

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกระดาษโดยแบคทีเรียเซลลูโลส

Acetobacter xylinum TISTR 967



นาย สุภันธ์ ฟ้าประทานชัย
นาย ภาคภูมิ สร้อยสน
นาย สุรนาถ อร่ามเรือง

โครงการพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2546

เลขหมู่.....

เลขทะเบียน..... 58542

วัน,เดือน,ปี 25 ม.ค. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



Studied on optimal condition for paper production from bacterial cellulose

Acetobacter xylinum TISTR 967



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

Bachelor of Science

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2003

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงการพิเศษเรื่อง การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกระดาษโดยแบคทีเรีย
เซลล์ูโลส *Acetobacter xylinum* TISTR 967

นักศึกษา นายฐานันตร์ ฟ้าประทานชัย
นาย ภาคภูมิ สร้อยสั้น
นาย สุรนาถ อร่ามเรือง

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ. ดวงใจ โอชัยกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ดร. สุภารัตน์ รักชลธิ

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหาร
ลาดกระบัง อนุมัติให้โครงการพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะกรรมการตรวจสอบ	ลายมือชื่อ
ประธานกรรมการ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง	
กรรมการ ผศ. ดวงใจ โอชัยกุล	
กรรมการ ดร. สุภารัตน์ รักชลธิ	



(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการพิเศษ

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกระดาษโดยแบคทีเรีย
เซลลูโลส *Acetobacter xylinum* TISTR 967

Studied on optimal condition for paper production from bacterial
cellulose *Acetobacter xylinum* TISTR 967

โดย

นาย ฐานันดร ฟ้าประทานชัย รหัสนักศึกษา 43050162

นาย ภาคภูมิ สร้อยสั้น รหัสนักศึกษา 43050184

นาย สุรนารถ อร่ามเรือง รหัสนักศึกษา 43050205

อาจารย์ที่ปรึกษา

ผศ. ดวงใจ โอชัยกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

ดร. สุภารัตน์ รักชลธิ

ภาควิชา

ชีววิทยาประยุกต์

ปีการศึกษา

2546

บทคัดย่อ

วัตถุประสงค์ของโครงการพิเศษนี้คือศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสที่เหมาะสมของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967 ในอาหารสุตรน้ำมะพร้าว และนำเซลลูโลสที่ได้มาผลิตกระดาษ โดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกระดาษ เช่น นำแผ่นเซลลูโลสมาปรับสภาพให้เป็นกลางโดยแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในความเข้มข้นต่างๆ หลังจากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสไปฟอกสีโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นต่างๆและศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ได้เปรียบเทียบกับกระดาษสาและกระดาษใบสับปะรด

จากการทดลองพบว่า *Acetobacter xylinum* TISTR 967 สามารถเจริญในอาหารน้ำมะพร้าวได้ดีและสร้างแผ่นเซลลูโลสได้สูงสุดในวันที่ 6-8 ของการหมัก โดยมีปริมาณของเซลลูโลสที่ผลิตได้ 12.12 กรัมต่ออาหาร 1.5 ลิตร นำแผ่นเซลลูโลสมาปรับสภาพให้เป็นกลางโดยแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ในความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ทำให้กระดาษที่ได้มีค่ามอดูลัสของยังในแนวยาวและค่าความแข็งแรงดึงในแนวยาวเท่ากับ 5068.3 MPa และ 215.28 MPa ตามลำดับ ค่าการยืด ณ จุดขาดมีค่า ร้อยละ 8.23 จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสไปฟอกสีโดยใช้สารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ร้อยละ 1.5 เมื่อนำมาวัดค่าในแนวยาวจะได้ค่า มอดูลัสของยังและค่าความแข็งแรงดึงสูงสุดคือ 6382.23 และ 204.50 ตามลำดับ แต่จะได้ค่าการยืด ณ จุดขาดต่ำสุดคือ 5.91 การศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ได้ เปรียบเทียบกับกระดาษสาและกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไบสัปประคพบว่า กระจกษวุ่นมะพร้าวมีคุณสมบัติเชิงกลสูงกว่าและมีคุณสมบัติในการอมน้ำและซึมน้ำน้อยกว่ากระจกษและกระจกษไบสัปประค คุณสมบัติอีกอย่างที่พบได้คือ กระจกษวุ่นมะพร้าวไม่มีคุณสมบัติในการซึมน้ำมันเลย



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Studied on optimal condition for paper production from bacterial cellulose <i>Acetobacter xylinum</i> TISTR 967	
Name	Mr. Thanan	Fapratanchai
	Mr. Parkpoom	Soisant
	Mr. Suranart	Aramruang
Department	Applied Biology	
Program	Biotechnology	
Academic Year	2003	
Special Project Advisor	Asst. Prof. Duangjai	Ochaikul
	Dr. Suparat	Rukchonlatee

Abstract

The purpose of this project is studied the growth and cellulose production from bacterial cellulose *Acetobacter xylinum* TISTR 967 in coconut culture . In this study the procedures of paper production need neutralising bacterial cellulose . It was being soak in NH_4OH solution which has the concentration at 0.5 percent . After that bleach the bacterial cellulose in H_2O_2 solution , the concentration was at 1.5 percent . Finally , study the paper's mechanical property and compared with the pulp paper and the paper made from pineapple leaves

The study found that *Acetobacter xylinum* TISTR 967 could grow well in coconut culture. It provided the most bacterial cellulose after 6-8 day of fermentation . 1.5 litres of coconut culture provided bacterial cellulose 12.12 grams . The result of neutralising bacterial cellulose in NH_4OH concentration solution at 0.5 percent showed that the value of Young's modulus of the paper in the longitude and the value of Tensile Strength were 5068.3 Mpa and 215.28 Mpa , respectively . The value of stretching to the rip was 8.23. Percent H_2O_2 concentrative solution at 1.5 percent , the value of Young's modulus in the longitude and the highest value of stretching are 6382.23 and 204.50 , respectively . However , the value of the lowest stretching to the rip is 5.91. The study of the mechanical property of the paper when compared with the pulp paper and the paper made from pineapple leaves found that paper made

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

from bacterial cellulose had the machanical property more than them . Moreover , it had the property of absorbant and adsorbant less then the pulp paper and the paper made from pineapple leaves . Another property found in the paper made from bacterial cellulose , it was not absorb oil



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล เป็นอย่างยิ่ง ที่ได้ให้โอกาส คำแนะนำ แนวทางในการค้นคว้าวิจัย การทำวิจัย การเขียนโครงการพิเศษฉบับนี้ รวมทั้งการตรวจทานแก้ไข โครงการพิเศษนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์และการให้คำแนะนำปรึกษาทุกอย่าง ไม่ว่าจะเป็นเรื่องใดก็ตามตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ดร.สุภารัตน์ รักชลธิ อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมเป็นอย่างสูง ที่ได้ให้คำแนะนำ และคำปรึกษาในทุกๆเรื่องสำหรับการวิจัย อีกทั้งยังเอื้อเฟื้อให้ความช่วยเหลือเรื่องเครื่องมือต่างๆขึ้น จากภาควิชาเคมี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. นवलพรรณ ณ ระนอง ประธานคณะกรรมการสอบ โครงการพิเศษที่ได้ช่วยตรวจทานแก้ไขในการทำโครงการพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณอาจารย์คณะกรรมการทุกท่าน สำหรับการสอบวิชาโครงการพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ด้วยความเคารพรักยิ่ง สำหรับโอกาส ความรัก คำแนะนำ และกำลังใจในการศึกษาและการทำโครงการพิเศษ สิ่งที่ท่านมอบให้มากเกินจะเขียนได้ สุดท้ายขอขอบคุณอาจารย์ นักวิทย์ฯ และเพื่อนทุกท่านที่มีได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ ที่ให้ คำปรึกษา การสนับสนุน ช่วยเหลือ รวมทั้งเป็นกำลังใจในการทำการศึกษาวิจัยมาโดยตลอด รวมถึงมีส่วนช่วยให้โครงการพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ฐานันดร ฟ้าประทานชัย
ภาคภูมิ สร้อยสั้น
สุรนารถ อร่ามเรือง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ญ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 การตรวจเอกสาร	2
2.1 แบคทีเรียลเซลลูโลสและแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส	2
2.2 กระบวนการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสโดยเชื้อ <i>A. xylinum</i>	5
2.2.1 กระบวนการหมักในสถานะนิ่ง	5
2.2.2 กระบวนการหมักในสถานะเขย่าหรือในถังหมัก	7
2.3 การสังเคราะห์และสะสมแบคทีเรียลเซลลูโลส โดยเชื้อ <i>A. xylinum</i>	8
2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์เซลลูโลสโดยแบคทีเรีย	14
2.4.1 แหล่งคาร์บอน (C-source)	14
2.4.2 แหล่งไนโตรเจนและสารอาหารอื่นๆ	16
2.4.3 อุณหภูมิ	17
2.4.4 อัตราการให้อากาศ	17
2.4.5 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ	18
2.5 การประยุกต์ใช้แบคทีเรียลเซลลูโลส	19
2.6 การทดลองและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	22
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	23
3.1 วัสดุอุปกรณ์	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.2 วิธีการทดลอง	24
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	27
4.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของ <i>A. xylinum</i> TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว	27
4.2 ศึกษาการนำแผ่นเซลลูโลสมาผลิตกระดาษ	28
4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกระดาษ	29
4.4 เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษที่ได้กับกระดาษอื่นๆ	35
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	40
เอกสารอ้างอิง	42
ภาคผนวก	
ภาคผนวก ก. สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ <i>A. xylinum</i> TISTR 967	49
ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์คุณภาพของกระดาษ	50
ภาคผนวก ค. ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ	53

สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 1 ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสของเชื้อ <i>A. xylinum</i>	15
ตารางที่ 2 สมบัติเชิงกลของแผ่นเยื่อผสมระหว่างเยื่อแบคทีเรียลเซลลูโลสกับเยื่อฝ้าย	21
ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงความหนาและน้ำหนักแห้งของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ <i>A. xylinum</i> TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน	27
ตารางที่ 4 สมบัติเชิงกลของแผ่นกระดาษวุ้นมะพร้าว	29
ตารางที่ 5 ค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึง และค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นกระดาษวุ้นมะพร้าวเมื่อใช้ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างๆกัน	30
ตารางที่ 6 ค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึง และค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นกระดาษวุ้นมะพร้าวเมื่อใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆกัน	33
ตารางที่ 7 แสดงการเปรียบเทียบคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษวุ้นมะพร้าวกระดาษสา และกระดาษจากใบสับปะรด	35
ตารางที่ 8 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการอนน้ำของกระดาษวุ้นมะพร้าวกระดาษสา และกระดาษใบสับปะรด	37
ตารางที่ 9 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษวุ้นมะพร้าวกระดาษสา และกระดาษใบสับปะรด	38
ตารางที่ 10 แสดงการเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษวุ้นมะพร้าวกระดาษสา และกระดาษใบสับปะรด	39
ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ความแตกต่างของความหนาของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> TISTR 967 เมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะนิ่ง โดยระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อต่างกัน	53
ตารางภาคผนวกที่ ค-2 ความแตกต่างของผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> TISTR 967 เมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะนิ่ง โดยระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อต่างกัน	53

สารบัญตาราง (ต่อ)

	หน้า
ตารางภาคผนวกที่ ค-3 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างกัน	54
ตารางภาคผนวกที่ ค-4 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างกัน	54
ตารางภาคผนวกที่ ค-5 ความแตกต่างของการยืด ณ จุดขาดวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างกัน	55
ตารางภาคผนวกที่ ค-6 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างกัน	55
ตารางภาคผนวกที่ ค-7 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างกัน	56
ตารางภาคผนวกที่ ค-8 ความแตกต่างของการยืด ณ จุดขาดวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างกัน	56
ตารางภาคผนวกที่ ค-9 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน	57
ตารางภาคผนวกที่ ค-10 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน	57
ตารางภาคผนวกที่ ค-11 ความแตกต่างของการยืด ณ จุดขาดวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน	58
ตารางภาคผนวกที่ ค-12 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน	58
ตารางภาคผนวกที่ ค-13 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน	59
ตารางภาคผนวกที่ ค-14 ความแตกต่างของการยืด ณ จุดขาดวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน	59

สารบัญรูป

	หน้า
รูปที่ 1 สูตร โครงสร้างของแบคทีเรียลเซลลูโลส	2
รูปที่ 2 ขนาดของเส้นใยแบคทีเรียลเซลลูโลสเปรียบเทียบกับเส้นใยจากแหล่งอื่นๆ	3
รูปที่ 3 แสดงลักษณะของเซลลูโลสบนผิวหน้าอาหารในสภาวะการเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวโดยเชื้อ <i>A.xylinum</i>	7
รูปที่ 4 แสดงลักษณะของเซลลูโลสในอาหารในสภาวะการเพาะเลี้ยงแบบในอาหารเหลวโดยเชื้อ <i>A. xylinum</i>	8
รูปที่ 5 วิธีการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสของเชื้อ <i>A. xylinum</i>	10
รูปที่ 6 โครงสร้างของ bis-(3' – 5') cyclic diguanylic acid (c-di-GMP)	10
รูปที่ 7 โมเดลของการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสของเชื้อ <i>A. xylinum</i>	11
รูปที่ 8 โครงสร้างของยีนควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูโลสซินเดส	11
รูปที่ 9 การสังเคราะห์อะซิเตนโดยเชื้อ <i>A. xylinum</i>	13
รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงความหนาและน้ำหนักแห้งของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ <i>A. xylinum</i> TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวโดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน	28
รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อค่ามอดูลัสของยังของกระดาษวุ้นมะพร้าว	30
รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษวุ้นมะพร้าว	31
รูปที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่มีผลต่อค่าการยืด ณ จุดขาดของกระดาษวุ้นมะพร้าว	31
รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีผลต่อค่ามอดูลัสของยังของกระดาษวุ้นมะพร้าว	33
รูปที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษวุ้นมะพร้าว	34
รูปที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีผลต่อค่าการยืด ณ จุดขาดของกระดาษวุ้นมะพร้าว	34

สารบัญรูป (ต่อ)

	หน้า
รูปที่ 17 แสดงการเปรียบเทียบคำมอคลีสของย้ง ของกระดาศวุ้นมะพร้าว กับกระดาศสา และกระดาศใบสับประรด	36
รูปที่ 18 แสดงการเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงดึงของกระดาศวุ้นมะพร้าว กับกระดาศสา และกระดาศใบสับประรด	36
รูปที่ 19 แสดงการเปรียบเทียบค่าการยืด ณ จุดขาด ของกระดาศวุ้นมะพร้าว กับกระดาศสา และกระดาศใบสับประรด	37



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงการพิเศษ

วุ้นมะพร้าว หรือ เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial cellulose) หรือเรียกย่อว่า BC เกิดจากการเจริญของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* สายเซลลูโลสที่สร้างออกมาจะอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อและประสานกับสายเซลลูโลสอื่นๆ ด้วยพันธะไฮโดรเจน และจะได้เส้นใยขนาดเล็กเรียกว่า ไฟบริล (fibril) ไฟบริลเหล่านี้มีคุณภาพเหนือกว่าไฟบริลของพืช เนื่องจากโมเลกุลของเซลลูโลสเรียงตัวขนานกันอย่างเป็นระเบียบ (crystalline structures) ซึ่งทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีสมบัติทางกายภาพมีค่าสูง นอกจากการนำวุ้นมะพร้าวไปใช้ในการบริโภคแล้ว โครงการพิเศษนี้จึงได้สนใจใช้ประโยชน์จากวุ้นมะพร้าวไปในแนวทางอื่น โดยการนำวุ้นมะพร้าวมาแปรรูปใช้ในการผลิตกระดาษเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวุ้นมะพร้าว และการผลิตวุ้นมะพร้าวยังใช้วัตถุดิบที่ราคาถูกคือน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นของเหลือทิ้ง และเป็นสาเหตุในการทำให้น้ำเน่าเสีย กลับมาใช้ประโยชน์ได้อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

- 1.ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกระดาษจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967
- 2.ผลิตกระดาษจากวุ้นมะพร้าวและทำการทดสอบสมบัติต่างๆที่สำคัญเปรียบเทียบกับกระดาษอื่นๆ

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นของเหลือทิ้งมาใช้ประโยชน์โดยนำมาผลิตกระดาษ ซึ่งจัดว่าเป็นการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่ที่เกิดจากการนำเอาเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาผลิตนอกเหนือจากใช้วุ้นมะพร้าวในอุตสาหกรรมอาหารเพื่อเพิ่มมูลค่าของสินค้า ทั้งยังเป็นการลดปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่ง

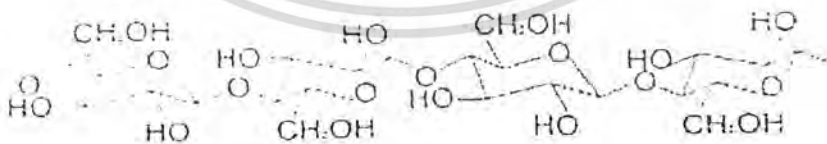
บทที่ 2

บทตรวจเอกสาร

2.1 แบคทีเรียลเซลลูโลสและแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส

2.1.1 แบคทีเรียลเซลลูโลส (bacterial cellulose)

แบคทีเรียลเซลลูโลสเป็นคาร์โบไฮเดรตชนิดโฮโมโพลิเมอร์แซคคาไรด์เชิงเส้น ประกอบด้วยหน่วยย่อยของกลูโคส (β -D-glucopyranose) สูตรโครงสร้างดังรูปที่ 1 มีค่า Degree of freedom (DP) อยู่ในช่วงประมาณ 2,000-12,700 เชื่อมต่อกันด้วยสายยาวของพันธะ β -1,4 glycosidic จากการศึกษโดยใช้การหักเหรังสีเอกซ์ (X - ray diffraction) โมเลกุลของเซลลูโลสอยู่ในลักษณะที่เป็นเส้นยาวเรียงขนานกัน แต่ละเส้นจะเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจน รวมกันอยู่เป็นมัดมีลักษณะเป็นเส้นใยเล็กๆ เรียกว่าไฟบริล (fibril) (Haigler, 1985) แบคทีเรียลเซลลูโลสจะไม่ละลายในสารละลายต่างและกรดที่อุณหภูมิห้องแต่ละลายในสารละลายกรดที่มีความเข้มข้นสูงที่อุณหภูมิ 120-130 องศาเซลเซียส โดยทั่วไปจะพบเซลลูโลสลักษณะเป็นกลุ่มเรียงตัวขนานและเชื่อมกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างคาร์บอนตำแหน่งที่ 3 ของโมเลกุลหนึ่งกับออกซิเจนอะตอมที่อยู่ในวงแหวนของโมเลกุลอื่นอย่างมีระเบียบในลักษณะที่เรียกว่าผลึกไมเซล (crystalline micelle) แต่ละไมเซลประกอบด้วยโมเลกุลของเซลลูโลสประมาณ 100 โมเลกุลและมีรูปร่างลักษณะเป็นพาราเจล (paragel) หมุนไปทางซ้าย ซึ่งจะเกิดการเรียงตัวของไมเซลประมาณ 10-20 ไมเซล หรือมีวนทบกันเป็นเกลียวรอบแกนของเส้นใย โดยมีพันธะไฮโดรเจน 2 ตำแหน่งในแต่ละเส้นสายของเซลลูโลส คือพันธะระหว่างออกซิเจนตำแหน่งที่ 6 ของน้ำตาลกลูโคสกับไฮดรอกซีตำแหน่งที่ 2 ของน้ำตาลโมเลกุลใกล้เคียงกันและระหว่างไฮดรอกซีตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนในวงแหวนอื่น

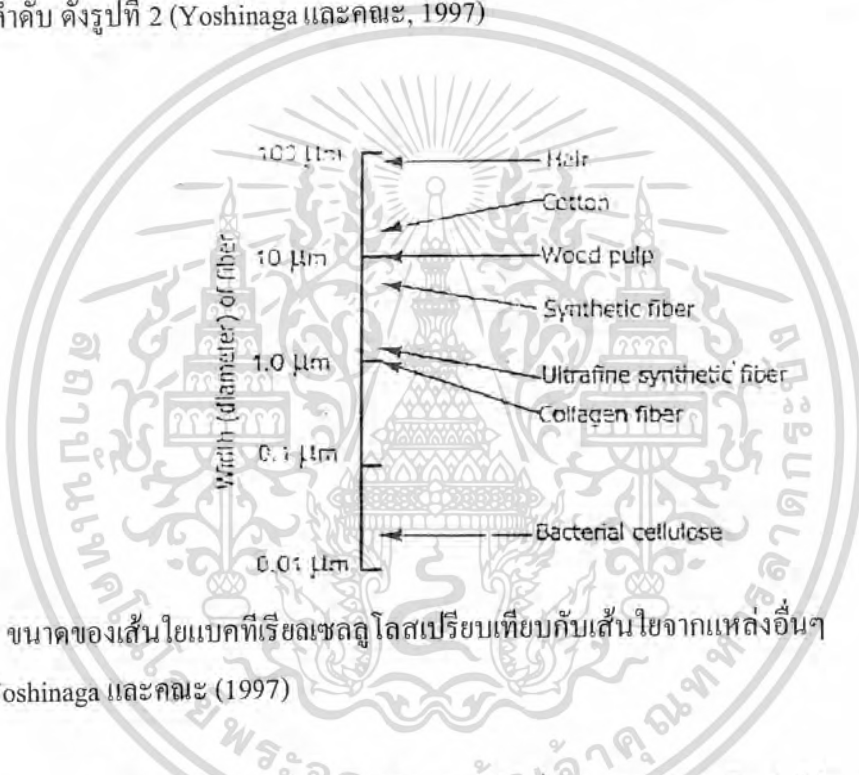


รูปที่ 1 สูตรโครงสร้างของแบคทีเรียลเซลลูโลส

ที่มา : Kennedy (1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงสร้างของเซลลูโลสมี 2 รูป คือ รูปแบบอัลฟา (cellulose I α) และในรูปแบบเบต้า (cellulose I β) แบบที่เรียลเซลลูโลสมีรูปแบบอัลฟาเป็นองค์ประกอบหลักประมาณร้อยละ 60 ซึ่งแตกต่างจากโครงสร้างพืชชั้นสูงที่โครงสร้างเบต้าเป็นองค์ประกอบหลัก ซึ่งโครงสร้างจะแข็งแรงกว่าแบบอัลฟา โครงสร้างทั้งสองแบบนี้จะพันกันเป็นเกลียว (ribbon) รวมตัวกันเป็นสายไมโครไฟบริลที่มีขนาดแตกต่างกัน (Cousins and Brown, 1995) ขนาดของเส้นใยไมโครไฟบริลของแบบที่เรียลเซลลูโลสมีขนาดเล็ก ความกว้าง 100 นาโนเมตรและหนา 3-8 นาโนเมตร มีขนาดเล็กกว่าเส้นใยของพืชชั้นสูงและเส้นใยสังเคราะห์ (synthetic fiber) ประมาณ 10-1,000 เท่า และ 100 เท่าตามลำดับ ดังรูปที่ 2 (Yoshinaga และคณะ, 1997)



รูปที่ 2 ขนาดของเส้นใยแบบที่เรียลเซลลูโลสเปรียบเทียบกับเส้นใยจากแหล่งอื่นๆ
ที่มา : Yoshinaga และคณะ (1997)

Yoshinaga และคณะ (1997) รายงานว่าแบบที่เรียลที่สังเคราะห์เซลลูโลสได้ค่า DP สูงกว่าพืชชั้นสูงสังเคราะห์เซลลูโลส เส้นใยจึงมีขนาดเล็กและละเอียดทำให้โครงสร้างมีความแข็งแรง นอกจากนี้ยังมีความบริสุทธิ์มากกว่าเซลลูโลสที่ได้จากพืชชั้นสูง เนื่องจากในพืชชั้นสูงจะมีสารลิกนินหรือเฮมิเซลลูโลส (วารวุฒิ และคณะ, 2533) เป็นองค์ประกอบของเนื้อเยื่อพืชด้วย เส้นใยของแบบที่เรียลเซลลูโลสมีค่ามอดุลัสของยัง (Young's modulus) สูงกว่าเส้นใยสังเคราะห์ประมาณร้อยละ 30 ถึง 40 (วารวุฒิ และคณะ, 2535)

สภาวะการหมักแบบที่เรียลมีผลต่อโครงสร้างของแบบที่เรียลเซลลูโลสที่สังเคราะห์ขึ้น การหมักบนเครื่องเขย่าและมีการกวน แบบที่เรียลเซลลูโลสที่ได้จะมีลักษณะเป็นเม็ด (cellulous granule) หรือเส้นใยขนาดสั้นๆ (fibrous) (Rose และคณะ, 1991) สำหรับการหมักแบบนิ่ง (static culture)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ได้จะเป็นแผ่น (pelicle) นอกจากนี้ยังพบว่าการหมักในระบบที่มีการกวนในถังหมักโครงสร้างของแบคทีเรียเซลลูโลสที่ได้มีการจัดเรียงตัวอย่างไม่เป็นระเบียบ โดยพบโครงสร้างแบบอัลฟาน้อยกว่าแบคทีเรียเซลลูโลสที่ได้จากการหมักแบบนิ่ง (Kojima และคณะ, 1997) ปัจจัยอื่นๆที่มีผลต่อโครงสร้างของแบคทีเรียเซลลูโลส อาทิเช่น การให้อากาศ ชนิดของสารอาหาร ตลอดจนสายพันธุ์ของแบคทีเรีย (Toyosaki และคณะ, 1995)

โดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบทางเคมีของแบคทีเรียเซลลูโลสประกอบด้วย ไกมัน น้ำ สารเยื่อใย โปรตีน เถ้า และคาร์โบไฮเดรต อยู่ร้อยละ 0.06 94.6 1.15 0.84 0.1 และ 3.2 ตามลำดับ (Guzman และคณะ, 1982) นอกจากนี้ยังพบแร่ธาตุต่างๆ ประกอบด้วยแคลเซียม ฟอสฟอรัส และไนอาซีน ปริมาตร้อยละ 0.052 0.520 และ 0.022 ตามลำดับ (สมกิต, 2530) ความสามารถในการละลาย แบคทีเรียเซลลูโลสจะละลายในกรดซัลฟูริกและไฮโดรคลอริกเข้มข้น โดยกรดจะไปย่อยพันธะไฮโดรเจนของแบคทีเรียเซลลูโลส แต่จะไม่ละลายในน้ำเดือด ในสารละลายต่าง แอลกอฮอล์ และอะซิโตน

2.1.2 แบคทีเรียที่ผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส

Kang และ Correl (1979) พบว่าโพลีแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยแบคทีเรียแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ โฮโมโพลีแซคคาไรด์และเฮเทอโรโพลีแซคคาไรด์ สายพันธุ์แบคทีเรียชนิดต่างๆที่สามารถผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ เช่น *Corynebacterium* sp., *Arthobacter vicousus* NRRL B-1797 , *Alcaligenes faecalis* var. *myxogenes* 10C3 , *Pseudomonas solanacearum* , *Erwinia stewartii* coli , *Erwinia amylovora* , *Acinetobacter vinelandii* strain D-0.5 , *Acinetobacter* sp. Strain 12 , *Leuconostoc mesenteroides* , *L. dextranicum* , *Xanthomons campetris* และสายพันธุ์ *Acetobacter* sp.

เชื้อแบคทีเรียที่ได้รับความสนใจในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสในระดับอุตสาหกรรม ได้แก่เชื้อ *Acetobacter* sp. เป็นแบคทีเรียแกรมลบ หรือ Gram variable จัดอยู่ในแฟมิลี Acetobacteraceae สายพันธุ์ที่สำคัญและใช้ในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสกันอย่างกว้างขวางคือ *A. xylinum* , *A. pasteurianus* , *A. hansenii* , *A. sucrofermantans* และ *A. acetigenum*x สำหรับ *Actobacter aceti* subsp. *xylinum* เซลล์มีลักษณะรูปร่างรีจนถึงเป็นท่อน อาจเป็นท่อนตรงหรือโค้ง เซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสาย ขนาดเซลล์กว้างประมาณ 0.6-0.8 ไมครอน ยาวประมาณ 1.0-4.0 ไมครอน และอาจพบในลักษณะกลม ยืดยาว (elongation) บวม (swollen) รูปกระบอก (clop shape) หรือเป็นเส้นสาย (filamentous) เคลื่อนที่ได้โดยใช้แฟลกเจลลารอบเซลล์หรือแฟลกเจลลาที่ขั้วเซลล์ หรือไม่เคลื่อนที่ ไม่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) โคโลนีของเชื้อ *Acetobacter* sp. มีสีชมพูเนื่องจากการสังเคราะห์สารพอร์ไฟริน (porpyrin) ต้องการอากาศ (aerobic) มีเมแทบอลิซึม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการหายใจด้วยออกซิเจน โดยออกซิเจนเป็นตัวรับอิเล็กตรอนตัวสุดท้าย (terminal electron acceptor) ในกระบวนการเปลี่ยนสารอาหารให้เป็นพลังงาน (Gossele และ Swings, 1985) เป็นพวกเคโมออร์กาโนโทรฟิก (chemoorganotrophic) สร้างเอนไซม์คะตะเลส (catalase positive) สภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต คือที่พีเอช 3.3 – 5.4 และอุณหภูมิประมาณ 25 – 30 องศาเซลเซียส (Kring และ Holt, 1984) ไม่สร้างก๊าซไฮโดรเจนซัลไฟด์ (H_2S) สามารถออกซิไดซ์เอทานอลเป็นกรดอะซิติกและออกซิไดซ์กรดอินทรีย์ประเภทอะซิเตทและแลคเตทเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการเจริญเป็นสารประเภทเอทานอล กลีเซอรอล แลคเตท กลูโคส ซูโครส ฟรุคโตส แลคโตส และอะราบิโนส (Holt และคณะ, 1994) สามารถสร้างกรดจากเอทานอล และยังสามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีเอทานอลและโพรพานอล อุณหภูมิที่สามารถยังยั้งเชื้อได้คือ 65 – 70 องศาเซลเซียส

2.2 กระบวนการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum*

ลักษณะการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* เป็นแบบ Growth associated (Ishikawa และคณะ, 1995) มีลักษณะสำคัญคือการเจริญเติบโตและการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสเกิดพร้อมกัน โดยในระหว่างช่วงการเจริญเติบโต (trophophase) แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นจำนวนมากและมีการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสออกมาน้อย แต่ในช่วงผลิตผลิตภัณฑ์คือแบคทีเรียเซลลูโลส (idiophase) จะมีการเจริญของเซลล์เพียงเล็กน้อยแต่มีการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสสูงสุด สำหรับกระบวนการต่างๆในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสแบ่งออกได้ดังนี้

2.2.1 กระบวนการหมักในสถานะนิ่ง

การหมักวิธีนี้โดยทั่วไปใช้น้ำมะพร้าว ซึ่งเป็นวัตถุดิบเหลือใช้จากโรงงานอาหารและภาชนะที่ใช้หมักเป็นถาดอลูมิเนียมหรือพลาสติกผิวเรียบ อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนโดยใช้น้ำตาลซูโครสให้มีความเข้มข้นร้อยละ 5–10 และพีเอชเริ่มต้นปรับด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นให้อยู่ในช่วงพีเอช 4.0–5.0 ธาตุอื่นๆที่เติม เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) (วราวุฒิและคณะ, 2535) หรือไดแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$) (Lapus และคณะ, 1967) สำหรับเป็นแหล่งไนโตรเจน การฆ่าเชื้อใช้วิธีการต้มให้เดือด เมื่ออาหารเย็นลงเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในถาดอลูมิเนียมหรือพลาสติกผิวเรียบ ให้มีระดับความลึก 10 – 15 เซนติเมตร คลุมภาชนะด้วยผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อแล้ว ห้องบ่มรวมควนฆ่าเชื้อด้วยก๊าซโซเดียมไนไตรต์ก่อนการหมัก 2 – 3 วัน ห้องมีการระบายอากาศ จากนั้นใส่กล้าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 10 – 40 (วราวุฒิ และคณะ, 2536) หลังจากการหมักเป็นเวลา 7 – 14 วัน แบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะผลิตแบคทีเรียแลคโตสบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีลักษณะสีขาวครีมมีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและแน่น และที่สำคัญ คือมีปริมาณแบคทีเรียแลคโตสสูง ซึ่งมีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น วุ้นสวรรค์ วุ้นมะพร้าว และเห็ดรัสเซีย

การหมักวิธีนี้อัตราการผลิตแบคทีเรียแลคโตสในช่วง 10 วันแรกของการหมักจะมีอัตราการผลิตสูง ดังนั้นในการควบคุมการหมักจำเป็นต้องคำนึงถึงแหล่งอาหารให้มีทั้งชนิด และปริมาณที่เหมาะสมสำหรับสายพันธุ์ที่ได้ผ่านการคัดเลือกมาแล้ว หลังจาก 10 วันแรกของการหมัก พบว่าอัตราการผลิตแบคทีเรียแลคโตสต่ำลง เนื่องจากธาตุอาหารเหลือน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อแบคทีเรียที่ผลิตแบคทีเรียแลคโตสบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนาแน่นมากขึ้น ทำให้อากาศซึมผ่านลงไปได้ยากขึ้น จึงมีผลต่ออัตราการเจริญและการผลิตแบคทีเรียแลคโตส ในระหว่างการหมักควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 28 - 35 องศาเซลเซียส และปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 3.5 - 4.0 โดยการเติมกรดอะซิติก

นอกจากน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด ยังสามารถผลิตแบคทีเรียแลคโตสได้จากหางนมหรือเวย์ (whey) (วาราวุฒิ และคณะ, 2536) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ได้ส่วนใหญ่จากการผลิตเนยแข็งหรือการแยกเคซีน (casein) ซึ่งหางนมมีส่วนประกอบโดยประมาณดังนี้ น้ำตาลแลคโทสร้อยละ 4.8 โปรตีน 0.85 ไขมัน 0.35 แร่ธาตุ 0.60 และน้ำ 93.40 (Delhi, 1980) หางนมสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตแบคทีเรียแลคโตสโดยเชื้อ *A. xylinum* แบบอยู่กับที่ในถาด อัตราการผลิตแบคทีเรียแลคโตสขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลผลิตแบคทีเรียแลคโตสมีความสัมพันธ์กับการใช้สารอาหาร การผลิตแบคทีเรียแลคโตสจะมีอัตราลดลงเมื่อสารอาหารมีความเข้มข้นสูง เนื่องจากมีการผลิตกรดกลูโคนิกจากน้ำตาลกลูโคสบางส่วน และเกิด catabolite repression มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในน้ำหมักมีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียแลคโตสลดลง (Tabara และคณะ, 1997)



รูปที่ 3 ลักษณะของเซลล์ulosบนผิวหน้าอาหารในสภาวะการเพาะเลี้ยงบนอาหารเหลวโดยเชื้อ *A. xylinum*

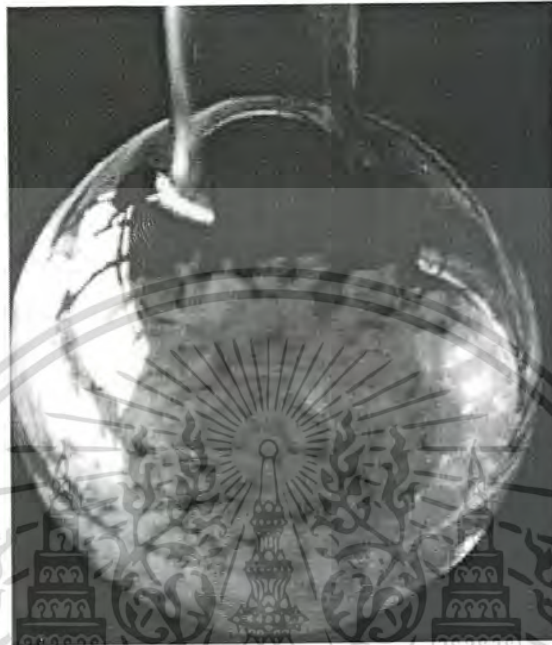
ที่มา : Tahara และคณะ (1997)

2.2.2 กระบวนการหมักในสภาวะเขย่าหรือในถังหมัก

Toyosaki และคณะ (1995) ได้รายงานผลการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส โดยใช้เชื้อ *A. xylinum* BPR 2001 ในถังหมัก และใช้อาหารเหลว CSL – fructose medium พบว่าการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสมีประสิทธิภาพสูง องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยน้ำแซ่ข้าวโพด (CSL) และน้ำตาลฟรุคโตส อาหารเลี้ยงเชื้อฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นลงจะใส่กล้าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 5 – 10 ให้เชื้อเจริญในสภาพที่มีอัตราการกวน และให้อากาศ ควบคุมค่าพีเอชในระหว่างหมักให้คงที่ประมาณ 5.0 ด้วยกรดซัลฟูริก และก๊าซแอมโมเนีย ควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 28 – 32 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 1,000 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ระยะเวลาในการหมัก 3 – 5 วัน ซึ่งแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ได้จากกระบวนการหมักจะมีลักษณะเป็นเม็ด การหมักในอาหารเหลวมีหลายรูปแบบ อาทิ เช่น การหมักแบบกะ (batch culture) (Toyosaki และคณะ, 1995) ทั้งการหมักในถังหมักเดี่ยวและหลายถังหมัก (single และ multi – stage) แบบกึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กะ (fed batch culture) (Yang และคณะ, 1998) และแบบต่อเนื่อง (continuous culture) โดยทั่วไป การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสก็ยังใช้กรรมวิธีการหมักแบบกะ เนื่องจากประสิทธิภาพสูง



รูปที่ 4 ลักษณะของเซลลูโลสในอาหาร ในสถานะการเพาะเลี้ยงแบบในอาหารเหลวโดยเชื้อ *A. xylinum*

ที่มา : Tahara และคณะ (1997)

การหมักแบบกะในอาหารเหลวมีข้อดีคือ ใช้วัตถุดิบที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบได้ทุกชนิด ผลผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสสูงกว่าการหมักบนอาหารเหลวร้อยละ 40 ปรับปรุงวิธี และควบคุมกระบวนการหมักได้ง่าย ใช้พื้นที่และแรงงานคนน้อย และสามารถควบคุมสภาพปลอดเชื้อได้ง่าย

2.3 การสังเคราะห์และสะสมแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum*

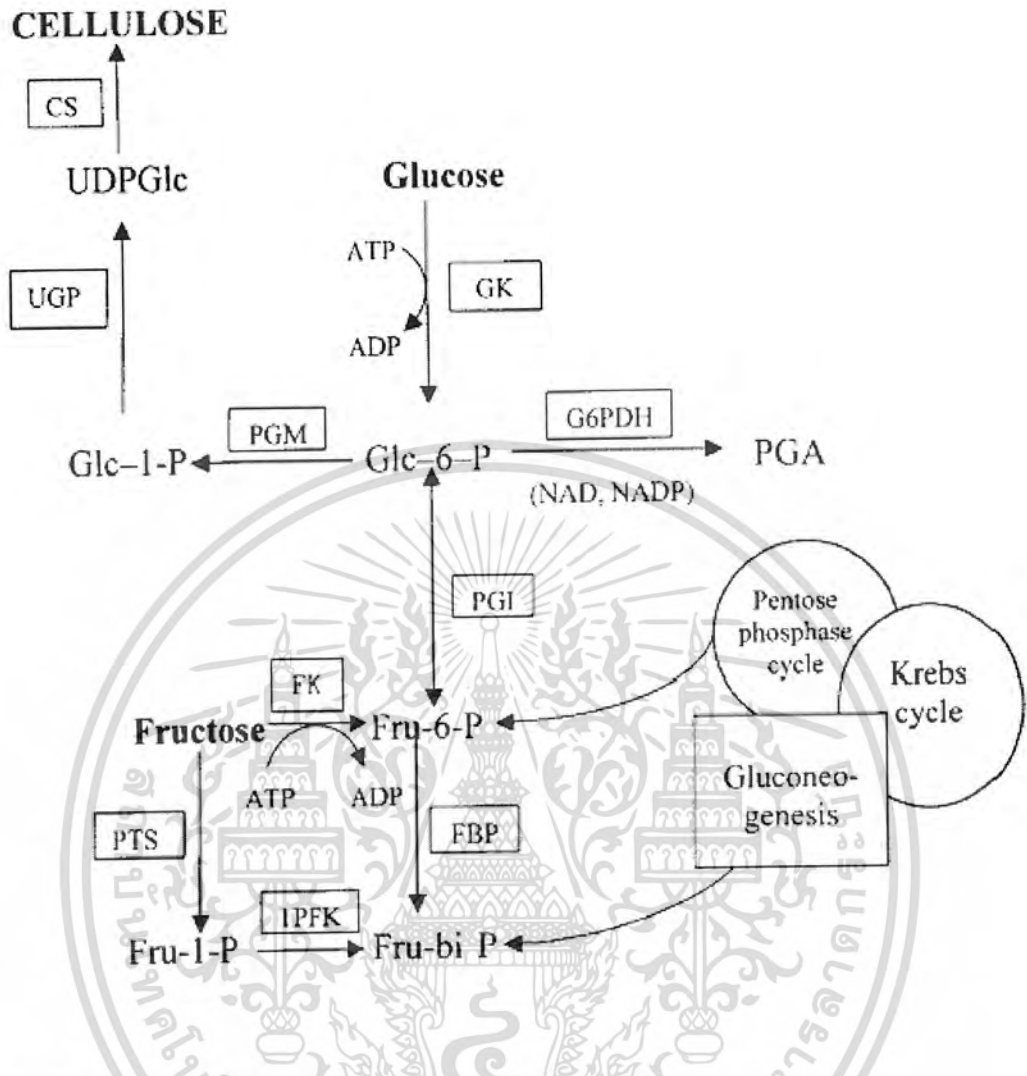
แบคทีเรียเซลลูโลสจัดเป็น primary metabolic product กลไกการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* มีความคล้ายคลึงกับเซลลูโลสของพืชชั้นสูง ในระหว่างการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส แบคทีเรียต้องการอากาศและแหล่งคาร์บอนเพื่อประสานโครงสร้างของแบคทีเรียเซลลูโลสในปฏิกิริยาโพลิเมอไรเซชัน (polymerization) มี UDP - glucose (Uridine diphosphoglucose) เป็นสารตั้งต้น (precursor substance) (Benziman และ Mazover, 1973) ดังสมการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



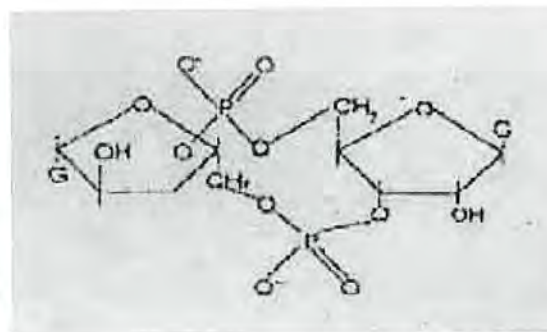
วิธีการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสของเชื้อแบคทีเรีย ดังแสดงในรูปที่ 5 (Yoshinaga และคณะ, 1997) การสังเคราะห์เริ่มจากน้ำตาลกลูโคสจะถูกนำเข้าสู่เซลล์ในรูป Glucose-6-phosphate โดยเอนไซม์กลูโคไคเนสในกระบวนการฟอสโฟริเลชัน แล้ว Glucose-6-phosphate ถูกไอโซเมอไรซ์เป็น Glucose-1-phosphate โดยเอนไซม์ฟอสโฟกลูโคมิวเตส Glucose-1-phosphate ถูกเปลี่ยนเป็น Uridine-5-diphosphate glucose (UDPG) โดยเอนไซม์ UDPG pyrophosphorylase ในขั้นสุดท้าย UDP-glucose ถูกสังเคราะห์เป็นแบคทีเรียลเซลลูโลสโดยเอนไซม์เซลลูโลส ซินเทส (cellulose synthase) มี cyclic diguanylic acid (c-di-GMP) เป็นตัวกระตุ้น (activator) ดังรูปที่ 6 เอนไซม์เซลลูโลสซินเทส หรือ 1,4-β-D-glucan 4-β-D-glucosyltransferase ; EC 2.4.1.12 เป็นเอนไซม์ที่มีบทบาทสำคัญในการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลส โดยกระบวนการโพลิเมไรเซชันสำหรับเอนไซม์เซลลูโลสซินเทสที่สังเคราะห์โดยเชื้อ *A. xylinum* มีลักษณะเป็น membrane bound มีความจำเพาะต่อ UDP-glucose ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์ β-glucan chain และ UDP (Uridine diphosphate) โดยมี c-di-GMP เป็นตัวกระตุ้นในการทำงานของเอนไซม์ซึ่งสังเคราะห์จาก GTP (guanosine triphosphate) โดยมีเอนไซม์ diguanylate cyclase เป็นตัวเร่งหรือสังเคราะห์โดยการย่อยสลาย GTP (guanosine triphosphate) โดยมีเอนไซม์ phosphodiesterase A และ B เป็นตัวเร่ง (Ross และคณะ, 1991) ดังรูปที่ 7 โอเปอรอนที่ควบคุมการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูโลสซินเทส ประกอบด้วยยีน *bcs* (bacterial cellulose synthase) 4 ชนิดคือ *bcsA* *bcsB* *bcsC* และ *bcsD* (Mayer และคณะ, 1991 ; Toyosaki และคณะ, 1995) มีมวลโมเลกุล 84 85 141 และ 17 กิโลดาลตันตามลำดับ และเรียงตัวกัน ดังแสดงในรูปที่ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 5 วิธีการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum*

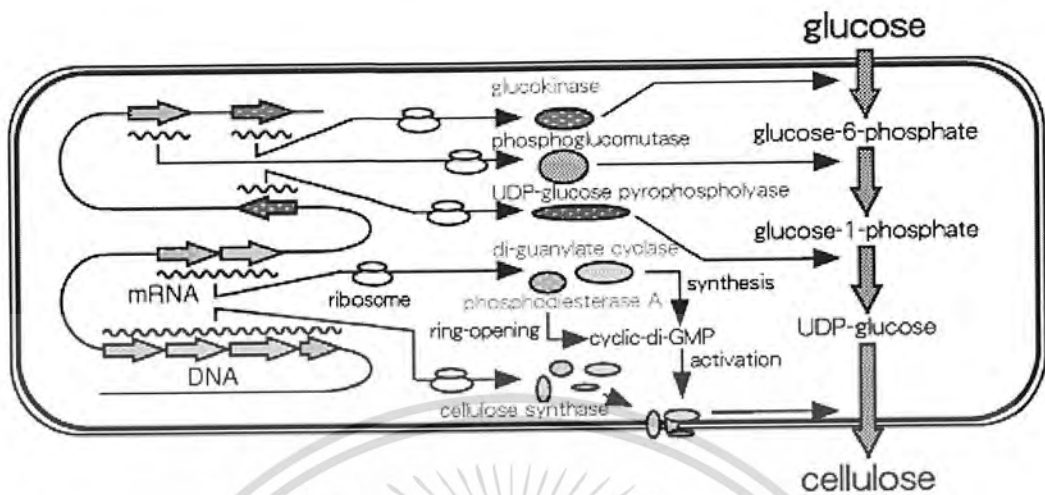
ที่มา : Yoshinaga และคณะ (1997)



รูปที่ 6 โครงสร้างของ bis-(3'-5') cyclic diguanylic acid (c-di-GMP)

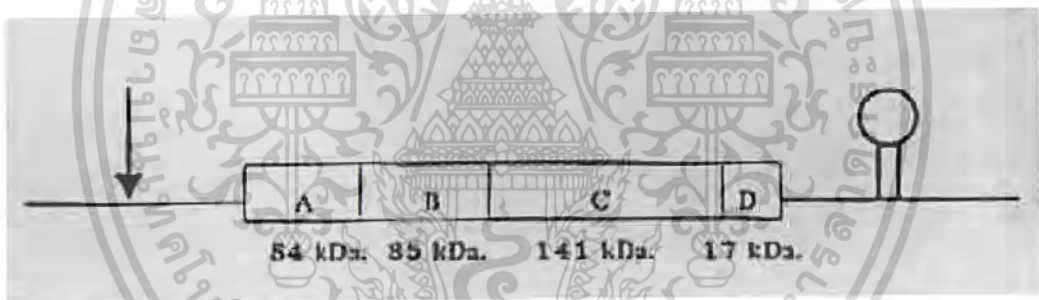
ที่มา : Ross และคณะ (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 โมเดลของการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum*

ที่มา : Ross และคณะ (1991)



Box A, B, C and D represent the coding regions of the bcs genes. Arrow and stemloop indicate the transcription initiation site and terminator. The size of each gene product is also shown under its coding region

รูปที่ 8 โครงสร้างของยีนควบคุมการสังเคราะห์เอ็นไซม์เซลลูโลสซินเตส

ที่มา : Yoshinaga และคณะ (1997)

เชื้อ *A. xylinum* นอกจากผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสแล้วยังสามารถผลิตอะซิเตนควบคู่ไปด้วย อะซิเตนมีลักษณะเป็น water soluble – polysaccharide จัดเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ (by-product) โครงสร้างหลักของอะซิเตนประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก การสังเคราะห์อะซิเตนดังสรุปในรูปที่ 9 (Iannino และคณะ, 1988) เริ่มจากอะซิเตนถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์แล้วถูกขับออกนอกเซลล์โดยเชื้อ *Acetobactor aceti* subsp. *xylinum* เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบทางเคมีของอะซิเตน ประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่าง ๆ ได้แก่ D-glucose L-mannose และ O-acetyl ในอัตราส่วน 4 : 1 : 1 ตามลำดับ (Shramm และคณะ, 1957) ในการสังเคราะห์อะซิเตนจะใช้ UDP-glucose เป็นสารตั้งต้นเช่นเดียวกับแบคทีเรียเซลลูโลส การสังเคราะห์อะซิเตนเพิ่มขึ้นทำให้การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสลดลง (Hwang และคณะ, 1999) ในกระบวนการหมักเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลสูงขึ้นปริมาณการสังเคราะห์อะซิเตนจะสูงขึ้น การลดปริมาณอะซิเตนโดยการใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Bacillus subtilis* เติมนลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถลดปริมาณการสังเคราะห์อะซิเตนได้ มีผลให้การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสเพิ่มขึ้น

Tahara และคณะ (1997) ได้รายงานการสังเคราะห์เอนไซม์เซลลูเลสโดยเชื้อ *A. xylinum* ในกระบวนการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส และพบว่าเอนไซม์เซลลูเลสมีผลต่อค่า DP และปริมาณแบคทีเรียเซลลูโลส กิจกรรมเอนไซม์ที่พบมี 2 ชนิดคือ Carboxy Methyl Cellulose (CMCase) และ Cellotriase (G3Case) กิจกรรมของเอนไซม์ 2 ชนิดนี้ทำให้ค่า DP และปริมาณเซลลูโลสลดลง สภาวะที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ CMCase คือพีเอช 4.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส (Oikawa และคณะ, 1977) Marx Figini และ Pion (1982) รายงานไว้ว่าเอนไซม์เซลลูเลสไม่มีผลต่อปริมาณแบคทีเรียเซลลูโลสและค่า DP ซึ่งการสังเคราะห์เอนไซม์จะสัมพันธ์กับการเจริญเติบโตของเซลล์ แต่การหมักแบบอยู่กับที่ในถาดผิวเรียบ Oikawa และคณะ (1977) พบว่าปริมาณเอนไซม์เซลลูเลสที่ถูกสังเคราะห์ขึ้น มีผลทำให้ค่า DP และปริมาณแบคทีเรียเซลลูโลสลดลงเช่นกัน

แบคทีเรียเซลลูโลสที่สังเคราะห์จะเกิดการสะสมภายนอกเซลล์อย่างรวดเร็ว สารโพลีกลูแคนสายสั้นๆ (polyglucan) ที่สังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์ของแบคทีเรียจะถูกขับออกมาภายนอกเซลล์ผ่านทาง Pore like site ที่เรียงขนานกันตามความยาวของเปลือกเซลล์ (envelope) ของเชื้อ *A. xylinum* (Cousins และคณะ, 1995) เปลือกเซลล์ประกอบด้วยสารไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ซึ่งทำหน้าที่ขั้วสารตั้งต้นของเซลลูโลส (precellulose polymer) ซึ่งเป็นโพลีกลูแคนออกจากเซลล์ โพลีเมอร์ไรเซชันเป็นแบคทีเรียเซลลูโลสเกิดด้วยพันธะ β -1,4 glycosidic (Yamada, 1983) จะเกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยมีเอนไซม์เซลลูโลสซินเตส ที่ถูกขับออกมาจากเซลล์เป็นตัวเร่ง อัตราความหนาของเส้นใยที่เกิดขึ้นประมาณ 2 นาโนเมตรต่อนาที เส้นใยแบคทีเรียเซลลูโลสเหล่านี้จะทำหน้าที่ล้อมรอบและหุ้มเซลล์ไว้ภายในเพื่อป้องกันแสงอัลตราไวโอเล็ต (UV) และอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ และการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยตรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความสามารถในการผลิตสารโพลีแซคคาไรด์แต่ละชนิดได้แตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับชนิดของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสและสภาพแวดล้อมที่เหมาะสม ปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์จะเพิ่มถึงร้อยละ 60 ของน้ำหนักแห้งของเซลล์ สำหรับสารโพลีแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ออกมาภายนอกเซลล์จะเพิ่มขึ้นหลายเท่าของน้ำหนักแห้งของเซลล์ (Wilkinson, 1958)



รูปที่ 9 การสังเคราะห์อะซิแตนโดยเชื้อ *A. xylinum*

ที่มา : Iannino และคณะ (1988)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์เซลลูโลสโดยแบคทีเรีย

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ตลอดจนการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* มีดังต่อไปนี้

2.4.1 แหล่งคาร์บอน (C-source)

คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์และพลังงาน โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาพที่ไม่มีอากาศจะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 10 ในการสังเคราะห์เซลล์ ส่วนแบคทีเรียที่เจริญในสภาพที่มีอากาศจะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 50-55 ในการสังเคราะห์เซลล์ (Stabury และ Whitaker, 1984) ในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส โดยเชื้อแบคทีเรียนี้ต้องการแหล่งคาร์บอนที่จำเพาะเจาะจงและแน่นอนสำหรับใช้ในการสร้างแบคทีเรียเซลลูโลส ในกรณีนี้ซึ่งพบว่าแบคทีเรียเซลลูโลสซึ่งเป็นสารประกอบประเภทโฮโมโพลิแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์โดยเอนไซม์ชนิดเดียว แต่เชื้อแบคทีเรียที่ต้องการแหล่งคาร์บอนที่ไม่จำเพาะเจาะจง จะสามารถสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสได้จากแหล่งคาร์บอนหลายชนิด (Crueger และคณะ, 1982)

Hestrin และคณะ (1947) รายงานว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* เช่น น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส เช่น แอมโมเนียมฟอสเฟตและแอมโมเนียมซัลเฟต

Alaban (1962) ได้ศึกษาชนิดของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส ซูโครส กาแลคโตส แมนนิทอล มอลโทส แลคโตส และอะราบีโนส พบว่าการหมักเซลลูโลสในชั้นสเตรทที่มีน้ำตาลกลูโคส ซูโครสและกลีเซอรอลเป็นองค์ประกอบ สามารถผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสได้สูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ ผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสต่อน้ำตาลชนิดต่างๆ แสดงดังตารางที่ 1

Lapus และคณะ (1967) พบว่าความเข้มข้นของน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสจะอยู่ในช่วงร้อยละ 5-7 เมื่อนำเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้หลายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวที่มีการเติม น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 4.0-6.0 ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม ประกอบด้วยเปปโตเนและสารสกัดจากยีสต์ แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม เช่น น้ำตาลซูโครส กลูโคส และแลคโตส

ตารางที่ 1 ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum*

จำพวกของสารอาหารคาร์บอน	ชนิด	ผลผลิตของเซลลูโลส (ร้อยละ)
Monosaccharide	D-fructose	92
	D-galactose	15
	D-glucose	100
	D-mannose	6
	D-xylose	11
	L-arabinose	14
	L-sorbose	11
Disaccharide	Lactose	16
	Maltose	7
	Sucrose	33
	Starch	18
	Ethanol	4
	Ethylene glycol	1
	Diethylene glycol	1
	Propylene glycol	8
	Glycerol	93
	Myo-inositol	17
Organic acids	Citric acid	20
	L-malic acid	15
	Succinic acid	12
Others	D-glucono lactone	62
	No carbon source	2

ที่มา : Satoshi และคณะ (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mosaoka และคณะ (1993) พบว่าผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสจะมีความสัมพันธ์กับการใช้สารอาหารน้ำตาลกลูโคส ผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดกลูโคนิก และกรดคีโตกลูโคนิก

แหล่งคาร์บอนจะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. โดยเป็นแหล่งพลังงานแก่เซลล์และเป็นองค์ประกอบหลักของแบคทีเรียเซลลูโลส เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งรวมทั้งน้ำตาลกลูโคส ฟรุคโตส กาแลคโตส ซูโครส มอลโทส และแมนโนส เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสบางสายพันธุ์มีความสามารถในการใช้สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น กลีเซอรอล ไกลคอล เอทานอล และโพรพานอล เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเป็นแหล่งให้พลังงาน (Yoshinaga และคณะ, 1997) แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันจะมีผลต่อกิจกรรมของ phosphocose isomerase และในแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลฟรุคโตส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ UDPG pyrophosphorylase สูงขึ้น ซึ่งมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส

2.4.2 แหล่งไนโตรเจนและสารอาหารอื่นๆ

เซลล์แบคทีเรียมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักแห้ง ความต้องการไนโตรเจนของแบคทีเรียแต่ละชนิดแตกต่างกันไป แบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีสารไนโตรเจนอนินทรีย์ (inorganic nitrogen) แต่บางสายพันธุ์ต้องการสารไนโตรเจนอินทรีย์ (organic nitrogen) แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่สำคัญเป็นสารประเภทก๊าซ แอมโมเนียม เกลือแอมโมเนียม และไนเตรท สำหรับแอมโมเนียมซัลเฟต ปกติเมื่อแอมโมเนียม (NH_4^+) ถูกใช้ไปจะทำให้ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นกรด เพราะจะเกิดการสะสมอนุมูลซัลเฟต (SO_4^{2-}) ขึ้น ส่วนก๊าซแอมโมเนียมและไนเตรท เมื่อถูกเมตาโบไลต์และทำให้เกิดสภาวะที่เป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Stabury และ Whitaker, 1984) สารไนโตรเจนอินทรีย์ที่สำคัญประกอบด้วย เปปโตน สารสกัดจากยีสต์ และเคซีน

Stabury และ Whitaker (1984) รายงานว่าธาตุอาหารอื่นๆ มีความจำเป็นเกี่ยวกับอัตราการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสภายนอกเซลล์ เช่น แหล่งไนโตรเจน แคลเซียม และฟอสเฟต เป็นต้น อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณของธาตุอาหารที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการและสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส รวมถึงสภาวะการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส เช่น พีเอช อุณหภูมิ และการให้อากาศ แหล่งไนโตรเจน เป็นสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย แต่ถ้ามีปริมาณสูงจะลดประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารคาร์โบไฮเดรต

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

เป็นแบคทีเรียลเซลล์โลส สำหรับโปรตีนซีรัมและโซเดียมไนเตรท แบคทีเรียไม่สามารถใช้ได้ และยังเป็นพืชต่อเชื้ออีกด้วย (Lapuz และคณะ, 1967)

2.4.3 อุณหภูมิ

Alaban (1962) และ Lapuz และคณะ (1967) ได้รายงานสอดคล้องกันว่าการหมักเชื้อ *Acetobacter* sp. ในน้ำมะพร้าวที่อุณหภูมิในช่วง 10-45 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้แต่จะไม่ผลิตแบคทีเรียลเซลล์โลส การสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลล์โลสจะเริ่มมีการผลิตตั้งแต่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสจนถึงช่วงอุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตและผลิตเซลล์โลสในปริมาณสูง เมื่ออุณหภูมิสูงจะเกิดผลเสียต่อสมบัติของเอนไซม์หรือการเสถียรภาพโปรตีน โครงสร้างของแฟลกเจลลา ไรโบโซม โปรโตพลาส และไมโทคอนเดรีย

Krusong และ Yoshida (1995) พบว่าอุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการผลิตแบคทีเรียลเซลล์โลส ในการผลิตสารโพลีแซคคาไรด์ของเชื้อ *Escherichia coli* โดยทำการหมักที่อุณหภูมิ 20 และ 37 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ปริมาณสารโพลีแซคคาไรด์ที่แบคทีเรียสังเคราะห์ขึ้นจะต่ำกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส

2.4.4 อัตราการให้อากาศ

Krusong และ Yoshida (1995) พบว่าปริมาณการให้อากาศและปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลล์โลสของเชื้อ *A. xylinum* โดยมีผลกับปริมาณพลังงานที่สร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ในกรณีของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* และ *Acetobacter aerogenes* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ พบว่ามีการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลล์โลสในปริมาณที่ต่ำกว่าในสภาพที่มีอากาศ โดยการสังเคราะห์จะต่ำกว่าร้อยละ 25-40 กรณีสของเชื้อ *A. xylinum* พบว่าในสภาพที่ไม่มีอากาศ จะไม่สามารถสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลล์โลสได้เลย การสังเคราะห์จะเกิดขึ้นได้ก็ต่อเมื่อปริมาณก๊าซออกซิเจนมีเพียงพอต่อความต้องการของเซลล์เท่านั้น

Guzman และคณะ (1982) รายงานว่าปริมาณอากาศมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลล์โลส โดยได้ศึกษาการผลิตของเชื้อ *A. xylinum* ในการศึกษาใช้กระบวนการหมัก 2 แบบ คือ แบบอยู่กับที่ให้เกิดแบคทีเรียลเซลล์โลสขึ้นเองที่ผิวหน้าของอาหารเหลวเปรียบเทียบการหมักที่มีการให้อากาศและมีการกวนตลอดเวลา (submerged culture) ในถังหมักขนาด 1 ลิตร อัตราการกวน 800 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1.25 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ปริมาณแบคทีเรียลเซลล์โลสที่ผลิตได้ร้อยละ 22.47 และ 71.52 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อ 58542 อย่างถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ebner (1982) พบว่าเชื้อ *Acetobacter* sp. จะมีเอนไซม์อะไพเรส (apirase) ทำหน้าที่ในการย่อยสลายพลังงาน ATP (ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานและมีการสะสมในระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก) ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เหลือพลังงาน ATP สำหรับกิจกรรมของเมแทบอลิซึมอื่นๆ ของเซลล์ในระดับต่ำ ดังนั้นเมื่อคนให้อากาศทำให้พลังงาน ATP ในแหล่งเก็บพลังงานหรือ ATP pool สูญเสียไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์

Alaban (1962) ได้ศึกษาการหมักเชื้อ *A. xylinum* บนเครื่องเขย่าโดยการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณต่างกัน คือ 25, 50, 75, 100 และ 125 มิลลิลิตร บรรจุในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร พบว่าปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ 75 มิลลิลิตร ให้ผลผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสปริมาณสูงสุด

ปริมาณอากาศมีส่วนสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลส และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อแบคทีเรียสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสเพิ่มขึ้น จะทำให้การแผ่กระจายของอากาศลดลง เป็นเหตุให้ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แบคทีเรียลเซลลูโลสลดลง เนื่องจากความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น Kouda และคณะ (1997) ได้ศึกษาการส่งผ่านออกซิเจน (oxygen transfer) ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้เชื้อ *A. xylinum* BPR2001 เพื่อผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความหนืดสูงจะทำให้อัตราการส่งผ่านก๊าซออกซิเจนลดลง เป็นผลให้ก๊าซออกซิเจนที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้น เป็นตัวจำกัดปริมาณก๊าซออกซิเจนที่มีอยู่ด้วย ชนิดของใบกวนในถังหมักแบบ Maxblen และ Gate with turbine จะช่วยเพิ่มการส่งผ่านก๊าซออกซิเจนได้สูงขึ้น ทำให้ค่าสัมประสิทธิ์การส่งผ่านของมวล (volumetric mass transfer coefficient, K_La) มีค่าสูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใบกวนจะช่วยเพิ่มฟองอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อและช่วยเพิ่มผิวสัมผัสระหว่างฟองอากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ค่า K_La สูงขึ้น และนอกจากนี้ Kouda และคณะ (1997) ยังพบว่า การเพิ่ม partial pressure ของก๊าซออกซิเจนในถังหมัก แบคทีเรียสามารถผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสได้สูงขึ้น และลดพลังงานในการกวน

2.4.5 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Ohara และคณะ (1992) รายงานว่าค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อการทำงานของเอนไซม์และการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ในกระบวนการหมักแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงค่าพีเอช 4.0-5.0 และค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอาหาร รวมถึงการยอมให้สารอาหารผ่านผนังเซลล์ได้

Alaban (1962) ได้ศึกษาผลของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* พบว่าค่าพีเอช 4.0-5.0 เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส ที่มีพีเอช 3.0 การเจริญเติบโตของเชื้อจะลดลงและที่พีเอชมากกว่า 8.0 เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การเติมกรดอะซิติกในอาหารเลี้ยงเชื้อร้อยละ 1-10 ลงในน้ำมะพร้าว นอกจากเป็นการปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อแล้วจะช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ได้เมื่อเติมกรดอะซิติกร้อยละ 1 และเมื่อเพิ่มปริมาณกรดเป็นร้อยละ 2 จะช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อ *Penicillium* sp. และ *Bacillus* sp. ได้ และมีรายงานว่ากรดอะซิติกที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้มีค่าพีเอชประมาณ 4.0-5.0 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. xylinum* มีผลโดยตรงต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์โปรตีนโพลีแซคคาไรด์ และการแบ่งเซลล์ของเชื้อ *A. xylinum* และเชื้อจุลินทรีย์ยังสามารถนำกรดอะซิติกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกด้วย (Naritomi และคณะ, 1998)

Mosaoka และคณะ (1993) รายงานว่าค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องมีการควบคุมก่อนการหมักเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. และยังสามารถช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่ไม่สามารถทนต่อการเป็นกรดได้

2.5 การประยุกต์ใช้แบคทีเรียเซลลูโลส

แบคทีเรียเซลลูโลสเป็นที่สนใจสำหรับการนำมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ นอกจากการนำมาเป็นอาหารเพื่อบริโภค ดังนี้

- อาหารที่มีแคลอรีต่ำสำหรับลดความอ้วน
- ใช้ในอุตสาหกรรมสิ่งทอ
- ผิวหนังเทียมสำหรับผู้ที่ไม่สามารถทนไฟ
- ผลิตเป็นลำโพงคุณภาพสูง

ล้างแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสด้วยอะซิโตนและอบในเครื่องอบสูญญากาศ แล้วนำไปแช่ในน้ำหรือน้ำเกลือที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ซึ่งทำให้แผ่นวุ้นนี้ชุ่มน้ำดั้งเดิม แล้วนำไปรักษาแผลที่ผิวหนังซึ่งเกิดจากไฟลวก แผลในกระเพาะอาหาร หรือแผลบนใบหน้า รวมทั้งหมด 30 กว่ารายภายใต้การดูแลของแพทย์ทางผิวหนัง พบว่าผลิตภัณฑ์จากแบคทีเรียเซลลูโลสนี้ (มีชื่อทางการค้าว่า Biofilm[®]) สามารถลดความเจ็บปวดของบาดแผลได้ทันทีและติดแผลสนิท ลดความเจ็บปวดที่เกิดหลังการผ่าตัดได้ ป้องกันการติดเชื้อ ทำให้แผลหายเร็ว และช่วยให้ผิวหนังเก็บน้ำ สารละลายอิเล็กโทรไลต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และโปรตีนได้ดีขึ้น นอกจากนี้ Biofill[®] ยังมีลักษณะเป็นแผ่นใสทำให้ง่ายต่อการตรวจแผล และสามารถลอกออกเองได้เมื่อเกิดผิวหนังใหม่ ทำให้ลดเวลาและค่าใช้จ่ายในการรักษา นอกจากนี้ยังพบว่า การล้างแบคทีเรียลเซลล์ด้วยสารละลายโซเดียมโดเดซิลซัลเฟต (sodium dodecyl sulfur) ความเข้มข้นร้อยละ 1 หรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 1 โมลาร์ ทำให้ได้แผ่นแบคทีเรียลเซลล์ที่ใสและไม่หุด แต่การล้างแบคทีเรียลเซลล์ด้วยด่างเข้มข้นจะทำให้แผ่นหุดและขนาดเล็กลงร้อยละ 60 (Fontana และคณะ, 1990)

จากสมบัติที่แบคทีเรียลเซลล์มีค่ามอดุลัสของยังสูง ทำให้แบคทีเรียลเซลล์เหมาะสมสำหรับการนำมาใช้เป็น acoustic diaphragm ซึ่งต้องมีค่ามอดุลัสของยัง sound propagation velocity และ internal loss (หรือค่า $\tan \delta$) สูง ขณะที่มีความหนาแน่นต่ำ (Yamanaka และคณะ, 1989 และ Nishi และคณะ, 1990) ดังนั้นจึงมีการศึกษาผลของการทำแบคทีเรียลเซลล์ให้บริสุทธิ์ยิ่งขึ้นด้วยสารละลาย NaOH ความเข้มข้นร้อยละ 0-12 โดยน้ำหนัก หรือสารละลาย NaClO ร้อยละ 0-1 โดยน้ำหนัก เป็นเวลา 15 ชั่วโมง เพื่อนำมาใช้เป็น acoustic diaphragm โดยวัดค่ามอดุลัสของยังและค่า $\tan \delta$ ของแบคทีเรียลเซลล์แห้ง (Nishi และคณะ, 1990) ผลการทดลองพบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย NaOH หรือสารละลาย NaClO จนถึงร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก และร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนัก ตามลำดับ ทำให้ค่ามอดุลัสของยังของแบคทีเรียลเซลล์แห้งเพิ่มขึ้น เนื่องจากโซเดียมไฮดรอกไซด์ สกัดพอลิแซคคาไรด์ที่มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำที่ไม่ใช่เซลล์โลส นอกจากนี้ยังสกัดสารอื่นๆ เช่น โปรตีนและกรดนิวคลีอิกซึ่งมาจากเซลล์แบคทีเรียออกไปจากแบคทีเรียลเซลล์ การสกัดเอาสิ่งเจือปนออกเป็นการเอาสิ่งขัดขวางการเกิดพันธะระหว่างเส้นใยเซลล์โลสออก ทำให้โอกาสการเกิดพันธะระหว่างเส้นใยเซลล์โลสเพิ่มขึ้นและทำให้ค่ามอดุลัสของยังของแบคทีเรียลเซลล์เพิ่มขึ้น แต่การเพิ่มความเข้มข้นของสารละลาย NaOH หรือสารละลาย NaClO ให้สูงมากเกินไปจะมีผลทำให้เส้นใยเซลล์โลสหุดและงอ ซึ่งลดความแข็งแรงของโครงร่างตาข่ายของเส้นใยเซลล์โลสและลดค่ามอดุลัสของยังของแบคทีเรียลเซลล์แห้ง การทำให้แบคทีเรียลเซลล์บริสุทธิ์ด้วยสารละลาย NaOH หรือสารละลาย NaClO ทำให้ค่า $\tan \delta$ ของแบคทีเรียลเซลล์แห้งลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น แต่ค่า $\tan \delta$ ที่ได้ก็ยังคงอยู่ในช่วงที่เหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็น acoustic diaphragm คือ 0.04-0.05 ในกรณีที่ทำให้แบคทีเรียลเซลล์แห้งก่อนนำไปแช่ในสารละลาย NaOH หรือสารละลาย NaClO แล้วล้างน้ำก่อนทำให้แผ่นแบคทีเรียลเซลล์แห้งอีกที จะทำให้ค่ามอดุลัสของยังสูงกว่าการแช่แบคทีเรียลเซลล์สดในแต่ละสารละลายทั้งสองนี้วิธีการที่ดีที่สุดคือการทำแบคทีเรียลเซลล์แห้งแล้วแช่ในสารละลาย NaClO ร้อยละ 0.5 โดยน้ำหนักนาน 15 ชั่วโมง แล้วนำมาแช่ต่อในสารละลาย NaOH ร้อยละ 5 โดยน้ำหนัก นาน 15 ชั่วโมง แล้วนำมาล้างน้ำก่อนจะทำให้แบคทีเรียลเซลล์แห้งอีกที เพราะวิธีนี้ทำให้ได้แบคทีเรียล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลสที่มีค่ามอดุลัสของยังสูงสุดคือประมาณ 29 กิกะพาสคัล และยังทำให้ค่า sound propagation , $\tan \delta$ และความหนาแน่นเป็น 3240 เมตรต่อวินาที 0.04 และ 1280 กิโลกรัมต่อลูกบาศก์เมตรตามลำดับ ซึ่งจะทำให้แบคทีเรียเซลลูโลสแห่งนี้มีความเหมาะสมต่อการนำไปใช้เป็น acoustic diaphragm

การวิจัยที่ได้กล่าวข้างต้นเป็นการศึกษาเพื่อนำแบคทีเรียเซลลูโลสทั้งแผ่นมาใช้ประโยชน์ โดยไม่มีการตีป่นเป็นเยื่อ การตีป่นแบคทีเรียเซลลูโลสให้เป็นเยื่อเป็นการกำจัดสิ่งเจือปน โดยเฉพาะอย่างยิ่งเซลล์แบคทีเรียออก แล้วจึงนำเยื่อไปขึ้นรูปเพื่อเป็นผลิตภัณฑ์อื่นได้ วิธีการนี้เหมาะสมสำหรับการทำผลิตภัณฑ์ที่ใช้ประโยชน์ทางการแพทย์ ได้มีการศึกษาโดย Yamanaka และคณะ (1989) เกี่ยวกับการนำแบคทีเรียเซลลูโลสมาผสมน้ำ 10 เท่า แล้วนำไปตีป่นให้เป็นเยื่อแล้วเลือกเยื่อขนาดเล็กลงกว่า 100 mesh นำมาอัดให้เป็นกระดาษด้วยเครื่องอัดรีด โดยมีการนำเยื่อฝ้ายมาผสมที่อัตราส่วนต่างๆด้วย ผลการทดลองเป็นดังตารางที่ 2 ซึ่งพบว่าค่ามอดุลัสของยังและความแข็งแรงดึงของเยื่อแบคทีเรียเซลลูโลสแห่งนี้ 4.9 กิกะพาสคัล และ 85 เมกกะพาสคัลตามลำดับ เนื่องจากความต่อเนื่องของโครงสร้างตาข่ายของเส้นใยเซลลูโลสลดลงเนื่องจากการตีป่นแบคทีเรียเซลลูโลสให้เป็นเยื่อขนาดเล็กลง แต่แบคทีเรียเซลลูโลสแห่งนี้ยังมีค่ามอดุลัสของยังและความแข็งแรงดึงสูงกว่าแผ่นเยื่อฝ้าย และค่าทั้งสองนี้ของแผ่นเยื่อผสมสูงขึ้น เมื่อปริมาณของเยื่อแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผสมมากขึ้น (Kaushral and Walker, 1951 และ Hestrin and Schramm, 1954)

ตารางที่ 2 สมบัติเชิงกลของแผ่นเยื่อผสมระหว่างเยื่อแบคทีเรียเซลลูโลสกับเยื่อฝ้าย

Nata pulp : Cotton pulp	Young's Modulus (GPa)	Tensile Strength (MPa)	Density (g/cm ³)
4:0	4.900	85.00	0.99
3:1	2.700	30.00	0.48
1:1	0.610	12.00	0.43
1:3	0.210	3.30	0.20
0:4	0.085	0.83	0.19

ที่มา : Yamanaka และคณะ (1989)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 การทดลองและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

จากงานวิจัยประจำปี พ.ศ. 2539-2540 กรมวิทยาศาสตร์บริการ กองการวิจัย ได้ทำการผลิตกระดาษด้วยแบคทีเรียเซลลูโลสและปรับปรุงคุณภาพ ซึ่งแผ่นกระดาษนี้จะมีสมบัติทั่วไปสูงกว่ากระดาษปกติหลายเท่า และมีสมบัติพิเศษอีก คือ กันน้ำมันรั่วซึมได้นาน และกันไม่ให้อากาศเข้าออกได้

การศึกษาของ Yamanaka และคณะ (1989) พบว่าแผ่นกระดาษที่ได้จากวุ้นมะพร้าวนั้นมีสมบัติที่คล้ายกับกระดาษที่ผลิตโดยเครื่องจักร ค่ามอดุลัสของยัง (Young's modulus) มีค่าสูงเมื่อทำการวัดในแนวตามขวางของแผ่นกระดาษ จากการศึกษาโครงสร้างสันนิษฐานว่าค่ามอดุลัสของยังที่สูงเกิดจากเส้นใยพิเศษที่เป็นโมเลกุลโครงสร้างซึ่งมัดติดกันแน่นด้วยพันธะไฮโดรเจน เมื่อนำวุ้นมะพร้าวไปทำเป็นเยื่อกระดาษ กระดาษที่ผลิตได้จะมีความแข็งแรงมากกว่ากระดาษที่ได้จากเยื่อกระดาษธรรมดา

พาสวดี และสุเมธ (2539) ศึกษาการผลิตฟิล์มที่ย่อยสลายได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสพบว่าฟิล์มเยื่อแบคทีเรียเซลลูโลสน้ำหนักพื้นฐาน 37.74 ± 0.69 กรัมต่อตารางเมตร ความหนา 0.0422 ± 0.0004 มิลลิเมตร ความหนาแน่นปรากฏ 912.33 ± 68.53 กรัมต่อลูกบาศก์เมตร ดัชนีความต้านแรงดึง 56.31 ± 9.65 กิโลนิวตันเมตรต่อกิโลกรัม ดัชนีความต้านแรงฉีกขาด 1.98 ± 0.68 นิวตัน

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์

1. จุลินทรีย์

Acetobacter xylinum TISTR 967

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ

2.1 อาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ก.)

3. เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1 ถาดพลาสติก

3.2 กระดาษหนังสือพิมพ์

3.3 หนัวยรัดถาด

3.4 เครื่องอัดรีดน้ำ

3.5 หม้อสแตนเลส

3.6 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำ (autoclave)

3.7 โถดูดความชื้น (desiccator)

3.8 เครื่องชั่งชนิด 4 ตำแหน่ง

3.9 วัสดุดูดซับน้ำ (แผ่นปูนปาสเตอร์)

3.10 ไมโครมิเตอร์

3.11 เวอเนียร์คาลิเปอร์

3.12 กรอบยึดแผ่นเซลล์โลส

3.13 เครื่อง Universal Testing Machine (UTM) รุ่น TA plus

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967

1. การเตรียมหัวเชื้อ (Starter)

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบางให้สะอาด จากนั้นต้มให้เดือดนาน 10 นาที เติม น้ำตาลทรายร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 ปรับค่าพีเอชให้ได้ 4.5 ด้วยกรดอะซิติก เข้มข้น แบ่งบรรจุในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดฝาแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นก่อนทำการถ่ายเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967 ลงในขวดรูปชมพู่ (ขวดละ 1-2 ลูก) บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในสภาพนิ่งนาน 3-5 วัน

2. การหมักเพื่อให้ได้แผ่นเซลลูโลส

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบางให้สะอาด จากนั้นต้มให้เดือดนาน 10 นาที เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 ปรับค่าพีเอชให้ได้ 4.5 ด้วยกรดอะซิติก เข้มข้น ตวงอาหารเหลวขณะร้อนปริมาตร 1.5 ลิตร ใส่ลงในถาดพลาสติกที่ทำการลวกน้ำเดือดแล้ว ปิดถาดด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ที่ฆ่าเชื้อแล้ว ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น เติมหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารที่ใช้ บ่มในสภาพนิ่งที่อุณหภูมิห้องนาน 10 วัน เก็บตัวอย่างในวันที่ 2, 4, 6, 8 และ 10 นำมาวัดความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้และผลผลิตของเซลลูโลส

3. การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลสที่ผลิตได้

นำแผ่นเซลลูโลสที่ผลิตได้มาล้างด้วยน้ำหลายๆครั้งให้สะอาด ทำการวัดค่าความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้ แช่แผ่นเซลลูโลสที่ได้ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ความเข้มข้น 0.5 M) ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง จากนั้นต้มในน้ำเดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องรีดน้ำ แล้วนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 12 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นนำมาชั่งน้ำหนักแผ่นเซลลูโลสที่ได้ จะเป็นค่าของผลผลิตเซลลูโลส โดยรายงานผลเป็น น้ำหนักแผ่นเซลลูโลสที่ได้ต่อปริมาตรอาหารที่ใช้

หมายเหตุ การวัดความหนาของแผ่นวุ้นให้ทำการวัดความหนาที่จุดต่างๆกัน 10 จุด แล้วจึงหาค่าเฉลี่ยของแผ่นวุ้นนั้นๆ

3.2.2 ศึกษาการนำแผ่นเซลลูโลสมาผลิตเป็นกระดาษ

แบ่งเป็น 3 ขั้นตอนดังนี้

3.2.2.1 การผลิตแผ่นเปียก โดยนำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (อัตราส่วนแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำ 5 : 1000) ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง จากนั้นต้มในน้ำเดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องรีดน้ำ จะได้แผ่นเปียก

3.2.2.2 การผลิตแผ่นแห้ง นำแผ่นเปียกมาซึ่งตั้งบนวัสดุซับน้ำ นำไปอบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ตากแห้งด้วยพัดลม 3-6 ชั่วโมง จะได้แผ่นแห้ง

3.2.2.3 การผลิตกระดาษ โดยนำแผ่นแห้งมาแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 5 และสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 25-27 ปรับค่าพีเอชให้เป็น 10-11 ไว้เสมอ แช่แผ่นแห้งไว้ นาน 5-10 นาที จากนั้นม้วนแผ่นเซลลูโลสใส่ถุงพลาสติก แล้วนำไปแช่ในน้ำเดือดนาน 15-30 นาที เขย่าถุงสม่ำเสมอ นำแผ่นเซลลูโลสออกมาล้างน้ำให้สะอาดและเข้าเครื่องรีดน้ำ จึงแผ่นเซลลูโลสให้ตั้งด้วยกรอบยึด แล้วทำการอบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง แยกกระดาษออกจากกรอบยึด นำมาศึกษาสมบัติเชิงกลของกระดาษ คือ ค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) และค่าการยืด ณ จุดขาด (Elongation at break)

3.2.3 ศึกษาสภาวะต่างๆที่มีผลต่อแผ่นเซลลูโลสในขั้นตอนการผลิตกระดาษ

3.2.3.1 ความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการปรับแผ่นเซลลูโลสให้เป็นกลาง

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ระยะเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.2.1 นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 0.3 0.5 0.7 และ 0.9 ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง จากนั้นต้มให้เดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องรีดน้ำจะได้แผ่นเปียก จากนั้นทำการผลิตกระดาษตามข้อ 3.2.2.2 นำกระดาษที่ได้มาศึกษาสมบัติเชิงกลเหมือนข้อ 3.2.2.3 เพื่อเปรียบเทียบหาค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ที่ดีที่สุดที่มีผลต่อการผลิตแผ่นเซลลูโลส

3.2.3.2 ความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการฟอกสี

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ระยะเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.2.1 นำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.2.3.1 ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง จากนั้นต้มให้เดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องรีดน้ำ อบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ตากให้แห้งด้วยพัดลม 3-6 ชั่วโมง เตรียมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 , 1 และ 1.5 นำไปตั้งไฟให้เดือด ใส่แผ่นเซลลูโลสลงไปต้ม นาน 30 นาที นำออกมาล้างน้ำให้สะอาด นำเข้าเครื่องรีดน้ำ จึงให้ตั้งด้วยกรอบยึด อบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง แยกกระดาษออกจากกรอบยึด นำกระดาษมาศึกษาสมบัติทางกลเหมือนข้อ 3.2.2.3 เปรียบเทียบกับแผ่นเซลลูโลสที่ไม่ผ่านการฟอกด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

3.2.4 เปรียบเทียบสมบัติของกระดาษที่ได้กับกระดาษอื่นๆ

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ระยะเวลาที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในข้อ 3.2.1 นำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายเอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นที่ได้จากข้อ 3.2.3.1 ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง จากนั้นต้มให้เดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องรีดน้ำ นำแผ่นเปียกมาจึงตั้งบนวัสดุซับน้ำ นำไปอบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ตากแห้งด้วยพัดลม 3-6 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 นำไปตั้งไฟให้เดือด ทิ้งไว้ 30 นาที นำออกมาล้างน้ำให้สะอาด เข้าเครื่องรีดน้ำแล้วจึงให้ตั้งด้วยกรอบยัด อบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง และกระดาษออกจากกรอบยัด นำกระดาษมาศึกษาสมบัติเชิงกลเหมือนข้อ 3.2.2.3 เปรียบเทียบกับกระดาษสาและกระดาษใบสับปะรด



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

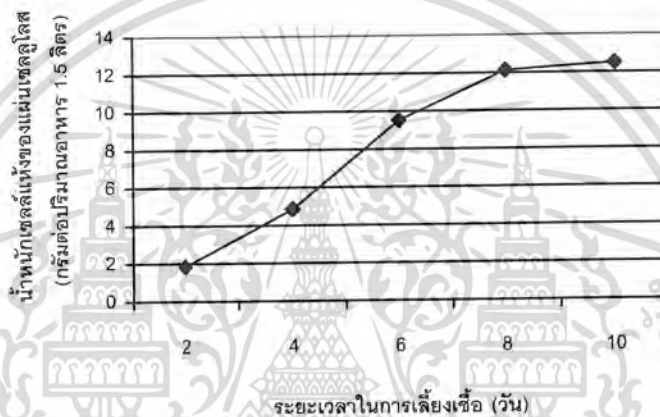
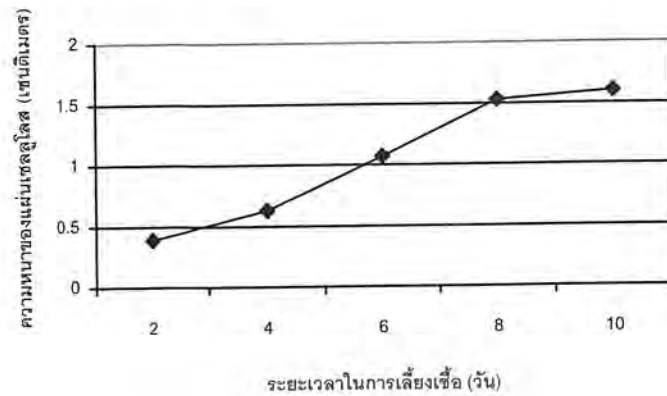
4.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

จากการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน พบว่า ความหนาและน้ำหนักเซลล์แห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6-8 วัน โดยจะมีความหนาเฉลี่ย 1.53 เซนติเมตร ผลผลิตเซลลูโลส 12.12 กรัมต่อปริมาตรอาหาร 1.5 ลิตร ในวันที่ 8 ของการเลี้ยงเชื้อ (ตารางที่ 3 และรูปที่ 10) หลังจากนั้น ความหนาและผลผลิตเซลลูโลสของแผ่นเซลลูโลสยังคงเพิ่มขึ้น แต่เพิ่มในอัตราที่ช้าลง ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไป จึงเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเป็นระยะเวลา 8 วัน ซึ่งผลการทดลองได้สอดคล้องกับคำพิง พุ่มจันทร์ (2545) ได้รายงานมา จากการเลี้ยง *A. xylinum* DK ในสภาวะนิ่งในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร BSH medium 100 มิลลิลิตร บ่มที่ 32 องศาเซลเซียส พบว่าในวันที่ 5-7 จะมีการสร้างเซลลูโลสออกมามากที่สุด หลังจากนั้นปริมาณเซลลูโลสจะลดลง

ตารางที่ 3 การเปลี่ยนแปลงความหนาและผลผลิตเซลลูโลสของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน

ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ (วัน)	ความหนา (เซนติเมตร)	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อปริมาตรอาหาร 1.5 ลิตร)
2	0.39	1.85
4	0.63	4.87
6	1.07	9.51
8	1.53	12.12
10	1.54	12.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 10 การเปลี่ยนแปลงความหนาและน้ำหนักแห้งของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

4.2 ศึกษาการนำแผ่นเซลลูโลสมาผลิตกระดาษ (ตามวิธีของนีโบลด์ สุวรรณภินันท์, 2545)

เลี้ยง *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว เลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (อัตราส่วนของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่อน้ำเท่ากับ 5 : 1,000) ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 1 คืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาต้มให้เดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ นำมาซึ่งตั้งบนแผ่นวัสดุดูดซับน้ำในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ตากแห้งด้วยพัดลม 3-6 ชั่วโมง จากนั้นนำมาแช่ในอ่างของสารผสมระหว่างสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 50 และสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 25-27 ปริมาณค่าพีเอชเป็น 10-11 ตลอดเวลา แช่นาน 5-10 นาที จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสมาฉีกใส่ถุงพลาสติกนำไปแช่ในอ่างน้ำเดือดอุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 15-30 นาที เขย่าถุงตลอดเวลา จากนั้นนำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แผ่นเซลลูโลสมาล้างน้ำให้สะอาด นำเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ ซึ่งให้เรียบด้วยกรอบยึด อบในตู้อบร้อน อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง จะได้กระดาษ นำมาวัดค่าต่างๆ พบว่าเมื่อนำกระดาษมาวัดในแนวขวาง ค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) มีค่า 2,850.06 MPa ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) 130.50 MPa ค่าการยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) ร้อยละ 7.63 เมื่อนำกระดาษมาวัดตามยาวพบว่าค่ามอดูลัสของยังมีค่า 4,532.22 MPa ค่าความแข็งแรงดึง 134.660 MPa ค่าการยืด ณ จุดขาดร้อยละ 5.82 ดังแสดงในตารางที่ 4

ตารางที่ 4 สมบัติเชิงกลของแผ่นกระดาษขึ้นมะพร้าวผลิตตามวิธีของนีโบล สุวรรณภินันท์ (2545)

แนวของแผ่นกระดาษ	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)
ตามขวาง	2850.06	130.50	7.63
ตามยาว	4532.22	134.60	5.82

4.3 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกระดาษ

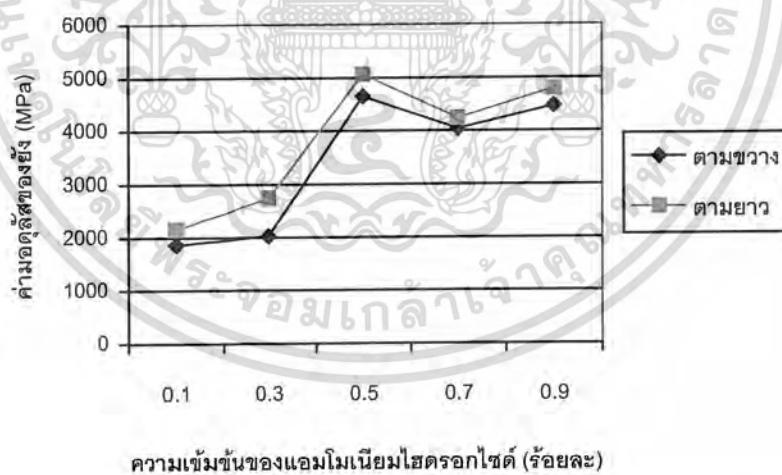
4.3.1 ความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการปรับแผ่นเซลลูโลสให้เป็นกลาง

เลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวโดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 8 วัน จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆดังนี้ ร้อยละ 0.1 0.3 0.5 0.7 และ 0.9 ทั้งไว้ 1 คืน (12 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาผลิตกระดาษและศึกษาสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ได้ พบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 จะมีค่ามอดูลัสของยังสูงสุด และความแข็งแรงดึงสูงเช่นกัน แสดงดังตารางที่ 5 และรูปที่ 11, 12 และ 13 และเมื่อนำค่าเหล่านี้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ค่าความแข็งแรงดึง ค่ามอดูลัสของยัง และ ค่าการยืด ณ จุดขาด ทั้งจากการวัดตามขวางและวัดตามยาว ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาคผนวก ก-1, ก-2, ก-3, ก-4, ก-5 และ ก-6) แต่เนื่องจากค่ามอดูลัสของยัง และค่าความแข็งแรงดึงที่ความเข้มข้นแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 มีค่าสูงสุด รวมทั้งความเข้มข้นนี้เป็นความเข้มข้นเดียวกับที่นีโบล สุวรรณภินันท์ (2545) ใช้ในการปรับแผ่นเซลลูโลสให้เป็นกลางก่อนที่จะนำไปผลิตกระดาษ ดังนั้นจึงเลือกใช้ความเข้มข้นแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 ในการศึกษาต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

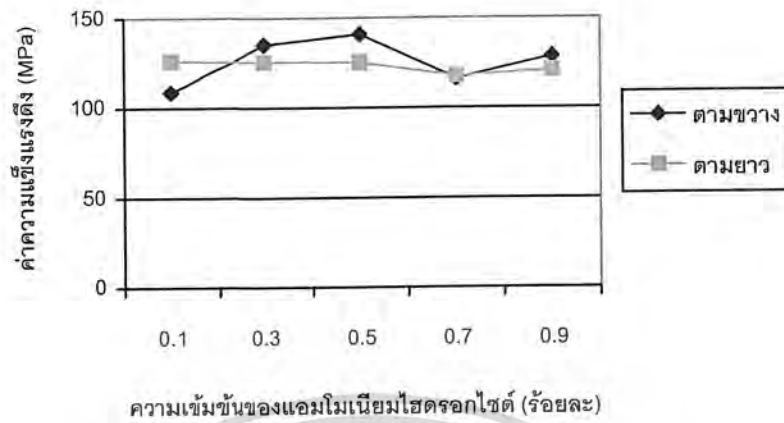
ตารางที่ 5 ค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึง และค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นกระดาษ วุ้นมะพร้าวเมื่อใช้ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างกัน

ความเข้มข้น ของ แอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	วัดในแนวขวาง			วัดในแนวยาว		
	ค่ามอดูลัสของ ยัง (MPa)	ค่าความ แข็งแรงดึง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของ ยัง (MPa)	ค่าความ แข็งแรงดึง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)
0.1	1862.14	108.72	6.58	2153.58	126.24	8.32
0.3	2027.72	135.33	6.12	2736.68	125.66	7.56
0.5	4656.67	140.87	6.01	5068.31	125.28	8.23
0.7	4048.09	116.34	5.06	4242.45	117.97	6.62
0.9	4471.15	128.62	4.65	4792.28	120.99	7.18

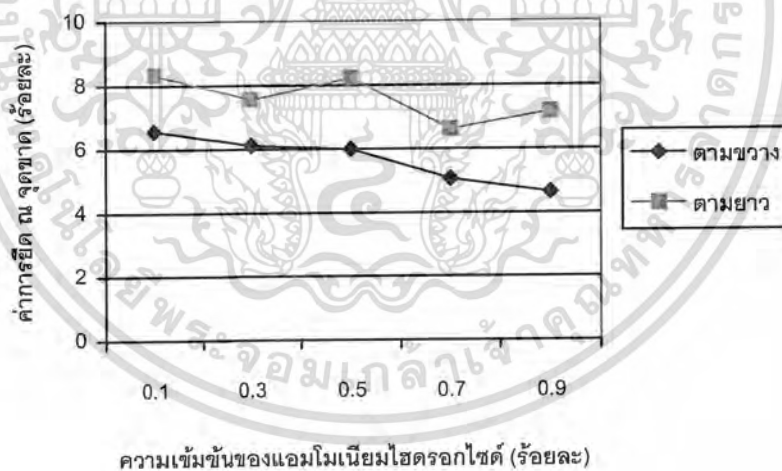


รูปที่ 11 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อค่ามอดูลัสของยังของกระดาษวุ้นมะพร้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 12 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษุ่นมะพร้าว



รูปที่ 13 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ ที่มีผลต่อค่าการยืด ณ จุดขาดของกระดาษุ่นมะพร้าว

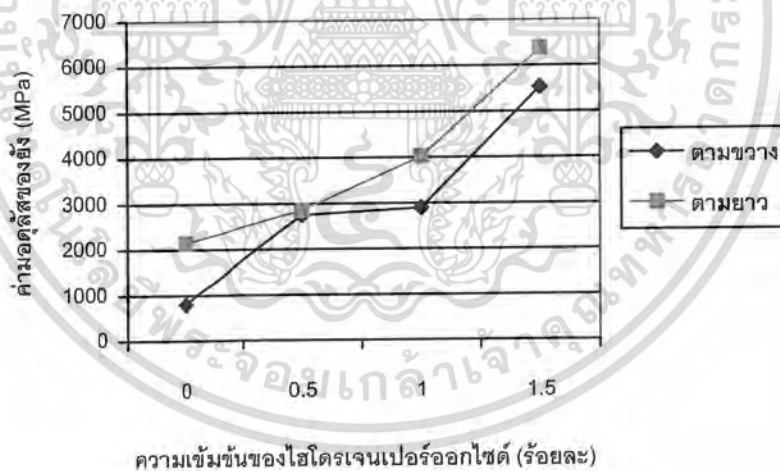
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.2 ความเข้มข้นของสารที่ใช้ในการฟอกสีกระดาษ

จากการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเลี้ยงในสถานะนิ่ง ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 8 วัน นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาแชในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 1 คืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาต้มให้เดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ ซึ่งตั้งบนแผ่นวัสดุดูดซับน้ำ อบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ตากแห้งด้วยพัดลม 3-6 ชั่วโมง เตรียมสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 นำไปตั้งไฟให้เดือด ใส่แผ่นเซลลูโลสลงไปต้มนาน 30 นาที นำออกมาล้างน้ำให้สะอาด เข้าเครื่องอัดรีดน้ำ นำมาจึงให้เรียงด้วยกรอบยี่ด อบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง แล้วนำกระดาษออกมาวัดค่าต่างๆเทียบกับกระดาษที่ไม่ได้ฟอกด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ พบว่า ความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 1.5 มีค่ามอดูลัสของยังและความแข็งแรงดึงสูงกว่าการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นอื่น ทั้งการวัดในแนวขวางและแนวยาว แสดงดังตารางที่ 6 และรูปที่ 14, 15 และ 16 และเมื่อนำค่าเหล่านี้มาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ค่ามอดูลัสของยังที่ความเข้มข้นไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 1.5 ทั้งจากการวัดตามขวางและวัดตามยาว มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญกับกระดาษที่ไม่ได้ทำการฟอกสี ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (ภาคผนวก ก-7, ก-8, ก-9, ก-10, ก-11 และ ก-12) โดยการทดลองได้สอดคล้องกับ พาสวดี และสุเมธ (2539) ได้รายงานว่าการใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นการทำให้แผ่นเซลลูโลสมีความบริสุทธิ์เพิ่มขึ้น โดยโซเดียมไฮดรอกไซด์จะสกัดเอาสิ่งเจือปนออกเป็นการเอาสิ่งขัดขวางการเกิดพันธะระหว่างเส้นใยเซลลูโลสออก ทำให้โอกาสการเกิดพันธะระหว่างเส้นใยเซลลูโลสเพิ่มขึ้น และทำให้ค่ามอดูลัสของยังของแผ่นเซลลูโลสเพิ่มขึ้น

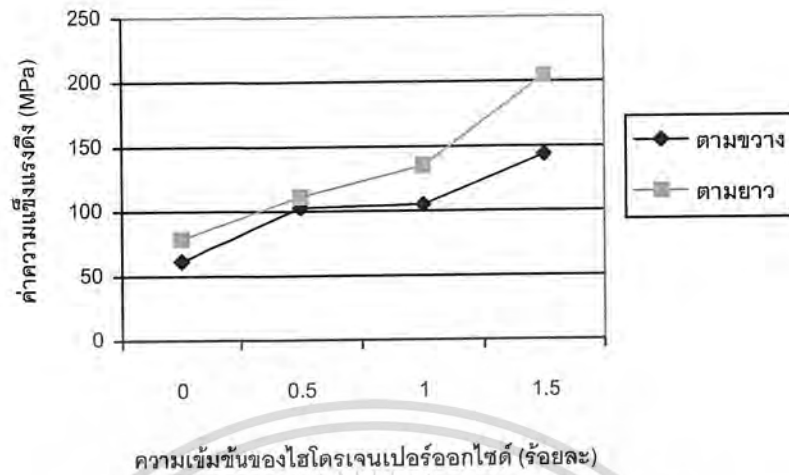
ตารางที่ 6 ค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึง และค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นกระดาษวุ้นมะพร้าวเมื่อใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ)	วัดในแนวขวาง			วัดในแนวยาว		
	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)
0	798.44	61.66	15.30	2143.56	78.73	7.90
0.5	2750.80	102.82	7.72	2857.09	111.59	6.81
1	2902.99	105.26	6.63	4030.18	135.10	6.10
1.5	5536.89	143.83	4.98	6382.23	204.90	5.91

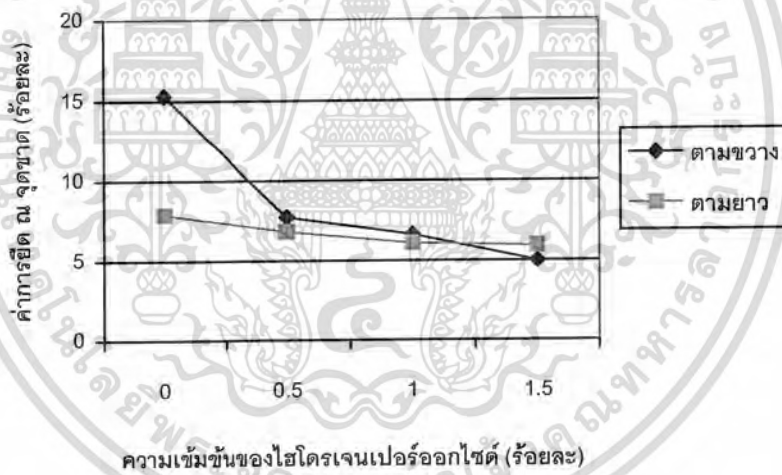


รูปที่ 14 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีผลต่อค่ามอดูลัสของยังของกระดาษวุ้นมะพร้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 15 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีผลต่อค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษหุ่นมะพร้าว



รูปที่ 16 ความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ที่มีผลต่อค่าการยืด ณ จุดขาดของกระดาษหุ่นมะพร้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 เปรียบเทียบสมบัติของกระดาษวุ้นมะพร้าวที่ได้กับกระดาษอื่นๆ

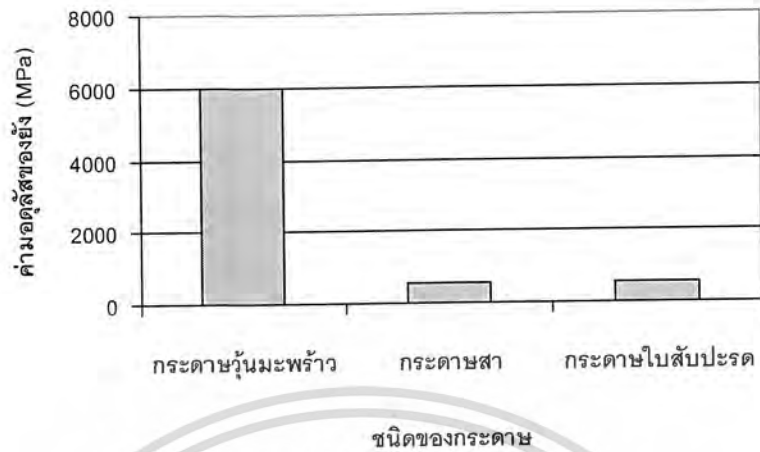
4.4.1 การเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของกระดาษวุ้นมะพร้าวกับกระดาษอื่นๆ

เลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเลี้ยงในสถานะนิ่ง ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลานาน 8 วัน นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 1 คืน (ประมาณ 12 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาต้มให้เดือด 15-20 นาที นำเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จึงตั้งบนแผ่นวัสดุดูดซับน้ำ ออบในตู้อบลมร้อน อุณหภูมิ 50-70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ตากแห้งด้วยพัดลม 3-6 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 นำไปตั้งไฟให้เดือด ทิ้งไว้ 30 นาที นำออกมาล้างน้ำให้สะอาด เข้าเครื่องรีดน้ำแล้วจึงให้ตั้งด้วยกรอบยึด ออบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 60-70 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง นำกระดาษวุ้นมะพร้าวมาวัดค่าต่างๆ เปรียบเทียบกับกระดาษสาและกระดาษใบสับปะรด พบว่าค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึง และค่าการยืด ณ จุดขาดของกระดาษวุ้นมะพร้าว มีค่าสูงมากกว่ากระดาษใบสับปะรด และกระดาษสา ตามลำดับ ดังตารางที่ 7 และรูปที่ 17, 18 และ 19

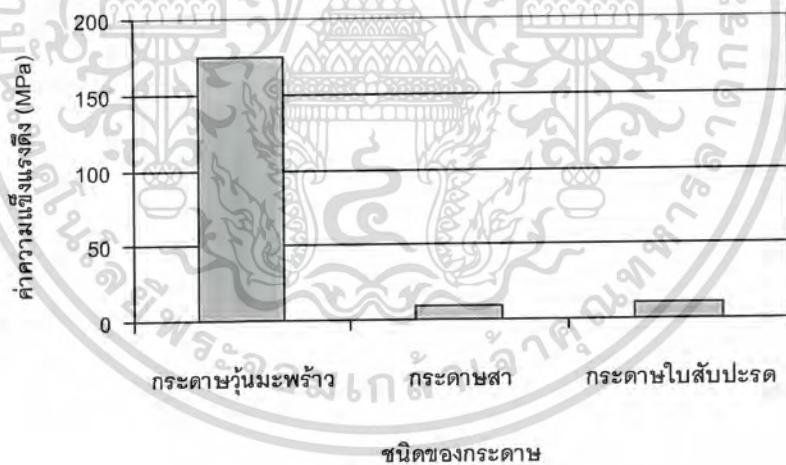
ตารางที่ 7 การเปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของกระดาษวุ้นมะพร้าวกับกระดาษสา และกระดาษจากใบสับปะรด

ชนิดของกระดาษ	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)
กระดาษวุ้นมะพร้าว	5959.56	174.37	5.45
กระดาษสา	539.48	9.46	5.98
กระดาษใบสับปะรด	544.00	11.15	6.64

หมายเหตุ : สมบัติเชิงกลของกระดาษวุ้นมะพร้าวได้มาจากค่าเฉลี่ยจากการวัดตามขวาง และตามยาว

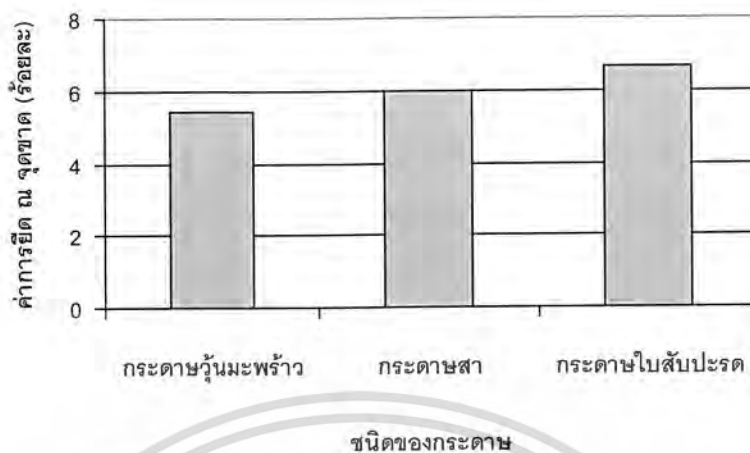


รูปที่ 17 การเปรียบเทียบค่ามอดูลัสของยัง ของกระดาษหยาบมะพร้าว กับกระดาษสา และกระดาษใบสับปะรด



รูปที่ 18 การเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษหยาบมะพร้าว กับกระดาษสา และกระดาษใบสับปะรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 19 การเปรียบเทียบค่าการยัด ฒ จุดขาด ของกระดาศวุ่นมะพร้าว กับกระดาศสา และกระดาศใบสับปะรด

4.4.2 การเปรียบเทียบความสามารถในการอมน้ำของกระดาศวุ่นมะพร้าว กับกระดาศสา และกระดาศใบสับปะรด (มอก. 214-2520)

ทำการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 แล้วนำมาผลิตกระดาศตามที่ได้จากการศึกษาในข้อ 4.3 แล้วนำกระดาศที่ได้มาทำการเปรียบเทียบความสามารถในการอมน้ำเทียบกับกระดาศสา และกระดาศใบสับปะรด โดยนำกระดาศทั้งสามชนิดไปชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำไปแช่น้ำเป็นเวลา 1 นาที นำขึ้นมาผึ่งลมให้แห้ง 1 นาที แล้วจึงชั่งน้ำหนักอีกครั้ง คำนวณหาความสามารถในการอมน้ำของกระดาศตามภาคผนวก ข. พบว่า กระดาศวุ่นมะพร้าวมีความสามารถในการอมน้ำร้อยละ 68.49 กระดาศสา ร้อยละ 82.17 และกระดาศใบสับปะรด ร้อยละ 82.12 ดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 การเปรียบเทียบความสามารถในการอมน้ำของกระดาศวุ่นมะพร้าว กระดาศสา และกระดาศใบสับปะรด

ชนิดของกระดาศ	ความสามารถในการอมน้ำของกระดาศ (ร้อยละ)
กระดาศวุ่นมะพร้าว	68.49
กระดาศสา	82.17
กระดาศใบสับปะรด	82.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.3 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำของกระดวยุ่นมะพร้าว กับกระดวยสา และกระดวยจากใบสับปะรด

ทำการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 แล้วนำมาผลิตกระดวยตามที่ได้จากการศึกษาในข้อ 4.3 แล้วนำกระดวยที่ได้มาทำการเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำกับกระดวยสา และกระดวยใบสับปะรด โดยทำการหยดน้ำ (ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร) ลงบนพื้นราบเรียบโดยใช้หลอดหยด จากนั้นวางชั้นกระดวยลงไปแล้วทำการจับเวลาตั้งแต่เริ่มวางจนกระทั่งเห็นน้ำซึมผ่านขึ้นมาที่ด้านบนของกระดวย พบว่า กระดวยุ่นมะพร้าวมีความสามารถในการซึมน้ำโดยใช้เวลาประมาณ 85 วินาที กระดวยสาใช้เวลาน้อยกว่า 0.5 วินาที ส่วนกระดวยสับปะรดใช้เวลาประมาณ 0.5 วินาที ดังตารางที่ 9

ตารางที่ 9 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำของกระดวยุ่นมะพร้าว กระดวยสา และกระดวยใบสับปะรด

ชนิดของกระดวย	ความสามารถในการซึมน้ำของกระดวย (วินาที)
กระดวยุ่นมะพร้าว	85
กระดวยสา	น้อยกว่า 0.5
กระดวยใบสับปะรด	0.5

4.4.4 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดวยุ่นมะพร้าว กับกระดวยสา และกระดวยใบสับปะรด

ทำการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 แล้วนำมาผลิตกระดวยตามที่ได้จากการศึกษาในข้อ 4.3 แล้วนำกระดวยที่ได้มาทำการเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำมันกับกระดวยสา และกระดวยใบสับปะรด โดยทำการหยดน้ำมัน (ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร) ลงบนพื้นราบเรียบโดยใช้หลอดหยด จากนั้นวางชั้นกระดวยลงไปแล้วทำการจับเวลาตั้งแต่เริ่มวางจนกระทั่งเห็นน้ำมันซึมผ่านขึ้นมาที่ด้านบนของกระดวย พบว่า กระดวยุ่นมะพร้าวมีสมบัติไม่ซึมน้ำมัน ส่วนกระดวยสาใช้เวลาน้อยกว่า 0.5 วินาที และกระดวยใบสับปะรดใช้เวลาประมาณ 0.5 วินาที ดังตารางที่ 10

ตารางที่ 10 การเปรียบเทียบความสามารถในการซับน้ำมันของกระดาษขุ่นมะพร้าว กระดาษสา และกระดาษใบสับประรด

ชนิดของกระดาษ	ความสามารถในการซับน้ำมันของกระดาษ (วินาที)
กระดาษขุ่นมะพร้าว	ไม่ซับน้ำมัน
กระดาษสา	น้อยกว่า 0.5
กระดาษใบสับประรด	0.5



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอนแนะ

จากการหาระยะเวลาที่เหมาะสมในการสร้างแผ่นเซลลูโลสจากอาหารน้ำมะพร้าว โดยเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 พบว่าระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ 8 วัน เซลลูโลสที่ผลิตได้จะมีความหนาและผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด โดยมีค่า 1.53 เซนติเมตรและ 12.12 กรัมต่อปริมาตรอาหาร 1.5 ลิตร ตามลำดับ จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสมาปรับให้เป็นกลางด้วยแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่างๆกัน พบว่าแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 จะทำให้กระดาษวุ้นมะพร้าวที่ได้มีค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึงสูง โดยมีค่าวัดในแนวยาวได้ดังนี้ 5068.31 MPa และ 125.28 MPa ตามลำดับแต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ก็การใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 0.3 0.7 และ 0.9 ตามลำดับ จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการใช้แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 ปรับให้เป็นกลางมาฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นต่างๆพบว่าไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะทำให้กระดาษวุ้นมะพร้าวที่ได้มีค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึง สูงกว่าการใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 1.0 และแผ่นวุ้นมะพร้าวที่ไม่ผ่านการฟอกสี โดยมีค่ามอดูลัสของยังและค่าความแข็งแรงดึงวัดในแนวยาว 6382.23 MPa และ 204.50 MPa ตามลำดับและพบว่ามีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 และผลิตกระดาษวุ้นมะพร้าว โดยเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 967 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเป็นเวลานาน 8 วัน นำมาปรับให้เป็นกลางด้วยสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และฟอกสีด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 นำกระดาษที่ได้มาศึกษาสมบัติเชิงกลเปรียบเทียบกับกระดาษใบสับปะรด และกระดาษสา พบว่า กระดาษจากวุ้นมะพร้าวมีค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่ากระดาษใบสับปะรดและกระดาษสา ตามลำดับ โดยกระดาษวุ้นมะพร้าวมีค่ามอดูลัสของยัง (ค่าเฉลี่ยในแนวขวางและยาวของแผ่นกระดาษ) 5959.56 MPa ขณะที่กระดาษสาและกระดาษจากใบสับปะรดมีค่ามอดูลัสของยัง 539.48 และ 544 MPa ตามลำดับ ค่าความแข็งแรงดึงของกระดาษวุ้นมะพร้าว กระดาษสา และกระดาษใบสับปะรดมีค่า 174.37 9.46 และ 11.15 MPa ตามลำดับ จากการนำกระดาษวุ้นมะพร้าวมาเปรียบเทียบกับคุณสมบัติในการอมน้ำ ความสามารถในการซึมน้ำ และความสามารถในการซับน้ำมันกับกระดาษสาและกระดาษใบสับปะรดพบว่า กระดาษวุ้นมะพร้าวใช้เวลาในการที่จะให้น้ำซึมขึ้นมานบนกระดาษ และไม่สามารถซับน้ำมันได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ซึ่งต่างกับกระดาษสาและกระดาษใบสับปรดที่ใช้เวลาเล็กน้อยน้ำจะซึมขึ้นมานบนแผ่นกระดาษ และกระดาษเหล่านี้ใช้เวลาน้อยมากในการซับน้ำมัน

ข้อเสนอแนะ

1. กระดาษที่ได้จากวุ้นมะพร้าวเป็นกระดาษที่เกิดขึ้นเป็นแผ่นเองจากการการสร้างเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967 จึงทำให้กระดาษมีลักษณะค่อนข้างประอบู่บ้างเมื่อเทียบกับกระดาษสาและกระดาษใบสับปรด เพราะกรรมวิธีในการผลิตกระดาษเหล่านี้มาจากการร่อนเอาเส้นใยเซลลูโลสที่บดจนละเอียดแล้วผ่านตะแกรง จึงทำให้การยึดติดของกระดาษมีลักษณะเป็นเยื่อ บางๆติดๆกัน ซึ่งเป็นเหตุให้ความแข็งแรงของกระดาษเหล่านี้มีน้อย แต่ในทางกลับกันเยื่อใยดังกล่าวจะทำให้กระดาษเหล่านี้มีความยืดหยุ่นสูงพับไปมาได้ ดังนั้นถ้าหากจะนำกระดาษวุ้นมะพร้าวไปผลิตเป็นกระดาษที่มีความคงทนสูง จำเป็นจะต้องมีเครื่องมือที่เหมาะสมสำหรับอัดรีดกระดาษโดยเฉพาะในการผลิต
2. กระดาษที่ผลิตได้จากวุ้นมะพร้าวจะขึ้นอยู่กับสภาวะแวดล้อมที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้ออีกด้วย ซึ่งหากสภาวะแวดล้อมในการเลี้ยงไม่คงที่ อาจทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อช้าลงหรืออาจจะไม่สร้างแผ่นเซลลูโลสเลยก็ได้
3. ในการทดลองควรควบคุมอุณหภูมิและเวลาในการอบไม่ให้มากเกินไป เนื่องจากอุณหภูมิที่สูงเกินไป และเวลาที่มากเกินไปจะมีผลทำให้ได้กระดาษที่มีลักษณะทางกายภาพที่ไม่ดี คือกระดาษจะมีลักษณะเปราะบาง แตกหักง่าย นอกจากนี้ยังจะทำให้กระดาษมีสีคล้ำ และหากใช้เวลามากเกินไปก็จะทำให้กระดาษไหม้ได้

เอกสารอ้างอิง

วราวุฒิ ทรูสง, นฤมล ชูวัฒนะเดช, เชิดชัย ตั้งอมรสฤษดิ์ และอินทรา ปรงเลิศบัวทอง. 2533. การผลิต
วุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 10(4) : 46 – 60

วราวุฒิ ทรูสง, กรวิภา สุขศรีวงศ์ และปณิตดา พวงเกษม. 2536. การผลิตเซลล์โลสจากเชื้อ *Acetobacter*
xylinum ในน้ำหางนม. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 1(1) : 47 – 50

สมทิต ธรรมรัตน์. 2530. วุ้นจากน้ำมะพร้าว. กสิกร 5 : 433 - 435

Alban, C.A. 1962. Studies on the optimum conditions for Nata de coco bacterium or Nata formation
in coconut water. The Philippine Agricultruist. 45 : 490-415.

Blackwell, j ., and Marchessault, R.H. 1971. Part IV. In N.M. Bikales., and L. Segal. (eds.),
Cellulose and Cellulose Derivatives, pp. 1. New York: Wiley-Interscience., Kolpak, F.J., and
Gardner, K.H. 1977. In J.C. Arthur (ed.), Cellulose Chemistry and Technology, pp. 42.
Washington: America Chemistry Society.

Benziman, M. and A. Mazover. 1973. Nicotinamide adenine dinucleotide and Nicotinamide adenine
dinucleotide phosphate specific glucose-6-phosphate dehydrogenase of *Acetobacter xylinum*
and their role in the regulation of the pentose cycle. J. Biological Chemistry. 248 : 1,603 -
1,608

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Cousins, S. K. and R. M. Brown, Jr. 1995 Cellulose microfibril assembly : computational molecular mechanics energy analysis favours bonding by Vander Waals forces as the initial step in crystallization. *Polymer*. 36 : 3,885 – 3,888
- Crueger, W. and A. Crueger. 1982. *Biotechnology : A textbook of industrial Microbiology*. Sinauer Associates, Sunderland. P. 380.
- Delhi, S. D. 1980. "Dairy by-product". Oxford University Press. Bombay, Calcutta. P. 545.
- Delmer, D.P. 1983. Biosynthesis of cellulose. *Adv. Carbohydr. Chem. Biochem.* 41: 105-153
- Dudman, W.F., 1959. Cellulose production by *Acetobacter acetigenum* in defined medium. *J. Gen. Microbiol.* 21: 327-337.
- Ebner, H. 1982 Vinegar. *In* G. Reed (ed.). *Proscott and Dunn's Industrial Microbiology*. 4th . Reed. A VI Publishing com., Inc Westport, Connecticut.
- Fontana, J.D., Joerke, C.G., Baron, M., Maraschin, M., Ferreira, A.G., Torriani, I., de Souza, A.M., Soares, M.B., Fontana, M.A., and Guimaraes, M.F., 1997. *Acetobacter* cellulose biosynthesis search for new modulators of cellulogenesis and native membrane treatments. *Appl. Biochem. Biotechnol.* 63/65: 327-338.
- Fornig, E.R., Anderson, S.M., and Cannon, R.E., 1989. Synthetic medium for *Acetobacter xylinum* that can be used for isolation of auxotrophic mutants and study of cellulose biosynthesis. *Appl. Environ. Microbiol.* 55: 1317-1319.
- Gossele, F. and J. Swings. 1985. Identification of nata-producing bacterium as *Acetobacter hanseni*. *The Philippine J. Science.* 114 (3-4) : 179-182.
- Guzman, M.P., E.F. Alabastro and C.B. Tinsay. 1982. A submerged process for the production of Nata. *NRCP Research Bull.* 37(1) : 1 – 50.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hestrin, S., M. Ascher and J. Mager. 1947. Synthesis of cellulose by resulting cells of *Acetobacter xylinum*. Nature(London). 159 : 64 – 65.
- Hestrin. S., and Sharmm, M., 1954. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum* : preparation of freeze dried cells capable of polymerizing glucose to cellulose. Biochem. J. 58: 345-352
- Iannino, N. I. D, R. Couso and M. A. Denkert. 1988. Lipid – linked intermediates and the synthesis of acetan in *Acetobacter xylinum*. J. General Microbiology.134 : 1,731 –1,736.
- Iguchi, M., Yamanaka, S., and Budhiono, A. 2000. Bacterial cellulose amasterpiece of natures arts. J. Mater. Sci. 35, 261–270.
- Ishikawa, A., M. Matsuoka, T. Tsuchuida and F. Yoshinaga. 1995. Increase in cellulose production by sulfaquanidine-resistant mutant derived from *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. Bioscience Biotechnology Biochemistry 59(2) : 2,259-2,260.
- Kennedy, J.F. 1988. Carbohydrate Chemistry. Oxford University Press, New York. P. 678
- Kang, K.S. and I.W. Corrtell. 1979. Polysaccharide In H.J., Pepler and D. Perlman (eds.). Microbial Technology. Academic Press, New York. pp. 418 – 481.
- Kaushal, R., and Walker. T.K 1951. Formation of cellulose by certain species of *Acetobacter*. Biochem. J. 48 : 618-621.
- Kring, N.R. and J.G. Holt. 1984. Bergy's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1 William and Wilkins, Baltimore. P. 964.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Krusong, W. and T. Yoshida. 1995. Counteraction of negative effect on cellulose formation in agitated culture of *Acetobacter xylinum* by addition of alginate gel beads as microaerophilic carrier. Annual Report International Conference Biotechnology, Japan. Pp. 155 – 200.

Kojima, Y., A. Seto, N. Tonouchi, T. Tsuchida and F. Yoshinaga. 1997. High rate production in static culture of bacterial cellulose from sucrose by a newly isolated *Acetobacter* strain. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 61(9) : 1,585-1,586.

Kouda, T., Y. Hisato, Y. Fumihiko and Y. Hisato. 1997. Effect of agitator configuration on bacterial cellulose productivity in aerated and agitated culture. *J. Fermentation and Bioengineering*. 83(4) : 371 – 374.

Lapuz, M.M., E.G. Gallardo and M.A. Palo. 1967. The Nata organism-culture requirements characteristics and identity. *The Philippine J. Science*. 96 : 91-109.

Marx-Figini, M. and B. G. Pion. 1982. The control of molecular weight and molecular-weight distribution. *In* R. M. Brown, Jr.(ed.). *Cellulose and the Other Natural Polymer System*. Plenum Publishing Corp., New York. pp. 243-271.

Masaoka, S. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *J. Ferment. Bioeng*. 75 : 18-22.

Matsuoka, M., T. Tsuchida, K. Matsumita, O. Adachi and Y. Yoshinaga. 1996. Asynthetic medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* subsp. *sucrofermentans*. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 60 : 575 – 579.

- Mayer, R., P. Ross, H. Weinhouse, D. Amikam, G. Volman, P. Ohana, R. D. Calhoon, H. C. Wong, A. W. Emerick and M. Benziman. 1991. Polypeptide composition of bacterial cyclic diquanylic acid-dependent cellulose synthase and the occurrence of immunologically crossreacting proteins in higher plants. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA.* 88 : 5,472-5,476.
- Naritomi, T., T. Kouda, H. Yano and F. Yoshinaga. 1998a. Effect of lactate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *J. Fermentation and Bioengineering.* 85: 89-95.
- Nishi, Y., Uryu, M., Yamanaka, S., Watanabe, K., Kitamura, N., Iguchi, M., and Mitsunashi, S. 1990. The Structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. Part 2 Improvement of the mechanical properties of sheets and their applicability to diaphragms of electroacoustic transducers. *J. Mater. Sci.* 25 : 2,997-3,001.
- Ohara, H., K. Hiyama and T. Yoshida. 1992. Kinetic study on pH dependence of growth and death of *Streptococcus faecalis*. *Applied Microbiology Biotechnology.* 38 : 403 – 407.
- Oikawa, T., T. Kamatani, M. Ameyama and K. Soda. 1997. Endo- β -glucanase from *Acetobacter xylinum* : purification and characterization. *Current Microbiology.* 34 : 309-313.
- Ross, P., M. Raphael and B. Moshe. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. *Microbiology Review.* 55: 35 – 38.
- Satoshi, M., T. Ohe and N. Sakota. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *J. of fermentation and Bioengineering.* 75 : 18 – 22.
- Shramm, M. and S. Hestrin. 1954. Factors affecting production of cellulose at the air/liquid interface of a culture of *Acetobacter xylinum*. *J. Gen. Microbiol.* 11 : 123-129.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Stanbury, P. F. and Whitaker. 1984. Principle of fermentation Technology. Oxford, Pergamon Press. p. 459.
- Tahara. N., M. Tabuchi. K. Watanabe. H. Yano. Y. Morinaga and F. Yoshinaga. 1997a. Degree of polymerization of cellulose from *Acetobacter xylinum* BPR2001 decrease by the strain. Bioscience Biotechnology Biochemistry. 61(11) : 1,862 – 1,865.
- Toyosaki, H., T. Naritomi, A. Seto, M. Matsuoka, M. Tsuchida and F. Yoshonaga. 1995. Screening of bacterial cellulose –producing *Acetobacter* strain suitable for agitated culture. Bioscience Biotechnology Biochemistry. 59 : 1,498 – 1,502.
- Wilkinson, J. F. 1958. The extra cellular polysaccharide of bacteria. Bacteriology Review. 22 : 49-73.
- Yang, Y. K., S. H. Park, J. W. Hwang, Y. R. Pyurr and Y. S. Kim. 1998. Cellulose production by *Acetobacter xylinum* BRC5 under agitated condition. J. Fermentation and Bioengineering. 85(3) : 312-317.
- Yamada, Y. 1983. *Acetobacter xylinum* sp. Nov., nom. Rev., for the cellulose-forming and cellulose-less, acetate-oxidizing acetic acid bacteria with the Q-10 system. J. General Applied Microbiology. 29 : 471-420.
- Yamanaka et.al. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. J. Mat. Sci. 24. 3,141-3,145.
- Yamashiki, T., Matsui, T., Kowsaka, K., Saitoh, M., Okijima, K., and Kamid, K. 1992. New class of cellulose fiber spun from the novel solution of cellulose by wet spinning method. J. Appl. Polym. Sci. 44(4): 691-698

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yoshinaga, F., T. Naoto and W. Kunihiro. 1997. Research progress in production of bacterial cellulose by aeration and agitation culture and its application as a industrial material. *Bioscience Biotechnology Biochemistry*. 61 : 219-224.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.

สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 967

อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าว

แอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.1

น้ำตาลทราย ร้อยละ 5

กรดอะซิติก ร้อยละ 1

วิธีการเตรียม

1. กรองน้ำมะพร้าวแก้ด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกสิ่งเจอปนออกจากน้ำมะพร้าว
2. ต้มน้ำมะพร้าวที่กรองแล้วให้เดือดนาน 15 นาที
3. เติมน้ำตาลทรายและแอมโมเนียมซัลเฟต ในน้ำมะพร้าวที่ต้มไว้ให้เย็นเติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 เพื่อปรับค่าพีเอชของอาหารเป็น 4-5
4. นำใส่ขวดรูปชมพู่และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ภาคผนวก ข.

การวิเคราะห์คุณภาพของกระดาษ

1. ความหนาของกระดาษ เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ ไมโครมิเตอร์ (micrometer)

2. ความสามารถในการอมน้ำของกระดาษ

วิธีการทดลอง

1. ชั่งมวลของกระดาษตัวอย่าง
2. นำแผ่นกระดาษที่ทราบมวลแล้วไปแช่น้ำ 1 นาที
3. นำกระดาษขึ้นมาแขวนผึ่งไว้ 1 นาที
4. ชั่งมวลของกระดาษอีกครั้ง

วิธีการคำนวณ

$$\text{ความสามารถในการอมน้ำของกระดาษ (ร้อยละ)} = \frac{A - B}{A} \times 100$$

A = น้ำหนักของกระดาษหลังแช่น้ำ (กรัม)

B = น้ำหนักของกระดาษก่อนแช่น้ำ (กรัม)

3. ความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ (มอก.214-2520)

วิธีทดลอง

1. หยดน้ำลงบนพื้นราบที่มีความเรียบเสมอกัน
2. วางแผ่นกระดาษที่ต้องการทดสอบการซึมน้ำลงบนหยดน้ำพร้อมกับบันทึกเวลาจนกระทั่งหยดน้ำซึมขึ้นมถึงด้านบนของกระดาษ

4. ความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษ

วิธีการหาการซึมน้ำมันของกระดาษสามารถทำได้ด้วยวิธีการเดียวกับการทดลอง

เรื่องความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ

5. ความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) (มอก. 1353 เล่ม 3-2540)

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ Universal Testing Machine (UTM) รุ่น TA plus

วิธีคำนวณ

$$\text{ความแข็งแรงดึง (นิวตัน/ตารางเมตร)} = F / A$$

เมื่อ $F =$ แรงดึง (นิวตัน)

$A =$ พื้นที่หน้าตัดของชิ้นทดสอบ (ตารางมิลลิเมตร)

6. ค่าการยืด ณ จุดขาด (Percent Elongation at Maximum Load) (มอก. 1353 เล่ม 3-2540)

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ Universal Testing Machine (UTM) รุ่น TA plus

วิธีคำนวณ

ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ) = ผลต่างระหว่างความยาวเริ่มต้นกับความยาวสุดท้ายหลังดึง x 100

7. ค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) (มอก. 1353 เล่ม 3-2540)

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ Universal Testing Machine (UTM) รุ่น TA plus

วิธีคำนวณ

$$\text{Young's Modulus, } E = \frac{\text{tensile stress}}{\text{tensile strain}} \quad (1)$$

$$= \frac{\text{tensile force}}{\text{area of cross-section}} \quad (2)$$

$$= \frac{Mg}{A} \quad (3)$$

$$= \frac{\text{extension}}{\text{original length}} \quad (3)$$

แทนค่า (2) และ (3) ใน (1) จะได้

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

Tensile stress (ความเค้นดึง) คือความสามารถหรือความทนต่อแรงภายนอกที่มากระทำต่อวัตถุ (loads) ต่อหน่วยพื้นที่หน้าตัด มีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางเมตร (N/m^2) หรือพาสคัล (Pascals, Pa)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

ตารางการวิเคราะห์ทางสถิติ

ตารางภาคผนวกที่ ค-1 ความแตกต่างของความหนาของเซลล์ูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967 เมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะนิ่งโดยระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อต่างกัน

ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ (วัน)	ความหนา (เซนติเมตร)
2	0.39d
4	0.63c
6	1.07b
8	1.53a
10	1.54a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-2 ความแตกต่างของผลผลิตเซลล์ูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 967 เมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะนิ่งโดยระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อต่างกัน

ระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ (วัน)	ผลผลิตเซลล์ูโลส
2	1.85d
4	4.87c
6	9.51b
8	12.12a
10	12.16a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-3 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ความเข้มข้นของ
แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของยัง (Mpa)
0.1	2153.5777 b
0.3	2736.6824 b
0.5	5068.3060 a
0.7	4242.4450 a
0.9	4792.2757 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น
ร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-4 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ความเข้มข้น
ของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)
0.1	108.7200 b
0.3	135.3262 ab
0.5	140.8662 a
0.7	116.3352 ab
0.9	128.6150 ab

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น
ร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ก-5 ความแตกต่างของการยึด ณ จุดขาดวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ความเข้มข้นของ
แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (ร้อยละ)
0.1	6.5846 a
0.3	6.1173 a
0.5	6.0081 a
0.7	5.0566 a
0.9	4.6468 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น
ร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ก-6 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ความเข้มข้นของ
แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)
0.1	1862.1440 a
0.3	2027.7213 a
0.5	4656.6737 a
0.7	4048.0883 a
0.9	4471.1543 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น
ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-7 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (ร้อยละ)
0.1	126.2367 a
0.3	125.6583 a
0.5	125.2750 a
0.7	117.9699 a
0.9	120.9877 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสคมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-8 ความแตกต่างของการยืด ณ จุดขาดวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ความเข้มข้นของแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (ร้อยละ)
0.1	8.3158 a
0.3	7.5647 a
0.5	8.2309 a
0.7	6.6223 a
0.9	7.1765 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสคมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-9 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)
0	2143.5570 c
0.5	2857.0853 bc
1.0	4030.1820 b
1.5	6382.2333 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-10 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)
0	78.7323 c
0.5	111.5873 bc
1.0	135.0980 b
1.5	204.9040 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-11 ความแตกต่างของการยึด ณ จุดขาดวัดตามแนวยาวเมื่อใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง
0	7.8960 a
0.5	6.8090 ab
1.0	6.1017 b
1.5	5.9147 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-12 ความแตกต่างของค่ามอดูลัสของยังวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างกัน

ความเข้มข้นของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)
0	798.4390 c
0.5	2750.7913 b
1.0	2902.9913 b
1.5	5536.8850 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวกที่ ค-13 ความแตกต่างของค่าความแข็งแรงดึงวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ความเข้มข้น
ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)
0	61.6553 c
0.5	102.8197 b
1.0	105.2573 b
1.5	143.8223 a

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น
ร้อยละ 95

ตารางภาคผนวกที่ ค-14 ความแตกต่างของการยืด ณ จุดขาดวัดตามแนวขวางเมื่อใช้ความเข้มข้น
ของไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ต่างๆกัน

ความเข้มข้นของ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (ร้อยละ)
0	15.2990 a
0.5	7.7223 b
1.0	6.6347 b
1.5	4.9763 b

* ค่าเฉลี่ยจากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น
ร้อยละ 95