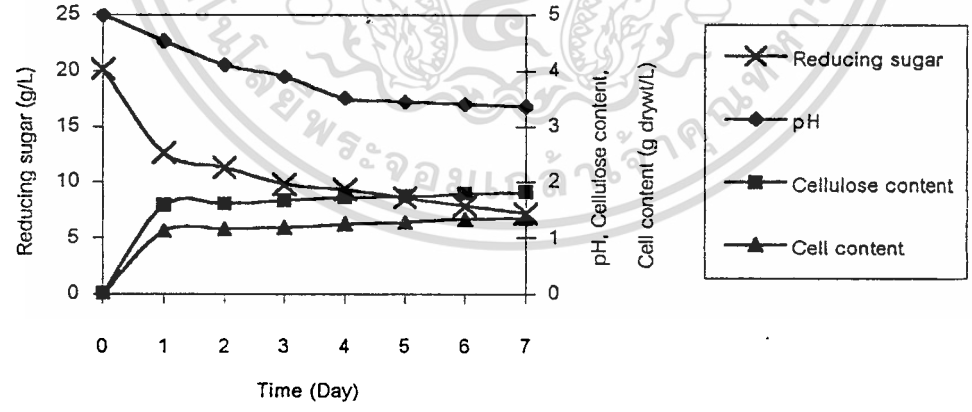
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)



(ข)

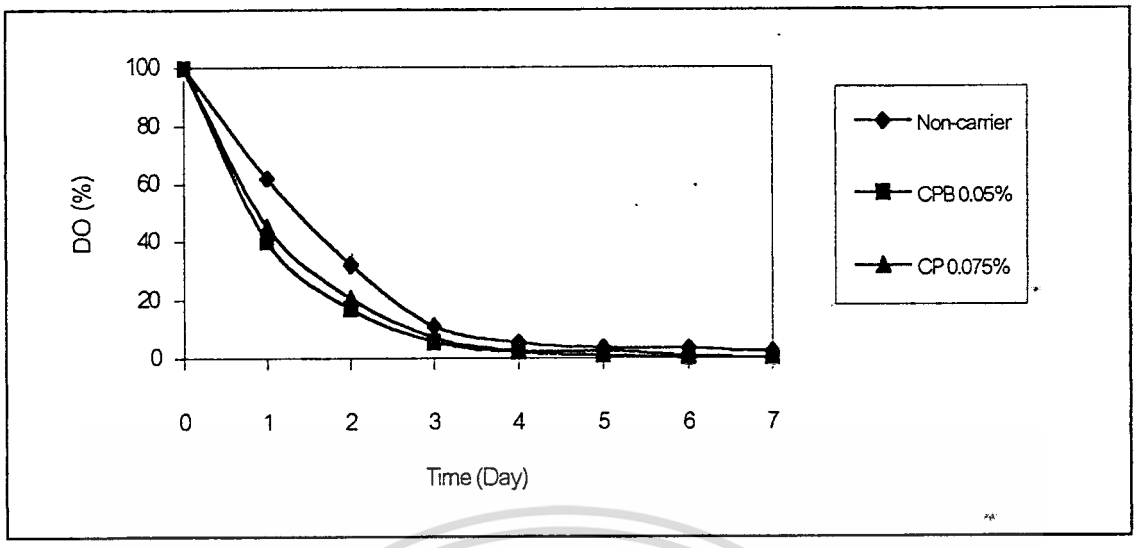


(ค)

ภาพที่ 4.28 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณ Reducing sugar, pH, ปริมาณเซลลูโลส และปริมาณเซลล์เมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ

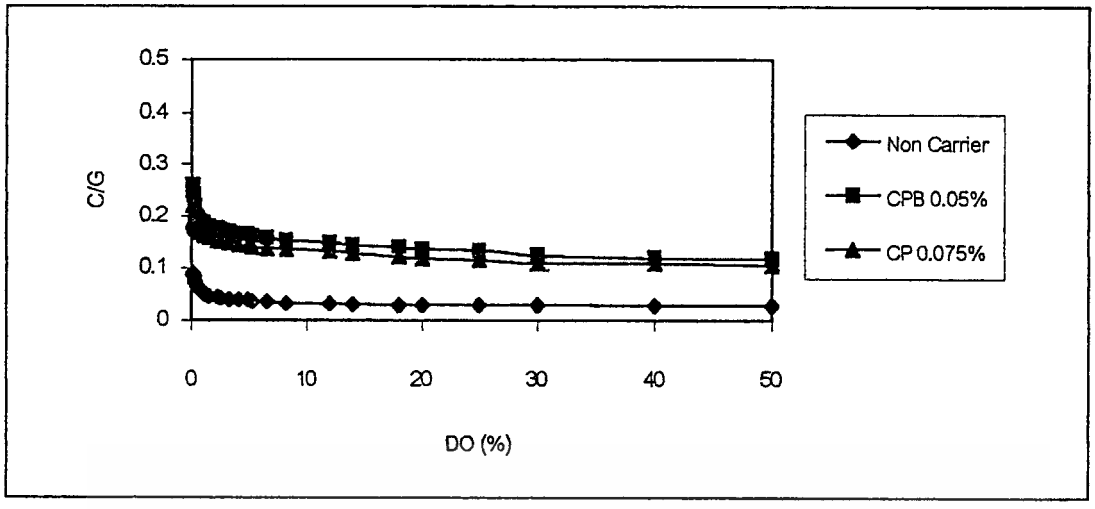
(ก) ไม่มีการเติม CPB หรือ CP; (ข) เติม CPB ร้อยละ 0.05 (ค) เติม CP ร้อยละ 0.075

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.29 การเปลี่ยนแปลงของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเมื่อเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะแบบ Air-lift ที่อัตราการให้อากาศ 0.05 vvm. เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่ อุณหภูมิ 30 °ซ ในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่องที่ไม่มีการเติม CPB หรือ CP, การเติม CPB ร้อยละ 0.05 และเติม CP ร้อยละ 0.075

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.29 ผลของความเข้มข้นของปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักต่อผลผลิตเซลลูโลส (เซลลูโลส/น้ำตาลกลูโคสที่ใช้ไป) ในการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK แบบ Air-lift เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30 ^{0}ซ ที่ไม่มีการเติม CPB หรือ CP, เติม CPB ร้อยละ 0.05 และเติม CP ร้อยละ 0.075

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.7 ผลการวิเคราะห์ทางเคมี

โดยนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการศึกษาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่เหมาะสมร่วมกับการเติม microaerophilic carrier มาทำการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของวุ้นเซลลูโลส โดยทำการเปรียบเทียบกับการรายงานของ สมคิด (2531ก)

จากการวิเคราะห์ทางเคมีขององค์ประกอบทางเคมีของวุ้นเซลลูโลส (dry basis) ตามตารางที่ 4.1 พบว่าวุ้นเซลลูโลสประกอบด้วยน้ำร้อยละ 6.12 $\pm$ 0.08 เส้นใยซึ่งคือเซลลูโลส ร้อยละ 0.93 $\pm$ 0.2 โปรตีนร้อยละ 0.87 $\pm$ 0.02 เถ้าร้อยละ 0.43 $\pm$ 0.03 ไขมันร้อยละ 0.05 $\pm$ 0.01 และคาร์โบไฮเดรตอื่นนอกจากเซลลูโลส ร้อยละ 3.8

ตารางที่ 4.1 ร้อยละขององค์ประกอบทางเคมีของวุ้นเซลลูโลส (dry basis)

องค์ประกอบทางเคมี	ปริมาณ
ความชื้น	5.18
ไขมัน	1.15
เส้นใย	20.45
โปรตีน	12.52
เถ้า	1.54
คาร์โบไฮเดรต	56.82

ตารางที่ 4.2 องค์ประกอบทางเคมีของวุ้นน้ำมะพร้าว (dry basis)

องค์ประกอบทางเคมี	ผลการวิเคราะห์โดย (ร้อยละ)	
	กรมวิทยาศาสตร์บริการ	กองเกษตรเคมี
น้ำ	5.19	5.20
ไขมัน	1.2	1.1
เส้นใย	20	21.29
โปรตีน	12.4	12.55
เถ้า	1.5	1.851
คาร์โบไฮเดรต	56.4	57.25

ที่มา : ดัดแปลงจาก สมคิด (2531ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับผลการวิเคราะห์ของกรมวิทยาศาสตร์บริการและกองเกษตรเคมี (ตารางที่ 4.2) (สมคิด, 2531ก) พบว่า มีค่าใกล้เคียงกัน ไขมันมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.1-1.2 เส้นใยมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 20-21.29 โปรตีนมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 12.4-12.55 เถ้ามีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 1.5-1.8 และคาร์โบไฮเดรตมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 56.4-57.25 ขณะที่ปริมาณน้ำที่ได้จากเซลลูโลสมีค่า 5.18 เนื่องมาจากคำนวณในรูปของน้ำหนักแห้งและมีการระเหยน้ำก่อนทำการวิเคราะห์

เมื่อคิดองค์ประกอบของวุ้นเซลลูโลสจากน้ำหนักแห้งพบว่า ปริมาณเส้นใยเซลลูโลสซึ่งเป็นองค์ประกอบหลักสำหรับโครงสร้างตาข่าย (Ross, Mayer and Benziman, 1991) มีเพียงร้อยละ 20 นอกนั้นอีกร้อยละ 80 เป็นองค์ประกอบอื่นซึ่งถือได้ว่าเป็นสิ่งเจือปน ถึงแม้ว่าสิ่งเจือปนนี้จะไม่ใช่เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพคติน เช่นเดียวกับที่พบในพืช (Hestrin and Schramn, 1954) ปริมาณโปรตีนในวุ้นเซลลูโลสที่รายงานในการวิจัยนี้คำนวณจากปริมาณไนโตรเจน ซึ่งหมายถึงไนโตรเจนจากโปรตีนและกรดนิวคลีอิกซึ่งเป็นสารภายในเซลล์แบคทีเรียนั่นเอง ส่วนปริมาณคาร์โบไฮเดรตคือปริมาณของเปปทิโดไกลเคนและไกลโคเจนซึ่งเป็นองค์ประกอบภายในเซลล์ และปริมาณของ β-1,2-D-Glucan และ β-1,3-D-glucan ที่ผลิตจากแบคทีเรีย *A. xylinum* และสายพันธุ์ของเชื้อนี้ ซึ่งสารเหล่านี้จะเกิดขึ้นพร้อมกับการสร้างเซลลูโลส (Savidge and Colvin, 1985) แสดงว่าเซลล์แบคทีเรียยังคงอยู่ในโครงตาข่ายของวุ้นเซลลูโลส ซึ่งเป็นธรรมชาติของเซลลูโลสที่สังเคราะห์จากแบคทีเรียดังกล่าว โดยเซลลูโลสที่สังเคราะห์ได้จะอยู่ข้างนอกเซลล์และเกิดเป็นโครงสร้างตาข่ายรอบๆเซลล์แบคทีเรีย (Haigler and Benziman, 1982)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

5.1 การสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า โดยใช้ความเร็วรอบของการเขย่า 100 รอบต่อนาทีเป็นความเร็วรอบของการเขย่าที่เหมาะสมที่สุด โดยให้จำนวนเซลล์มากที่สุด และให้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์สูงสุด โดยมีปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์เท่ากับ 2.14 g dry wt/L และ 0.95 g dry wt/L ตามลำดับ

5.2. ความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A.xylinum* สายพันธุ์ DK ในสภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าที่มีการเติมสารตัวกลาง (Microaerophilic carrier) สรุปได้ว่า

5.2.1 การเติม CPB ร้อยละ 0.05 จากการเลี้ยงแบคทีเรีย *A.xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงแบบเขย่าโดยใช้ความเร็วรอบของการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่ 30 ^{o}ซ ให้จำนวนเซลล์มากที่สุด ได้ปริมาณเซลล์และปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 2.65 g dry wt/L และ1.48 g dry wt/L ตามลำดับ ในขณะที่ค่า DO (%) อยู่ในระดับค่อนข้างต่ำ (ร้อยละ 0.1)

5.2.2 การเติม CP ร้อยละ 0.075 จากการเลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงแบบเขย่าโดยใช้ความเร็วของการเขย่า 100 รอบต่อนาที เป็นระยะเวลา 7 วัน ที่ 30 ^{o}ซ ให้จำนวนเซลล์มากที่สุด ได้ปริมาณเซลล์และปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 2.36 dry wt/L และ1.26 dry wt/L ตามลำดับ ในขณะที่ ค่า DO (%) เท่ากับ ร้อยละ 4.3

5.2.3 การเปรียบเทียบการใช้ CPB และ CP ในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่า พบว่าทั้ง CPB และ CP สามารถลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักที่มากเกินไป โดยสามารถลดผล negative effect ลงได้เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เติมสารตัวกลางใดๆทั้งสิ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.3 การสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้สภาวะการเลี้ยงในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนอย่างต่อเนื่อง โดยที่อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที เป็นอัตราการกวนที่เหมาะสม ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุด เท่ากับ 5.27 g dry wt/L และมีปริมาณเซลล์ 1.95 g dry wt/L และจำนวนเซลล์มากที่สุด ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงของค่า DO ในน้ำหมักพบว่าในช่วงแรกมีปริมาณสูงและค่อยๆลดลงตามลำดับ แสดงว่าแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK มีความต้องการใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำในปริมาณเล็กน้อย

5.4 ความสัมพันธ์ระหว่างค่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการกวนอย่างต่อเนื่องในถังหมักแบบกวนอย่างต่อเนื่องที่มีการเติมสารตัวกลาง (Microaerophilic carrier) โดยใช้ความเร็วรอบของการกวน 100 รอบต่อนาที ทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่ 30 ^{o}ซ สรุปได้ว่า

5.4.1 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักมีปริมาณลดลงอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อมีการเติม CPB ลงในน้ำหมัก โดยความสัมพันธ์ของปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ต่อปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก พบว่าการเติม CPB ร้อยละ 0.05 มีจำนวนเซลล์มากที่สุด และให้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 8.4 g dry wt/L และปริมาณเซลล์เท่ากับ 8.4 g dry wt/L และปริมาณเซลล์ เท่ากับ 5.82 g dry wt/L โดยจำนวนเซลล์เพิ่มมากขึ้นและปริมาณเซลลูโลสเพิ่มขึ้นตามด้วย ในขณะที่ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักลดลง แต่จำนวนเซลล์ของ *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เพิ่มมากขึ้น

5.4.2 การเติม CP ลงในน้ำหมัก สามารถแสดงคุณสมบัติในการเป็น Microaerophilic carrier โดย CP ทำหน้าที่ดึงออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่มากเกินเข้าไว้ภายในทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลง ทำให้แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ใช้ปริมาณออกซิเจนที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต โดยปริมาณ CP ร้อยละ 0.075 ให้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่มากที่สุด เท่ากับ 8.22 g dry wt/L และ 5.27 g dry wt/L ตามลำดับ

5.4.3 การเปรียบเทียบของการใช้ CPB และ CP ในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK พบว่าปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเติม CPB และ CP มีปริมาณสูงกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.4.4 ปริมาณเซลลูโลสที่ได้จากการเติม CPB ร้อยละ 0.05ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญจากการเติม CP ร้อยละ 0.075 โดย CP สามารถใช้แทน CPB ในการเพิ่มเซลลูโลสได้ และสามารถช่วยลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักได้ดีเช่นกัน

5.4.5 เมื่อระยะเวลาการหมักแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK เพิ่มมากขึ้น ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักมีปริมาณลดลงตามลำดับ ในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์เพิ่มมากขึ้น

5.4.6 การเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลรีดิวส์ พบว่าการเติม CPB และ CP มีการใช้น้ำตาลกลูโคสในการสร้างเซลลูโลสมากกว่าการไม่เติม microaerophilic carrier ทั้งสองชนิด

5.4.7 การเปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ พบว่าการเติม CPB และ CP มีค่ามากกว่าที่ไม่เติม microaerophilic carrier

5.4.8 การเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่ได้จากการเติม CPB และ CP มีค่ามีปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงมากกว่าที่ไม่เติม microaerophilic carrier ทั้งสอง

5.4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างผลผลิตเซลลูโลส (เซลลูโลสที่สร้างต่อปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ใช้ในการสร้าง) กับปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักในสภาพที่มีการเติม CPB ร้อยละ 0.05 และ CP ร้อยละ 0.075 และสภาพที่ไม่มีการเติม microaerophilic carrier ทั้งสองชนิด พบว่าเป็นปฏิภาคต่อกัน โดยปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณเซลลูโลสกลับต่ำลง แสดงว่าแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK มีสมบัติในการใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำในปริมาณเพียงเล็กน้อย (microaerophilic property)

5.5 การเปรียบเทียบปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift พบว่าการเติมอากาศที่ 0.1 vvm. ทำให้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK มีปริมาณต่ำกว่าการเติมอากาศที่ 0.05 vvm โดยปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จากการเติมอากาศ 0.05 vvm. มีค่าเท่ากับ 0.93 g dry wt/L และ 0.58 g dry wt/L ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำกับความสามารถในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift ที่มีการเติม Microaerophilic carrier สรุปได้ว่า

5.6.1 ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักในสภาพที่เติม CPB ในความเข้มข้นต่างๆ มีค่าต่ำกว่าที่ไม่เติม CPB โดยการเติม CPB ร้อยละ 0.05 ทำให้ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดต่ำลงมากที่สุด และยังมีผลทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มากด้วย โดยมีปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 2.12 g dry wt/L และปริมาณเซลล์เท่ากับ 1.62 g dry wt/L

5.6.2 การเติม CP ในปริมาณร้อยละ 0.075 ในน้ำหมักที่เลี้ยงแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ทำให้ได้ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์มากที่สุด โดยมีค่าเท่ากับ 1.82 g dry wt/L ตามลำดับ และ 1.35 g dry wt/L และมีจำนวนเซลล์สูงที่สุด

5.6.3 การเปรียบเทียบการใช้ CPB และ CP ในการสร้างวุ้นเซลลูโลสของ *A. xylinum* ภายใต้การเลี้ยงในสภาวะการให้อากาศแบบ Air-lift พบว่ามีค่ามากกว่าที่ไม่เติม CPB และ CP

5.6.4 การใช้ CPB และ CP สามารถลดผลกระทบของ negative effect ลงได้ โดยสามารถลดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำลดลงได้ในระดับที่เหมาะสม ทำให้การสร้างเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้น

5.6.5 การเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลรีดิวส์, ค่า pH และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่ได้จากการให้อากาศแบบ Air-lift ร่วมกับการเติม CPB และ CP เมื่อเปรียบเทียบกับที่ไม่เติม microaerophilic carrier ทั้งสองชนิด พบว่าปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักที่ได้จากการ CPB และ CP มีปริมาณลดลงมากกว่าที่ไม่เติมPCB และ CP ในขณะที่ปริมาณเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ที่ได้จาก CPB และ CP มีค่าเพิ่มมากขึ้น ในขณะที่แบคทีเรีย *A. xy linum* สายพันธุ์ DK เจริญและมีการใช้น้ำตาลในการสร้างเซลลูโลส ร่วมกับผลิตกรดออกมาซึ่งมีผลทำให้ ค่า pH ลดลง และสามารถใช้ออกซิเจนที่ละลายในน้ำเพียงเล็กน้อยในการสร้างเซลลูโลส

5.6.6 การเปรียบเทียบปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักกับผลผลิตเซลลูโลสจากเซลลูโลสที่ผลิตขึ้นจาก *A. xylinum* สายพันธุ์ DK จากการเติม CPB และ CP พบว่าเมื่อปริมาณออกซิเจนในน้ำหมักสูงขึ้น ปริมาณเซลลูโลสที่ได้กลับลดลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.6.7 การใช้อากาศจากถังหมักแบบให้อากาศ (Air-lift) ให้ค่าปริมาณเซลลูโลสต่ำกว่าการให้อากาศจากการกวน และการให้อากาศจากการกวนทำให้เกิด negative effect น้อยกว่าการให้อากาศจากถังหมักแบบ Air-lift

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิต (productivity) ที่ได้จากการผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการศึกษาปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำที่เหมาะสมร่วมกับการเติมสาร microaerophilic carrier ในปริมาณที่เหมาะสมคือ CPB ร้อยละ 0.05 และ CP ร้อยละ 0.075 ในสภาพการกวนอย่างต่อเนื่องภายในถังหมักขนาด 5 ลิตร พบว่าในสสภาพที่มีการเติม CPB และ CP ให้ผลผลิตเท่ากับ 0.05 และ 0.048 g dry wt/L / hr. ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณผลผลิตที่ได้ทั้งสองสภาพไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ แต่การใช้ CP มีราคาที่ถูกกว่า น่าจะได้รับการพิจารณา เนื่องจาก CP ได้จากวุ้นเซลลูโลสมาผ่านการอบแห้ง

เมื่อพิจารณาผลผลิตที่ได้จากการผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการเติม CPB ร้อยละ 0.05 และการเติม CP ร้อยละ 0.075 ในสภาวะที่มีการให้อากาศ 0.05 vvm เมื่อทำการหมักในถังหมักแบบ Air-lift พบว่า ผลผลิตที่ได้จากการเติมสาร microaerophilic carrier ทั้งสองมีค่าเท่ากับ 0.0126 และ0.011 dry wt/L/hr ตามลำดับ และผลผลิตที่ได้จากทั้งสองสภาพไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการผลิตเซลลูโลสที่ได้การกวนอย่างต่อเนื่องกับการให้อากาศภายในถังหมักแบบ Air-lift พบว่าสภาพการกวนอย่างต่อเนื่องให้ผลผลิตที่สูงกว่าสภาพการให้อากาศภายในถังหมักแบบ Air-lift แสดงให้เห็นว่าการผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการกวนอย่างต่อเนื่องเหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูโลสที่ได้จาก แบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK หรือน่าที่จะมีการปรับปรุงเพื่อเพิ่มผลผลิตในสภาพการเลี้ยงในสภาพ Air-lift ต่อไป

อนึ่งการทดลองดังกล่าวเป็นเพียงแนวทางในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* สายพันธุ์ DK ในถังปฏิกรณ์หมักแบบการกวนอย่างต่อเนื่องและ Air-lift fermentor ซึ่งควรคำนึงถึงจุดคุ้มทุนในการนำไปใช้ ทั้งนี้จะเป็นประโยชน์ต่อผู้ผลิตสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กองเศรษฐกิจการเกษตร. 2520. **ข่าวเศรษฐกิจการเกษตร.** สำนักงานปลัดกระทรวง. กระทรวงการเกษตรและสหกรณ์. 22(250) : กันยายน.

การวิจัย, กอง. 2531. พืชเส้นใย วัตถุดิบสำหรับผลิตเยื่อกระดาษ. กรมวิทยาศาสตร์บริการ. กรกฎาคม : 1-14.

ทิพรัตน์ หงภัทรคีรี. 2526. วุ้นสวรรค์ : ปัจจัยสำคัญในการทำวุ้นสวรรค์. **อุตสาหกรรมเกษตร.** 6(6) : 44-49.

นัยทัศน์ ภู่ศรัณย์. 2527. ศึกษาการทำวุ้นสวรรค์. **รายงานการวิจัยการใช้น้ำมะพร้าวและผลพลอยได้ทางอุตสาหกรรมเกษตรอย่างมีประสิทธิภาพของภาคใต้.** คณะทรัพยากรธรรมชาติ. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บุษบา ยงสมิทธิ์. 2540. **จุลชีววิทยาการหมัก : วิตามินและสารสี.** ครั้งที่1. กรุงเทพมหานคร : เท็กซ์ แอนด์ พลับบลิเคชั่น.

ปราโมทย์ ศิริโรจน์. 2541.การหาค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก. เอกสารประกอบการเรียนการสอนวิชาเทคโนโลยีการหมัก. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พรศักดิ์ มนัสสิริเพ็ญ. 2534. การทำแห้งแบบลูกกลิ้งกระบอก. อาหาร. 21(3) : 178-181.

วราวุฒิ ครูส่ง และกรวิกา สุขศรีวงษ์. 2539. **เทคโนโลยีชีวภาพ (ฉบับปรับปรุงใหม่).** ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. คณะเทคโนโลยีการเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วราวุฒิ ครูส่ง นฤมล ชูวัฒนเดช เชิดชัย ตั้งอมรสุขสันต์ และอินทิรา ปรุงลิศบัวทอง. 2535. การผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว. **วารสารเกษตรพระจอมเกล้า.** 10(4) : 47-48.

วิเชียร กิจปรีชาวณิช. 2521. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและผลิตวิตามินบี 12 ของเชื้อ *Bacillus megaterium* ATCC 13639 ในน้ำมะพร้าวแก่. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิภา ผลสมบูรณ์ และนภา โลห์ทอง. 2517. การใช้กล้วยชนิดต่างๆ มันเทศ และมะพร้าวแกงเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อรา. **รายงานการประชุมวิชาการเกษตรศาสตร์ และชีววิทยา ครั้งที่ 13** สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สมคิด ธรรมรัตน์. 2531 ก. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว. **อาหาร.** 18(4) : 239-249.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมคิด ธรรมรัตน์. 2531 ข. การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวเป็นอาหารและการแปรรูป. อาหาร. 18(4) : 250-254.

สายชล ชีวปรีชา. 2520. การใช้น้ำมะพร้าวเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อและเก็บเลี้ยงเชื้อบักเตรีที่ผลิตกรดแลกติค. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สายลม สัมพันธุ์เวชโสภา. 2526. ศึกษากรรมวิธีการผลิตกล้วยหอมผงและการใช้ประโยชน์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

สุเมธ ตันตระเธียร และวราวุฒิ ครูส่ง. 2537. วุ้นน้ำมะพร้าว. วิทยาศาสตร์. 48(6) : 360-364.

อัจฉรา มีวาสนา. 2510. การแสดงส่วนประกอบอาหารพื้นเมืองของประเทศ. วารสารกรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. 9(1-4) : 1-29.

อโณทัย คมเศวต. 2519. การศึกษาการเจริญของยีสต์อาหารสัตว์โดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นวัตถุดิบ. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

Alaban, C.A. 1962. Studies on the optimum condition for nata de coco bacterium or nata formation in coconut water. **Phil. J. Agric**. 45(9) : 490-516.

Aiba, S., Hamphrey A.E. and Millis N. F. 1965. Biochemical Engineering. Academic Press. New York.

AOAC. Official method of analysis. 1995. 16th ed. Association of Analysis Chemists. Virginia, 1995.

Asian Business, 1994. Philippines gets its just desert. **Asian Business**. July. p.76.

Atkinson, B. and Mavituna ,F. 1983. **Biochemical Engineering and Biotechnology Handbook.** The Nature Press, New York.

Benzon, J.A., Ganzales, O.N., de Leon, S.Y and Sanchez, P.C..1990. Coconut as food. Phillipine Coconut Research and Development Foundation, Inc. Quezon City, Philippines, pp. 185-199.

Blackwell, J., and Marachessault, R.H. 1977. Part IV. Bikales, In N.M.,and Segal, L (eds). **Cellulose and Cellulose Derivatives.** New York : Wiley-interscience. pp.1-17.

Blackwell, J., Kopak, F.J., and K.H., Gardever. 1971. In J.C. Arthur. (ed), **Cellulose Chemistry and Technology**. Washington : America Chemistry Society. pp. 42-50.

Blanshard, J.M.V., and Mitchell, J.R. 1978. **Polysaccharide in Food.** London : Butterworth.

Brown, R.M.,Willison, J.R., J.H.M., and Richardson, C.L.. 1976. Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum* : Visualization of the site of synthesis and direct measurement of the ***in vivo*** process. **Pro. Natl. Acad. Sci**. USA. 72 : 4565.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chao, Y.P., Sugano, Y., Kouda, T., Yoshinaga, F. and Shoda, M. 1997. Production of bacterial cellulose by *Acetobacter xylinum* with an air-lift reactor. **Biotechnology Techniques**.11(11) : 829-832.

Collado, L.S. 1987. Nata : processing and ploblems of the industry in the Philippines, In. **Traditional Foods and their Processing in Asia**. Yamgida et al. (Eds.), Nodia Research Institue, Tokyo, university of Agriculture, Tokyo, Japan, pp.94-104.

Colvin, J.R. 1972. The biosynthesis of cellulose. CRC. Crit. Rev. **Macromol. Sci.** 1 : 47-81.

Cowling, E.B., and Kirl, T.K. 1976. Properties of cellulose and lignocellulose materials as substrate for enzymatic conversion process. **Biotech. Biotech. Symp.** (6) : 95-123.

Delmer, D.P. 1983. Biosynthesis of cellulose. **Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.** 41:105-153.

Dimaguila, L.A.S. 1967. The"nata de coco" 2 chemical nature and properties of forfied nata de coco. **The Philippine J. of Science**. 96(4) : 363-376.

Crueger, W. and Crueger, A. 1990. Biotechnology : **A Textbook of Industrial Microbiology**. End. Cd. Sinauer. Associates, Inc.,Sunderland.

Dudman, W. 1959. Cellulose production by *Acetobacter xylinum* in defined medium. **J. Gen. Microbiol.** 21:327-330.

Glacken. M.W., Flesischaher, R.J. and Sinskey, A.J. 1983. Mammalian cell cultures : engineering principles and scale up. **Trends in Biochemistry**. 11 : 102-108.

Glavez, F.C.F. 1985. Factors affecting the stability of nata formation by *Acetobacter aceti* subspecies xylinum in coconut water medium. Unpublished Master's Thesis (Food Science), U.P.Los Banos, Laguna, Philippines, 83 pp.

Gromet, Z., Schramm, M and Hestrin, S. 1957. Synthesis of cellulose *by Acetobacter xylinum* 4. Enzyme system present in a crude extract of glucose-grown cell. **Biochem J.** 67 : 679-689.

Haigler, C.H., and Benzaman, M. 1982. Biogenesis of cellulose I microfibrils occurs by cell-directed self-assembly in *Acetobacter xylinum*. In R.M. Brown, Jr., (ed.). **Cellulose and Other Natural Polymer Systems**. chap. 14. New york: Plenum Press.

Hestrin, S. and Schramm, M. 1954. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum* : preparation of freeze dried cells of polymerizing glucose to cellulose. **Biochem. J.** 58 : 345-352.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Heuser, E. 1944. **The Chemistry of Cellulose.** John Willey & Sons Inc., New York

Honeyman, J. 1959. Recent advances in the chemistry of cellulose and starch. **Interscience Publisher,** Inc, New York . pp.160-168.

Howsmons, J.A., and Sisson, W.A. 1954. Cellulose Derivatives. 2nd ed. New York : **Interscience Publisher,** Inc. pp.244.

Joris, K., Billet, F., Drieghs, S. and Vandamme, E. 1993. Enhanced bacterial cellulose yield in aerated *Acetobacter xylinum* culture by adding micro-particles. Cellulosics :Materials for Selective Seperations and Other Technologies. Eliss Horwood. Great Britian. pp. 239-244.

Kjosbakken. J. and J.R. Colvin. 1975. New evidence for an intermediate polymer of glucose in cellulose biosynthesis by *Acetobacter xylinum*. **Can. J. Microbio.** 21 : 111-120.

Kochler, L.H. 1952. Differential of carbohydrate by anthrone reaction rate and color intensity. **Anal. Chem.** 24 pp. 1576-1579.

Kouda, T., Yano, H. and Yoshinaga, F. 1997. Effect of Agitator configulation on bacterial cellulose productivity in aerated and agitated culture. **J. Ferment. Bioeng.** 83 (4) : 371-376.

Krassing, H. 1985. Structure of cellulose and its relation to properties of cellulose fibers. In. Kennedy, J.F., Phillips, G.O., Wedlock, D.J., and William, P.A. (eds.), Cellulose and Its Derivatives : Chemistry and Biochemistry and Applications. Ellis Horwood Limited . New York. pp. 3-25.

Krusong, W., Takagi, M., and Yoshida, T. 1995. Cellulose porous bead as microaerophilic carrier for enhancing cellulose production in agitated culture of *Acetobacter xylinum*. Ann. Rep. IC Biotech.

Krusong, W., Phapinyo, N. , Vongcharoensathit, A., Takagi, M., Nakagima M. and Yoshida, T. 1998a. Investigation of Dissolved Oxygen on Cellulose Gel Formation by *Acetobacter xylinum* in Static and Agitated/Aerated Culture. Proceedings of JSPS-NRCT/DOST/LIPI/ VCC. In The Field of Biotechnology : Regional Seminar Meeting on The Development of Manufacturing Bioprocess Technology on Various Carbohydrate Resource., 19-23 December 1998 Kasetsart University; Bangkok, Thailand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Krusong, W., Phapinyo, N., Takagi, M., Nakagima M., and Yoshida, T.1998b. Comparison of Cellulose Porous Beads and Cellulose Powder as Microaerophilic Carrier for Bacterial Cellulose Production in Continuous Stirred Tank Reactor. Paper Presented at the 3rd Seminar of JSPS-NRCT/DOST/LIPT/VCC Large Scale Cooperative Research in the Field of Biotechnology : Sustainable Development of Biotechnology, 3-5 November 1998. Trader Manila Hotel, Philippines.

Krusong, W., Phapinyo, N. and Yoshida, T. 1998c. Counteraction of negative effect on cellulose production in a submerged culture of *Acetobacter xylinum*. Proceedings of International Conferance on Asian Network on Microbial Researches. Gadjah Mada university, Yogyakarta, Indonesia, 23-25 February 1998. pp. 521-527.

Krusong, W. and Yoshida, T 1995. Counteraction of negative effect on cellulose formation in agitated culture of *A. xylinum* by adding of alginate gel beads as microaerophilic carrier. Ann. Rep. IC Biotech.

Lapuz, M.M. and Gallardo, E.G. 1967. The nata organism-culture requirments characteristic and identify. **Philppine J. Sci.** 96(2) : 91-109.

Liang, C.Y. and Marchess, R.H. 1959. Infrared spectra of crystalline polysaccharides. I. Hydrogen bonds in native cellulose. **J. Polymer Sci.** 37 : 385-395.

Liily, V.G., Wilson, H.A. and Leach, J.G. 1958. Bacterial polysaccharide II. Laboratory scale production of polysaccharide by species of *Xanthomonas*. **Appl. Microbiol.** 6 : 105-108.

Mark, H. 1940. Intermicellar mole and tube system in fiber structure. **J. Phys. Chem.** 44. 764-788.

Nichi, Y., Uryn, M., Yamanaka, S., Watanabe, K, Kitamura, N., Iguhi, M., and Mitsuhashi, S. 1990. The Structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. Part 2 Improvement of the mechanical properties of sheet their applicabillity to diaphrams of electroacoustic trandsducer. **J. Mater Sci.** 25 : 2997-3001.

Okiyama, A., Sirae, H., Kano, H. and S., Yamanaka. 1992. Bacterial Cellulose I. Two-stage fermentation process for cellulose production by *Acetobacter aceti*. **Food Hydrocolloid.** 6 : 471-477.

Pirt, S.J. 1975. **Principles of microbes and cell cultivation.** Blackwell Scientific Publication. Oxford.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ross, P., Mayer, R., and Benziman, M. 1991. Cellulose Biosynthesis and function in bacteria. **Micro. Rev.** 55 (1) : 35-58.

Sarko, A. 1976. What is the crystalline structure of cellulose? **Tappi** . 61 : 59-61.

Savidge, R.A., and Colvin, J.R. 1985. Production of cellulose and soluble polysaccharides by *Acetobacter xylinum*. **Can J. Microbiol.** 31 : 1019-1025.

Sikyta, R.B. 1983. Methods in Industrial Microbiology. Ellis Horwood Limited.

Smith; J.E. 1985. **Biotechnology Principles.** Van Nostrand Reinhold Com. Ltd., Berkshire.

Solomon, G.L. 1969. **Materials and Methods in Fermentation.** Academic Press. London.

Stanbury, P.F. and Whitaker, A. 1984. **Principles of Fermentation Technology.** Pergamon Press Ltd.

Takagi, M.,·Shirokaze, J.I, Oishi, J.I, Yamamoto, K, Yoshida, ., N and Fujimatsu, I. 1994. Production of s-(+)-ibuprofen with high optical purify from a nitrite compound by cells immobilized on cellulose porous beads. **J. Ferment. Bioeng.** 78 : 191-193.

Tayama, K. Minakami, H., Entani, E., Fujiyama, S., and Masai. H. 1985. Structure of an acidic polysaccharide from *Acetobacter* sp. NBI. 1022. **Agri Biol Chem.** 49(4) : 959-966.

Toraya, T., Yongsamith, B., Honda, S.,Tanaka ,A and Fukui, S. 1976. Production of vitamin B12 by methanol-utilizing bacterium. **J. Ferment. Technol.** 54(2) : 102-108.

Verderbelt, J.M. 1945. Nutritive value of coconut. **Nature.** 156 : 174-175.

Watanabe, K. and S., Yamanaka. 1995. Effect of oxygen tension in the gasseous phase on production and physical cellulose formed under static culture conditions. **Biosci. Biotech. Biochem.** 59. : 65-68.

Whistler, R., and Teng, J. 1970. Cellulose chemistry. Kenneth, In (ed), W.B. **Handbook of Pulp and Paper Technology.** 2nd ed. Van nostrand Reinhold Company. New York . pp. 13-23.

Whitaker, A. 1980. Fed-batch culture. **Proc. Biochem.** 15 (4) : 10-15.

White, D.G. and Brown, R.M.Jr. 1989. Prospect for the commercialization of the biosynthesis of microbial cellulose. In. C. Schuerch.(ed) **Cellulose and Wood Chemistry and Technology.** John Willey & Sons, Inc. New York. pp. 573-590.

Williums, W.S., and Cannon, R.E. 1989. Alternative environmental roles for cellulose produced by *Acetobacter xylinum*. **Appl. Env. Microbiol.** 55 : 2448-2452.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yamanaka, S., Watanabe, K., Kitamura, N., Iguchi, M., Mitsuhashi, S., Nishi, Y., and M., Uryu. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. **J. Mater. Sci.** 24 : 3141-3145.

Yoshida, F., Yamane, T., and Nakamoto, K. 1973. Fed-Batch hydrocarbon fermentations with colloidal emulsion feed. **Biotech. Bioeng.** 15 : 257-270.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งและความชื้น (AOAC, 1995)

1. ชั่งน้ำหนักตัวอย่างประมาณ 2.5-3 กรัม ใส่ลงในภาชนะอะลูมิเนียมที่ผ่านการอบจนน้ำหนักคงที่แล้ว
2. นำไปอบต่อในตู้อบที่อุณหภูมิ 98-100 ^{0}ซ เป็นเวลา 3 ชั่วโมง
3. ทำให้เย็นใน desicator.
4. ชั่งน้ำหนัก moisture can

$$\text{ปริมาณของแข็ง(ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักตัวอย่างและภาชนะบรรจุหลังอบ} - \text{น้ำหนักภาชนะบรรจุ}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

2. การวิเคราะห์ปริมาณเถ้า (AOAC, 1995)

ชั่งน้ำหนักตัวอย่าง 2-5 กรัม โดยทราบน้ำหนักตัวอย่างที่แน่นอน ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องทนไฟที่ทราบน้ำหนักแน่นอน นำไปเผาจนกระทั่งเถ้าเป็นสีขาว (ประมาณ 3-4 ชั่วโมง เป็นอย่างต่ำ) นำออกมาทิ้งให้เย็นใน desicator ชั่งน้ำหนักที่แน่นอนของสารที่เหลือเป็นน้ำหนักของแร่ธาตุหรือเถ้า นำมาคำนวนเป็นร้อยละของเถ้าต่อไป

$$\text{ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)} = \frac{\text{น้ำหนักของเถ้า}}{\text{น้ำหนักตัวอย่าง}} \times 100$$

3. การวิเคราะห์โปรตีนแบบ Buchi-Kjeldahl-Systems (AOAC, 1995)

สารเคมี

1. กรดซัลฟุริกเข้มข้น
2. กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 2
3. กรดไฮโดรคลอริก 0.01 นอร์มัล
4. โซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 32
5. Catalyst : ผสมซีลิเนียมไดออกไซด์ (SeO_2) 2.5 กรัม โปรตัสเซียมซัลเฟต (K_2SO_4) 100 กรัม และคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 5H_2O$) 20 กรัมเข้าด้วยกัน
6. อินดิเคเตอร์ผสม

   ก. เตรียม Bromo cresol green ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95 และ Methyl red ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 ในแอลกอฮอล์ความเข้มข้นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. ผสม 10 มิลลิลิตร Bromo cresol green กับ 2 มิลลิลิตร Methyl red ใน ขวดหยด

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตตัวอย่าง 2 มิลลิลิตร ลงใน digestion vessels
2. เติม catalyst 5 กรัม กรดซัลฟุริกเข้มข้น 15 มิลลิลิตร และ glass beads
3. นำ digestion vessels ตั้งในชุดย่อยจนได้สารละลายสีฟ้า
4. เทสารละลายทั้งหมดลงในปีกเกอร์แล้วนำไปใส่ในเครื่องกลั่นโปรตีน (Buchi) เติมน้ำให้ได้ปริมาตร 25 มิลลิลิตร แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 32 ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ทำการกลั่นโดยตั้งเวลาไว้ประมาณ 4-5 นาที เก็บก๊าซแอมโมเนียที่ได้ในสารละลายกรดบอริก ความเข้มข้นร้อยละ 2 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ที่มีอินดิเคเตอร์ผสมอยู่ 2-3 หยด ในฟลาสก์ลูกชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร
5. นำส่วนที่กลั่นได้ไปไตเตรตกับกรดไฮโดรคลอริก 0.01 นอร์มัล จนกระทั่งสีน้ำเงินเปลี่ยนเป็นสีใส หรือไม่มีสี

$$\text{ปริมาณโปรตีน (ร้อยละ)} = \frac{\text{N.HCl X ml.HCl X 14 X 6.25 X 100}}{\text{ml. ของตัวอย่าง X 1000}}$$

4. การวิเคราะห์หาปริมาณไขมัน (AOAC, 1995)

สารเคมี

ปิโตรเลียมอีเทอร์

วิธีวิเคราะห์

1. นำตัวอย่างอาหารมา 5 กรัม ไปอบที่อุณหภูมิ 103 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง หรือได้น้ำหนักคงที่
2. นำของแข็งจากข้อ 1 ใส่ในทิมเบอร์ (thimble) ให้หมด ปิดด้วยสำลีที่สกัดเอาไขมันแล้ว
3. นำทิมเบอร์ ใส่ในชุดแยกสกัดของเครื่องสกัดเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ใส่ลงในฟลาสก์ (ให้มีปริมาณเพียงพอที่จะให้เกิดการสกัดอย่างสมบูรณ์) ต่อฟลาสก์ก้นกลม และชุดแยกสกัดให้เข้ากับคอนเดนเซอร์ ทำการสกัดโดยใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง
4. แยกเอาฟลาสก์ก้นกลม และคอนเดนเซอร์ออกจากชุดสกัด
5. ใช้คีมคีบสำลีและทิมเบอร์ที่ใส่อาหารตัวอย่างอาหารออกมา เทเอาของแข็งออกจากทิมเบอร์ นำมาบดด้วยปิโตรเลียมอีเทอร์อีกครั้งหนึ่ง เพื่อสกัดไขมันในของแข็งออกมากที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เทของแข็งที่สกัดแล้วกลับเข้าทิมเบอร์อีกครั้งหนึ่ง แล้วเริ่มสกัดเช่นเดิม โดยเติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงไปอีก ใช้สำลีที่สกัดไขมันออก แล้วปิดด้านบนของทิมเบอร์ไว้สกัดต่ออีกครั้งประมาณ 1-2 ชั่วโมง

7. นำฟลาสก์ก้นกลมไประเหยเอาอีเทอร์ออก แล้วอบในตู้อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นานประมาณ 45 นาที ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น

$$\text{ร้อยละไขมันต่อน้ำหนักแห้ง} = \frac{\text{ปริมาณไขมันที่สกัดได้}}{100 - \text{ปริมาณความชื้น}} \times 100$$

5. การวิเคราะห์เส้นใย (AOAC, 1995)

สารเคมี

1. สารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 0.1275 โมลาร์ (0.255 นอร์มัล) (กรดกำมะถันเข้มข้น จำนวน 1.25 กรัม ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น)

2. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.313 โมลาร์ (0.313 นอร์มัล) (ละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1.25 กรัม ในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร สารละลายนี้จะต้องปราศจากโซเดียมคาร์บอเนต)

3. สารละลายกรดเกลือเข้มข้นร้อยละ 1

4. เอธิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 95 (ปริมาตรต่อปริมาตร)

5. ไดเอทธิลอีเธอร์

วิธีวิเคราะห์

1. สกัดไขมันออกจากตัวอย่าง ดังบทปฏิบัติการเรื่องการสกัดไขมัน

2. นำตัวอย่างที่ไม่มีไขมันไปต้มในสารละลายกรดกำมะถันเข้มข้น 0.1275 โมลาร์ จำนวน 200 มิลลิลิตร นาน 30 นาที เพื่อสลายคาร์โบไฮเดรตและโปรตีน เขย่าขวดตลอดเวลา

3. กรองสารละลายผ่านเครื่องกรองแบบบุชเนอร์ ล้างกากด้วยน้ำร้อนหลายๆครั้ง จนกระทั่งไม่มีกรดเหลืออยู่ในกาก

4. เทกากกลับลงในฟลาสก์ใบเดิม ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้น 0.313 นอร์มัล จำนวน 200 มิลลิลิตร ล้างกากออกจากกระดาษกรอง นำไปต้มเดือดนาน 30 นาที

5. กรองสารละลายอีกครั้ง แล้วล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนขนแน่ใจว่าไม่มีด่างเหลืออยู่

6. เทกากกลับลงในฟลาสก์ใบเดิม ล้างกากด้วยสารละลายเกลือเข้มข้นร้อยละ 1 แล้วตามด้วยน้ำร้อนจนแน่ใจว่าไม่มีกรดเหลืออยู่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. ล้างกากด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ 2 ครั้ง และไดเอทธิลอีเทอร์อีก 3 ครั้ง นำกากที่เหลือทั้งหมดใส่ลงบนกระดาษกรองชนิดปราศจากเถ้า หรือถ้วยกระเบื้องเคลือบที่ผ่านการกรองและทราบน้ำหนักแน่นอน ล้างส่วนที่ติดกระดาษกรองด้วยน้ำร้อนเล็กน้อย

8. นำไประเหยให้แห้งบนหม้อต้มน้ำแบบปรับอุณหภูมิได้แล้วอบต่อที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส จนได้น้ำหนักคงที่ ชั่งหาน้ำหนักของกากที่แห้งเหลือ

9. นำกากไปเผาต่อในเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งได้เถ้าสีขาว ปล่อยทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ชั่งหาน้ำหนักเถ้าที่ได้

10. คำนวณหาปริมาณเส้นใยในตัวอย่างอาหาร

ปริมาณเส้นใยในตัวอย่างอาหาร = น้ำหนักแห้งของกาก - น้ำหนักเถ้า

6. การวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวส์โดยวิธี Shaffer-Somogyi Micro Method (AOAC, 1995)

สารเคมี

1. anhydrous Na_2CO_3
2. $NaKC_4H_4O_5.4H_2O$ (Potassium sodium tartrate . $4H_2O$ หรือ Rochelle salt)
3. $CuSO_4.5H_2O$
4. $NaHCO_3$
5. KI
6. KIO (เตรียม 0.001 N โดยละลาย 3.567 กรัม ในน้ำกลั่น 1 ลิตร)
7. $K_2C_2O_3.5H_2O$ (Potassium oxalate)
8. $Na_2S_2O_3.5H_2O$ (Sodium thiosulfate)
9. H_2SO_4 (เตรียม 2N H_2SO_4 โดยเจือจาง conc. 56 มิลลิลิตร ในน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรทั้งหมด 1 ลิตร)
10. Soluble Starch
11. Glucose
12. $K_2C_rO_7$

วิธีวิเคราะห์

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ที่มีปริมาณกลูโคสอยู่ในช่วง 0.5-2.5 มิลลิกรัม (มีปริมาณกลูโคส 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) ใส่ในหลอดทดสอบขนาด 25 X 250 มิลลิเมตร เตรียม blank โดยใช้น้ำกลั่นแทนตัวอย่าง

2. เตรียมตัวอย่างควบคุมโดยใช้สารละลายน้ำตาลกลูโคส 0.1-0.5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เติมน้ำยา Shaffer-Somogyi carbonate 50 reagent ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน โดยการแกว่งเบาๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ปฏิกิริยาทางเคมีที่เกิดขึ้นเมื่อให้อากาศในสารละลาย Na_2SO_3 ที่มี copper sulfate เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา

$$O_2 + Na_2SO_3 \xrightarrow{CuSO_4} Na_2SO_4$$

ดังนั้นถ้าวัดปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) หลังการเติม sodium sulfite ที่เวลาต่างๆกันจะได้ค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำ และจะทราบค่า K_La โดยหาค่า slope แล้วหารด้วย 0.21 atmosphere ปริมาณออกซิเจนที่บละลายในน้ำเวลาใดๆ จะหาได้โดย titrate กับ I_2 solution ที่ทราบความเข้มข้นที่น่นอน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การตรวจนับจำนวนเซลล์ (Krusong *et al.*, 1998)

เตรียมอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (วราวุฒิ และคณะ, 2535) ผสมกับวุ้นร้อยละ 2 นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นเทลงในจานอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ให้ผิวหน้าของอาหารแห้ง ทำการเจือจางตัวอย่างน้ำหมักด้วยน้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วที่ 10^{-1}-10^{-8} ดูดสารสารละลายตัวอย่าง 0.1 มล. ทำการ spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เวลา 4 วัน ตรวจนับโคโลนี เพื่อคำนวณหาปริมาณเซลล์

2. ขั้นตอนการเก็บเกี่ยววุ้นเซลลูโลส (Watanabe and Yamanaka, 1995,; Krusong *et. al*, 1995)

นำวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมัก แยกเอาวุ้นออกจากน้ำหมัก นำไปแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน แล้วนำไปเหวี่ยงด้วยเครื่องเหวี่ยง (centrifuge) ด้วยความเร็วรอบ 13,000 รอบต่อนาทีเป็นเวลา 10 นาที เพื่อเอาน้ำออก ชั่งน้ำหนัก หลังจากนั้นแบ่งวุ้นออกเป็นสองส่วน ส่วนที่หนึ่งนำไปอบที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนัก โดยชั่งน้ำหนักทั้งก่อนอบและหลังอบ หลังจากนั้นนำส่วนที่สองไปกำจัดสิ่งเจือปนอื่นๆออกด้วย NaOH ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยเติม NaOH จนท่วมวุ้นเซลลูโลส นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น และแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน นำไปเหวี่ยงเพื่อแยกน้ำออก นำไปชั่งน้ำหนักก่อนอบ แล้วนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ชั่งน้ำหนักหลังอบ คำนวณค่า Cellulose content และ Cell content

$$\text{Cellulose content (g dry wt/L)} = \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบส่วนที่สอง - น้ำหนักหลังอบส่วนที่สอง}}{\text{น้ำหนักทั้งหมดก่อนแบ่ง}} \times \frac{1000}{\text{ปริมาตรน้ำหมัก}}$$

$$\text{Cell content (g dry wt/L)} = \text{Cellulose content} - \frac{\text{น้ำหนักก่อนอบส่วนที่หนึ่ง - น้ำหนักหลังอบส่วนที่หนึ่ง}}{\text{น้ำหนักทั้งหมดก่อนแบ่ง}} \times \frac{1000}{\text{ปริมาตรน้ำหมัก}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

นายณัฐพล ฟ้าภิญโญ เกิดวันที่ 28 พฤษภาคม 2516 ที่กรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาจากโรงเรียนวัดบวรนิเวศ ในปีการศึกษา 2534 และสำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรบัณฑิต (สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร) จากสถาบันราชภัฏสวนดุสิต ในปีการศึกษา 2538 สำเร็จการศึกษาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (วิทยาศาตร์การอาหาร) จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ในปีการศึกษา 2539 และจบการศึกษาระดับวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ในปีการศึกษา 2541 รับทุนครุทายาทระดับอุดมศึกษา ปี 2539 บรรจุที่โปรแกรมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี สถาบันราชภัฏสวนดุสิต และรับทุนสนับสนุนการทำวิทยานิพนธ์จากราชกรีฑาสโมสร ปี 2540