

การผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลโดยใช้เชื้อผสมของ *Zymomonas mobilis*
สายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548



นางสาวเต็มสิริ ไชยเดช
นางสาวนงลักษณ์ ปลั่งทองคำ
นายนรินทร์ วิริยะสกุลสุข
นางสาวพรวิสาข์ ยุ่นประยงค์

โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2543

เลขที่.....
เลขทะเบียน..... 39893
วัน, เดือน, ปี 11 ก.ย. 2543

.b.....
.i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ทางการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Production of Sorbitol by Mixed Cultures of *Zymomonas mobilis*

TISTR 405 and TISTR 548



**A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the
Requirement for Degree of Bachelor of Science**

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

2000


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ การผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลโดยใช้เชื้อผสมของ *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548


โดย 1. นางสาวเต็มสิริ ไชยเดช
2. นางสาวนงลักษณ์ ปลื้มทองคำ
3. นายนรินทร์ วิริยะสกุลสุข
4. นางสาวพรวิสาช ยุ่นประยงค์


ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. สุขใจ ชูจันทร์

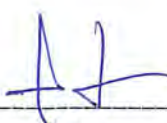
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งการศึกษาตามหลักสูตร
วิทยาศาสตร์บัณฑิต


หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
(ผศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง)

คณะกรรมการสอบโครงการพิเศษ


ประธานกรรมการ
(รศ.ดร.พรรณี รุิตาภิชิต)


กรรมการ
(อาจารย์ลินจง สุขลำภู)


กรรมการ
(รศ. สุขใจ ชูจันทร์)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ	การผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลโดยใช้เชื้อผสมของ <i>Zymomonas mobilis</i> สายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548
โดย	1. นางสาวเต็มสิริ ไชยเดช 2. นางสาวนงลักษณ์ ปล้องทองคำ 3. นายนรินทร์ วิริยะสกุลสุข 4. นางสาวพรวิสาข์ ยุ่นประยงค์
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. สุขใจ ชูจันทร์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2543

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ (bioconversion) ของกลูโคสและฟรุกโทส ไปเป็นกรดกลูโคนิกและซอร์บิทอลโดยเอนไซม์กลูโคส-ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส (glucose-fructose oxidoreductase) โดยใช้เชื้อ *Zymomonas mobilis* TISTR 405 TISTR 548 และ เชื้อผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *Z.mobilis* TISTR 405 ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทส อัตราส่วน 1:2 ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ ขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชของอาหารเริ่มต้น 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงในสภาวะที่ไม่มีการเขย่า มีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุดคือ 2.354 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชีวโม่ง ณ ชั่วโมงที่ 24 ของระยะเวลาการหมัก การหมักด้วยเชื้อ *Z.mobilis* TISTR 548 ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร Z-broth ที่มีน้ำตาลซูโครส ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ ขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชของอาหารเริ่มต้น 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุดคือ 0.905 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชีวโม่ง ณ ชั่วโมงที่ 24 ของระยะเวลาการหมัก และการหมักด้วยเชื้อ *Z.mobilis* ที่เป็นเชื้อผสมของทั้ง 2 สายพันธุ์ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ในอาหาร Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทส อัตราส่วน 1:2 ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ ขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชของอาหารเริ่มต้น 6.0 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการใช้ฟรุกโทส จำเพาะสูงสุดคือ 1.545 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ ณ ชั่วโมงที่ 24 ของระยะเวลาการหมัก

Special Project Title	Production of Sorbitol by mixed cultures of <i>Zymomonas mobilis</i> TISTR 405 and TISTR 548
Name	Miss. Temsiri Chaidet Miss. Nongluck Plongthongkum Mr. Narin Wiriyasakulsuk Miss. Pornwisa Yoonprayong
Special Project Advisor	Associate Professor Sukjai Chujan
Department	Applied Biology
Academic Year	2000

Abstract

The bioconversion of glucose and fructose to gluconic acid and sorbitol by the enzymes glucose – fructose oxidoreductase (GFOR) and gluconolactone (GL) with *Zymomonas mobilis* TISTR 405 , *Z. mobilis* TISTR 548 and mixed culture of *Z. mobilis* TISTR 405 and TISTR 548 was studied and the results were as follows. Under without shaking condition at 30 °C , pH 6.0 in a 125 ml flask containing 100 ml. Z-broth , the fermentation of *Z. mobilis* TISTR 405 used was 9 % inoculum size in Z-broth containing 15 % glucose plus fructose concentration (glucose:fructose=1:2) at 24 hours of the fermentation , the specific fructose consumption rate (q_s) was 2.345 g/100 ml. .h .g cell. *Z. mobilis* TISTR 548 at 9 % inoculum size in Z-broth containing 15 % sucrose at 24 hours of the fermentation had a specific fructose consumption rate of 0.905 g/100 ml. .h .g cell. Mixed culture of *Z. mobilis* TISTR 405 and TISTR 548 of 9 % inoculum size in Z-broth containing 15 % glucose plus fructose concentration (glucose:fructose=1:2) at 24 hours of the fermentation had a specific fructose consumption rate of 1.545 g/100 ml. .h .g cell

กิตติกรรมประกาศ

โครงการพิเศษฉบับนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต คณะผู้จัดทำ ขอขอบพระคุณ รศ. สุขใจ ชูจันทร์ อาจารย์ที่ปรึกษาโครงการพิเศษ ที่ได้ให้ความรู้ ข้อเสนอแนะ รวมทั้งได้กรุณาตรวจทานแก้ไขทางด้านภาษา และคำแนะนำต่าง ๆ รศ. ดร. พรรณี รัฐากิษิต ประธานกรรมการสอบโครงการพิเศษ และ อาจารย์ลินจง สุขล้ำภู กรรมการสอบโครงการพิเศษ รวมทั้งเจ้าหน้าที่ทุกท่านที่กรุณาให้ยืมอุปกรณ์ และสารเคมีต่าง ๆ สำหรับทำการทดลอง

สุดท้ายขอขอบพระคุณ บิดามารดาของคณะผู้จัดทำ ตลอดจนเพื่อน ๆ ทุกคน ที่ได้ให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจในการจัดทำโครงการพิเศษนี้จนสำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

คณะผู้จัดทำ
มีนาคม 2544

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญตาราง	ง
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ	15
บทที่ 4 ผลการทดลอง	21
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์	63
เอกสารอ้างอิง	
ภาคผนวก ก อาหารเลี้ยงเชื้อ	64
ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์น้ำตาลและกราฟมาตรฐานของน้ำตาล	65
ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์น้ำตาลที่เซลล์แห้งและกราฟแสดงน้ำตาลที่เซลล์แห้ง	69
ภาคผนวก ง วิธีการวิเคราะห์ค่าต่างๆ	71
ภาคผนวก จ ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ	76
ภาคผนวก ฉ น้ำหนักแห้ง	86

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางภาคผนวกที่ ข1	ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานและค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	65
ตารางภาคผนวกที่ ข2	ความเข้มข้นของน้ำตาลฟรุกโทสมาตรฐานและค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นต่าง ๆ	68
ตารางภาคผนวกที่ ค1	น้ำหนักเซลล์แห้งที่ค่าการดูดกลืนแสงต่าง ๆ	70
ตารางภาคผนวกที่ จ1	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405	76
ตารางภาคผนวกที่ จ2	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548	76
ตารางภาคผนวกที่ จ3	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548	77
ตารางภาคผนวกที่ จ4	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างแหล่งน้ำตาลของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405	77
ตารางภาคผนวกที่ จ5	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างแหล่งน้ำตาลของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548	78
ตารางภาคผนวกที่ จ6	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548	78

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ7	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างอุณหภูมิของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405	78
ตารางภาคผนวกที่ จ8	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างอุณหภูมิของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548	79
ตารางภาคผนวกที่ จ9	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างอุณหภูมิของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548	79
ตารางภาคผนวกที่ จ10	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405	80
ตารางภาคผนวกที่ จ11	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548	80
ตารางภาคผนวกที่ จ12	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548	81
ตารางภาคผนวกที่ จ13	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405	82
ตารางภาคผนวกที่ จ14	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 548	82
ตารางภาคผนวกที่ จ15	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548	83

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ16	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างอุณหภูมิของเชื้อ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405	83
ตารางภาคผนวกที่ จ17	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างอุณหภูมิของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 548	84
ตารางภาคผนวกที่ จ18	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างอุณหภูมิของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548	84
ตารางภาคผนวกที่ จ19	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405	84
ตารางภาคผนวกที่ จ20	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 548	85
ตารางภาคผนวกที่ จ21	การวิเคราะห์ความแตกต่างของค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะระหว่างความเข้มข้นน้ำตาลของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548	85
ตารางภาคผนวกที่ ฉ1	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ ชั่วโมงต่างๆโดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเปอร์เซ็นต์ต่างๆ	86
ตารางภาคผนวกที่ ฉ2	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ ชั่วโมงต่างๆโดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเปอร์เซ็นต์ต่างๆ	87
ตารางภาคผนวกที่ ฉ3	น้ำหนักแห้งของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ ชั่วโมงต่างๆ โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเปอร์เซ็นต์ต่างๆ	87
ตารางภาคผนวกที่ ฉ4	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ ชั่วโมงต่างๆโดยใช้แหล่งน้ำตาลต่างๆ	88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ5	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ ชั่วโมงต่าง ๆ โดยใช้แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	88
ตารางภาคผนวกที่ ฉ6	น้ำหนักแห้งของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ชั่วโมงต่าง ๆ โดยใช้แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	89
ตารางภาคผนวกที่ ฉ7	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ ชั่วโมงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	89
ตารางภาคผนวกที่ ฉ8	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ ชั่วโมงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	90
ตารางภาคผนวกที่ ฉ9	น้ำหนักแห้งของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ชั่วโมงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	90
ตารางภาคผนวกที่ ฉ10	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ชั่วโมงต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่าง ๆ	91
ตารางภาคผนวกที่ ฉ11	น้ำหนักแห้งของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ชั่วโมงต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่าง ๆ	91
ตารางภาคผนวกที่ ฉ12	น้ำหนักแห้งของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ ชั่วโมงต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่าง ๆ	92
ตารางภาคผนวกที่ ฉ13	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	92
ตารางภาคผนวกที่ ฉ14	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	93
ตารางภาคผนวกที่ ฉ15	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของเชื้อ ผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	93
ตารางภาคผนวกที่ ฉ16	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	94
ตารางภาคผนวกที่ ฉ17	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	94

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ18	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของเชื้อ ผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 อุณหภูมิต่างๆ	95
ตารางภาคผนวกที่ ฉ19	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ความเข้มข้นน้ำตาล ต่างๆ	95
ตารางภาคผนวกที่ ฉ20	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ความเข้มข้นน้ำตาล ต่างๆ	96
ตารางภาคผนวกที่ ฉ21	ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสของเชื้อ ผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่างๆ	96



สารบัญภาพ

	หน้า	
ภาพที่ 2.1	โครงสร้างซอร์บิทอล	3
ภาพที่ 2.2	ผลึกซอร์บิทอลทั่วไป	3
ภาพที่ 2.3	ผลึกซอร์บิทอลเมื่อละลายน้ำ	4
ภาพที่ 2.4	ผลึกซอร์บิทอลเมื่อละลายน้ำด้วยกำลังขยายสูง	4
ภาพที่ 2.5	วิถีเอ็ทเนอร์ – ดูโตรอฟฟ์ในการผลิตซอร์บิทอล	13
ภาพที่ 2.6	ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์กลูโคส – ฟรุคโทส ออกซิโดรีดักเทส	
ภาพที่ 3.1	เชื้อ <i>Z. mobilis</i> ที่อยู่ในอาหารเอียง	15
ภาพที่ 3.2	อาหารเหลวที่ไม่มีเชื้อ	16
ภาพที่ 3.3	เชื้อ <i>Z. mobilis</i> ที่อยู่ในอาหารเหลว	16
ภาพที่ 4.1	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ	23
ภาพที่ 4.2	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ	23
ภาพที่ 4.3	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ	24
ภาพที่ 4.4	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ	25
ภาพที่ 4.5	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ	25
ภาพที่ 4.6	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ	26
ภาพที่ 4.7	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ	29
ภาพที่ 4.8	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุคโทสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ	29
ภาพที่ 4.9	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ	30

ภาพที่ 4.10	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	31
ภาพที่ 4.11	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	31
ภาพที่ 4.12	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	32
ภาพที่ 4.13	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	33
ภาพที่ 4.14	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	33
ภาพที่ 4.15	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	34
ภาพที่ 4.16	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	35
ภาพที่ 4.17	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	35
ภาพที่ 4.18	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	36
ภาพที่ 4.19	เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	37
ภาพที่ 4.20	เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	37
ภาพที่ 4.21	เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	38
ภาพที่ 4.22	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	41
ภาพที่ 4.23	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	41
ภาพที่ 4.24	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	42
ภาพที่ 4.25	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	43

ภาพที่ 4.26 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	43
ภาพที่ 4.27 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	44
ภาพที่ 4.28 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	45
ภาพที่ 4.29 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	45
ภาพที่ 4.30 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	46
ภาพที่ 4.31 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	47
ภาพที่ 4.32 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	47
ภาพที่ 4.33 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	48
ภาพที่ 4.34 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	49
ภาพที่ 4.35 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	49
ภาพที่ 4.36 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ	50
ภาพที่ 4.37 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	53
ภาพที่ 4.38 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	53
ภาพที่ 4.39 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	54
ภาพที่ 4.40 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	55

ภาพที่ 4.41	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	55
ภาพที่ 4.42	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	56
ภาพที่ 4.43	เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	57
ภาพที่ 4.44	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	57
ภาพที่ 4.45	เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ	58
ภาพที่ 4.46	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ	59
ภาพที่ 4.47	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ	59
ภาพที่ 4.48	เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ	60
ภาพที่ 4.49	เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ	61
ภาพที่ 4.50	เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ <i>Z. mobilis</i> TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ	61
ภาพที่ 4.51	เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง <i>Z. mobilis</i> TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ	62
ภาพที่ ข1	กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส	66
ภาพที่ ข2	กราฟมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโทส	68
ภาพที่ ค1	กราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้ง	70

บทที่ 1

บทนำ

สารให้ความหวานพลังงานต่ำ (Sugarless syrup) เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์สูตรต่างๆที่ผลิตขึ้นเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณสมบัติพิเศษ คือ ให้พลังงานต่ำเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำตาลที่ใช้บริโภคกันอยู่ทั่วไป นอกจากนี้ยังให้ความหวานน้อยกว่า และช่วยป้องกันฟันผุ ด้วยคุณสมบัติดังกล่าวจึงทำให้เป็นที่นิยมบริโภคในหมู่บุคคลทั่วไปรวมทั้งผู้ป่วยโรคเบาหวาน ผลิตภัณฑ์ประเภทนี้ใช้ผสมในลูกอม แยม เยลลี่ ไซ้กรอก และซอสบาร์บีคิว เป็นต้น

น้ำตาลซอร์บิทอล (sorbitol) เป็นสารให้ความหวานที่ใช้แทนน้ำตาลอีกชนิดหนึ่ง โดยให้รสชาติกลมกล่อม ชุ่มลิ้นเมื่อรับประทาน มีประสิทธิภาพช่วยป้องกันฟันผุ เหมาะกับบุคคลทุกเพศทุกวัย สามารถใช้ผสมเวชภัณฑ์ยา ขนมขบเคี้ยว ขนมเค้ก ผักตบถ เป็นต้น

การผลิตซอร์บิทอลในปัจจุบันใช้วิธีทางเคมี คือ Hydrogenation ซึ่งจะมีข้อเสียก็คือ ต้นทุนในการผลิตสูง ใช้สภาวะที่รุนแรงและการทำให้บริสุทธิ์จะทำได้ยาก โดยเฉพาะนิกเกิล (Ni) ที่ใช้ในปฏิกิริยาจะไม่สามารถกำจัดได้หมด (Phillips, 1983) ดังนั้นการผลิตซอร์บิทอลโดยกระบวนการทางเทคโนโลยีทางชีวภาพจึงได้รับความสนใจในปัจจุบัน เนื่องจากไม่มีโลหะหนักเกิดขึ้นในปฏิกิริยากระบวนการหมักโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น แบคทีเรียและยีสต์ ซึ่งพบว่าเชื้อแบคทีเรียสามารถผลิตซอร์บิทอลได้มากที่สุดคือ *Zymomonas mobilis* (Silveira และคณะ, 1994)

เชื้อ *Zymomonas mobilis* เป็นแบคทีเรียพวกสร้างเอทานอลได้ซึ่งมีความสามารถในการผลิต กลูโคโนแลกโตน (gluconolactone) และซอร์บิทอล จากการผสมกันของกลูโคสและฟรุกโทสซึ่งตลอดทั้งปฏิกิริยาจะถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ กลูโคส-ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส (glucose-fructose oxidoreductase) ควบคู่ไปกับการใช้ NADPH ในเวลาต่อมา กลูโคโนแลกโตน จะถูกไฮโดรไลซ์ด้วยเอนไซม์ กลูโคโนแลกโตนไปเป็นกรดกลูโคนิก (Zachariou and Scopes, 1986)

การเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพเพื่อการผลิต ซอร์บิทอล และกรดกลูโคนิกจะใช้เซลล์ของเชื้อ *Zymomonas mobilis* ที่ไม่ได้ทำการเปลี่ยนแปลงเซลล์ทางกายภาพ ชีวภาพและสารเคมีซึ่งผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นนี้จะเกิดผ่านวิถีเอนเนอร์-ดูโดโรฟฟ์ (Entner-Doudoroff) โดยการหมักจะเป็นการหมักแบบกะ

ในการทดลองนี้จะเป็นการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตซอร์บิทอล ได้แก่ อุณหภูมิ ความเข้มข้นของน้ำตาล ปริมาณเชื้อเริ่มต้น อัตราส่วนระหว่างน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทส ความ

แตกต่างกันระหว่างเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์ (TISTR 405 และ TISTR 548) และเชื้อผสมของทั้ง 2 สายพันธุ์การตรวจสอบสภาวะต่างๆเหล่านี้จะนำมาใช้เป็นข้อมูลในการผลิต และการนำไปขยายขนาดการผลิตเพื่อให้ได้ผลผลิตมากที่สุด

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาการผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์
2. เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตซอร์บิทอลของเชื้อผสมของแบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548
3. เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตซอร์บิทอลของเชื้อแบคทีเรีย *Zymomonas mobilis*

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

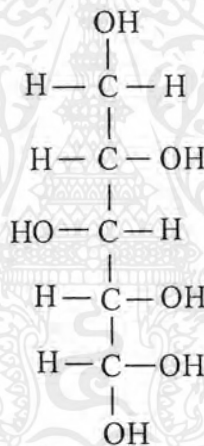
1. เป็นแนวทางในการศึกษาการผลิตซอร์บิทอลโดยใช้เชื้อจุลินทรีย์
2. เป็นแนวทางในการนำไปสู่การปรับปรุงสายพันธุ์ของแบคทีเรีย เพื่อให้มีความสามารถในการผลิตซอร์บิทอลเพิ่มมากขึ้น
3. ได้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตซอร์บิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

ซอร์บิทอล (Sorbitol) หรือเรียกอีกชื่อว่า D-glucitol เป็นน้ำตาลแอลกอฮอล์ซึ่งหมายถึง สารที่มีโครงสร้างเป็นน้ำตาลและได้ผ่านปฏิกิริยา hydrogenation ซอร์บิทอลมีสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_{14}O_6$ มีสูตรโครงสร้างเป็น



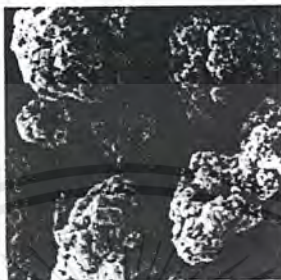
รูปที่ 2.1 แสดงโครงสร้างของซอร์บิทอล



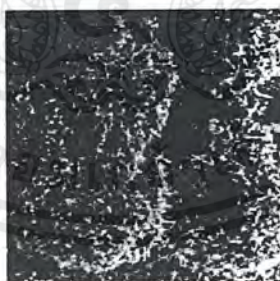
รูปที่ 2.2 แสดงผลึกซอร์บิทอลทั่วไป : ผลึกซอร์บิทอลนี้ตรวจสอบโดย SEM ซึ่งให้เห็นเหลี่ยมมุมและพื้นผิวซึ่งมีลักษณะเรียบคล้ายกับโครงสร้างของผลึกอื่นๆโดยทั่วไป ขณะที่ผลึกซอร์บิทอลเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การอัดตัว (inherent direct compression or DC) รวมกันเป็นเม็ดนั้นทำให้เกิดลักษณะเนื้อสัมผัสที่หยาบเหมือนเม็ดทราย



รูปที่ 2.3 แสดงผลึกซอร์บิทอลเมื่อละลายน้ำ : SEM ได้เปรียบเทียบซอร์บิทอลเมื่อละลายน้ำซึ่งแสดงให้เห็นซอร์บิทอลที่ผลิตได้ทั้ง 2 วิธีมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ Basedow และคณะได้อธิบายว่าโครงสร้างของซอร์บิทอลที่ละลายน้ำนั้น ผลึกของซอร์บิทอลจะจัดเรียงตัวกันอย่างหลวม ๆ ภายใน



รูปที่ 2.4 แสดงผลึกซอร์บิทอลเมื่อละลายน้ำด้วยกำลังขยายสูง: เมื่อใช้กำลังขยายที่สูงขึ้นจะพบว่า มีช่องว่างภายในอนุภาคซึ่งเป็นคุณสมบัติพิเศษของซอร์บิทอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณสมบัติพื้นฐานของผลึกซอร์บิทอล

D-sorbitol (HPLC)	96 % min
Specific optical rotation	+(4-7) ^o
Reducing sugars	0.2 % max
Total sugars	0.3 % max
Loss on drying (Karl Fisher):	1 % max
Clarity and color	colorless and clear
Acidity (NaON 0.01 N/g)	0.2 ml
Residue on ignition	0.1 % max
Chloride	10 ppm max
Sulphate	50 ppm max
Arsenic	1 ppm max
Heavy metals	5 ppm max
Nickel	1 ppm max
Lead	0.5 ppm max
Periodate titration	98-101 %
Melting point	95-98°C
Crystalline form	gamma form
Partical size: 80-450 micrometer	80 % min
Microbiological index	Passes test

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซอร์บิทอลพบครั้งแรกในปีคริสต์ศักราช 1872 ในผลไม้สด (มีประมาณ 5 – 10 เปอร์เซ็นต์) พวกแอปเปิ้ล พลัม ลูกแพร์ พีช แอปปริคอต องุ่น แบริ้ ผลันท์ นอกจากนี้ยังพบในสาหร่ายและไบยาสูบด้วย แต่ปริมาณที่พบในอาหารตามธรรมชาติไม่มากเพียงพอที่จะนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมได้ จึงต้องมีการสังเคราะห์ขึ้นมา ปัจจุบันซอร์บิทอลที่ใช้กันอยู่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเคมีโดยใช้กระบวนการ Catalytic hydrogenation จาก Dextrose มีนิกเกิล (Ni^{2+}) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ภายใต้อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ความดัน 100 – 150 บรรยากาศ ซึ่งเป็นภาวะที่รุนแรง อาจก่อให้เกิดอันตรายและก่อปัญหาทางสภาพแวดล้อมจากการกำจัดนิกเกิล อีกทั้งยังใช้ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูง (ลดาวัลย์, 2526) นอกจากกระบวนการทางเคมีแล้ว ซอร์บิทอลยังสังเคราะห์ได้จากกระบวนการทางชีวภาพโดยอาศัยจุลินทรีย์ จากการศึกษาพบว่า ยีสต์สายพันธุ์ *Candida boidinii* สามารถเปลี่ยนกลูโคสให้เป็นซอร์บิทอลได้ นอกจากนี้แบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* ก็สามารถเปลี่ยนซูโครสไปเป็นซอร์บิทอลได้เช่นเดียวกัน (Tani and Vogosu vanlert, 1987 ; Viikari, 1984)

คุณสมบัติทางกายภาพ

1. ซอร์บิทอลมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น
2. มีความหวานประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำตาลซูโครส
3. ให้พลังงาน 3 แคลอรีต่อกรัม
4. เมื่อรับประทานซอร์บิทอลในรูปผลึกจะรู้สึกเย็นลิ้น และมีรสขาคคล้ายเมนทอล เนื่องจากมีค่าความร้อนของการละลายเป็นลบ (-110 กิโลจูลต่อกรัม)
5. ละลายน้ำได้อย่างสมบูรณ์ ได้ของเหลวใส ไม่มีสี มีความหนืดน้อยกว่าสารละลายของน้ำตาลเมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน นอกจากนี้ซอร์บิทอลยังสามารถละลายได้เล็กน้อยในเมทานอล เอทานอล และกรดน้ำส้ม
6. ดูดซับความชื้นได้ดี ช่วยลดการสูญเสียน้ำในอาหาร
7. มีจุดหลอมเหลวประมาณ 92.7 – 97.2 องศาเซลเซียส (กุลยา, 2523)

คุณสมบัติทางเคมี

1. ซอร์บิทอลมีความคงตัวแม้ในที่มีอุณหภูมิสูงหรือในสภาวะที่เป็นกรดต่างเพราะมีหมู่คาร์บอนิล ($C=O$) ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งว่องไวในการทำปฏิกิริยาอูกรีดิวซ์ด้วยไฮโดรเจน
2. ซอร์บิทอลไม่เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในทางโภชนาการ (Metabolism)

ซอร์บิทอล เป็นสารอาหารในร่างกายซึ่งให้พลังงาน 4.1 กิโลแคลอรีต่อกรัม (เท่ากับพลังงานจากน้ำตาล) ซอร์บิทอลจะถูกดูดซึมช้า ๆ ผ่านลำไส้ และจะถูกเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็ว ในตับให้เป็นฟรุคโตสโดยไม่เกี่ยว ข้องกับฮอร์โมนอินซูลินซึ่งเป็นตัวควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด เนื่องจากซอร์บิทอลถูกดูดซึมได้ช้า จึงมีฤทธิ์เป็นยาถ่ายถ้ารับประทานมากเกินไป ปริมาณบริโภคสำหรับผู้ใหญ่ไม่ควรเกิน 60-80 กรัมต่อวัน ในเด็กอายุ 5-16 ปีไม่ควรเกิน 30-40 กรัมต่อวัน ปริมาณบริโภคในแต่ละครั้งสำหรับผู้ใหญ่ ไม่ควรเกิน 20 กรัมต่อวัน และในเด็ก ไม่ควรเกิน 10 กรัมต่อวัน

การประยุกต์ใช้ซอร์บิทอลในอุตสาหกรรมอาหาร

1. อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม ขนมอบ ขนมเค้ก ท็อปปี้ ลูกอม ลูกกวาดแยม มัสตาร์ด มายองเนส น้ำสลัด

- เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในอาหารหรือเครื่องดื่มสำหรับผู้เป็นโรคเบาหวาน และผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก
- ช่วยการคงรูปของสี กลิ่น และลักษณะของเครื่องดื่ม
- ช่วยให้เนื้อขนมมีความเนียนนุ่ม ไม่แห้งกระด้าง
- ในท็อปปี้ที่ผสมถั่ว เม็ดอัลมอนด์ ซอร์บิทอลจะช่วยให้ไขมันเหม็นหืนช้าลง
- ในลูกกวาด ซอร์บิทอลจะช่วยไม่ให้เกิดผลึกน้ำตาล ผิวของลูกกวาดจึงดูใสเรียบและไม่เหนียวเหนอะหนะ
- ช่วยให้แยมมีสี กลิ่น รสดีขึ้น เก็บรักษาได้นาน
- ถ้าใส่ซอร์บิทอลในปริมาณที่เหมาะสม จะช่วยลดค่าน้ำไอสระ (water activity) ของของเหลว จุลินทรีย์จึงเจริญเติบโตไม่ได้ อาหารไม่เสียเร็ว เก็บอาหารได้นานขึ้น

2. อุตสาหกรรมยาและเภสัชกรรม

- ใช้เป็นยาถ่าย
- เป็นตัวพา (carrier) ในการเตรียมเภสัชภัณฑ์และช่วยแต่งกลิ่นรส
- ใช้เป็น antioxidant (ยับยั้งการ oxidant) ของสารที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่ายและช่วยในการคงตัวของวิตามิน
- ใช้ในการสังเคราะห์กรดแอสคอบิก (วิตามินซี)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ในเนื้อสัมผัสที่เป็นครีม ของเหลวแขวนลอยและอิมัลชัน (ของเหลวสองชนิดที่ไม่ละลายเข้ากัน) ซอร์บิทอลจะช่วยให้การแยกชั้น (phase separation) ช้าลง ไม่แยกให้เห็นเป็นชั้นไขมัน และยังช่วยรักษาความชุ่มชื้น
- ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ โดยให้ทางหลอดเลือดดำ เพื่อลดอาการบวม
- ใช้ลดความดันใน cerebrospinal
- ใช้ลดความดันภายในลูกตา จึงใช้เป็นยารักษาโรคต้อหิน
- ใช้เป็นตัวทำลายในยาเตรียมต่างๆ และแทนกลีเซอรินได้ในการเป็นตัวดูดความชื้นในยาเตรียม ซึ่งในยาเตรียมมักใช้ความเข้มข้นประมาณ 70เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักของสารละลาย

3.อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก

- ในครีม โลชั่น ซอร์บิทอลจะช่วยให้ความชุ่มชื้น เนื้อครีมไม่แห้งหรือชั้นจนเหนอะหนะเวลาใช้
- ให้รสหวาน เย็นลิ้น ชุ่มปาก ไม่ระคายเคืองต่อเยื่อช่องปาก ไม่ทำให้ฟันผุ เนื่องจากกรดแลคติกจากการย่อยซอร์บิทอลโดยจุลินทรีย์ในช่องปาก จะมีปริมาณต่ำกว่ากรดแลคติกจากการย่อยน้ำตาลมาก ค่าพีเอชจึงไม่ต่ำจนทำให้ฟันเริ่มผุได้

4.อุตสาหกรรมเครื่องหนัง สิ่งทอ กาว เครื่องแก้ว พลาสติก หมึกพิมพ์ กระดาษ

- ช่วยเพิ่มสีสนและความเงางามของหนัง
- ผสมกับสารอื่นเพื่อเคลือบเส้นด้าย ช่วยให้เส้นด้ายเป็นเงา ทอง่าย เส้นด้ายไม่รุ่ยไม่ติดเครื่องทอผ้า
- ช่วยให้กาวติดแน่น ทนความร้อน
- ซอร์บิทอลจะเป็นตัวให้ความชื้น (humectant) เป็นพลาสติกไซเซอร์ (plasticiser) และสเตบิไลเซอร์ (stabilizer) ในผลิตภัณฑ์เหล่านี้

การเตรียมซอร์บิทอลโดยใช้วิธีทางเคมีสามารถแบ่งตามลักษณะการเตรียมได้ดังนี้

การเตรียมซอร์บิทอลทางการค้า

ซอร์บิทอลถูกเตรียมได้โดยวิธีรีดักชันของน้ำตาลกลูโคส โดยมีการดำเนินการตามขั้นตอนดังนี้คือ

1. ละลายน้ำตาลที่ถูกทำให้บริสุทธิ์แล้วลงในน้ำ ใส่เนกิเกลผสมลงไปด้วยเพื่อช่วยเร่งปฏิกิริยา
2. ใช้ก๊าซไฮโดรเจนที่มีความกดดันสูง ๆ เป็นตัวรีดิวซ์น้ำตาล จะได้ซอร์บิทอลออกมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. กรองเอาตัวเร่งปฏิกิริยาออกจากสารละลาย
4. ทำสารละลายให้บริสุทธิ์โดยวิธี ion exchange และฟอกสีสารละลายโดยใช้ถ่านคาร์บอน
5. ทำสารละลายที่ถูกทำให้บริสุทธิ์แล้วให้เข้มข้นขึ้น โดยระเหยน้ำออกในสูญญากาศ และปรับให้เป็นปริมาตรและความเข้มข้นที่ต้องการด้วยน้ำสะอาดซึ่งปราศจากเกลือแร่ต่าง ๆ

การเตรียมซอร์บิทอลที่บริสุทธิ์

ใช้น้ำตาลกลูโคส 100 กรัม ใส่ใน Aryl alcohol 500 มิลลิลิตร โดยใช้ตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น นิเกิล โคบอลต์ และโครเมียม น้ำตาลกลูโคสจะถูกรีดิวซ์เป็นเวลา 1-2 ชั่วโมง ที่ 150 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดัน 150 บรรยากาศ จะได้ซอร์บิทอลออกมา

ทำซอร์บิทอลให้บริสุทธิ์ โดยเปลี่ยนเป็นโมโนเบนซาลซอร์บิทอล แล้วทำโมโนเบนซาลซอร์บิทอลให้เป็นซอร์บิทอลบริสุทธิ์ โดยวิธีไฮโดรไลซิส

การเตรียมซอร์บิทอลจากสารละลายของน้ำตาล

สารละลายของน้ำตาลซึ่งปราศจากเกลือประกอบด้วย D-Xylose 35 เปอร์เซ็นต์ D-Glucose 27 เปอร์เซ็นต์ D-Mannose 22 เปอร์เซ็นต์ D-Galactose 5 เปอร์เซ็นต์ และสารพวกพอลิเมอร์ 7 เปอร์เซ็นต์ ถูกปรับให้มีปริมาณน้ำตาลประมาณ 40 เปอร์เซ็นต์ สารละลายนี้จะถูกรีดิวซ์โดยวิธี Catalytic hydrogenation ภายใต้ความดัน 300 บรรยากาศ อุณหภูมิ 70-120 องศาเซลเซียส และมีตัวเร่งปฏิกิริยา คือ SiO_2 (80 เปอร์เซ็นต์) Ni (14 เปอร์เซ็นต์) Cu (5 เปอร์เซ็นต์) Mn (0.5 เปอร์เซ็นต์) Cr (0.5 เปอร์เซ็นต์) ทำการเตรียมไปจนกระทั่งการดูดซึมของไฮโดรเจนหมด นำของเหลวที่เข้มข้นมาผสมกับคาร์บอน จะได้ซอร์บิทอล 75 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการนำมาผสมน้ำ แล้วฟอกสีด้วยเรซิน และทำให้เข้มข้น จะได้แมนนิทอล ส่วนที่เหลือจะเป็นแอลกอฮอล์

การเตรียมซอร์บิทอลวิธีอื่น ๆ

ยังมีวิธีการเตรียมซอร์บิทอลปลีกย่อยอีกหลายวิธีดังนี้

- โดยการเขย่าสารละลายที่เป็นกลางและไม่มีแอลกอฮอล์ของน้ำตาล เช่น กลูโคส ภายใต้ความดันอย่างน้อย 20 บรรยากาศ ที่อุณหภูมิ 100 - 150 องศาเซลเซียส โดยมีนิเกิลเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา จะได้สารละลายของซอร์บิทอล
- นำสารพวกอัลโดสที่เกิดในธรรมชาติ เช่น กลูโคส มาใส่กับไฮโดรเจนในที่ๆ มีน้ำ ตัว

เร่งปฏิกิริยาแบบ base metal reducing catalyst เช่น Ni Cu Co พวกโลหะอัลลอย หรือพวกออกไซด์ของมัน ร่วมกับตัวช่วยตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น ออกไซด์ของ Cr Ce Ti Mo W Th หรือ Al โดยให้มี pH อยู่ระหว่าง 7-12 การปรับ pH ให้เหมาะสม ใช้ อัลคาไลน์ เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ และอาจเติมสารที่ทำให้เกิดฟอง เช่น Saponin หรือ protective colloid นอกจากนี้ยังต้องใช้ความดันสูงถึง 90 บรรยากาศ ผลผลิตที่ออกมาจะได้ซอร์บิทอลปนกับแมนนิทอล

- เตรียมซอร์บิทอลโดยใช้น้ำตาล เช่น กลูโคส นำมารีดิวซ์โดยใช้ไฮโดรเจนภายใต้ความดันอากาศ มีตัวเร่งปฏิกิริยา คือ Pt Ni CaO ในสารละลายที่เป็นต่าง มีไฮโดรเจนไอออน น้ำตาลจะถูกเปลี่ยนเป็นซอร์บิทอลตามต้องการ
- ใช้น้ำตาลกลูโคสทำปฏิกิริยากับไฮโดรเจน โดยมีตัวเร่งปฏิกิริยา เช่น นิเกิล โคบอลต์ คอปเปอร์ ที่พีเอชระหว่าง 7-12 ภายใต้ความดันชั้น Super atmosphere pressure อุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส จะได้ซอร์บิทอล
- โดยใช้น้ำตาลชนิดธรรมดา ถูกลำเลียงในสารละลายกรดภายใต้ความกดดัน 300-400 บรรยากาศที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส และมีตัวเร่งปฏิกิริยา คือ นิเกิลและ/หรือโคบอลต์ จะได้ Corresponding sugar alcohol
- โดยใช้น้ำตาลกลูโคส 90 กรัม นำมาละลายน้ำ 30 กรัม และมีตัวเร่งปฏิกิริยา คือ Raney Ni 1 กรัม และถูกทำให้เป็นกรดด้วยกรดออกซาลิก และเผาเป็นเวลา 30 นาที ใน rotating autoclave ภายใต้ความกดดัน 150 บรรยากาศ ที่อุณหภูมิ 125-150 องศาเซลเซียส จะได้สารละลายของซอร์บิทอลที่ปราศจากสีและกลิ่น และมีปริมาณกลูโคสอยู่น้อยกว่า 0.1 เปอร์เซ็นต์ หลังจากนั้น นำมาทำ Cation exchange จะได้สารละลายของซอร์บิทอลที่เหมาะสมสำหรับการทำอาหาร ไบยาซูบ และอุตสาหกรรมทางเภสัชกรรม
- ใช้น้ำตาลชนิด D-glucose 35 กรัม ผ่านการไฮโดรจีเนชันที่ 70.3 บรรยากาศ ที่อุณหภูมิ 126 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง ในน้ำ 65 กรัม และมีตัวเร่งปฏิกิริยาจำนวน 400 มิลลิกรัม (เช่น 1.6 เปอร์เซ็นต์ Ru 3.4 เปอร์เซ็นต์ Pd และ activated carbon) จะได้ซอร์บิทอลที่มีความบริสุทธิ์ถึง 97.95 เปอร์เซ็นต์

การเตรียมซอร์บิทอลในอุตสาหกรรมมี 2 วิธีคือ

1. Electrolytic reduction

ได้ปริมาณซอร์บิทอล 85 เปอร์เซ็นต์ แต่เป็นวิธีที่ยุ่งยาก ต้องใช้สารเคมีหลายชนิดและส่วนใหญ่ยากกลับมาใช้ใหม่ไม่ได้ จะได้ซอร์บิทอลที่มีแมนนิทอลเจือปนอยู่ ซึ่งแยกออกโดยวิธีการกรองและการตกผลึก ซึ่งโอกาสที่สิ่งเจือปนจะออกไปหมดมีน้อย ทำให้ซอร์บิทอลที่ได้ไม่บริสุทธิ์

2. Catalytic reduction

ได้ปริมาณซอร์บิทอล 70 เปอร์เซ็นต์ เป็นวิธีการที่ไม่ยุ่งยาก แต่ต้องใช้แรงกดดันสูง อุณหภูมิสูง 140 องศาเซลเซียส และต้องคะตะไลซ์ปฏิกิริยาด้วยนิเกิล ซึ่งเป็นภาวะที่รุนแรง อาจก่อให้เกิดอันตรายและก่อปัญหาทางสภาพแวดล้อมจากการกำจัดนิเกิล อีกทั้งยังใช้ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูง (ลดาวัลย์, 2526)

วิธีนี้เริ่มจากการเตรียมตัวเร่งปฏิกิริยาโดยใช้นิเกิลและนิเกิลฟอสเฟต (ประมาณ 12- 45 เปอร์เซ็นต์) และเติม 2 เปอร์เซ็นต์ ของเหล็ก โคโรเมียม โคบอลต์หรือคอปเปอร์ เพื่อให้ช่วยเร่งปฏิกิริยาได้ดีขึ้น การเติมนิเกิลฟอสเฟตเพื่อช่วยให้นิเกิลคงตัวได้นานขึ้น นำ $\text{Ni}(\text{NO}_2)_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ 98.15 กรัม และ $\text{Fe}(\text{NO}_3)_2 \cdot 9\text{H}_2\text{O}$ 8.69 กรัม ผสมละลายรวมกันในน้ำกลั่น แล้วเติม 29.20 กรัม 85 เปอร์เซ็นต์ ของกรด H_3PO_4 กับ Kieselguhr 72.0 กรัมลงไป ต้มให้มีอุณหภูมิ 85 - 95 องศาเซลเซียส และเติม Na_2CO_3 53.6 กรัม ในน้ำ 150 มิลลิลิตรลงไป เพื่อให้พีเอชเป็น 7.9 ทิ้งไว้ 45 นาทีที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส แล้วกรองส่วนผสมมาล้าง ทำให้แห้ง 17 ชั่วโมงที่ 150 องศาเซลเซียส นำผลผลิตที่ได้มาบดให้มีขนาด 325 mesh ให้ไฮโดรเจนผ่านที่ 500 องศาเซลเซียส

ตัวเร่งปฏิกิริยาที่ทำขึ้นประกอบด้วย เหล็ก 2 เปอร์เซ็นต์ นิเกิล 6.4 เปอร์เซ็นต์ นิเกิลฟอสเฟต 27.6 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีพื้นที่ผิว 194 ตารางเมตรต่อกรัม และมีปริมาตรของช่องว่าง 0.39 มิลลิลิตรต่อกรัม

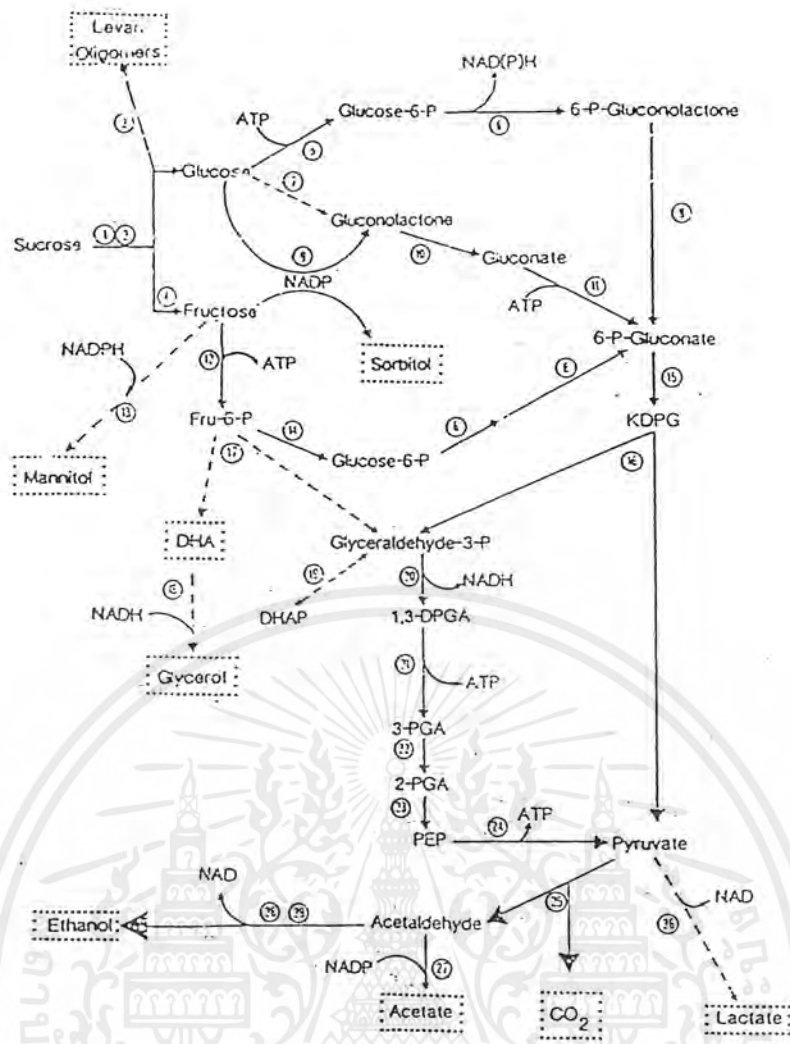
เตรียมซอร์บิทอลโดยเติมตัวเร่งปฏิกิริยา 11.55 กรัม ภายใต้ความดันปกติ ลงในสารละลาย 50 เปอร์เซ็นต์ ของแป้งข้าวโพดซึ่งประกอบด้วย dextrose 63 เปอร์เซ็นต์ di-12, tri-14, tetra-3 และ polysaccharide 12 เปอร์เซ็นต์ สารละลายที่เตรียมขึ้นมาจะมีพีเอช 6.5 จากนั้นนำสารละลายที่เตรียมใส่ใน corrosive-proof autoclave ซึ่งจะถูกลบและทำให้มีอุณหภูมิ 160 องศาเซลเซียส ใช้ความดัน 105 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร ของความดันก๊าซไฮโดรเจน ทิ้งไว้ 30 นาที แล้วเพิ่มอุณหภูมิเป็น 180 องศาเซลเซียส และความดันเป็น 141 กิโลกรัมต่อตารางเซนติเมตร จะได้ผลผลิตที่มีพีเอช 3.1 แล้วนำมาทำให้เย็น กรอง แล้วผ่านใน ion-exchange เพื่อทำให้บริสุทธิ์ และทำให้เข้มข้นขึ้น ผลผลิตที่ได้จะมีซอร์บิทอลสูงถึง 94.3 เปอร์เซ็นต์

ลักษณะของเชื้อ

Zymomonas mobilis เป็นแบคทีเรียแรมลอบเมื่อนำไปย้อมสีแบบแกรมจะติดสีแดง รูปร่างเป็นแท่งมีความยาว 2-6 ไมโครเมตร ความกว้าง 1-1.4 ไมโครเมตร (นวลพรรณ, 2538) เมื่อเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ โคโลนีจะมีรูปร่างนูนคล้ายเลนส์ ผิวหน้าและขอบเรียบ สีขาวคล้ายเนย มีเส้นผ่านศูนย์กลางยาว 1-2 มิลลิเมตร เป็น strictly fermentative และ ethanogenic bacterium ที่สามารถทนทานแอลกอฮอล์ได้สูงและยังเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาวะที่ไม่ใช้ออกซิเจน (anaerobic bacteria) ซึ่งเมื่อทำการเลี้ยงใน slant พบว่าจะดันเนื้อวุ้นแตกเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีซูโครสหรือมีทั้งกลูโคสและฟรุกโทสเป็นส่วนผสม แบคทีเรียชนิดนี้จะสามารถผลิตซอร์บิทอลได้ (Barrow และคณะ, 1984) เนื่องจากมีเอนไซม์ กลูโคสฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส (glucose-fructose oxidoreductase) ซึ่งจะออกซิไดส์กลูโคสไปเป็นกลูโคโนแลกโตนและรีดิวซ์ฟรุกโทสไปเป็นน้ำตาลซอร์บิทอล

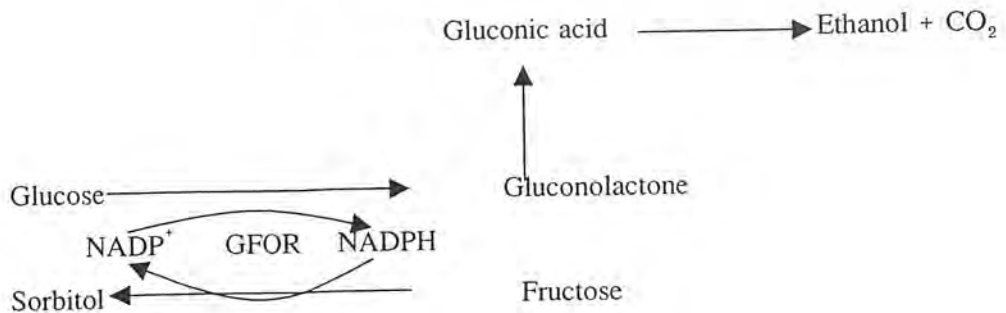
การผลิตซอร์บิทอลของเชื้อ *Zymomonas mobilis*

Zymomonas mobilis สามารถผลิตซอร์บิทอลได้เมื่อมีกลูโคสและฟรุกโทสเป็นสารตั้งต้นในการผลิต โดยในการผลิตซอร์บิทอลนั้นเชื้อ *Z. mobilis* จะใช้วิถี Entner-Doudoroff ในการผลิต ดังแผนภาพ



ภาพที่ 2.5 แสดงวิถี Enyner-Doudoroff ในการผลิตซอร์บิทอล

จากภาพที่ 2.1 *Zymomonas mobilis* มีเอนไซม์ glucose-fructose oxidoreductase (GFOR) ซึ่งสามารถออกซิไดส์กลูโคสไปเป็นกลูโคนแลกโตนและรีดิวซ์ฟรุกโทสไปเป็นซอร์บิทอลโดยที่ทั้งปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นนี้จะเกิดควบคู่ไปกับการใช้ NADPH ซึ่งกลไกที่เกิดขึ้นเป็นดังนี้



ภาพที่ 2.6 แสดงปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นโดยเอนไซม์ glucose-fructose oxidoreductase (GFOR)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chun และ Roger (1988) ได้ศึกษาการผลิตซอร์บิทอลและกรดกลูโคนิกโดย *Zymomonas mobilis* ที่มีการทำปฏิกิริยากับสารที่ช่วยให้สามารถผ่านผนังเซลล์ได้ คือ โทลูอิน ไปเป็นเอทานอลและสารตัวกลางในการสลายอื่นๆ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ในวิถีเอนเทอร์ - ดูโดโรฟฟ์ (Entner - Doudoroff) จาก 60 เปอร์เซ็นต์ของสารละลายน้ำตาลรวมซึ่งประกอบไปด้วย กลูโคส 300 กรัมต่อลิตรและฟรุกโทส 300 กรัมต่อลิตร จะได้ซอร์บิทอล 290 กรัมต่อลิตร และกรดกลูโคนิก 283 กรัมต่อลิตร หลังจากผ่านชั่วโมงที่ 15 ของการหมักแบบกะในเซลล์อิสระที่ทำปฏิกิริยากับโทลูอิน ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลสูงๆ (เช่น 300 กรัมต่อลิตรของทั้งน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทส) การเปลี่ยนแปลงไปเป็นซอร์บิทอลและกรดกลูโคนิกจะเกิดภายใน 15 ถึง 20 ชั่วโมงโดยมีประสิทธิภาพสูงถึง 95 เปอร์เซ็นต์ผ่านทางวิถีเอนเทอร์ - ดูโดโรฟฟ์

มีการรายงานในเรื่องของ *Zymomonas mobilis* ซึ่งสามารถเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสไปเป็นกรดกลูโคนิกและซอร์บิทอล โดยใช้เอนไซม์กลูโคส - ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส พบว่าในการศึกษาในเซลล์ที่มีการแพร่ผ่านได้ เมื่อใช้น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสผสมกันในสมมูลโมล 60 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นแหล่งคาร์บอน จะมีปริมาณซอร์บิทอลเกิดขึ้น 240 กรัมต่อลิตรและปริมาณกรดกลูโคนิก 210 กรัมต่อลิตร สำหรับค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการผลิตซอร์บิทอลโดยกรดกลูโคนิกในเซลล์ตรึงจะมีค่าประมาณ 6.5 - 7.0 ซึ่งสูงกว่าค่าพีเอชที่ 6.2 ในเซลล์อิสระ (Rehrและคณะ, 1991)

Zachariou และ Scopes(1986)กล่าวถึงการศึกษาเอนไซม์กลูโคส - ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส ข้อมูลที่ได้พบว่าเอนไซม์ตัวนี้ประกอบไปด้วยหน่วยย่อย 40,000 ดาลตัน และมีค่าพีเอชที่เหมาะสมในการเปลี่ยนกลูโคสและฟรุกโทสไปเป็นซอร์บิทอลและกลูโคนิกที่ 6.2 เอนไซม์ชนิดนี้พบใน *Zymomonas mobilis* ในปริมาณที่มากพอที่จะเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นซอร์บิทอลได้ในเซลล์ นอกจากนี้จะพบใน *Z. mobilis* แล้ว ยังพบในจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่เจริญโดยมีน้ำตาลกลูโคสผสมกับน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 เชื้อจุลินทรีย์

ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* TISTR 548 และ TISTR 405 จากสภาวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (ภาพที่ 3.1)



ภาพที่ 3.1 ภาพเชื้อ *Zymomonas mobilis* ที่อยู่ในอาหารเอียง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.2 ภาพอาหารเหลวที่ไม่มีเชื้อ



ภาพที่ 3.3 ภาพเชื้อ *Zymomonas mobilis* ที่อยู่ในอาหารเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

3.2.1 อุปกรณ์

1. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave)
2. เครื่องปั่นเหวี่ยง (Model Z383k)
3. เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer Model DENWAY 6405 UV/VIS)
4. ตู้อบ (Hot air oven)
5. อ่างน้ำร้อน (Water bath)
6. ตู้บ่ม (Incubator)
7. เครื่องวัดพีเอช (pH meter)
8. ตู้ลามินาร์ (Laminar air flow)
9. เครื่องชั่งสาร
10. ไมโครปิเปตต์
11. เครื่องแก้ววิทยาศาสตร์
12. เดซิเคเตอร์
13. ตะเกียงแอลกอฮอล์
14. ลูบและเข็มเขี่ยเชื้อ
15. ซ้อนตักสาร
16. วอร์เทกซ์

3.2.2 สารเคมี

1. แบคโตเปปโตน (bacto peptone)
2. ยีสต์สกัด (yeast extract)
3. โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($\text{KH}_2\text{PO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)
4. แมกนีเซียมซัลเฟต (MgSO_4)
5. แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)
6. กลูโคส
7. ฟรุกโทส
8. ซูโครส
9. ผงวุ้น
10. กรดซัลฟูริก (H_2SO_4)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

11. ซีสเตรินไฮโดรคลอไรด์
12. อัลกอฮอล์คาร์บาโซล

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น

1. ถ่ายเชื้อแบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* ทั้ง 2 สายพันธุ์ จากหลอดอาหารเอียงลงในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร ที่มีอาหารเหลว cultivation medium ปริมาณ 100 มิลลิลิตร
2. นำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
3. นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงโดยเครื่องวัดค่าดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 550 นาโนเมตร
4. ทำการเจือจางให้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.4-0.5

3.3.2 ศึกษาปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการเจริญของเชื้อมากที่สุด

1. เตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น
2. เตรียมอาหารเหลว cultivation medium โดยมีปริมาณกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยอาหารเหลวนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ส่วนน้ำตาลนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นฆ่าเชื้อแล้วจึงนำมารวมกัน
4. เติมกล้าเชื้อปริมาณ 5-10 เปอร์เซ็นต์ ของปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมดโดยเชื้อผสมของทั้งสองสายพันธุ์จะใช้อัตราส่วนระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ในอัตราส่วน 1:1
5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในตู้บ่ม
6. ทำการวัดการเจริญเติบโตของเชื้อทุก 2 ชั่วโมง เพื่อวิเคราะห์ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมที่สุดในการเจริญ เพื่อนำไปศึกษาในขั้นต่อไป

3.3.3 ศึกษาแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่เชื้อสามารถผลิตซอร์บิทอลได้มากที่สุด

1. เตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น
2. เตรียมอาหารเหลว cultivation medium โดยใช้ปริมาณน้ำตาล 4 เปอร์เซ็นต์ ชนิดของน้ำตาลมีดังนี้
 น้ำตาลซูโครส
 น้ำตาลกลูโคสต่อน้ำตาลฟรุกโทส อัตราส่วน 1 ต่อ 1
 น้ำตาลกลูโคสต่อน้ำตาลฟรุกโทส อัตราส่วน 1 ต่อ 2
 น้ำตาลกลูโคสต่อน้ำตาลฟรุกโทส อัตราส่วน 1 ต่อ 3
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยอาหารเหลวนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ส่วนน้ำตาลนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นฆ่าเชื้อแล้วจึงนำมารวมกัน
4. เติมปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เลือกจากข้อ 3.3.2
5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในตู้บ่ม
6. ทำการวัดการเจริญของเชื้อและเก็บตัวอย่างเป็นระยะทุก ๆ 2 หรือ 3 ชั่วโมง แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ฟรุกโทสที่ลดลงและปริมาณซอร์บิทอลที่เชื้อผลิตได้มากที่สุด เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.3.4 ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมที่เชื้อสามารถผลิตซอร์บิทอลได้มากที่สุด

1. เตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น
2. เตรียมอาหารเหลว cultivation medium เลือกชนิดน้ำตาลจากข้อ 3.3.3 โดยใช้ปริมาณน้ำตาล 10 เปอร์เซ็นต์
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยอาหารเหลวนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ส่วนน้ำตาลนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นฆ่าเชื้อแล้วจึงนำมารวมกัน
4. เติมปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เลือกจากข้อ 3.3.2
5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 30 และ 37 องศาเซลเซียส ในตู้บ่ม
6. ทำการวัดการเจริญของเชื้อและเก็บตัวอย่างเป็นระยะทุก ๆ 2 หรือ 3 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ฟรุกโทสที่ลดลงและปริมาณซอร์บิทอลที่เชื้อผลิตได้มากที่สุด เพื่อนำไปศึกษาในขั้นตอนต่อไป

3.3.5 ศึกษาความเข้มข้นน้ำตาลต่อการผลิตซอร์บิทอล

1. เตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น
2. เตรียมอาหารเหลว cultivation medium เลือกชนิดน้ำตาลจากข้อ 3.3.3 ซึ่งมีความเข้มข้นน้ำตาล 15 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ
3. นำไปนึ่งฆ่าเชื้อโดยอาหารเหลวนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ส่วนน้ำตาลนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากรนึ่งฆ่าเชื้อแล้วจึงนำมารวมกัน
4. เติมปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่เลือกจากข้อ 3.3.2
5. เลือกอุณหภูมิในการบ่มจากข้อ 3.3.4
6. ทำการวัดการเจริญของเชื้อและเก็บตัวอย่างเป็นระยะทุก ๆ 2 หรือ 3 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ฟรุคโทสที่ลดลงและปริมาณซอร์บิทอลที่เชื้อผลิตขึ้น

3.3.6 การวิเคราะห์หาปริมาณกลูโคส ฟรุคโทสและซอร์บิทอล

1. การหาปริมาณน้ำตาลรีดิซ (กลูโคส) โดยวิธีของ Samogyi Nelson และใช้กราฟมาตรฐานกลูโคสเป็นตัวเปรียบเทียบโดยวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
2. การหาปริมาณฟรุคโทสโดยวิธีของ Marshall และ Kool (1957) และใช้กราฟมาตรฐานฟรุคโทสเป็นตัวเปรียบเทียบโดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 560 นาโนเมตร
3. การหาปริมาณซอร์บิทอลโดยใช้เอนไซม์ซอร์บิทอลดีไฮโดรจีเนสและใช้กราฟมาตรฐานซอร์บิทอลเป็นตัวเปรียบเทียบโดยวัดค่าดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 340 นาโนเมตร

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

4.1 ผลของการเปรียบเทียบปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 TISTR 548 และสายพันธุ์ผสมระหว่าง TISTR 405 และ TISTR 548

ผลการทดลองจากการหมัก *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 20 กรัมต่อลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตรในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงในระดับพลาสติกภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ 6 เปอร์เซ็นต์ 7 เปอร์เซ็นต์ 8 เปอร์เซ็นต์ 9 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.1 พบว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ) ของเชื้อ *Z. mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 ที่ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด คือ 0.1755 ต่อชั่วโมง ดังแสดงในภาพที่ 4.4 ดังนั้นจึงเลือกใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลอง

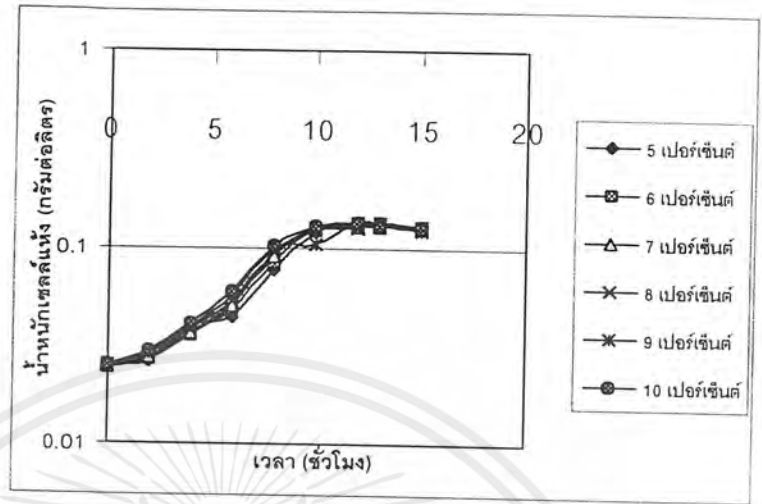
ผลการทดลองจากการหมัก *Z. mobilis* สายพันธุ์ TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 20 กรัมต่อลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตรใน พลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงในระดับพลาสติกภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 5 เปอร์เซ็นต์ 6 เปอร์เซ็นต์ 7 เปอร์เซ็นต์ 8 เปอร์เซ็นต์ 9 เปอร์เซ็นต์ และ 10 เปอร์เซ็นต์ จากผลการทดลองแสดงในภาพที่ 4.2 พบว่าค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อ *Z. mobilis* สายพันธุ์ TISTR 548 ที่ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด คือ 0.2114 ต่อชั่วโมง ดังแสดงในและภาพที่ 4.5 ดังนั้นจึงเลือกใช้ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลอง

ผลการทดลองจากการหมัก *Z. mobilis* โดยการผสมระหว่างสองสายพันธุ์ คือ *Z. mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสในอัตราส่วน 20 กรัมต่อลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตรในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหารที่ 6.0 ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงในระดับพลาสติกภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น(ระหว่างสองสายพันธุ์ในอัตราส่วน 1:1) 5 เปอร์เซ็นต์ 6

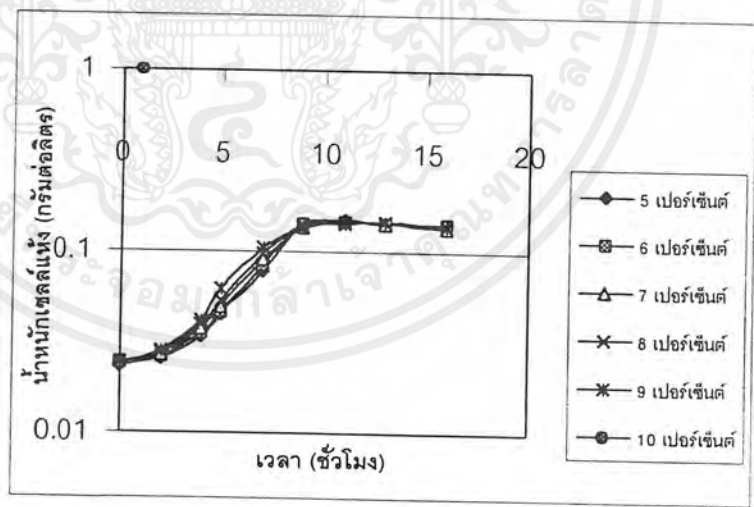
พื้นที่ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด คือ 0.2177 ต่อชั่วโมงเมื่อวิเคราะห์ค่าทางสถิติมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง ดังแสดงในภาพที่ 4.6 ดังนั้นจึงเลือกใช้ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ในการทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

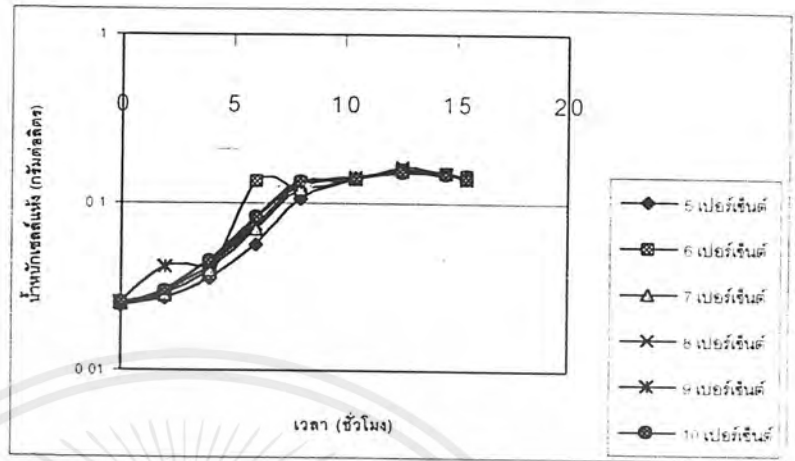


ภาพที่ 4.1 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 405 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ



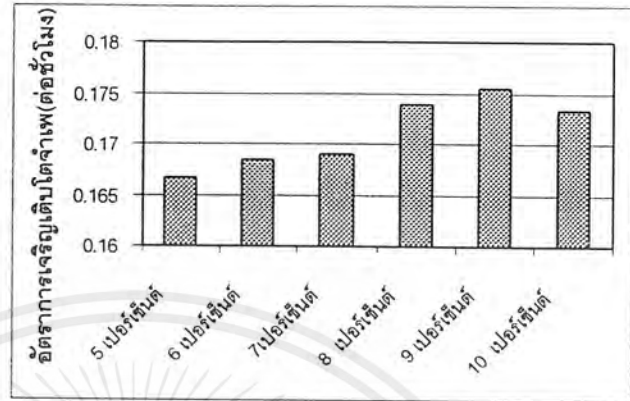
ภาพที่ 4.2 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

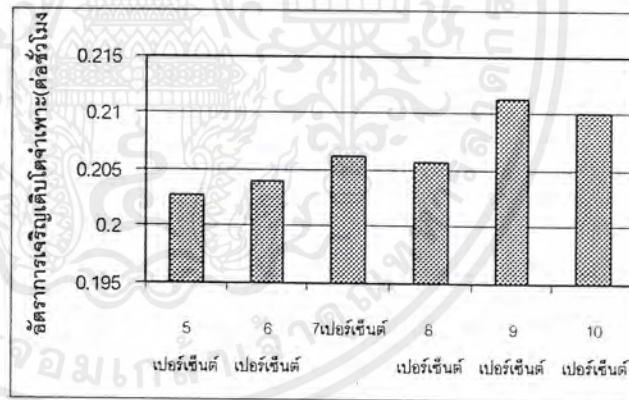


ภาพที่ 4.3 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

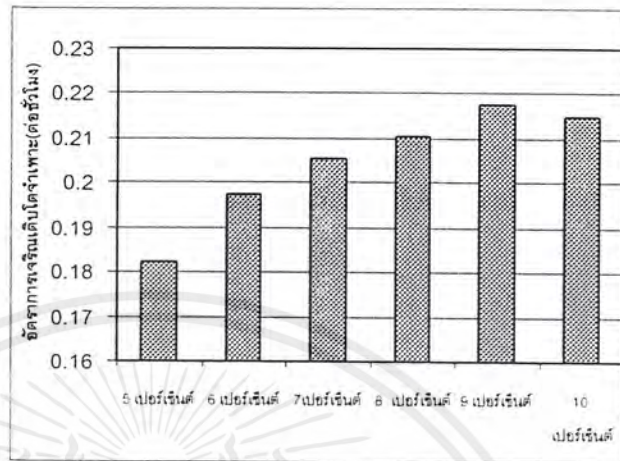


ภาพที่ 4.4 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Z. mobilis* TISTR 405 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ



ภาพที่ 4.5 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.6 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 เมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อที่เปอร์เซ็นต์ต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลของการเปรียบเทียบแหล่งน้ำตาลที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลชอร์บิทอล ของ *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 TISTR 548 และเชื้อผสมระหว่างสายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548

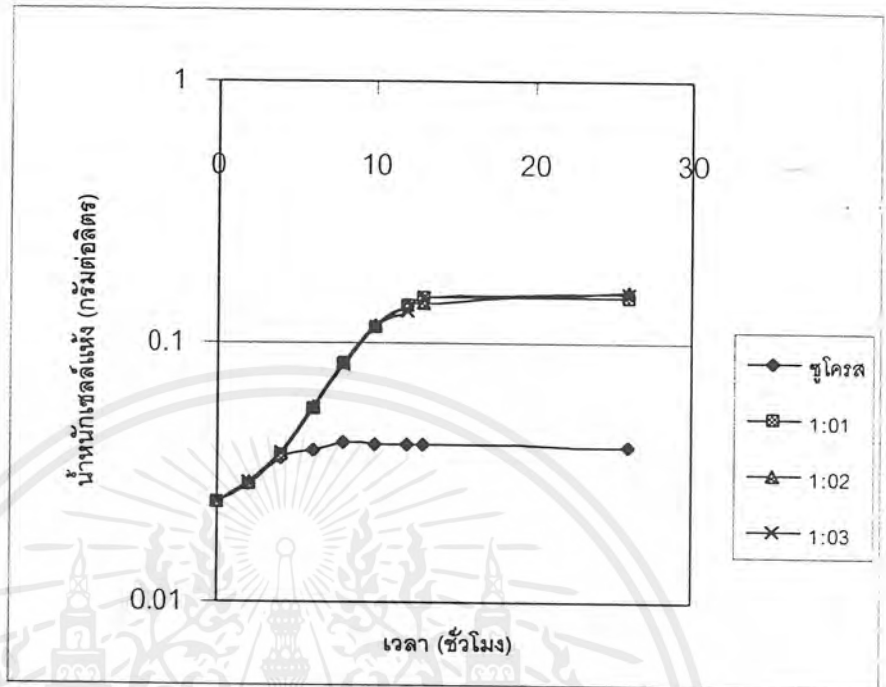
ผลการทดลองการหมัก *Zymomonas mobilis* TISTR 405 ในอาหาร Z-broth ที่มีแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:1 น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:3 โดยปริมาณน้ำตาลที่ใช้ทุกแหล่งน้ำตาลจะกำหนดความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.7 ภาพที่ 4.10 ภาพที่ 4.13 ภาพที่ 4.16 และภาพที่ 4.19 พบว่า *Z.mobilis* TISTR 405 ที่ทำการหมักใน Z-broth โดยมีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 และ 1:3 มีค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูง คือ 1.629 และ 1.478 ร้อยละ โดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง ณ ชั่วโมงที่ 13 ของช่วงระยะเวลาการหมัก ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าที่แหล่งน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่า คือ 0.1494 ต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกใช้แหล่งน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 ในการทดลองในขั้นต่อไป

ผลการทดลองการหมัก *Z.mobilis* TISTR 548 ในอาหาร Z-broth ที่มีแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:1 น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:3 โดยปริมาณน้ำตาลที่ใช้ทุกแหล่งน้ำตาลจะกำหนดความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.8 ภาพที่ 4.11 ภาพที่ 4.14 ภาพที่ 4.17 และภาพที่ 4.20 พบว่า *Z.mobilis* TISTR 548 ที่ทำการหมักใน Z-broth โดยน้ำตาลซูโครส มีค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุดคือ 1.739 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง ณ ชั่วโมงที่ 13 ของช่วงระยะเวลาการหมัก และค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของแหล่งน้ำตาลทั้ง 3 ชนิดไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ดังนั้นจึงเลือกใช้แหล่งน้ำตาลซูโครสในการทดลองในขั้นต่อไปเพื่อเป็นการประหยัดต้นทุน

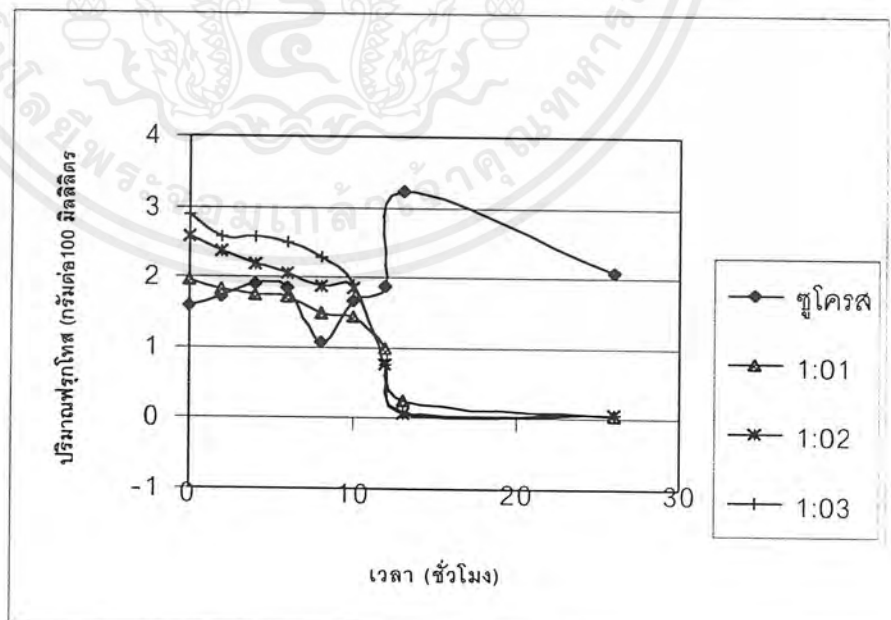
ผลการทดลองการหมัก *Z.mobilis* ที่เป็นเชื้อผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ ในอาหาร Z-broth ที่มีแหล่งน้ำตาลต่าง ๆ คือ น้ำตาลซูโครส น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:1 น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:3 โดยปริมาณน้ำตาลที่ใช้ทุกแหล่งน้ำตาลจะกำหนดที่ความเข้มข้น 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ใน

พลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.9 ภาพที่ 4.12 ภาพที่ 4.15 ภาพที่ 4.18 และภาพที่ 4.21 พบว่า *Z.mobilis* ที่เป็นเชื้อผสมทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่ทำการหมักใน Z-broth โดยมีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 และ 1:3 มีค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงคือ 1.3759 และ 1.158 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง ณ ชั่วโมงที่ 13 ของช่วงระยะเวลาการหมัก และมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าที่ แหล่งน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงกว่า คือ 0.1715 ต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกใช้แหล่งน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 ในการทดลองในขั้นต่อไป



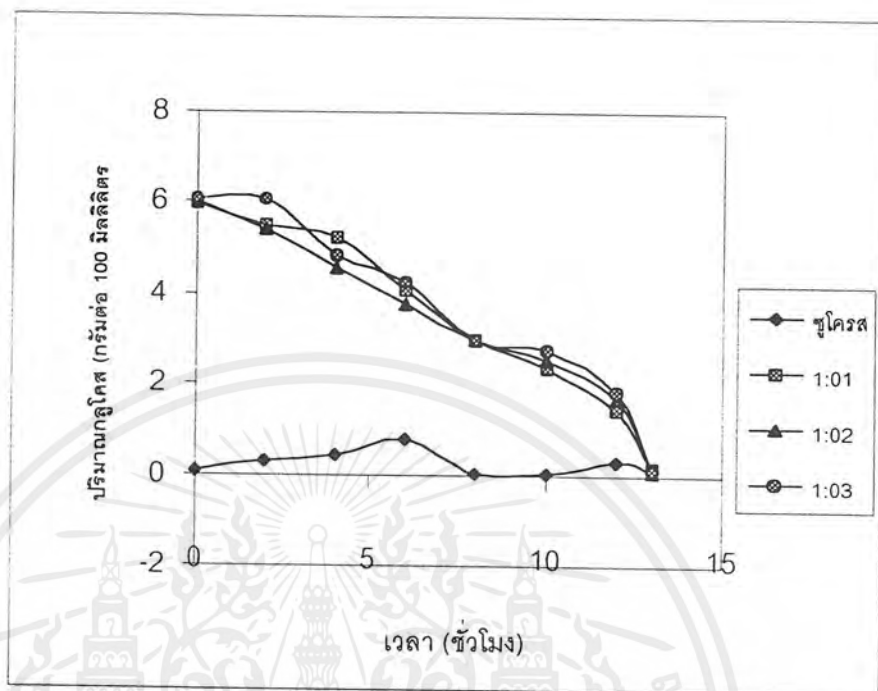


ภาพที่ 4.7 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ



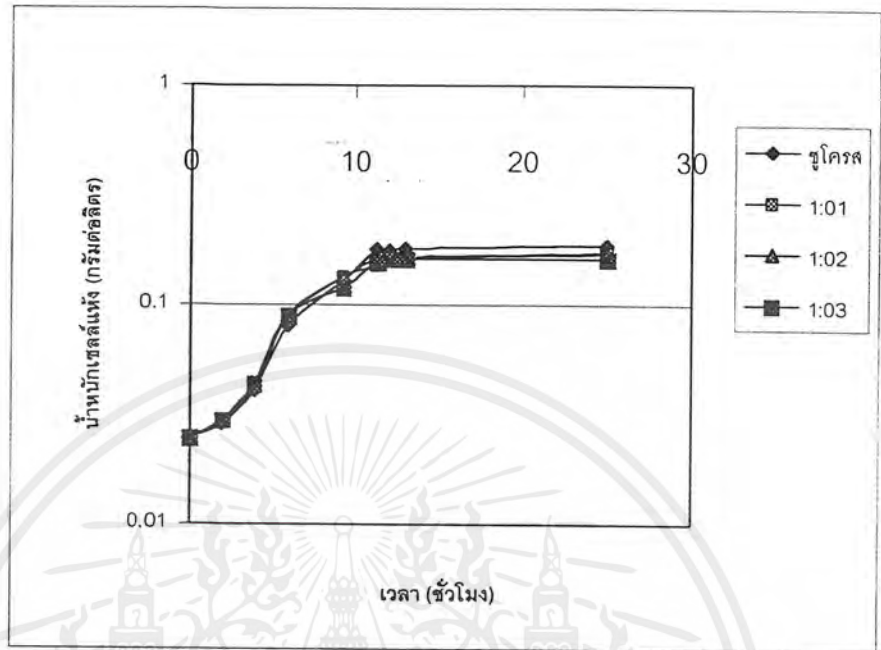
ภาพที่ 4.8 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

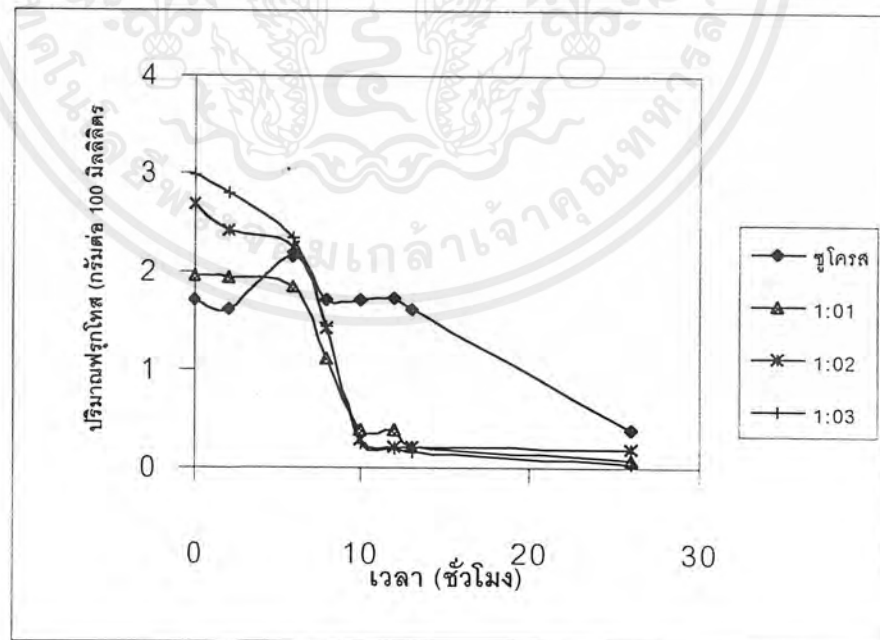


ภาพที่ 4.9 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

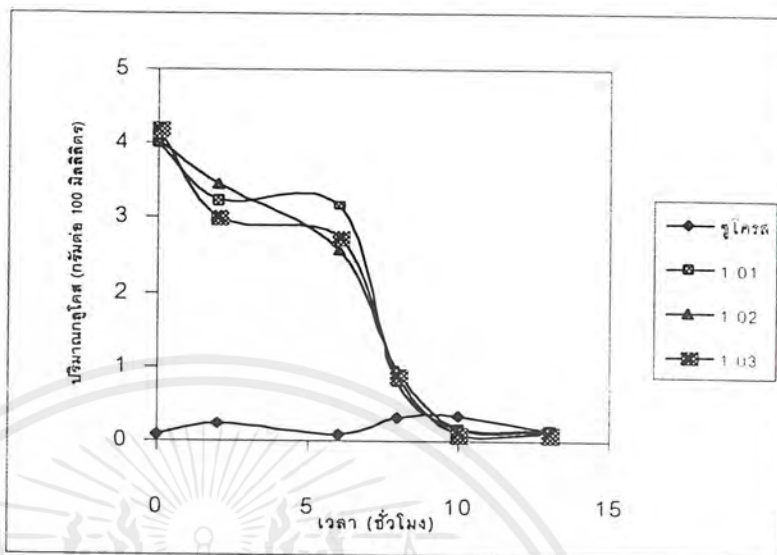


ภาพที่ 4.10 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ



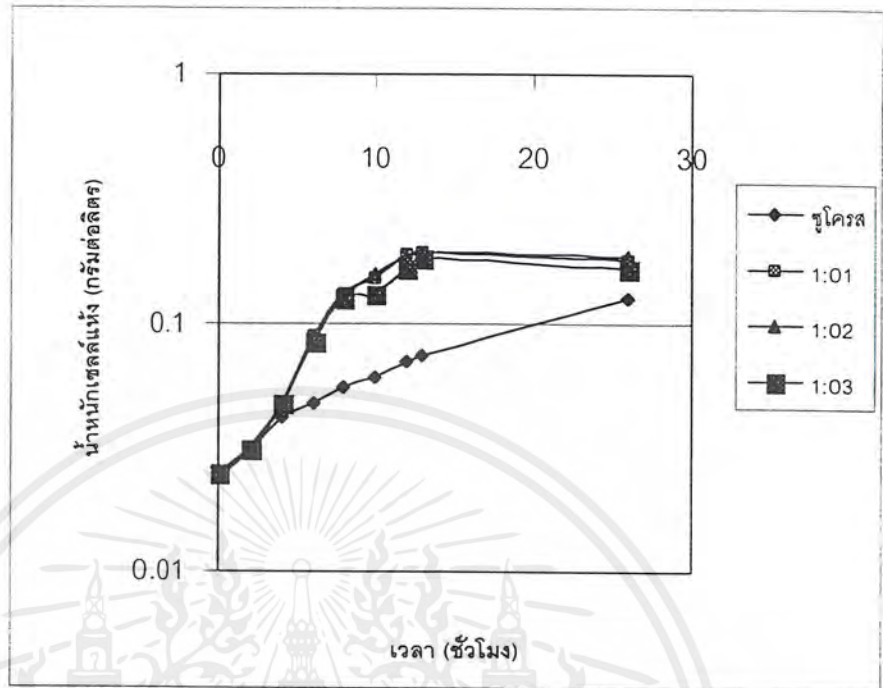
ภาพที่ 4.11 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุทโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

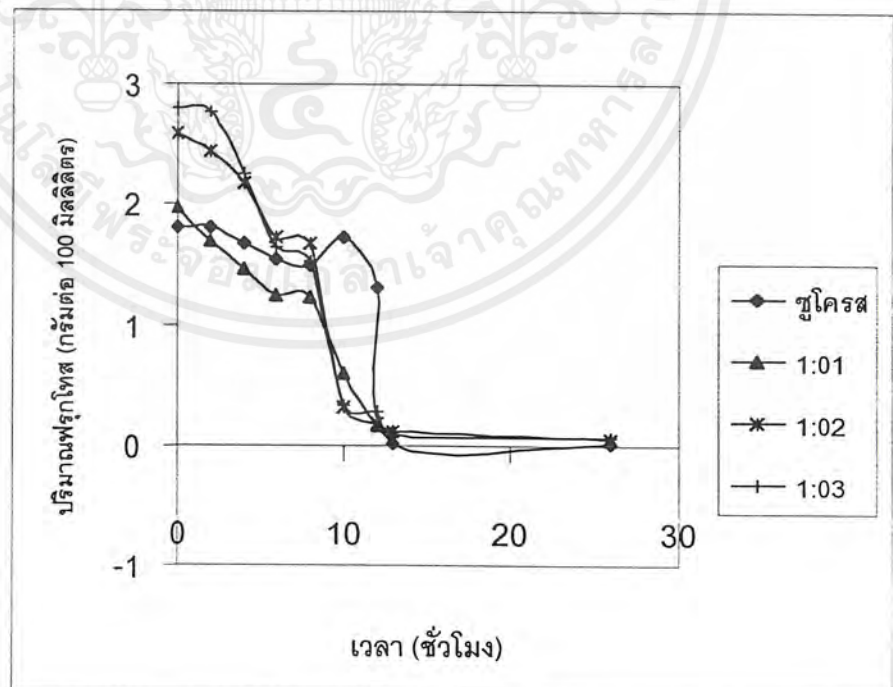


ภาพที่ 4.12 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่แหล่งน้ำต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

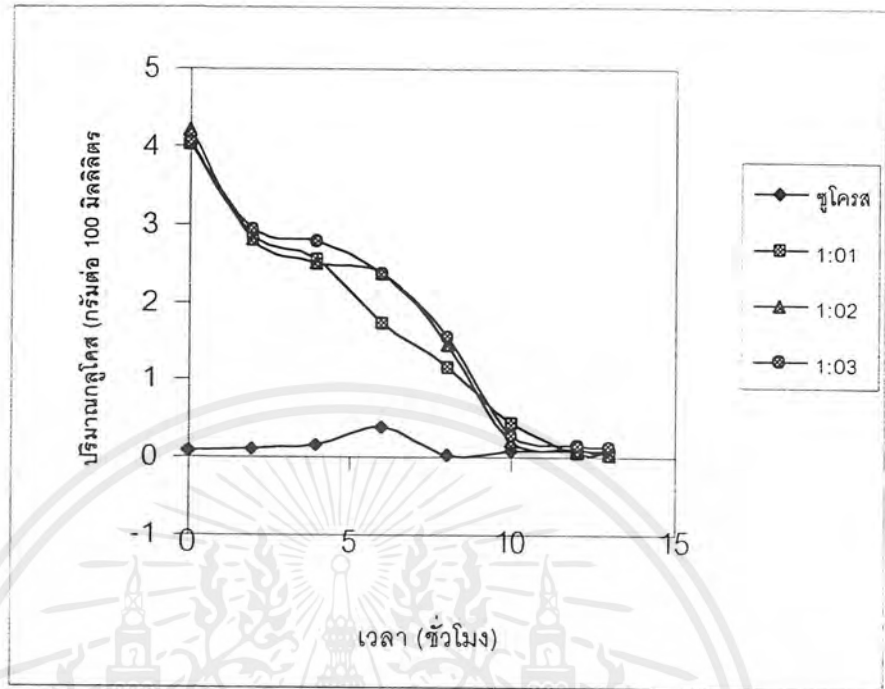


ภาพที่ 4.13 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ



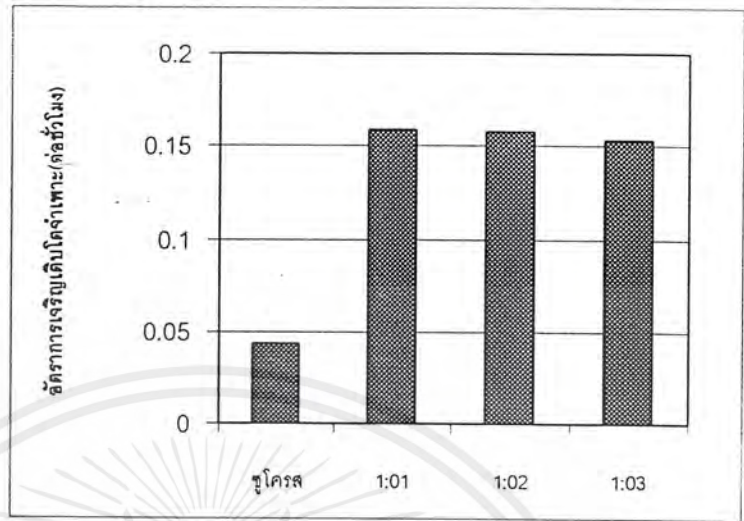
ภาพที่ 4.14 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารทสงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

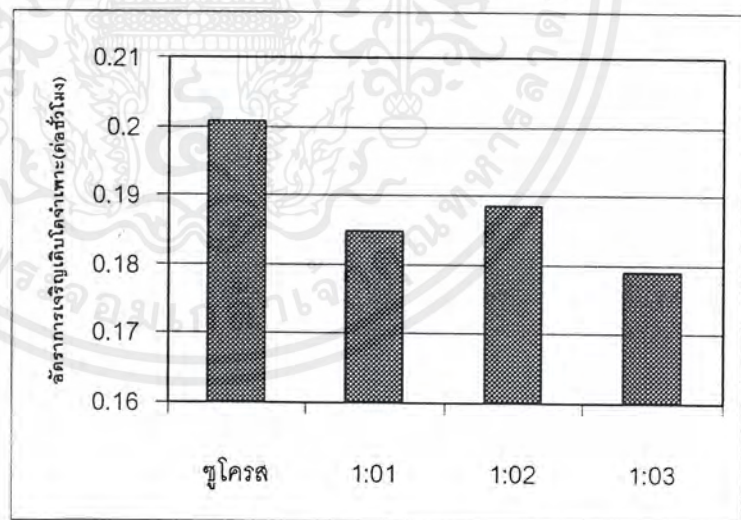


ภาพที่ 4.15 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

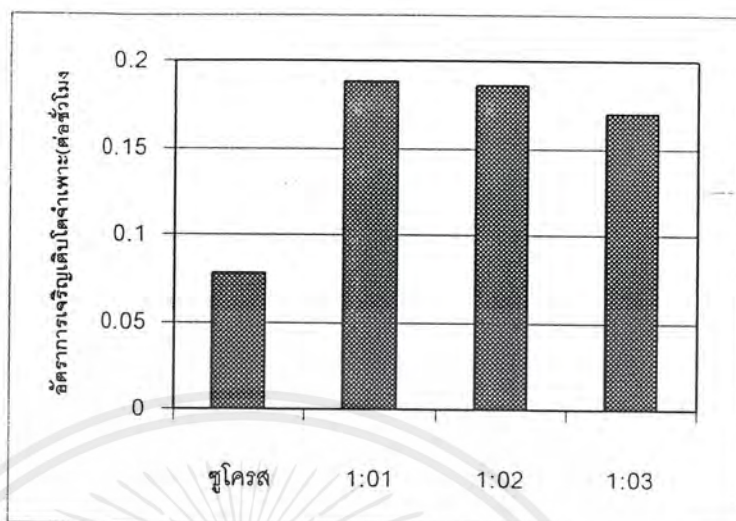


ภาพที่ 4.16 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Z.mobilis* TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตลต่าง ๆ



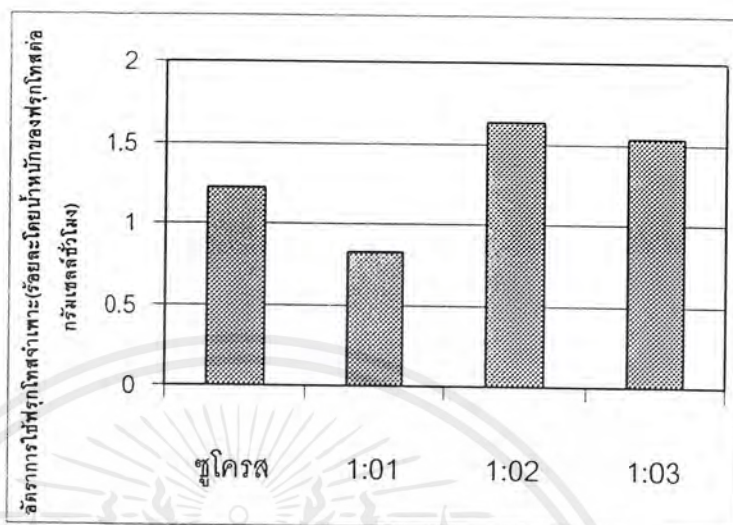
ภาพที่ 4.17 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Z.mobilis* TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

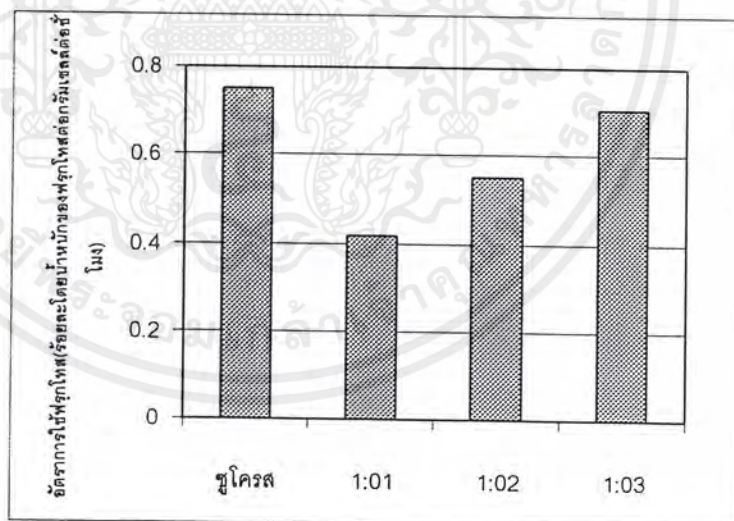


ภาพที่ 4.18 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง *Z.mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

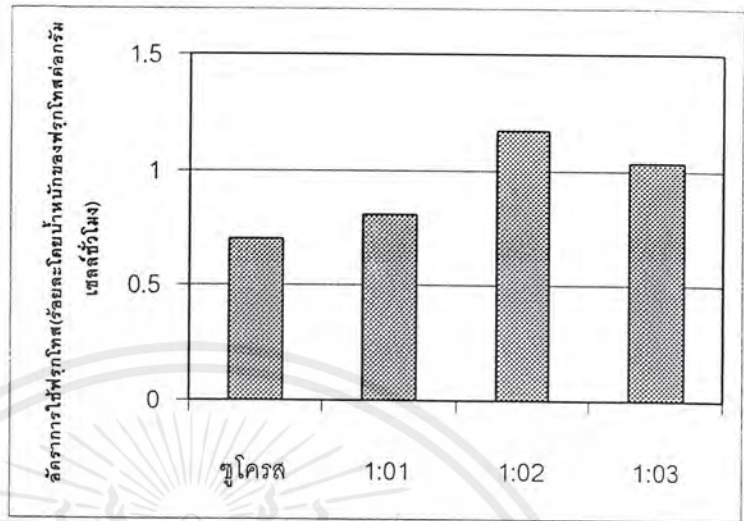


ภาพที่ 4.19 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ



ภาพที่ 4.20 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.21 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของการเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลของ *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 TISTR 548 และ เชื้อผสมระหว่างสายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548

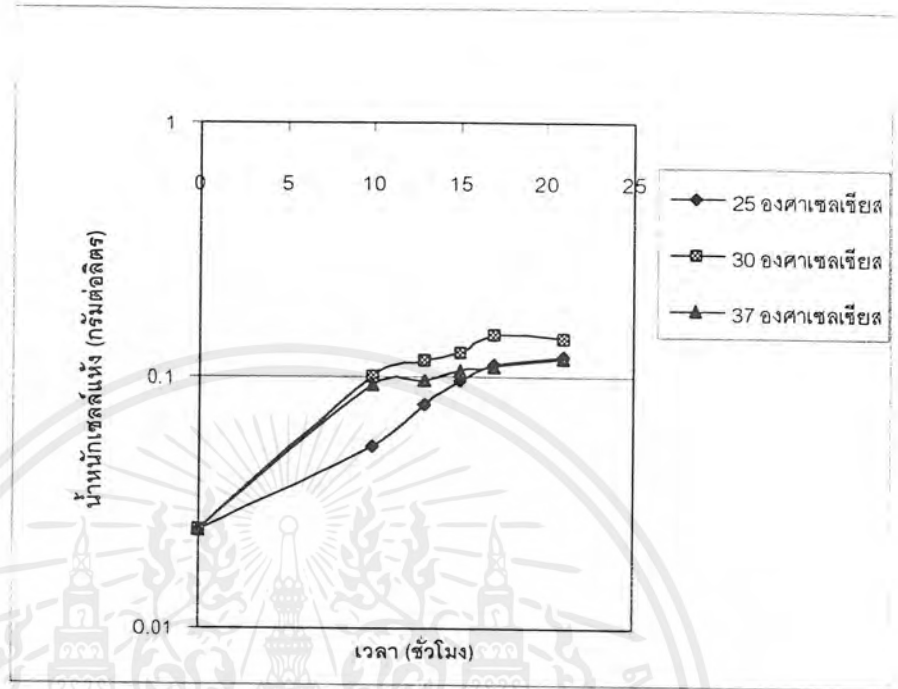
ผลการทดลองการหมัก *Z.mobilis* TISTR 405 ในอาหาร Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทส อัตราส่วน 1:2 เป็นแหล่งคาร์บอน ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 4.22 ภาพที่ 4.25 ภาพที่ 4.28 ภาพที่ 4.31 และภาพที่ 4.34 จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ *Z.mobilis* TISTR 405 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุด คือ 5.136 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง ชั่วโมงที่ 17 ของช่วงระยะเวลาการหมัก เมื่อนำค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่าที่ 30 และ 37 องศาเซลเซียส มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.1377 และ 0.1301 ต่อชั่วโมง และไม่มี ความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงเลือกใช้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในการทดลอง

ผลการทดลองการหมัก *Z.mobilis* TISTR 548 ในอาหาร Z-broth ที่มีน้ำตาลซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอชเริ่มต้น 6.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 4.23 ภาพที่ 4.26 ภาพที่ 4.29 ภาพที่ 4.32 และภาพที่ 4.35 จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ *Z.mobilis* TISTR 548 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และ 37 องศาเซลเซียส มีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุดคือ 2.393 และ 2.291 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง ชั่วโมงที่ 17 ของช่วงระยะเวลาการหมัก ตามลำดับ และเมื่อนำค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติ พบว่าไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะพบว่า ที่ 30 องศาเซลเซียส มีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.1480 ต่อชั่วโมง และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงเลือกใช้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในการทดลอง

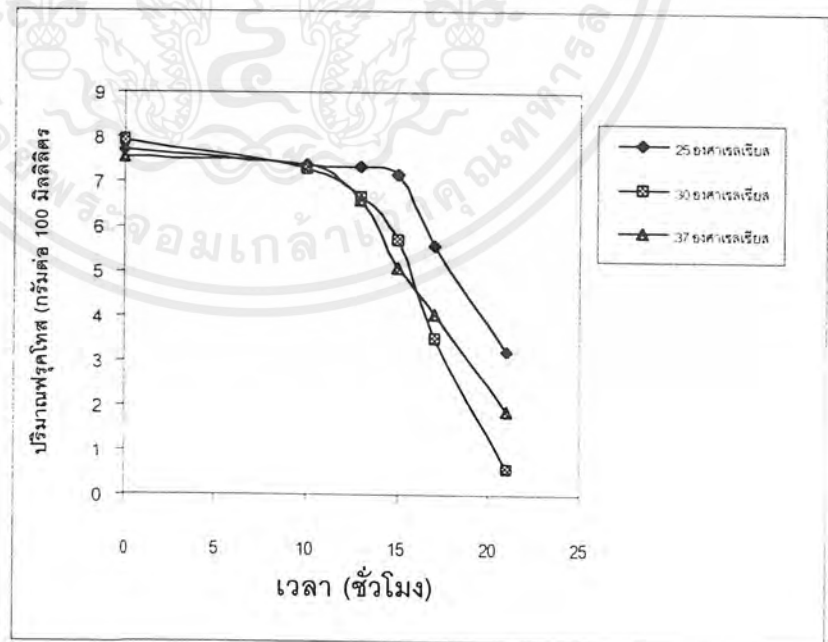
ผลการทดลองการหมัก *Z.mobilis* ที่เป็นเชื้อผสม 2 สายพันธุ์ ในอาหาร Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทส อัตราส่วน 1:2 เป็นแหล่งคาร์บอน ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ค่าพีเอชเริ่มต้นประมาณ 6.0 อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ดังแสดงในภาพที่ 4.24 ภาพที่ 4.27 ภาพที่ 4.30 ภาพที่ 4.33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และภาพที่ 4.36 จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ *Z.mobilis* ที่เป็นเชื้อผสม 2 สายพันธุ์ ที่ อุณหภูมิ 30 และ 37 องศาเซลเซียส มีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงคือ 3.889 และ 3.444 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชีวโม่ง ณ ชั่วโม่งที่ 17 ของช่วงระยะเวลาการหมัก และเมื่อนำค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันทาง สถิติอย่างมีนัยสำคัญ แต่มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเปรียบเทียบกับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ พบว่า ที่ 30 องศาเซลเซียส มี ค่าอัตราการเจริญจำเพาะสูงสุดคือ 0.1451 ต่อชั่วโม่ง และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญตั้ง นั้นจึงเลือกใช้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในการทดลองซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองของ Yaowarate และคณะ (2534) ศึกษาพบว่า *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ IFO13756 สามารถเปลี่ยนน้ำตาลซูโครสจนถึงกลูโคสและฟรุกโทสไปเป็นกรดกลูโคนิกและซอร์บิทอลได้ โดยพบว่าหลังจากการเลี้ยง *Z.mobilis* สายพันธุ์ IFO13756 ในอาหารที่มีซูโครส 250 กรัมต่อ ลิตร สามารถแยกเซลล์ออกมาได้ 3 – 4 กรัมต่อลิตร และในน้ำหมักมีปริมาณซอร์บิทอล 30.9 กรัมต่อลิตร กรดกลูโคนิก 8.7 กรัมต่อลิตร และเอทานอล 79.3 กรัมต่อลิตร สำหรับเอนไซม์ กลูโคส-ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส (GFOR) ,กลูโคโนแลคโตเนส (GL) และอินเวอร์เทส นั้น จะ เกิดปฏิกิริยาได้หลังจากที่มีการซิมผ่านของ 1 เปอร์เซ็นต์ โทลูอินไนซิเตรทบัฟเฟอร์ พีเอช 6.8 การเปลี่ยนแปลงซูโครสในเซลล์ที่มีการซิมผ่านจะให้ปริมาณสูงสุดของซอร์บิทอลและกรดกลูโคนิก ที่ 0.32 และ 0.49 กรัมต่อลิตรต่อกรัมเซลล์เปียกตามลำดับ อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับเอนไซม์ กลูโคส-ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส คือ 25 องศาเซลเซียส และสำหรับเอนไซม์กลูโคโนแลคโต เนสคือ 30 องศาเซลเซียส โดยมีพีเอชที่เหมาะสมที่ 6.0 ในทั้งสองเอนไซม์

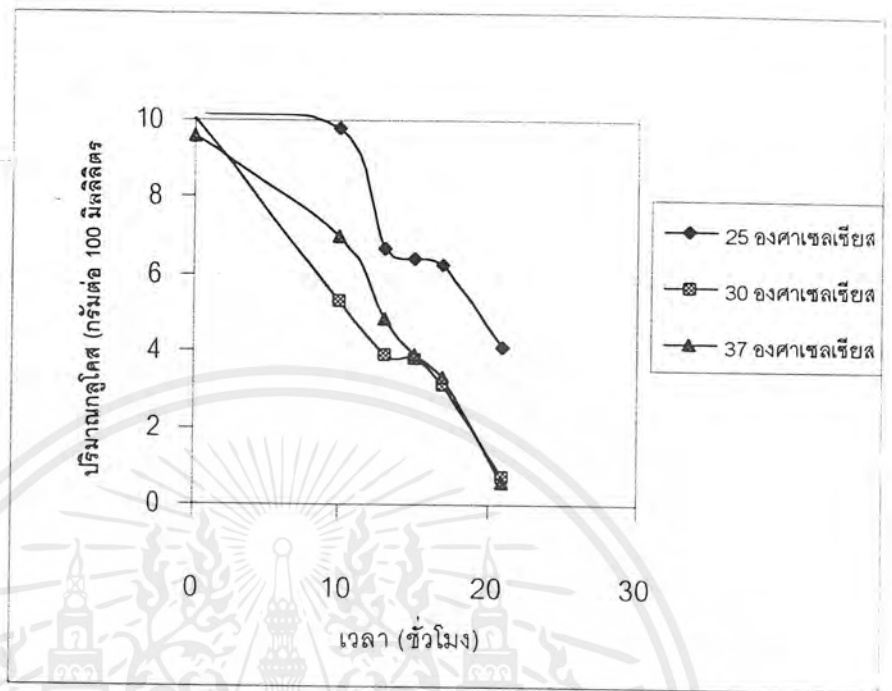


ภาพที่ 4.22 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่างๆ



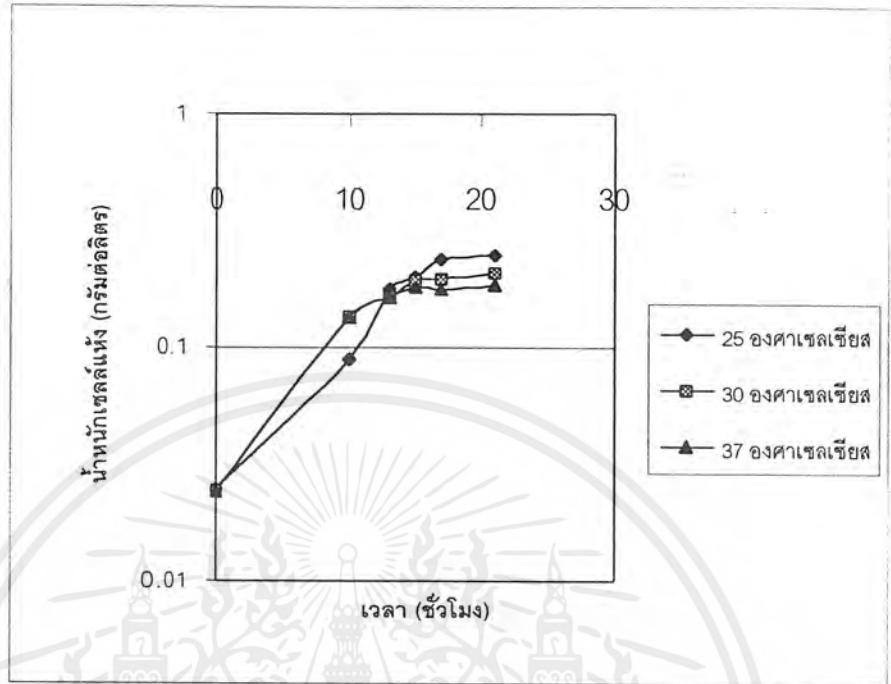
ภาพที่ 4.23 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

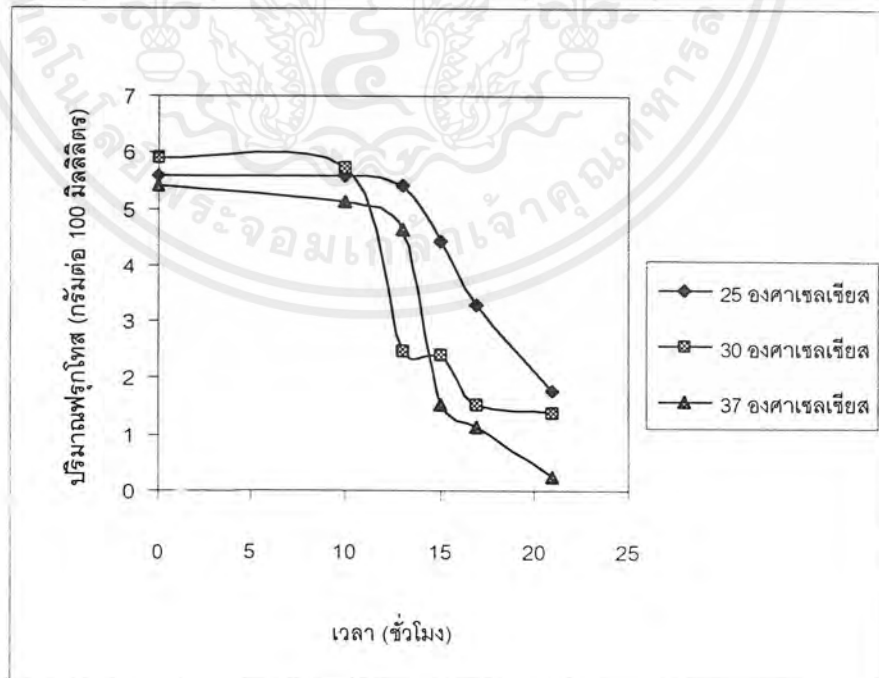


ภาพที่ 4.24 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

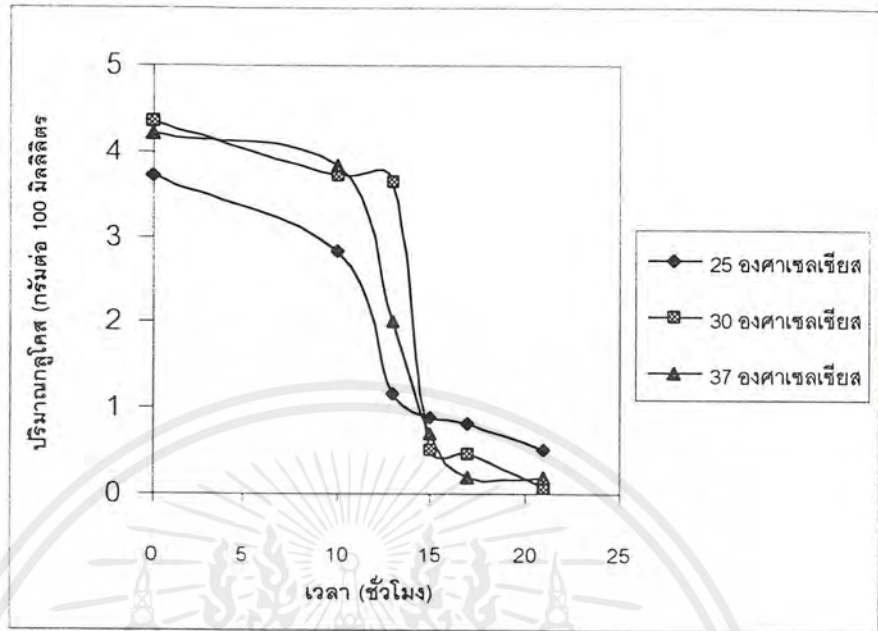


รูปที่ 4.25 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ



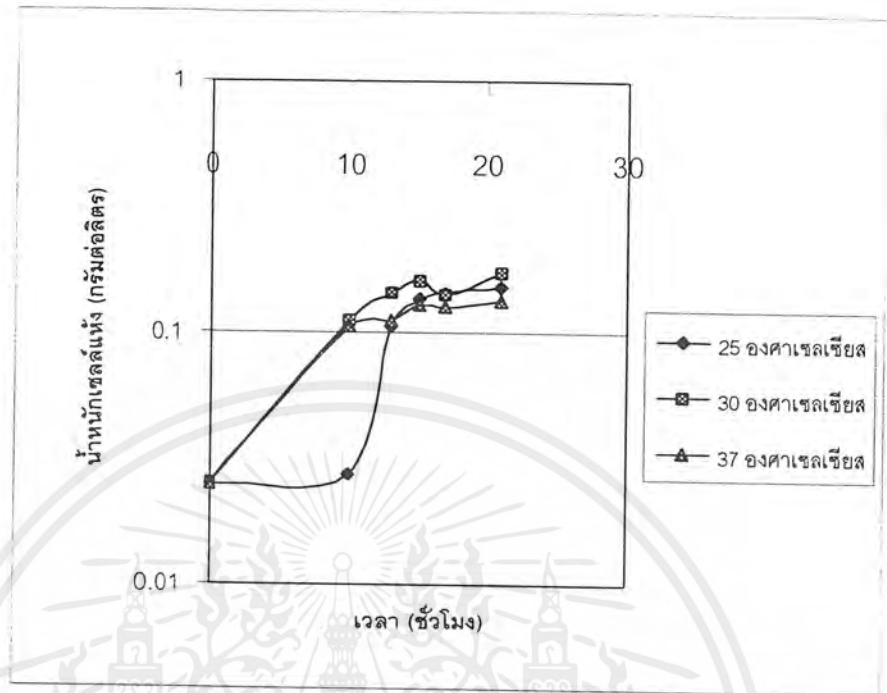
ภาพที่ 4.26 เปรียบเทียบน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

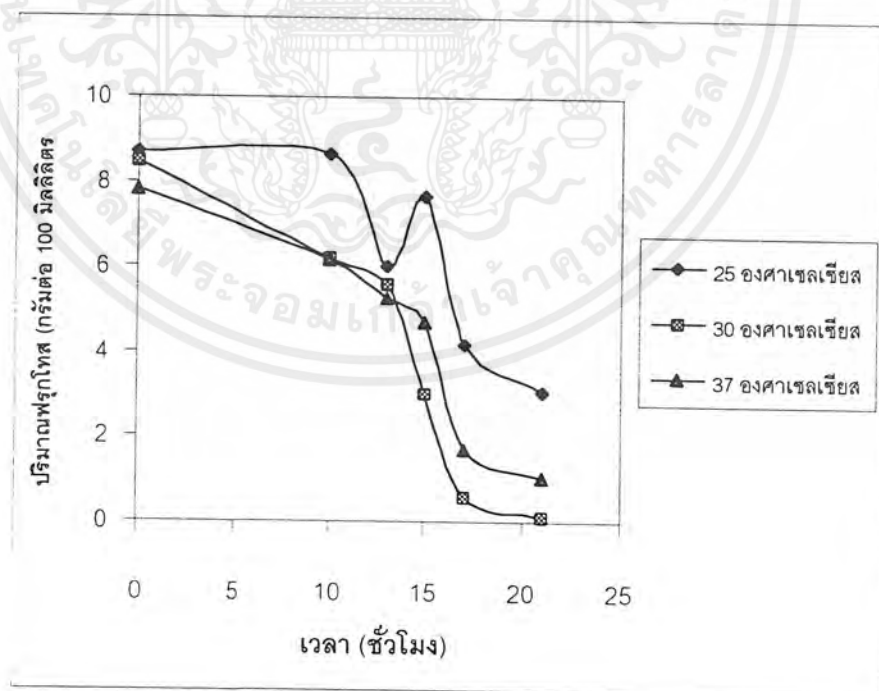


ภาพที่ 4.27 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

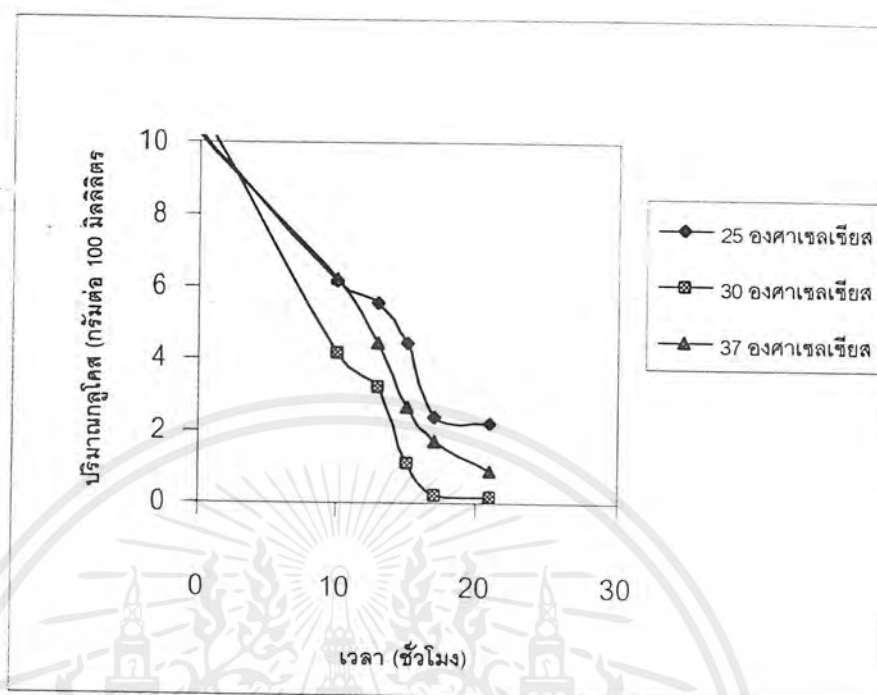


ภาพที่ 4.28 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ



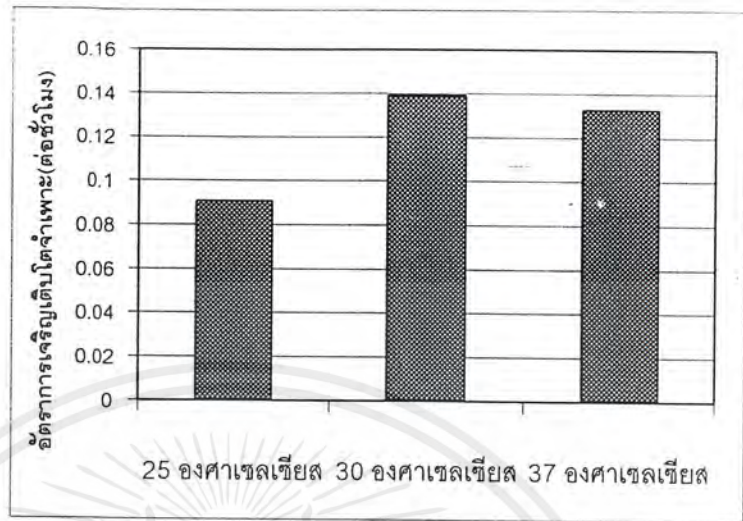
ภาพที่ 4.29 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

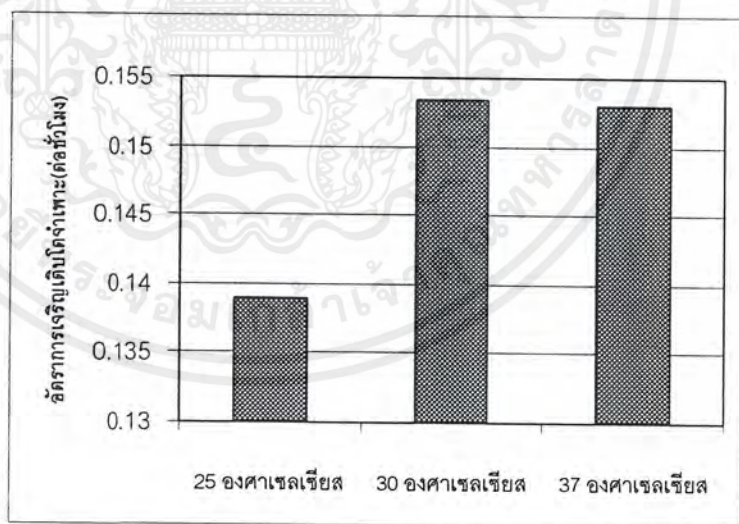


ภาพที่ 4.30 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

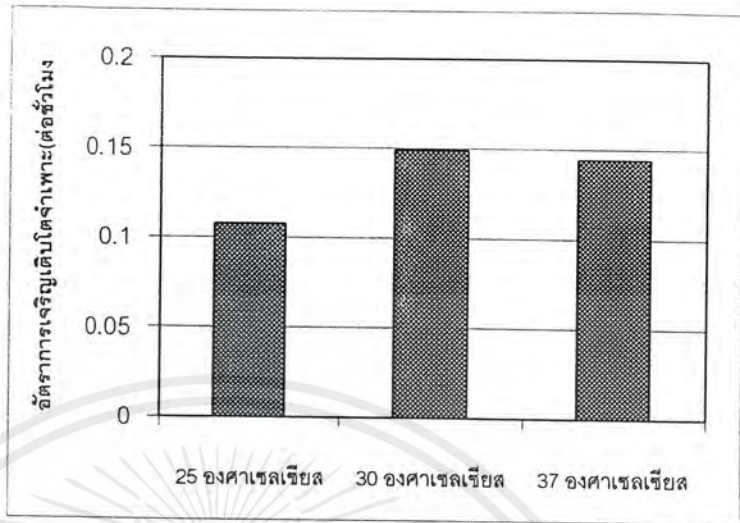


ภาพที่ 4.31 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Z.mobilis* TISTR 405 ที่
อุณหภูมิต่าง ๆ



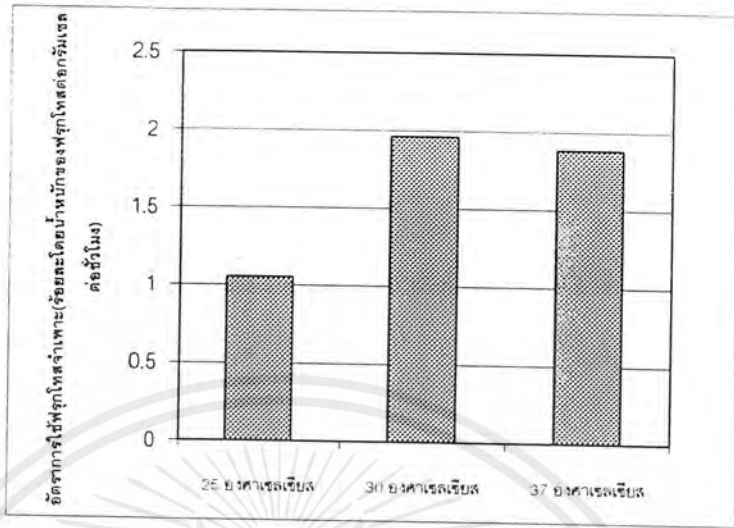
ภาพที่ 4.32 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Z.mobilis* TISTR 548 ที่
อุณหภูมิต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

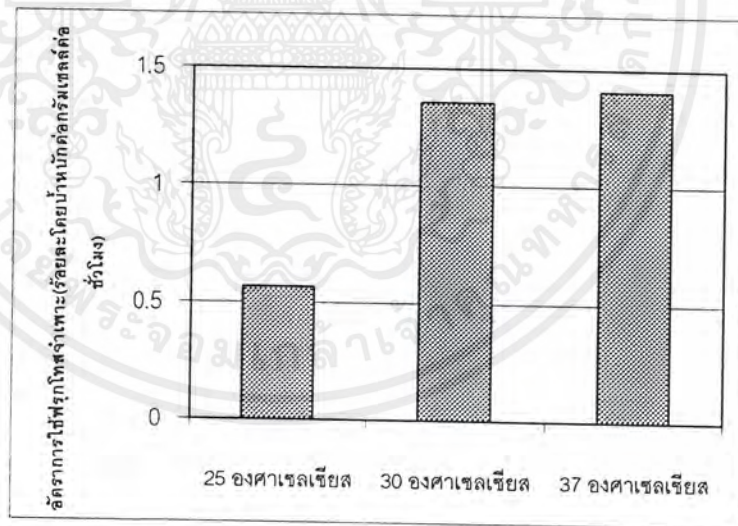


ภาพที่ 4.33 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง *Z.mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

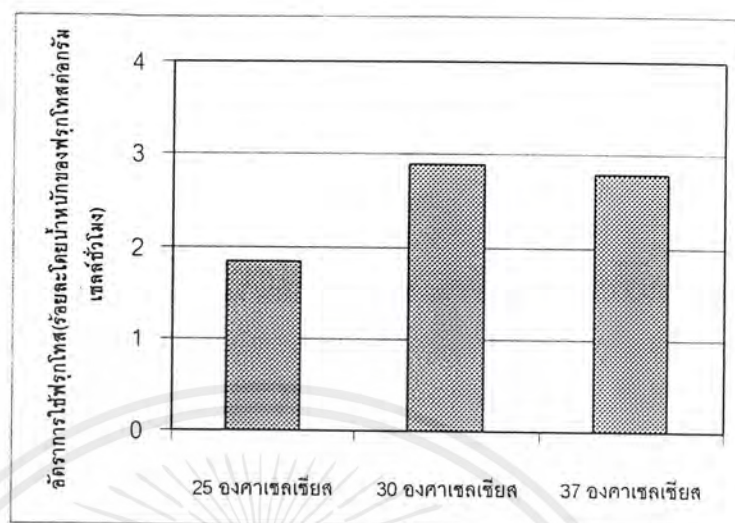


ภาพที่ 4.34 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่างๆ



ภาพที่ 4.35 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.36 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ผลของการเปรียบเทียบความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลที่ใช้ในการผลิตน้ำตาลซอร์บิทอลของ *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ TISTR 405 TISTR 548 และ เชื้อผสมระหว่างสายพันธุ์ TISTR 405 และ TISTR 548

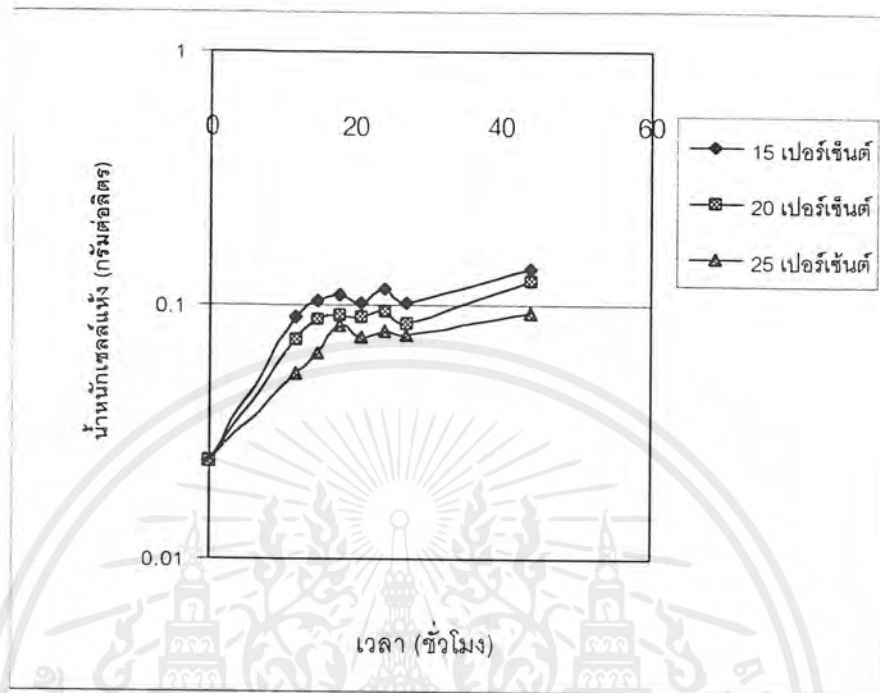
ผลการทดลองจากการหมัก *Z. mobilis* TISTR 405 ในอาหาร Z-broth ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติก ขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นที่ 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทส อัตราส่วน 1:2 ต่าง ๆ คือ 15 เปอร์เซ็นต์ 20 เปอร์เซ็นต์ และ 25 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.37 ภาพที่ 4.40 ภาพที่ 4.43 ภาพที่ 4.46 และภาพที่ 4.49 และจากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 ที่ 15 เปอร์เซ็นต์จะมีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุดคือ 2.354 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชีวโมถ 24 ของช่วงระยะเวลาการหมักเมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ และมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุด คือ 0.0994 ต่อชั่วโมง ไม่มีความแตกต่างทางสถิติดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตรา 1:2 ในการผลิตซอร์บิทอล

ผลการทดลองจากการหมัก *Z. mobilis* TISTR 548 ในอาหาร Z-broth ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติก ขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นที่ 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสต่าง ๆ คือ 15 เปอร์เซ็นต์ 20 เปอร์เซ็นต์ และ 25 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงใน ภาพที่ 4.38 ภาพที่ 4.41 ภาพที่ 4.44 ภาพที่ 4.47 และภาพที่ 4.50 จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครส 15 เปอร์เซ็นต์ จะมีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุดคือ 0.905 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชีวโมถ 24 ของช่วงระยะเวลาการหมัก เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญยิ่ง และมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูงสุดคือ 0.1600 ต่อชั่วโมง ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำตาลซูโครสที่ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ในการผลิตน้ำตาลซอร์บิทอล

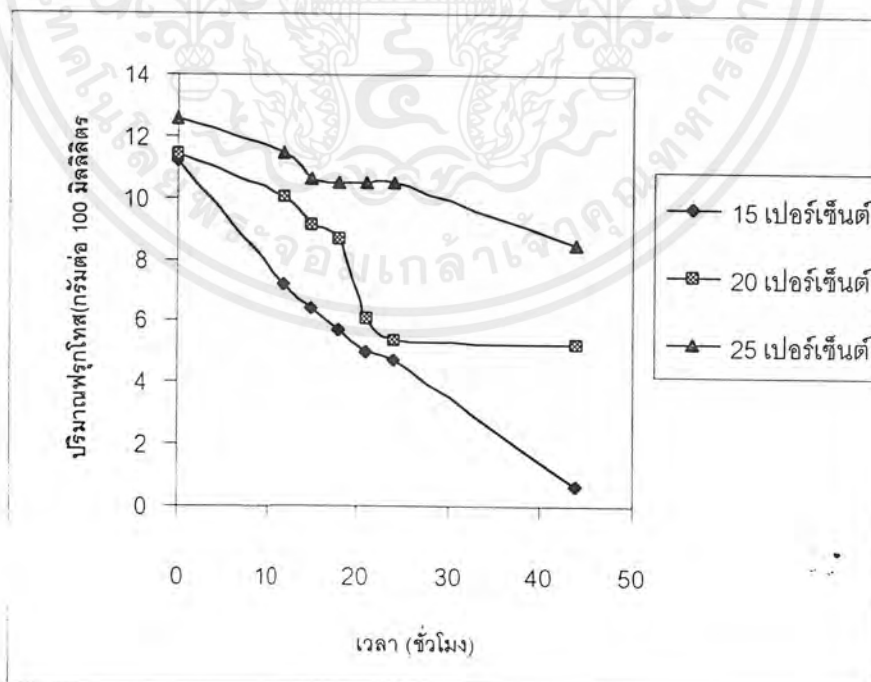
ผลการทดลองจากการหมัก *Z. mobilis* ที่เป็นเชื้อผสม 2 สายพันธุ์ ในอาหาร Z-broth ที่ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ในพลาสติก ขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นที่ 6.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส โดยมีความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทส อัตราส่วน 1:2 ต่าง ๆ คือ ร้อยละ 15 20 เปอร์เซ็นต์ และ 25 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในภาพที่ 4.39 ภาพที่ 4.42 ภาพที่ 4.45 ภาพที่ 4.48 และภาพที่ 4.51 จากการทดลองพบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสในอัตราส่วน 1:2 ที่ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ และ 20 เปอร์เซ็นต์ จะมีค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะสูง คือ 0.1162 และ 0.1103 ต่อชั่วโมง ตามลำดับ เมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าทางสถิติพบว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ เมื่อเปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสที่ความเข้มข้นน้ำตาล 15 เปอร์เซ็นต์ มีอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุดคือ 1.545 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ชีวโมถ 24 ของช่วงระยะเวลาการหมัก

และมีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญ ดังนั้นจึงเลือกใช้น้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทส อัตราส่วน 1:2 15 เปอร์เซ็นต์ ในการผลิตชอร์บิทอล ซึ่งสอดคล้องกับ Strohdreicher และคณะ (1988), ศึกษาพบว่า ขณะที่ *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ ATCC 29191 เจริญในอาหารที่มีกลูโคสและฟรุกโทส จะเกิดการผลิตเอทานอล โดยมีชอร์บิทอลและกลูโคเนตเป็นผลพลอยได้ โดยความเข้มข้นสุดท้ายของชอร์บิทอลมีค่าเท่ากับ 3 กรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 7 เปอร์เซ็นต์ของแหล่งคาร์บอนในอาหารเลี้ยงเชื้อ ความเข้มข้นของชอร์บิทอลจะไม่เพิ่มขึ้นอีกเมื่อน้ำตาลถูกใช้หมดลง และจะไม่เกิดการผลิตทั้งชอร์บิทอลและกลูโคเนตเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีปริมาณกลูโคส 340 มิลลิโมล ฟรุกโทส 300 มิลลิโมล ซึ่งอาจเนื่องมาจากความเข้มข้นของกลูโคสและฟรุกโทส น้อยเกินไปสำหรับเอนไซม์กลูโคส-ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทสในการผลิตชอร์บิทอลและกลูโคโนแลคโตนจากน้ำตาลดังกล่าว

Silveira และคณะ (1999), ศึกษาในเรื่องการเปลี่ยนแปลงชีวภาพของกลูโคสและฟรุกโทสไปเป็นกรดกลูโคนิกและชอร์บิทอลโดยเอนไซม์กลูโคส-ฟรุกโทส ออกซิโดรีดักเทส และกลูโคโนแลคโตนเนส ใน *Zymomonas mobilis* สายพันธุ์ ATCC 29191 ที่เลี้ยงแบบกะในกลูโคสและฟรุกโทสที่ความเข้มข้น 100-750 กรัมต่อลิตร ในสมดุลโมล พบว่า เมื่อความเข้มข้นของกลูโคสและฟรุกโทสเพิ่มขึ้นจนถึง 650 กรัมต่อลิตร ผลผลิตจะเพิ่มขึ้นจนถึง 91 เปอร์เซ็นต์ โดยมีอัตราการผลิตกรดกลูโคนิกและชอร์บิทอลที่ 1.6 และ 1.5 กรัมต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง ตามลำดับ แต่ในระดับความเข้มข้นที่สูงกว่านี้ ผลผลิตจะไม่เพิ่มขึ้น และอัตราการผลิตจะลดลงตามเวลาที่ผ่านไป

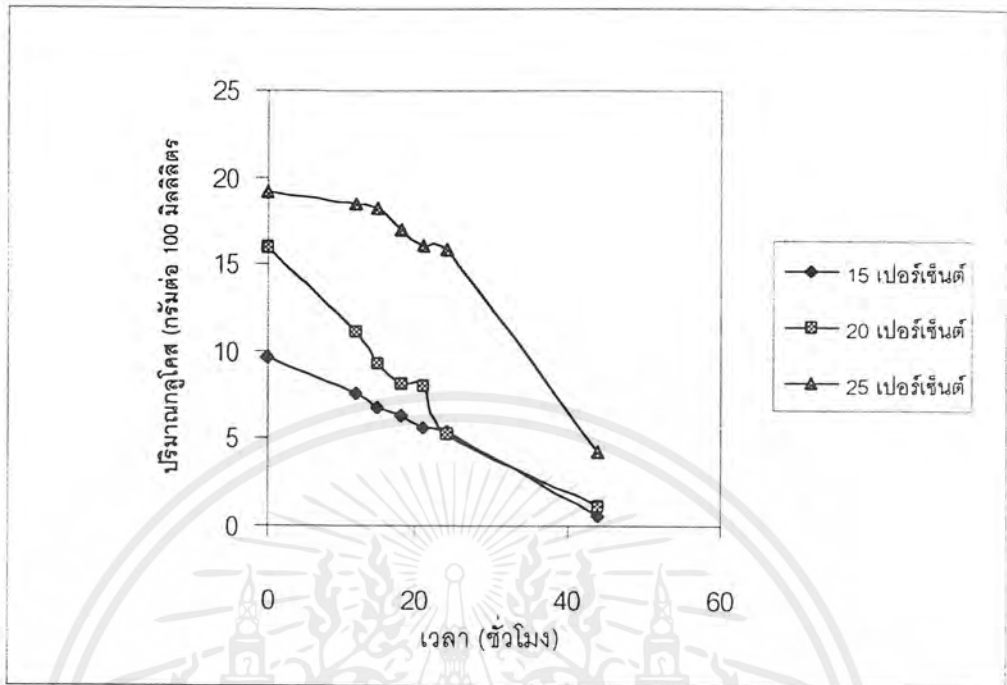


ภาพที่ 4.37 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่างๆ



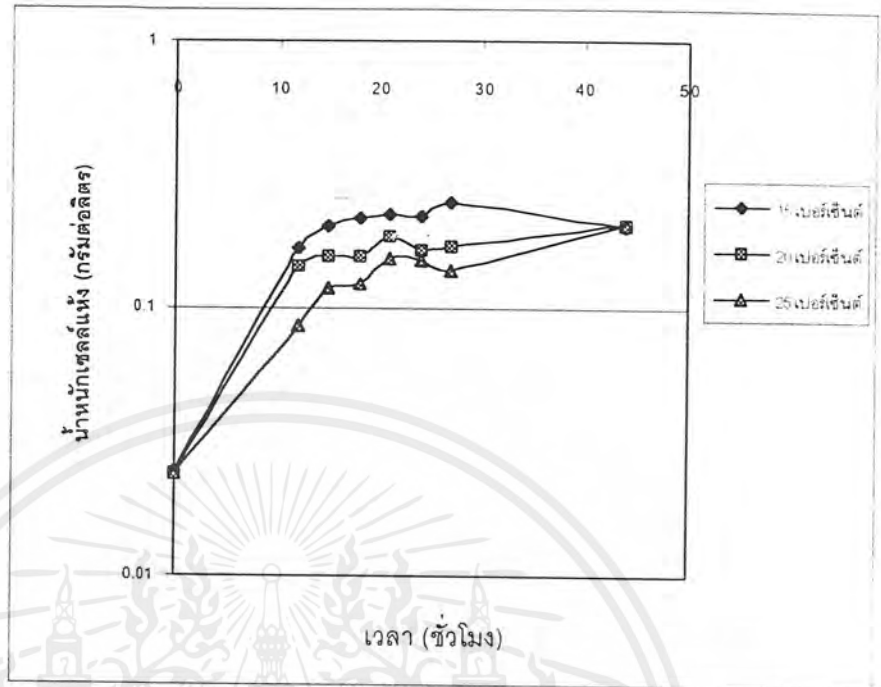
ภาพที่ 4.38 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

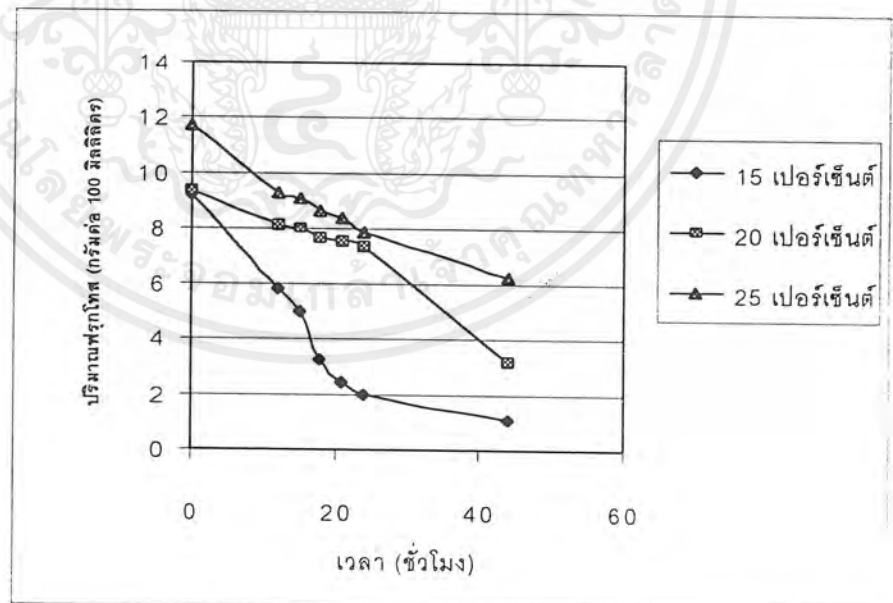


ภาพที่ 4.39 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

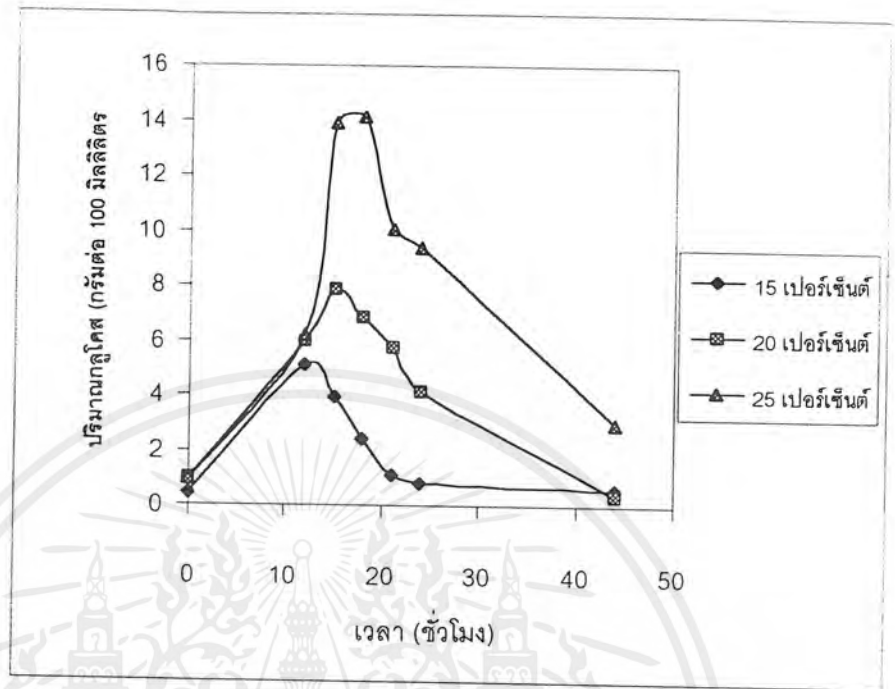


ภาพที่ 4.40 กราฟแสดงอัตราการเจริญเติบโตของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆ



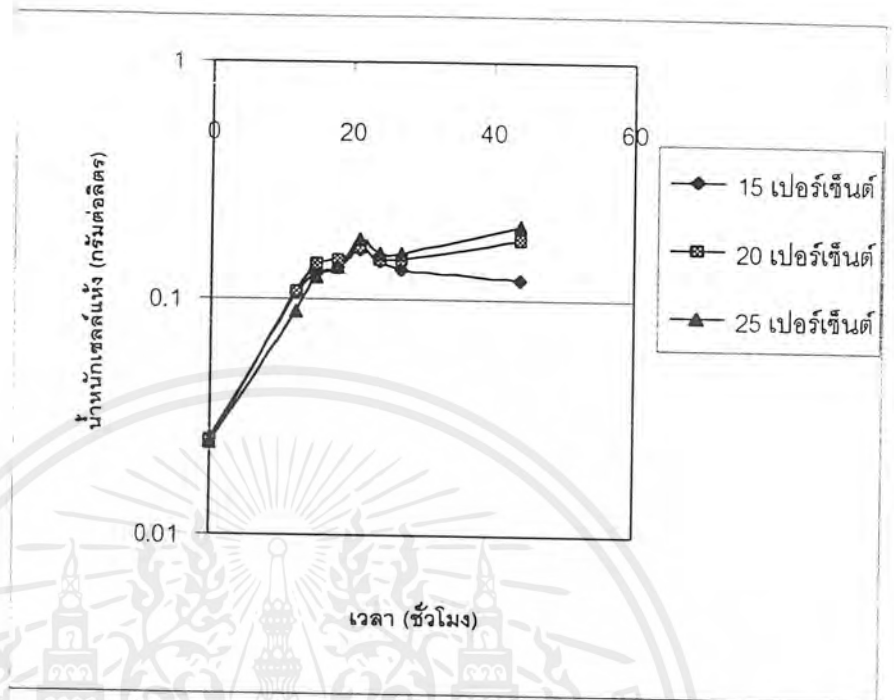
ภาพที่ 4.41 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำตาลต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

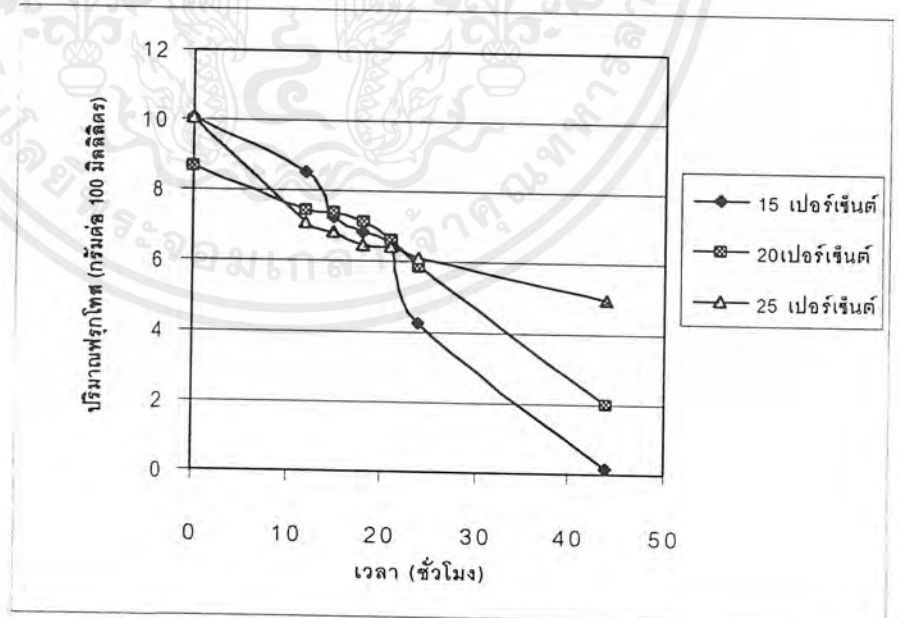


ภาพที่ 4.42 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTrR 548 ที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

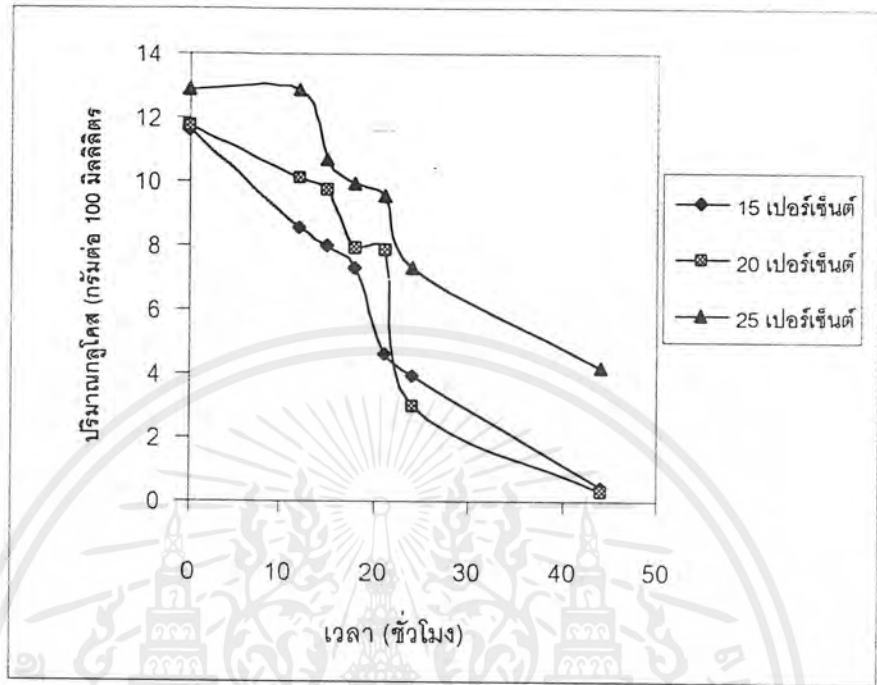


ภาพที่ 4.43 เปรียบเทียบอัตราการเจริญเติบโตของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ



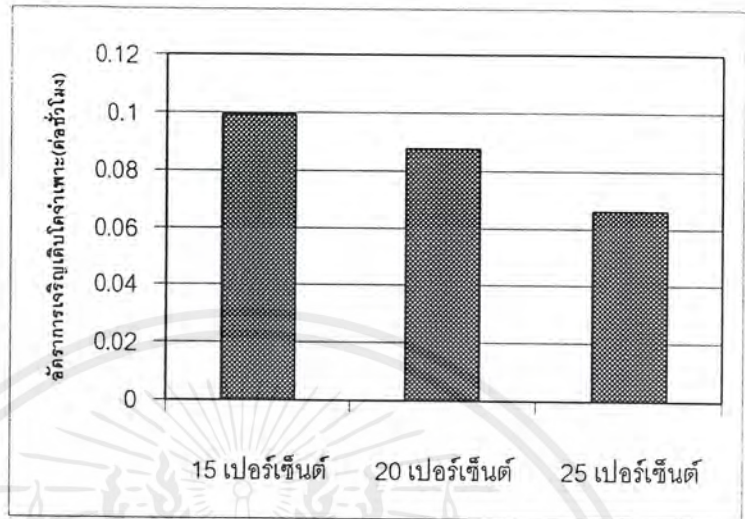
ภาพที่ 4.44 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

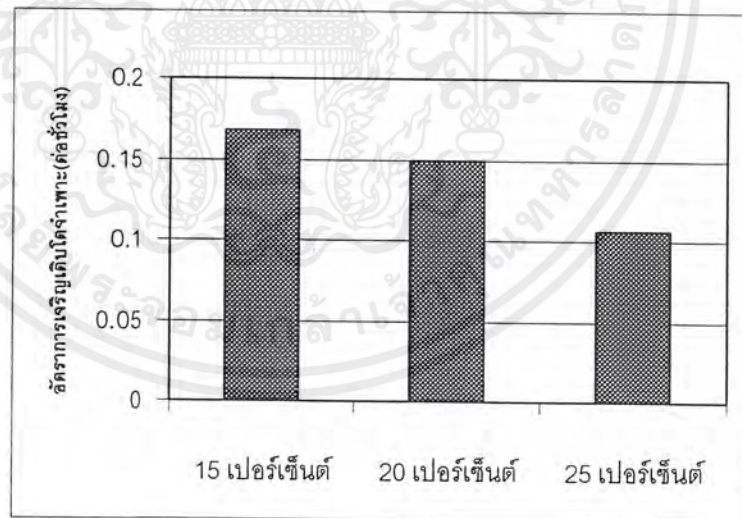


ภาพที่ 4. 45 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่ลดลงของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

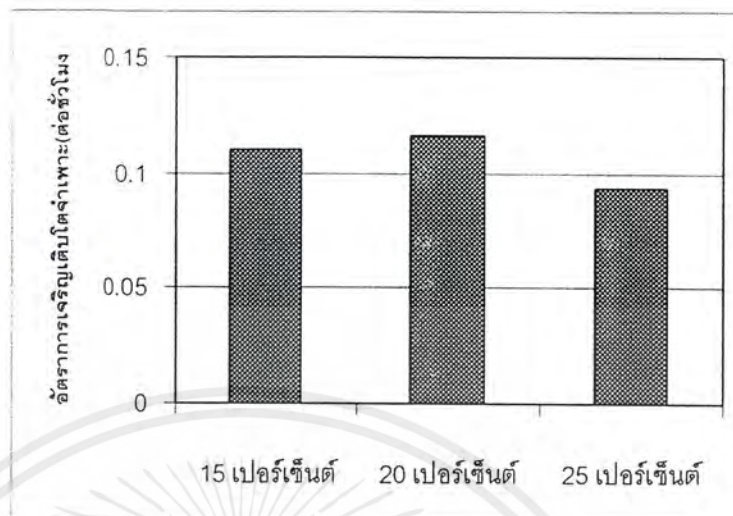


ภาพที่ 4.46 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Z.mobilis* TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ



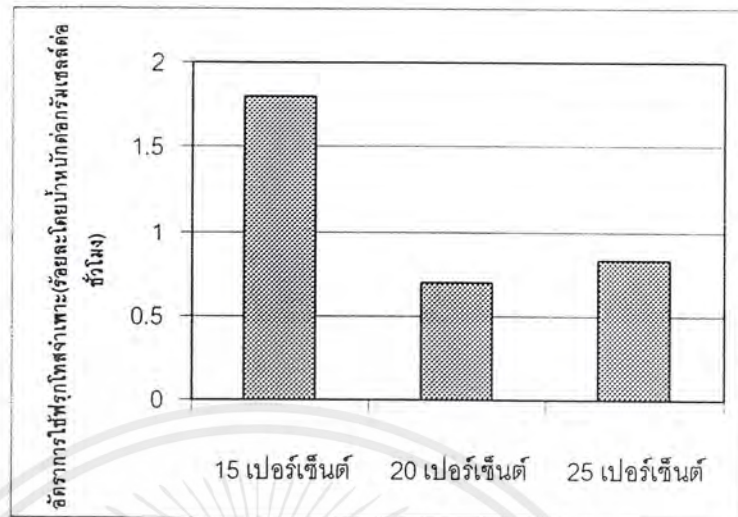
ภาพที่ 4.47 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของ *Z.mobilis* TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

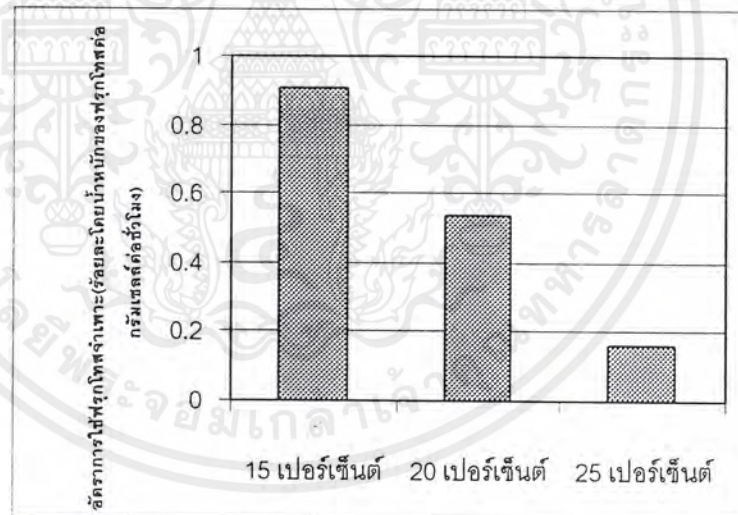


ภาพที่ 4.48 เปรียบเทียบค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง *Z.mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

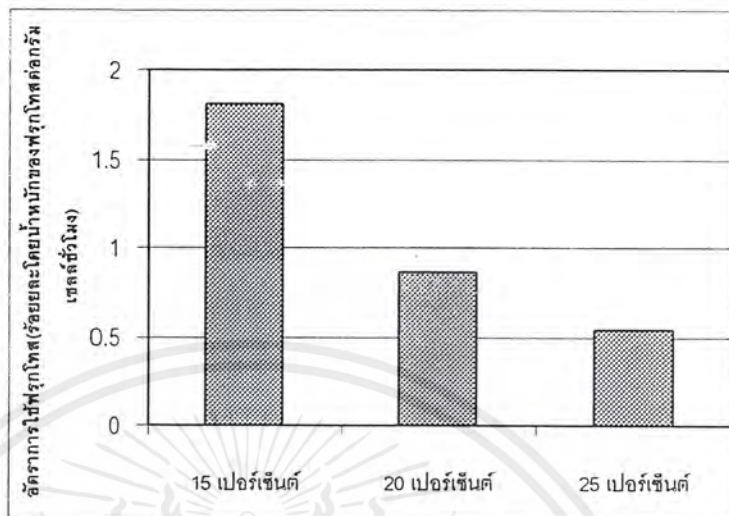


ภาพที่ 4.49 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ



ภาพที่ 4.50 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.51 เปรียบเทียบค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะของเชื้อผสมระหว่าง *Z. mobilis* TISTR 405 และ TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตซอร์บิทอลของเชื้อ *Z. mobilis* TISTR 405 พบว่าเมื่อใช้อาหารสูตร Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสอัตราส่วน 1:2 ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตรในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้น 6.0 ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงในระดับพลาสติกภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า โดยใช้หัวเชื้อ *Z. mobilis* TISTR 405 เริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุด คือ 1.801 ร้อยละโดยน้ำหนักของฟรุกโทสต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง ที่ชั่วโมงที่ 24 ของระยะเวลาการหมัก

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตซอร์บิทอลของเชื้อ *Z. mobilis* TISTR 548 พบว่าเมื่อใช้อาหารสูตร Z-broth ที่มีน้ำตาลซูโครสความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตรในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงในระดับพลาสติกภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า โดยใช้หัวเชื้อ *Z. mobilis* TISTR 548 เริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุด คือ 0.905 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง ที่ชั่วโมงที่ 24 ของระยะเวลาการหมัก

จากการศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตซอร์บิทอลของเชื้อ *Z. mobilis* ผสมระหว่างสองสายพันธุ์ พบว่าเมื่อใช้อาหารสูตร Z-broth ที่มีน้ำตาลกลูโคสต่อฟรุกโทสอัตราส่วน 1:2 ความเข้มข้น 15 เปอร์เซ็นต์ ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตรในพลาสติกขนาด 125 มิลลิลิตร พีเอชเริ่มต้นของอาหาร 6.0 ที่ควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการเลี้ยงในระดับพลาสติกภายใต้สภาวะที่ไม่มีการเขย่า โดยใช้หัวเชื้อ *Z. mobilis* ผสมระหว่างสองสายพันธุ์เริ่มต้น 9 เปอร์เซ็นต์ พบว่าค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะสูงสุด คือ 1.813 ร้อยละโดยน้ำหนักต่อกรัมเซลล์ต่อชั่วโมง ที่ชั่วโมงที่ 24 ของระยะเวลาการหมัก

เอกสารอ้างอิง

- กระทรวงอุตสาหกรรม. 2538. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมสารละลายซอร์บิทอล. สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, สมุทรปราการ.
- นิรนาม. 2532. ซอร์บิทอล. บริษัท อูเอโน ไฟน์ เคมีคัลส์อินดัสตรี(ประเทศไทย) จำกัด, สมุทรปราการ
- วิจิตรา บรมรัตน์ไพศาล. 2541. การหาอินดิเคเตอร์ในการตรวจสอบน้ำตาลซอร์บิทอลที่ผลิตโดย *Zymomonas mobilis*. โครงการพิเศษ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- วีรวรรณ ชื่นอารมณ. 2540. การใช้อินดิเคเตอร์ในการตรวจสอบน้ำตาลซอร์บิทอลที่ผลิตโดย *Zymomonas mobilis*. โครงการพิเศษ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- หนึ่งฤทัย มีสุข. 2543. การศึกษาประสิทธิภาพในการผลิตซอร์บิทอลของ *Zymomonas mobilis*. โครงการพิเศษ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- Borrow, K. D. , Leigh, Rogers, P. L. and Warr, R. G. 1984. Sorbitol production by *Zymomonas mobilis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20 : 225-232.
- Boonyras Sookheo, S. Phutrakul and P. Kanasawud. Production of sorbitol and ethanol from sucrose by *Zymomonas mobilis* : Separation and properties of glucose- fructose oxidoreductase. Chiang Mai University, Thailand.
- Chun. U. H. , Rogers. P. L. . 1988. The simultaneous production of sorbitol and gluconic acid by *Zymomonas mobilis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 29. 19-24.
- Leigh, D. A. , Scopes, R. K. and Roger, P. L. . 1984. A proposed pathway for sorbitol production by *Zymomonas mobilis*. Appl. Microbiol. 20 : 413-415.
- Merk. 2000. Pharmaceuical raw material : Sorbitol instant.
<http://www.merck.com.au/indust/sorbitol1.htm>
- Rehr, B. , Wilhelm, C. , Sahm. H. , 1991. Production of sorbitol and gluconic acid by Permeabilized cells of *Zymomonas mobilis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 35, 144-148.

- Sahm, H. , Loos, H. ,Rehr. B. , Springer, G. , 1995. Production of sorbitol and gluconic acid by *Zymomonas mobilis*. Meded. Fac. Landbouwwet. Rijksuniv. Gent 59(4b), 2403-2410
- Silveira, M. M. , Salles, R. , Lemmel, C. and Jonas, R. . 1995. Glucose-fructose activity in six strains of *Zymomonas mobilis*. Arq. Biol. Tecnol. 38, 619-622.
- Sookkheo, B. , Phutrakul, S. and Kanasawud, P. 1991. Production of sorbitol and Ethanol from sucrose by *Zymomonas mobilis* : Sugar fermentation, J. Sci. Soc. Thailand 17 : 123-135.
- Strohdeicher, M. , Schmitz, B. , Bringer-Meyer, S. and Sahm. H. . 1988. Formation of the flocculent strain *Zymomonas mobilis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 27. 378-382.
- Viikari, L. 1984. Formation of sorbitol by *Zymomonas mobilis*. Appl. Microbiol. Biotechnol. 20 : 118-123.
- Wisbeck, E. . Silveira, M. M. , Ninow, J. and Jonas, R. . 1997. Evaluation of the flocculent strain *Zymomonas mobilis* Z1-81 for the production of sorbitol and gluconic acid. J. Basic Microbiol. 37, 445-449.
- Yaowarate intiyot, S. Phutrakul and P. Kanasawud. Formation of sorbitol and gluconic acid by permeabilized cells of *Zymomonas mobilis*. Chiang Mai University, Thailand.
- Zachariou, M. , R. K. , 1986. Glucose-fructose oxidoreductase, a new enzyme isolated from *Zymomonas mobilis* that is responsible for sorbitol production. J. Bacteriol. 167, 803-809.

ภาคผนวก ก

อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารแข็ง Z medium (Z medium Agar)

แบคโตเปปโตน (bacto peptone)	10	กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	10	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
ผงวุ้น	15	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

2. อาหารเหลว (cultivation medium)

แบคโตเปปโตน (bacto peptone)	10	กรัม
ยีสต์สกัด (yeast extract)	10	กรัม
กลูโคส	20	กรัม
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH_2PO_4)	2	กรัม
แมกนีเซียมซัลเฟต ($\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$)	2	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$)	1	กรัม
น้ำกลั่น	1000	มิลลิลิตร

หมายเหตุ ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อให้แยกนึ่งฆ่าเชื้อน้ำตาลกับสารอาหารต่างๆ เพื่อป้องกันการเกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล (Browning reaction) โดยอาหารให้นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ส่วนน้ำตาลกลูโคสให้นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที หลังจากนั้นฆ่าเชื้อทั้ง 2 เสร็จแล้วให้นำมารวมกัน

ภาคผนวก ข

วิธีวิเคราะห์น้ำตาลและกราฟมาตรฐานของน้ำตาล

วิธีวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธีของ samogyi nelson

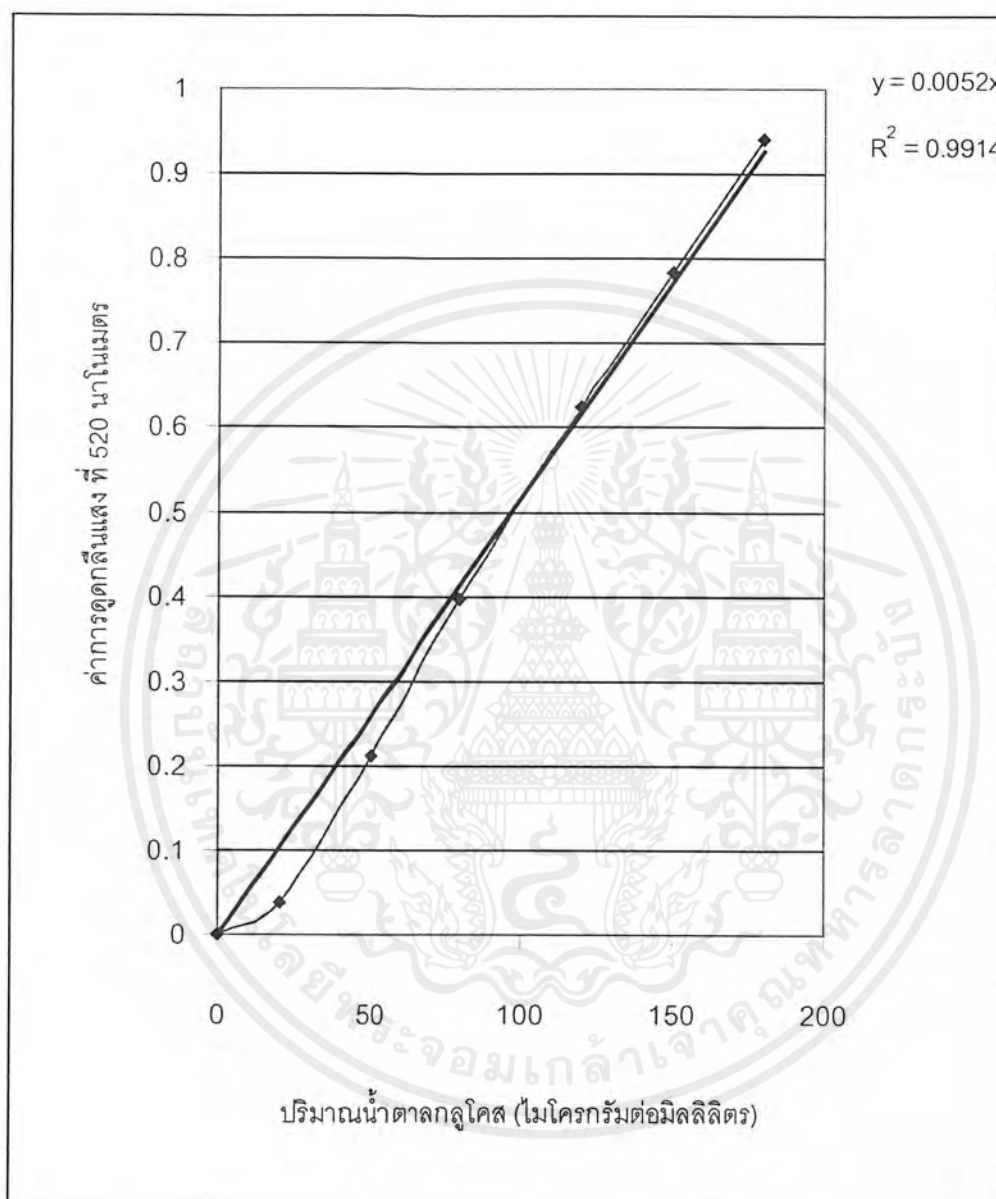
1. การเตรียมสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส เตรียมสารละลายกลูโคส (analytical grade) โดยอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง ความเข้มข้น 20 40 60 80 100 120 140 และ 160 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ในน้ำกลั่นบรรจุในหลอดทดสอบหลอดละ 1 มิลลิลิตร โดยใช้ น้ำกลั่นเป็นตัวเปรียบเทียบ เติม copper reagent 1 มิลลิลิตร ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 10 นาที ทำให้เย็นทันที โดยแช่ในน้ำเย็นจัด เติม nelson reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 นาที เติมน้ำกลั่น 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน นำไปวัดค่าดูดกลืนแสงด้วยเครื่องดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร จากนั้นเขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณน้ำตาลกลูโคสและค่าดูดกลืนแสง

2. การวิเคราะห์ตัวอย่างใช้ปิเปตต์ดูดตัวอย่างที่มีน้ำตาลกลูโคส 10 ถึง 160 ไมโครกรัม จำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง แล้วนำไปวิเคราะห์ตามวิธีการเตรียมกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคสข้างต้น คำนวณปริมาณน้ำตาลในตัวอย่างจากกราฟมาตรฐานของน้ำตาลกลูโคส

ตารางภาคผนวกที่ ข1 แสดงความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสมาตรฐานและค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้นต่างๆ

ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)
0	0
20	0.038
50	0.211
80	0.393
120	0.624
150	0.785
180	0.940

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ข1 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลฟรุกโทส โดยวิธีของ Marshall และ Kool (1975) สารเคมี

1. กรดซัลฟูริก 70 เปอร์เซ็นต์
2. ซีสเทอีนไฮโดรคลอไรด์ 1.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมได้โดยละลายซีสเทอีนไฮโดรคลอไรด์ 1.5 กรัมในน้ำกลั่น ทำการปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร
3. แอลกอฮอล์คาร์บาโซล 0.12 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยละลาย 0.12 กรัมในแอลกอฮอล์ ทำการปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

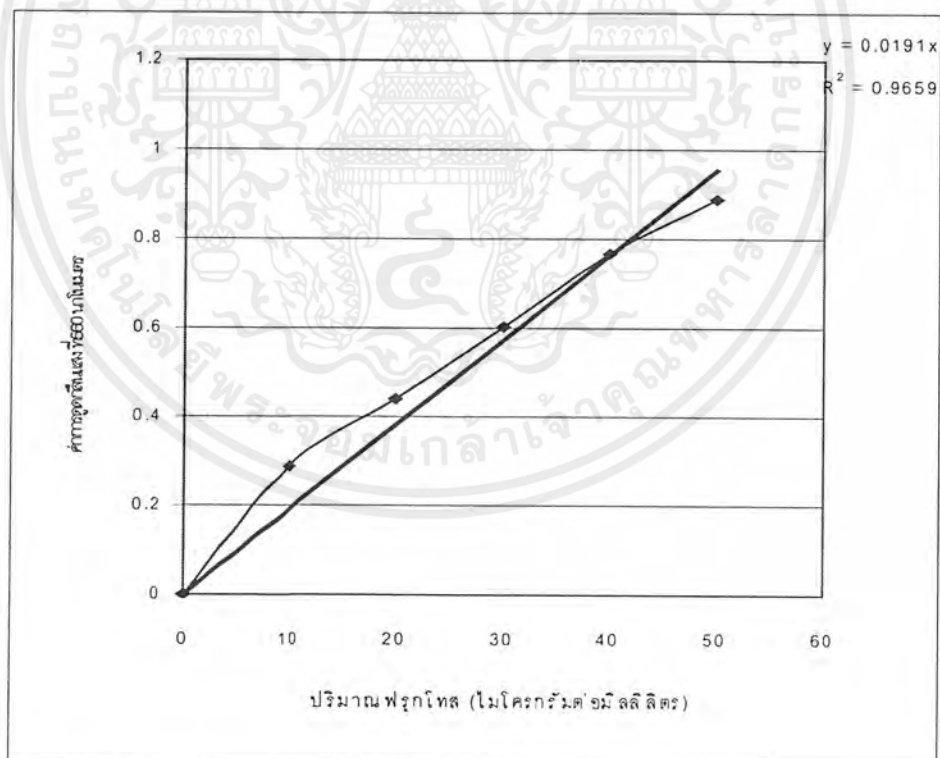
เติมตัวอย่างที่ต้องการหาน้ำตาลฟรุกโทส 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง

- 1.1 เติม 3 มิลลิลิตรของ 70 เปอร์เซ็นต์ กรดซัลฟูริกเกรตวิเคราะห์ที่แช่เย็น เติม 0.1 มิลลิลิตรของ 1.5 เปอร์เซ็นต์ ซีสเทอีนไฮโดรคลอไรด์ และ 0.1 มิลลิลิตรของ 0.12 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์คาร์บาโซลทันที แล้วผสมให้เข้ากัน
- 1.2 นำไปต้มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที
- 1.3 วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 560 นาโนเมตร
- 1.4 นำค่าที่ได้ไปเทียบกับกับกราฟมาตรฐานฟรุกโตส
2. การทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุกโตส
 - 2.1 นำผลึกน้ำตาลฟรุกโตสไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 ชั่วโมง
 - 2.2 เตรียมสารละลายฟรุกโตสความเข้มข้น 10 20 30 40 และ 50 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำสารละลายแต่ละความเข้มข้นอย่างละ 0.5 มิลลิลิตรใส่หลอดทดลองต่อจากนั้นนำไปวิเคราะห์ตามข้อ 1.1-1.4
 - 2.3 เขียนกราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรน้ำตาลฟรุกโตสและค่าการดูดกลืนแสง
3. คำนวณปริมาณน้ำตาลฟรุกโตส

ความเข้มข้นน้ำตาลฟรุกโตส = (ค่าการดูดกลืนแสง/0.0191) X 1000 (กรัมต่อลิตร)

ตารางภาคผนวกที่ ข2 แสดงความเข้มข้นของน้ำตาลฟรุกโทสมาตรฐานและค่าการดูดกลืนแสงที่ความเข้มข้น ต่างๆ

ความเข้มข้นของน้ำตาลฟรุกโทส (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร)	ค่าการดูดกลืนแสง (OD)
0	0
10	0.2885
20	0.4400
30	0.6030
40	0.7670
50	0.8890



ภาพที่ ข2 กราฟมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโทส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

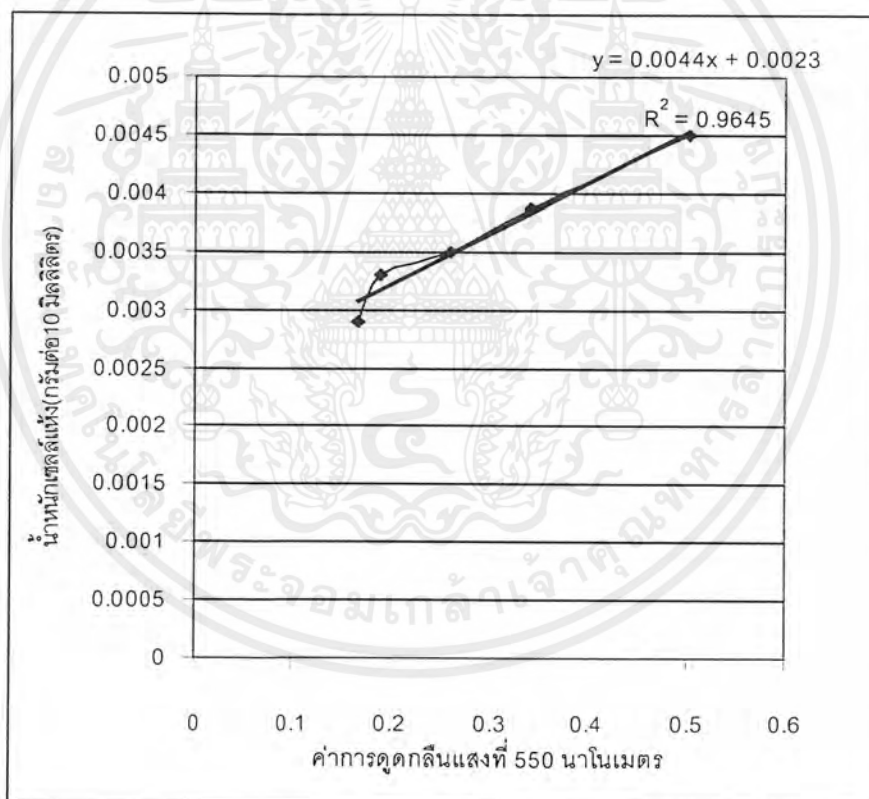
วิธีวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้งและกราฟแสดงน้ำหนักเซลล์แห้ง

การวิเคราะห์น้ำหนักเซลล์แห้ง

1. เตรียมกล้าเชื้อ ถ่ายเชื้อลงในอาหารเหลว 1-2 ลูบ บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง
2. ทำการเจือจางกล้าเชื้อให้ได้ค่าดูดกลืนแสง 0.8-0.9
3. นำไปเจือจางกับอาหารเหลวใสอัตราส่วนต่าง ๆ ที่แตกต่างกัน เขย่าให้เข้ากัน
4. ใช้ปิเปตต์ดูดเซลล์แขวนลอย ใส่หลอดเซนติฟิวจ์หลอดละ 10 มิลลิลิตร นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4000 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที
5. เทของเหลวส่วนใส (supernatant) ทิ้งไปล้างตะกอนเซลล์ด้วยน้ำกลั่นปริมาณ 10 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 4000 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ล้างเซลล์เป็นจำนวน 2-3 ครั้ง
6. เติมน้ำกลั่นปริมาณ 3-5 มิลลิลิตรลงในตะกอนเซลล์ที่ผ่านการล้างแล้วเขย่าเทใส่กระตงฟลอยด์ที่อบแห้งและชั่งน้ำหนักแล้ว นำเข้าตู้อบร้อน อบที่อุณหภูมิ 70-90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 ชั่วโมง
7. ทิ้งไว้ให้เย็นในเดซิเคเตอร์แล้วนำไปชั่งหาน้ำหนักเซลล์ที่แท้จริง

ตารางภาคผนวกที่ ค1 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งที่ค่าการดูดกลืนแสงต่าง ๆ

ค่าการดูดกลืนแสง (OD)	น.น.เซลล์แห้ง (กรัมต่อ 10 มิลลิลิตร)
0.504	0.0045
0.341	0.00387
0.26	0.0035
0.189	0.0033
0.168	0.0029



ภาพที่ ค1 แสดงกราฟมาตรฐานน้ำหนักเซลล์แห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

1. วิธีการหาค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (μ)

จากสมการการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
$$\frac{dC_x}{dt} = \mu C_x$$

เมื่อ C_x = ความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์
 t = เวลา (ชั่วโมง)
 μ = อัตราการเจริญเติบโตจำเพาะ (specific growth rate) (ต่อชั่วโมง)

เมื่ออินทิเกรตจะได้เป็น

$$C'_x = C^0_x e^{\mu t}$$

เมื่อ C^0_x = ความเข้มข้นเริ่มต้นของเซลล์จุลินทรีย์
 C'_x = ความเข้มข้นของเซลล์จุลินทรีย์ที่เวลา t ใด ๆ

จัดรูปสมการใหม่ได้ว่า

$$\ln C'_x = \ln C^0_x + \mu t$$

$$\ln \left(\frac{C'_x}{C^0_x} \right) = \mu t$$

เมื่อนำไปเขียนรูปกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง $\ln C'_x$ กับเวลา (t) จะได้กราฟเส้นตรงที่มีค่า μ เป็นค่าความชัน

2. วิธีการหาค่าอัตราการใช้ฟรุกโทสจำเพาะ (qs fruc) และค่าอัตราการใช้กลูโคสจำเพาะ (qs glu)

ในการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในระยะเอกซ์โพเนนเชียลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีแหล่งอาหารคาร์บอนเพียงชนิดเดียว สามารถแสดงความสัมพันธ์ของการเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\frac{dC_x}{dt} = Y_{x/s} (-dC_s)_G$$

เมื่อ C_s = ความเข้มข้นของแหล่งอาหารคาร์บอน (M)
 $Y_{x/s}$ = ผลได้ของเซลล์จากสารตั้งต้น (กรัมเซลล์ต่อโมลของสารตั้งต้น)

โดยที่สารตั้งต้นในอาหารเลี้ยงเชื้อจะถูกนำไปใช้เพื่อการบำรุงเซลล์และเพื่อการเจริญเติบโต เพราะฉะนั้น

$$-dC_s = (-dC_s)_M + (-dC_s)_G$$

กล่าวคือ

$$-dC_s = MC_x + \frac{1}{Y_G} \mu C_x$$

เมื่อ M = ค่าสัมประสิทธิ์ของการรักษาสภาพเซลล์ (โมลสารตั้งต้นต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง)
 Y_G

จัดรูปสมการใหม่ จะได้ว่า

$$\frac{1}{C_x} (-dC_s) = M + \frac{1}{Y_G} \mu = q_s$$

เมื่อ q_s คืออัตราจำเพาะของการใช้สารตั้งต้น (โมลสารตั้งต้นต่อกรัมเซลล์ชั่วโมง)
 เพราะฉะนั้น จะสามารถหา q_s ได้จากสมการ

$$q_s = \frac{1}{C_x} (-dC_s)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. วิธีการวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติแบบสุ่มตลอด (CRD)

Complete Randomized Design (CRD)

เป็นแบบแผนการทดลองที่มีการจัดสิ่งทดลอง ทั้งหมดลงในหน่วยทดลอง(experimental units) โดยวิธีสุ่มโดยให้หน่วยทดลองแต่ละหน่วยมีโอกาสได้รับสิ่งทดลองแต่ละชนิดเท่า ๆ กัน สำหรับ CRD ความแตกต่างระหว่างหน่วยทดลองหลายๆหน่วยที่ได้รับสิ่งทดลองเดียวกันเรียกว่า “ความคลาดเคลื่อนของการทดลอง(experimental error)” ดังนั้น CRD จึงเหมาะสำหรับงานทดลองที่มีหน่วยทดลองสม่ำเสมอทั้งหมด ได้แก่ งานทดลองในห้องปฏิบัติการ ซึ่งสามารถควบคุมสิ่งแวดล้อมให้สม่ำเสมอได้ง่าย

การวิเคราะห์ความแปรปรวน การตรวจหาความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลองที่ศึกษากระทำโดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance) โดยที่แหล่งความแปรปรวนของ CRD แบ่งได้เป็น 2 ชนิด คือ ความแปรปรวนของสิ่งทดลอง (treatment variation) และความคลาดเคลื่อนของการทดลอง (experimental error) แสดงเป็นรูปตารางได้ดังนี้

Source of variation	Degree of Freedom	Sum of Squares	Mean of Squares	F value	Tabular F	
					5%	1%
Treatment						
Error						
Total						

วิธีคำนวณ

ให้ t คือ จำนวนชนิดของตัวอย่าง และ r คือ จำนวนซ้ำ

ก. คำนวณค่า degree of freedom (df)

$$\text{total df} = (t \times r) - 1$$

$$\text{treatment df} = t - 1$$

$$\text{error df} = \text{by subtraction} = \text{total df} - \text{treatment df}$$

ข. คำนวณค่า Sum of Squares (SS) ขั้นแรกคำนวณค่า correction factor (CF) ก่อน ดังนี้

$$\text{CF}$$

$$\text{Total SS}$$

$$\text{Treatment SS}$$

$$\text{Error SS} = \text{Total SS} - \text{Treatment SS}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. คำนวณค่า Mean Square (MS)

$$\text{Treatment MS} = \frac{\text{Treatment SS}}{\text{Treatment df}}$$

$$\text{Error MS} = \frac{\text{Error SS}}{\text{Error df}}$$

ง. คำนวณค่า F-value

$$F\text{-value} = \frac{\text{Treatment MS}}{\text{Error MS}}$$

จ. เปิดตาราง F ที่ Treatment df และ Error df ที่นัยสำคัญ 5% และ 1%

ฉ. นำค่าที่คำนวณได้ทั้งหมดตั้งแต่ ก-จ ใส่ในตารางวิเคราะห์

ช. เปรียบเทียบค่า F-value ที่คำนวณได้กับค่า F ที่ได้จากราย

1. ถ้า F-value น้อยกว่าค่า F จากรายที่ 5% แสดงว่า treatment ไม่แตกต่างกันทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ns เยื้องบนค่า F-value
2. ถ้า F-value มากกว่าค่า F จากรายที่ 5% แสดงว่า treatment มีความแตกต่างกันทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ * เยื้องบนค่า F-value
3. ถ้า F-value มากกว่าค่า F จากรายที่ 1% แสดงว่า treatment มีความแตกต่างกันมากทางสถิติ แสดงโดยเขียนสัญลักษณ์ ** เยื้องบนค่า F-value

Least significant difference test (LSD)

เป็นวิธีหาความแตกต่างที่น้อยที่สุดค่าหนึ่ง เพื่อใช้เปรียบเทียบค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองคู่ใดคู่หนึ่ง มีหลักการใช้ดังนี้

1. ใช้ LSD เมื่อ F-value ในตาราง analysis of variance แสดงค่าความแตกต่างระหว่างสิ่งทดลอง
2. ใช้ LSD เมื่อจำนวนสิ่งทดลองไม่เกิน 5
3. กรณีที่จำนวนสิ่งทดลองเกิน 5 ให้ใช้ LSD ได้เฉพาะการเปรียบเทียบสิ่งทดลองอื่น ๆ กับ control

สูตรการคำนวณหา LSD มีดังนี้

$$LSD_{\infty} = t_{\infty} \sqrt{2S^2/r}$$

เมื่อ S^2 คือ Error MS

r คือ จำนวนซ้ำ

t_{∞} คือ เป็นค่าที่ได้รับจากตาราง t ที่นัยสำคัญ ∞ และที่และเมื่อใช้การทดสอบสมมติฐานแบบ 2 ทางเพื่อตัดสินใจว่า สิ่งทดลองใดคู่หนึ่งมีความแตกต่างกันจริงหรือไม่ ให้หาค่าความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของสิ่งทดลองคู่ที่นั้นสมมติให้เป็น d เปรียบเทียบค่า d กับค่า LSD ที่คำนวณได้แสดงว่าสิ่งทดลองไม่มีความแตกต่างกัน



ภาคผนวก จ

ผลการวิเคราะห์ค่าอัตราการเจริญเติบโตจำเพาะทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ1 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างปริมาณหัวเชื้อของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 405

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	5	0.0001	0.00002	1.00 ^{ns}	3.11	5.06
Error	12	0.00026	0.00002			
Total	17	0.00036				

ตารางภาคผนวกที่ จ2 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างปริมาณหัวเชื้อของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	5	0.0002	0.0004	4.81*	3.11	5.06
Error	12	0.0001	0.0000083			
Total	17	0.0003				

ตารางภาคผนวกที่ ๑3 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างปริมาณหัวเชื้อของเชื้อผสม

Z. mobilis TISTR 405 และ *Z. mobilis* TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table 95%	F-table 99%
Treatment	5	0.0025	0.0005	62.5**	3.11	5.06
Error	12	0.0001	0.000008			
Total	17	0.0026				

9%	10%	8%	7%	6%	5%
0.2177a	0.2149ab	0.2106b	0.2053b	0.1974c	0.1824d

ตารางภาคผนวกที่ ๑4 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อ

Z. mobilis TISTR 405

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table 95%	F-table 99%
Treatment	3	0.0099	0.0033	20.625**	4.07	7.59
Error	8	0.00128	0.00016			
Total	11	0.01118				

1:2	1:3	1:1	sucrose
0.1494a	0.1461a	0.1321a	0.0779b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ5 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	3	0.0002	0.000066	1.776 ^{ns}	4.07	7.59
Error	8	0.0003	0.0000375			
Total	11	0.00050				

ตารางภาคผนวกที่ จ6 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อผสม
Z. mobilis TISTR 405 และ *Z. mobilis* TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	3	0.016	0.0053	212.00**	4.07	7.59
Error	8	0.0002	0.000025			
Total	11	0.0162				

1:1	1:2	1:3	sucrose
0.1715a	0.1704a	0.1624a	0.0837b

ตารางภาคผนวกที่ จ7 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 405

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.004	0.002	25.00**	5.14	10.92
Error	6	0.0005	0.00008			
Total	8	0.0045				

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

30 องศาเซลเซียส

37 องศาเซลเซียส

25 องศาเซลเซียส

0.1377a

0.1301a

0.0896b

ตารางภาคผนวกที่ จ8 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของเชื้อ

Z. mobilis TISTR548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.0002	0.0001	1.4286	5.14	10.92
Error	6	0.0004	0.00007			
Total	8	0.0006				

ตารางภาคผนวกที่ จ9 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของเชื้อผสม

Z. mobilis TISTR 405 และ *Z. mobilis* TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.0021	0.0011	22.00**	5.14	10.92
Error	6	0.0003	0.00005			
Total	8	0.0024				

30 องศาเซลเซียส

37 องศาเซลเซียส

25 องศาเซลเซียส

0.1451a

0.1406a

0.1106b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ10 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 405

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.0021	0.0010	6.00*	5.14	10.92
Error	6	0.0024	0.0004			
Total	8	0.0045				

15 เปอร์เซ็นต์
0.0994a

20 เปอร์เซ็นต์
0.0687a

25 เปอร์เซ็นต์
0.0666b

ตารางภาคผนวกที่ จ11 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.0087	0.00435	65.90**	5.14	10.92
Error	6	0.0004	0.000066			
Total	8	0.0091				

15 เปอร์เซ็นต์
0.1600a

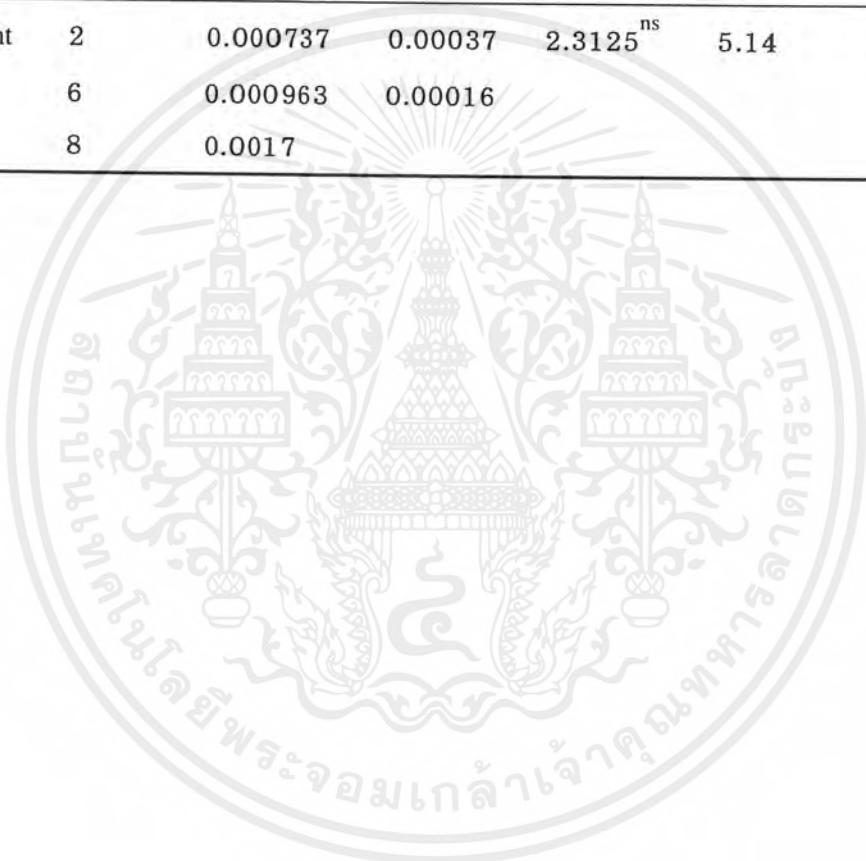
20 เปอร์เซ็นต์
0.1492a

25 เปอร์เซ็นต์
0.0893b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ12 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลของเชื้อผสม
Z. mobilis TISTR 405 และ *Z. mobilis* TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.000737	0.00037	2.3125 ^{ns}	5.14	10.92
Error	6	0.000963	0.00016			
Total	8	0.0017				



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ค่าอัตราการใช้น้ำตาลฟรุกโทสจำเพาะทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ จ13 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 405

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table 95%	F-table 99%
Treatment	3	1.1041	0.36803	12.4389**	4.07	7.59
Error	8	0.236695	0.029587			
Total	11	1.340795				

1:2 1.629a 1:3 1.478a sucrose 1.262b 1:1 1.824c

ตารางภาคผนวกที่ จ14 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table 95%	F-table 99%
Treatment	3	1.2172	0.40573	30.877**	4.07	7.59
Error	8	0.10513	0.01314			
Total	11	1.32233				

Sucrose 1.739a 1:2 1.351b 1:3 0.975c 1:1 0.965

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ15 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างแหล่งน้ำตาลของเชื้อผสม
Z. mobilis TISTR 405 และ *Z. mobilis* TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	3	1.68938	0.56312	25.00**	4.07	7.59
Error	8	0.17368	0.02171			
Total	11	1.86306				

1:2	1:3	1:1	sucrose
1.3759a	1.158a	0.7966b	0.3869c

ตารางภาคผนวกที่ จ16 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 405

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	8.7062	4.3531	24.344**	5.14	10.92
Error	6	1.0729	0.1788			
Total	8	9.7791				

30 องศาเซลเซียส	37 องศาเซลเซียส	25 องศาเซลเซียส
5.136a	3.858b	2.728c

ตารางภาคผนวกที่ จ17 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	1.55039	0.77519	2.097 ^{ns}	5.14	10.92
Error	6	2.21766	0.3696			
Total	8	3.76805				

ตารางภาคผนวกที่ จ18 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างอุณหภูมิของเชื้อผสม
Z. mobilis TISTR 405 และ *Z. mobilis* TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	1.5103	0.75515	1.2368 ^{ns}	5.14	10.92
Error	6	3.66344	0.61051			
Total	8	5.17374				

ตารางภาคผนวกที่ จ19 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 405

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	3.4854	1.7427	9.081*	5.14	10.92
Error	6	1.1516	0.1919			
Total	8	4.6370				

15%	20%	25%
2.354a	1.024b	1.044b

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ20 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลของเชื้อ
Z. mobilis TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.72192	0.36096	64.00**	5.14	10.92
Error	6	0.03387	0.00563			
Total	8	0.7557				

15% 20% 25%
0.905a 0.664b 0.221c

ตารางภาคผนวกที่ จ21 การวิเคราะห์ความแตกต่างระหว่างความเข้มข้นของน้ำตาลของเชื้อผสม
Z. mobilis TISTR 405 และ *Z. mobilis* TISTR 548

Source of Variation	df	SS	MS	F-value	F-table	
					95%	99%
Treatment	2	0.9931	0.49655	16.00**	5.14	10.92
Error	6	0.1851	0.03085			
Total	8	1.1782				

15% 20% 25%
1.545a 1.048b 0.739c

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ.

ตารางภาคผนวกที่ จ1 แสดงน้ำหนักแห้งของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่ชั่วโมงต่างๆ โดยใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	5 เปอร์เซ็นต์	6เปอร์เซ็นต์	7เปอร์เซ็นต์	8เปอร์เซ็นต์	9เปอร์เซ็นต์	10เปอร์เซ็นต์
0	0.241	0.243	0.244	0.248	0.25	0.251
2	0.26	0.267	0.272	0.278	0.284	0.291
4	0.389	0.352	0.363	0.38	0.392	0.405
6	0.44	0.483	0.501	0.53	0.566	0.585
8	0.759	0.833	0.898	0.948	0.997	1.022
10	1.197	1.24	1.247	1.231	1.024	1.283
12	1.335	1.315	1.27	1.253	1.353	1.327
13	1.344	1.334	1.292	1.301	1.342	1.286
15	1.287	1.284	1.237	1.293	1.217	1.239

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ2 แสดงน้ำหนักแห้งของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่ชั่วโมงต่าง ๆ ที่ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	5 เปอร์เซ็นต์	6 เปอร์เซ็นต์	7 เปอร์เซ็นต์	8 เปอร์เซ็นต์	9 เปอร์เซ็นต์	10 เปอร์เซ็นต์
0	0.23	0.24	0.24	0.242	0.244	0.244
2	0.256	0.263	0.267	0.272	0.28	0.284
4	0.339	0.354	0.373	0.394	0.416	0.434
5	0.442	0.453	0.489	0.537	0.619	0.646
7	0.785	0.847	0.899	0.964	1.046	1.047
9	1.401	1.421	1.345	1.385	1.364	1.346
11	1.517	1.48	1.495	1.475	1.442	1.482
13	1.434	1.422	1.414	1.454	1.445	1.446
16	1.417	1.41	1.371	1.384	1.381	1.312

ตารางภาคผนวกที่ ฉ3 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อผสมที่ชั่วโมงต่าง ๆ โดยใช้หัวเชื้อเริ่มต้นต่างกัน

ชั่วโมงที่	5 เปอร์เซ็นต์	6 เปอร์เซ็นต์	7 เปอร์เซ็นต์	8 เปอร์เซ็นต์	9 เปอร์เซ็นต์	10 เปอร์เซ็นต์
0	0.241	0.245	0.246	0.248	0.251	0.253
2	0.271	0.277	0.283	0.289	0.413	0.299
4	0.351	0.373	0.396	0.413	0.436	0.453
6	0.561	1.348	0.705	0.747	0.801	0.83
8	1.044	1.198	1.223	1.273	1.308	1.341
10.5	1.382	1.378	1.42	1.399	1.416	1.398
12.5	1.574	1.572	1.577	1.642	1.539	1.519
14.5	1.525	1.514	1.492	1.511	1.492	1.47
15.5	1.468	1.45	1.448	1.414	1.408	1.385

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ๑4 แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่างกัน

ชั่วโมงที่	ซูโครส	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:1	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:2	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:3
0	0.243	0.241	0.243	0.242
2	0.281	0.284	0.289	0.286
4	0.355	0.371	0.372	0.377
6	0.382	0.555	0.568	0.553
8	0.409	0.826	0.825	0.818
10	0.406	1.151	1.167	1.138
12	0.403	1.398	1.385	1.32
13	0.405	1.484	1.403	1.486
26	0.399	1.485	1.559	1.533

ตารางภาคผนวกที่ ๑5 แสดงน้ำหนักแห้งของ *Z. mobilis* TISTR 548 ชั่วโมงต่างๆที่แหล่งน้ำตาลต่างกัน

ชั่วโมงที่	ซูโครส	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:1	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:2	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:3
0	0.247	0.248	0.249	0.248
2	0.287	0.292	0.296	0.296
4	0.406	0.421	0.436	0.437
6	0.8	0.894	0.881	0.89
9.3	1.289	1.338	1.334	1.19
11.25	1.789	1.519	1.638	1.567
12	1.778	1.627	1.616	1.594
13	1.81	1.643	1.648	1.624
25	1.88	1.715	1.736	1.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ6 แสดงน้ำหนักแห้งของเชื้อผสมข้าวโม่งต่างๆที่แหล่งน้ำตาลต่างกัน

ชั่วโมงที่	ซูโครส	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:1	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:2	กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:3
0	0.245	0.246	0.24	0.246
2	0.302	0.312	0.31	0.311
4	0.413	0.474	0.465	0.47
6	0.47	0.886	0.891	0.843
8	0.553	1.298	1.274	1.252
10	0.597	1.504	1.574	1.319
12	0.702	1.91	1.873	1.667
13	0.743	1.93	1.945	1.819
26	1.264	1.786	1.854	1.677

ตารางภาคผนวกที่ ฉ7 แสดงน้ำหนักแห้งของ Z.mobilis TISTR 405 ชั่วโมงต่างๆที่อุณหภูมิต่างกัน

ชั่วโมงที่	25 องศาเซลเซียส	30 องศาเซลเซียส	37 องศาเซลเซียส
0	0.243	0.244	0.243
10	0.525	0.985	0.916
13	0.769	1.154	0.962
15	0.96	1.224	1.043
17	1.11	1.44	1.094
21	1.183	1.412	1.171

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ที่ ๘ แสดงน้ำหนักแห้งของ *Z. mobilis* TISTR 548 ชั่วโมงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิต่าง
กัน

ชั่วโมงที่	25 องศาเซลเซียส	30 องศาเซลเซียส	37 องศาเซลเซียส
0	0.245	0.242	0.243
10	0.897	1.336	1.342
13	1.762	1.646	1.642
15	1.996	1.918	1.822
17	2.399	1.955	1.778
21	2.473	2.089	1.853

ตารางภาคผนวกที่ ๙ แสดงน้ำหนักแห้งของเชื้อผสมชั่วโมงต่าง ๆ ที่อุณหภูมิต่างกัน

ชั่วโมงที่	25	30	37
	องศาเซลเซียส	องศาเซลเซียส	องศาเซลเซียส
0	0.25	0.25	0.249
10	0.272	1.109	1.051
13	1.051	1.44	1.119
15	1.365	1.605	1.293
17	1.442	1.409	1.273
21	1.523	1.723	1.342

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ จ10 แสดงน้ำหนักแห้งของ *Z.mobilis* TISTR 405 ที่ความเข้มข้นของแหล่งน้ำ
ตาลต่างกัน

ชั่วโมงที่	15 เปอร์เซ็นต์	20 เปอร์เซ็นต์	25 เปอร์เซ็นต์
0	0.245	0.244	0.242
12	0.891	0.737	0.538
15	1.039	0.882	0.65
18	1.091	0.912	0.828
21	1.01	0.893	0.751
24	1.161	0.94	0.793
27	1.015	0.842	0.763
44	1.377	1.25	0.937

ตารางภาคผนวกที่ จ11 แสดงน้ำหนักแห้งของ *Z. mobilis* TISTR 548 ชั่วโมงต่าง ๆ ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างกัน

ชั่วโมงที่	15 เปอร์เซ็นต์	20 เปอร์เซ็นต์	25 เปอร์เซ็นต์
0	0.245	0.239	0.241
12	1.685	1.44	0.862
15	2.027	1.566	1.183
18	2.162	1.557	1.234
21	2.25	1.87	1.531
24	2.197	1.655	1.52
27	2.472	1.697	1.384
44	2.036	2.044	2.075

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ12 แสดงน้ำหนักแห้งของเชื้อผสมที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่างกัน

ชั่วโมงที่	15 เปอร์เซ็นต์	20เปอร์เซ็นต์	25 เปอร์เซ็นต์
0	0.253	0.251	0.246
12	1.042	1.069	0.873
15	1.266	1.407	1.218
18	1.342	1.47	1.341
21	1.617	1.629	1.774
24	1.423	1.453	1.546
27	1.323	1.465	1.535
44	1.213	1.771	2.03

ตารางภาคผนวกที่ ฉ13 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ

ชั่วโมงที่	ซูโครส		กลูโคสต่อฟรุกโทส1:1		กลูโคสต่อฟรุกโทส1:2		กลูโคสต่อฟรุกโทส1:3	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0	0.05	1.6	5.99	1.95	6.02	2.57	6.078	2.89
2	0.269	1.7277	5.5	1.832	5.384	2.361	6.077	2.586
4	0.403	1.9052	5.23	1.759	4.563	2.183	4.807	2.57
6	0.761	1.859	4.078	1.717	3.778	2.052	4.253	2.504
8	0.034	1.064	2.977	1.495	2.988	1.869	2.988	2.28
10	0.034	1.68	2.38	1.438	2.527	1.851	2.769	1.889
12	0.288	1.874	1.451	0.989	1.711	0.774	1.828	0.773
13	0.094	3.672	0.169	0.232	0.069	0.057	0.133	0.091
26		2.07		0.047		0.055		0.065

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ14 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ

ชั่วโมงที่	ซูโครส		กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:1		กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:2		กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:3	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0	0.087	1.7	0.3998	1.949	4.02	2.68	4.2	2.989
2	0.23	1.612	3.246	1.935	3.461	3.204	3.015	2.786
6	0.087	2.153	3.15	1.832	2.557	2.24	2.732	2.34
8	0.313	1.696	0.777	1.106	0.961	1.422	0.884	1.436
10	0.343	1.711	0.171	0.379	0.159	0.287	0.103	0.246
13	0.151	1.607	0.151	0.205	0.129	0.204	0.098	0.157
26		0.385		0.085		0.183		0.045

ตารางภาคผนวกที่ ฉ15 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมที่แหล่งน้ำตาลต่างๆ

ชั่วโมงที่	ซูโครส		กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:1		กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:2		กลูโคสต่อฟรุกโทส 1:3	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0	0.085	1.8	4.02	1.97	4.2	5.58	4.05	2.8
2	0.107	1.806	2.861	1.691	2.8	2.434	3.78	2.774
4	0.148	1.68	2.544	1.46	2.49	2.178	2.948	2.251
6	0.38	1.537	1.719	1.235	2.365	1.721	2.365	1.64
8	0.019	1.495	1.157	1.223	1.442	1.667	1.542	1.528
10	0.081	1.73	0.434	0.59	0.202	0.307	0.293	0.326
12	0.091	1.314	0.058	0.154	0.097	0.18	0.147	0.272
13	0.08	0.01	0.055	0.107	0.038	0.114	0.124	0.077
26		0.005		0.052		0.05		0.062

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ๑16 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่อุณหภูมิต่างๆ

ชั่วโมงที่	25 องศาเซลเซียส		30 องศาเซลเซียส		37 องศาเซลเซียส	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0						
10	9.776	7.371	5.319	7.277	7	7.371
13	6.646	7.319	3.923	6.68	4.823	6.586
15	6.384	7.151	3.815	5.693	3.923	5.073
17	6.23	5.575	3.125	3.487	3.346	4.028
21	4.096	3.218	0.753	0.594	0.553	1.882

ตารางภาคผนวกที่ 17 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่อุณหภูมิต่างๆ

ชั่วโมงที่	25 องศาเซลเซียส		30 องศาเซลเซียส		37 องศาเซลเซียส	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0						
10	2.826	5.57	3.723	5.738	3.83	5.12
13	1.165	5.413	3.646	2.492	2.015	4.638
15	0.884	4.403	0.507	2.393	0.705	1.528
17	0.827	3.277	0.461	1.507	0.192	1.118
21	0.507	1.755	0.079	1.388	0.184	0.245

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ18 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมที่อุณหภูมิต่าง ๆ

ชั่วโมงที่	25 องศาเซลเซียส		30 องศาเซลเซียส		37 องศาเซลเซียส	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0						
10	6.153	8.654	4.173	6.204	6.196	6.146
13	5.552	6.01	3.219	5.57	4.442	5.269
15	4.442	7.672	1.13	3.015	2.677	4.704
17	2.403	4.185	0.242	0.544	1.75	1.701
21	2.215	3.036	0.185	0.073	0.869	1.054

ตารางภาคผนวกที่ ฉ19 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 405 ที่ความเข้มข้นน้ำตาลต่าง ๆ

ชั่วโมงที่	15 เปอร์เซ็นต์		20 เปอร์เซ็นต์		25 เปอร์เซ็นต์	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0	9.673	11.191	15.923	11.439	19.153	12.549
12	7.59	7.214	11.125	10.026	18.46	11.473
15	6.8	6.439	9.26	9.12	18.269	10.602
18	6.313	5.685	8.09	8.68	16.923	10.497
21	5.596	4.986	8.028	6.115	16	10.486
24	5.384	4.712	5.319	5.392	15.846	10.471
44	0.596	0.659	1.129	5.267	4.278	8.494

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ฉ20 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของ *Z. mobilis* TISTR 548 ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆ

ชั่วโมงที่	15 เปอร์เซ็นต์		20 เปอร์เซ็นต์		25 เปอร์เซ็นต์	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0	0.461	9.175	0.975	9.319	0.919	11.698
12	5.105	5.832	5.99	8.094	6.146	9.253
15	3.946	5.015	7.865	8.01	13.892	9.068
18	2.392	3.235	6.83	7.698	14.123	8.638
21	1.073	2.424	5.723	7.56	10.038	8.377
24	0.809	1.994	4.13	7.382	9.353	7.853
44	0.563	1.057	0.348	3.204	2.957	6.282

ตารางภาคผนวกที่ ฉ21 แสดงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและฟรุกโทสที่ลดลงของเชื้อผสมที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆ

ชั่วโมงที่	15 เปอร์เซ็นต์		20 เปอร์เซ็นต์		25 เปอร์เซ็นต์	
	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส	ปริมาณ กลูโคส	ปริมาณ ฟรุกโทส
0	11.653	10.052	11.738	8.691	12.865	10.036
12	8.538	8.502	10.115	7.424	12.846	7.068
15	8.03	7.256	9.73	7.371	10.692	6.806
18	7.282	6.84	7.942	7.13	9.923	6.45
21	4.631	6.392	7.894	6.636	9.538	6.4
24	3.931	4.272	3.028	5.905	7.338	6.086
44	0.413	0.136	0.286	1.984	4.182	4.994

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้