สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การผลิตกระดาษจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับไคโตซาน

นางสาวมาวิณี แย้มจันทรามาศ
นางสาวสาวิตรี อุมะวรรณ
นางสาวอมรรัตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี

2548

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....67300.....
วัน,เดือน,ปี.....22 พ.ย. 2549

.b.....11663170.....
.i.....

โครงงานพิเศษเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2548

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Paper Production from Bacterial Cellulose with Chitosan

Mawinee Yaemchantramart

Sawitee Umawan

Amornrat Suwanposri

A Special Project Submitted in Partial 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 2005

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การผลิตกระดาษจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับไคโตซาน		
นักศึกษา	นางสาวมาวิณี	แย้มจันทรามาศ	รหัสประจำตัว 45050228
	นางสาวสาวิตรี	อุมะวรรณ	รหัสประจำตัว 45050247
	นางสาวอมรรัตน์	สุวรรณโพธิ์ศรี	รหัสประจำตัว 45050261
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์		
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ		
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดวงใจ โอชัยกุล		
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร.สุภารัตน์ รักชลธี		
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์		
คณะวิทยาศาสตร์	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง		

อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

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

.....

(รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง)

หัวหน้าภาควิชา

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง	การผลิตกระดาษจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับไคโตซาน
	Paper Production from Bacterial Cellulose with Chitosan
นักศึกษา	นางสาวมาวิณี แย้มจันทรามาศ
	นางสาวสาวิตรี อุมะวรรณ
	นางสาวอมรรัตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
ปีการศึกษา	2548
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ. ดวงใจ โอชัยกุล
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	ผศ.ดร.สุการัตน์ รักชลธี

บทคัดย่อ

แบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 976 สามารถสร้างเซลลูโลสในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและสูตรเวย์ สูตรเวย์ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงกว่าสูตรน้ำมะพร้าวโดยให้ความหนาและผลผลิตเซลลูโลส 0.68 เซนติเมตร และ 0.778 กรัมต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ ในวันที่ 6 ของการหมัก นำอาหารสูตรเวย์มาผสมสารละลายไคโตซานในความเข้มข้นต่างๆ (0-1 %โดยปริมาตรต่อปริมาตร) เพื่อผลิตกระดาษ พบว่าการใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.2 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะให้ความหนาของแผ่นเซลลูโลสสูง กระดาษที่ได้มีสมบัติเชิงกลสูงสุด คือ ค่ามอดูลัสของยังเท่ากับ 2,107.67 MPa ค่าความแข็งแรงดึงเท่ากับ 56.18 MPa และค่าการยืด ณ จุดขาดเท่ากับร้อยละ 2.33 แบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรคไม่สามารถผ่านแผ่นกระดาษได้ กระดาษมีค่าอัตราการซึมผ่านของน้ำ 1,105 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน อัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 22,750 ลูกบาศก์เมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งสูงกว่ากระดาษที่ได้จากเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Paper Production from Bacterial Cellulose with Chitosan
Name	Ms. Mawinee Yaemchantramart
	Ms. Sawitee Umawan
	Ms. Amornrat Suwanposri
Department	Applied Biology
Program	Biotechnology
Academic Year	2005
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul
Special Project Co-Advisor	Asst. Prof. Dr. Suparat Rukchonlatee

Abstract

Bacterial cellulose was produced from *Acetobacter xylinum* TISTR 976 in coconut and whey medium. Whey medium gave the higher yield of bacterial cellulose than coconut medium, which thickness and yield of cellulose were 0.68 cm. and 0.778 g/media 100 ml, respectively, in 6th day of fermentation. Whey medium was mixed with various chitosan concentrations (0-1%v/v) to produce paper. It was found that 0.2 %(v/v) chitosan concentration gave the highest thickness of bacterial cellulose. Its paper had the highest mechanical properties; young's modulus was 2,107.67 MPa, tensile strength was 56.18 MPa and elongation at break was 2.33%. Pathogenic bacteria didn't penetrate through the paper. Water vapor transmission rate of the paper was 1,105 g/m^2/day and oxygen transmission rate of the paper was 22,750 dm^3/m^2/day which was higher than paper from bacterial cellulose.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดวงใจ โอชัยกุล เป็นอย่างยิ่งที่ได้ให้โอกาส คำแนะนำแนวทางในการค้นคว้าวิจัย การทำวิจัย การเขียนโครงงานพิเศษฉบับนี้ รวมทั้งการตรวจทานแก้ไขโครงงานพิเศษนี้ให้ถูกต้องสมบูรณ์และการให้คำแนะนำปรึกษาทุกๆอย่าง ไม่ว่าจะเป็นเรื่องใดก็ตามตลอดมา

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภารัตน์ รักชลธี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมเป็นอย่างสูง ที่ได้ให้คำแนะนำและคำปรึกษาในทุกๆเรื่องสำหรับการวิจัย อีกทั้งยังเอื้อเฟื้อให้ความช่วยเหลือเรื่องเครื่องมือทุกๆชิ้นจากภาควิชาเคมี

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง ประธานคณะกรรมการสอบโครงงานพิเศษที่ได้ช่วยตรวจทานแก้ไขในการทำโครงงานพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณ อาจารย์คณะกรรมการทุกๆท่านสำหรับการสอบวิชาโครงงานพิเศษ

ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ด้วยความเคารพรักยิ่ง สำหรับโอกาส ความรัก คำแนะนำ และกำลังใจในการศึกษาและการทำโครงงานพิเศษ สิ่งที่ท่านมอบให้มากเกินจะเขียนได้

สุดท้ายขอขอบพระคุณอาจารย์ นักวิทย์ฯ และเพื่อนทุกท่านที่มิได้กล่าวนามมา ณ ที่นี้ ที่ให้คำปรึกษา การสนับสนุน ช่วยเหลือรวมทั้งเป็นกำลังใจในการทำการศึกษาวิจัยมาโดยตลอด รวมถึงมีส่วนช่วยให้โครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

นางสาวมาวิณี แย้มจันทรามาศ
นางสาวสาวิตรี อุมะวรรณ
นางสาวอมรรัตน์ สุวรรณโพธิ์ศรี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการ	4
2.1 แบคทีเรียที่สามารถผลิตเส้นใยเซลลูโลสได้ (Bacterial cellulose)	4
2.2 การสังเคราะห์เซลลูโลสโดยเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส	5
2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์เซลลูโลสโดยแบคทีเรีย	9
2.4 กระบวนการผลิตเต้าหู้	15
2.5 ไคติน (chitosan) และไคโตซาน (chitosan)	17
2.5.1 การใช้ไคโตซานเป็นสารเพิ่มความแข็งแรงหรือความเหนียวของกระดาษ	20
2.6 กระดาษ	21
2.6.1 องค์ประกอบของกระดาษ	21
2.6.2 กระบวนการผลิตกระดาษ	24
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	28
3.1 วัสดุอุปกรณ์	28
3.1.1 จุลินทรีย์	28
3.1.2 วัตถุดิบ	28
3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อ	28
3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์	28
3.2 วิธีการทดลอง	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเปรียบเทียบกับอาหารสูตรเวย์ 29
3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ (Starter) 29
3.2.1.2 การหมักโดยใช้อาหารสูตรน้ำมะพร้าว 29
3.2.1.3 การหมักโดยใช้อาหารสูตรเวย์ 30
3.2.1.4 การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลสที่ผลิตได้ 30
3.2.2 ศึกษาการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน 30
3.2.2.1 การเตรียมสารละลายไคโตซาน 30
3.2.2.2 การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารละลายไคโตซาน 30
3.2.2.3 การผลิตกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส 31
3.2.3 ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ได้ 31
3.2.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระดาษที่ผลิตได้ 31
3.2.4.1 วิธีการเตรียมเชื้อที่ใช้ 31
3.2.4.2 วิธีการเตรียมกระดาษที่จะนำมาใช้ในการทดสอบ 32
3.2.4.2.1 การเตรียมแผ่นที่เป็นไคโตซานอย่างเดียวซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม 32
3.2.4.2.2 การเตรียมกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย 32
3.2.4.2.3 การเตรียมกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นที่เหมาะสม 32
3.2.4.3 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระดาษที่ผลิตได้ 32
3.2.5 ทดสอบการซึมผ่านของแบคทีเรีย (Penetration of Bacteria) 33
3.2.5.1 วิธีการเตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบ 33
3.2.5.2 วิธีการเตรียมกระดาษที่จะนำมาใช้ในการทดสอบ 33
3.2.5.3 วิธีการทดสอบการซึมผ่านของแบคทีเรียบนกระดาษที่ผลิตได้ 33
3.2.6 ทดสอบความสามารถในการอมน้ำของกระดาษ 33
3.2.7 ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ (มอก. 214-2520) 34
3.2.8 ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษ 34
3.2.9 ทดสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Determination of Water Vapour Transmission Rate) 34
3.2.10 ทดสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน 34
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1. ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเปรียบเทียบกับอาหารสูตรเวย์ 35
4.2 ศึกษาการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน 38
4.2.1 การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารละลายไคโตซาน 38
4.3 ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับสารละลายไคโตซาน 40
4.4 ศึกษาการทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของกระดาษ 43
4.5 การศึกษาการซึมผ่านของแบคทีเรีย 46
4.6 ทดสอบความสามารถในการอมน้ำของกระดาษ 47
4.7 ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ 47
4.8 ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษ 48
4.9 ทดสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ 49
4.10ทดสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน 49
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 51
เอกสารอ้างอิง 53
ภาคผนวก 57
ภาคผนวก ก. อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ 57
ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์คุณภาพของกระดาษ 59
ภาคผนวก ค. การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ 61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum*	11
ตารางที่ 4.1	การเปลี่ยนแปลงความหนาและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและสูตรเวย์ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน	35
ตารางที่ 4.2	ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน	39
ตารางที่ 4.3	คุณสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน	41
ตารางที่ 4.4	ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) การเจริญของแบคทีเรียเมื่อใช้ไคโตซานที่ผลิตได้มาทดสอบ	44
ตารางที่ 4.5	การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ จากกระดาษที่ผลิตได้	45
ตารางที่ 4.6	ความสามารถในการอมน้ำของกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในเวลา 1 นาที	47
ตารางที่ 4.7	การเปรียบเทียบความสามารถในการอมน้ำของเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	48
ตารางที่ 4.8	การเปรียบเทียบความสามารถในการอมน้ำของเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	48
ตารางที่ 4.9	การเปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านไอน้ำ (กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน) ที่อุณหภูมิ 38 งศาเซลเซียสของเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	49
ตารางที่ 4.10	เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน) ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 ของเซลลูโลสจาก แบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	50

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

หน้า

รูปที่ 1 เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียและพืช 4

รูปที่ 2 วิถีการสังเคราะห์เซลลูโลสของ Acetobacter xylinum 6

รูปที่ 3 โครงสร้างของ Cellulose Synthase (bcs) Operon. 6

รูปที่ 4 การสร้างเซลลูโลสในเซลล์ของแบคทีเรีย 7

รูปที่ 5 ขั้นตอนการผลิตเต้าหู้แผ่นจากถั่วเหลือง 16

รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของไคติน 17

รูปที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน 18

รูปที่ 8 ขั้นตอนการผลิตไคตินและไคโตซาน 18

รูปที่ 4.1 ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและอาหารสูตรเวย์ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน 37

รูปที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและอาหารสูตรเวย์ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา12 วัน 38

รูปที่ 4.3 ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน 41

รูปที่ 4.4 ค่ามอดูลัสของยังที่ได้จากกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน ใน ความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน 42

รูปที่ 4.5 ค่าความแข็งแรงดึงที่ได้จากกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน 42

รูปที่ 4.6 ค่าการยืด ณ จุดขาดที่ได้จากกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน 43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่1
บทนำ

1.1 ที่มาและความสำคัญของโครงงานพิเศษ

วุ้นน้ำมะพร้าวหรือแบคทีเรียเซลลูโลส (Bacterial cellulose) มีลักษณะเป็นวุ้น (Cartilaginous substance) มีสีขาวหรือสีครีม เกิดจากการเจริญของแบคทีเรียซึ่งมีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Acetobacter xylinum* แผ่นที่เกิดขึ้นมีลักษณะนุ่มหนาคล้ายวุ้นสีขาวนวลหรือสีครีม เรียกแผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวหรือแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลส ซึ่งมีองค์ประกอบคิดเป็นร้อยละโดยน้ำหนัก ดังนี้ คาร์โบไฮเดรตร้อยละ 3.00 โปรตีนร้อยละ 0.68 ไขมันร้อยละ 0.5 เถ้าร้อยละ 0.77 น้ำร้อยละ 94.4 และสารจำพวกเกลือแร่ วิตามินต่างๆอีกเล็กน้อย รวมอยู่ด้วยกันจนเกิดเป็นแผ่นวุ้นหนานุ่มดังกล่าว (นีโลบล, 2545)

วุ้นน้ำมะพร้าว หรือแบคทีเรียเซลลูโลส (Bacterial cellulose) หรือเรียกย่อว่า BC เซลล์ของแบคทีเรียชนิดนี้สามารถสร้างสารประกอบเซลลูโลสออกมาเป็นสายยาวประมาณครั้งละ 12-70 โมเลกุลสายเซลลูโลสที่สร้างออกมาจะลงไปอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อและประสานกับสายเซลลูโลสอันอื่นๆ ด้วยพันธะไฮโดรเจน (Hydrogen bond) และจะได้เส้นใยขนาดเล็ก เรียกว่า ไฟบริล (fibril) ไฟบริลเหล่านี้มีคุณภาพเหนือกว่าไฟบริลของพืช เนื่องจากโมเลกุลของเซลลูโลสเรียงตัวขนานกันอย่างเป็นระเบียบ (crystalline structures) ซึ่งทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีคุณสมบัติทางกายภาพ เช่น ค่าต้านแรงดึงขาด (Tensile strength) ความต้านทานแรงดันทะลุ (Bursting strength) และค่าอื่นมีค่าสูง ไฟบริลของเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางเล็กมาก ประมาณ 0.01 ไมครอน ซึ่งเล็กเป็น 300 เท่า เมื่อเทียบกับเส้นใยของไม้หรือพืชชนิดอื่นทั่วไป (Yamanaka *et al*, 1989) และไฟบริลของเซลลูโลสจากแบคทีเรียประสานกันจนคล้ายร่างแห จึงมีคุณสมบัติอุ้มน้ำไว้ได้มากเกินกว่าที่เส้นใยของพืชอื่นๆจะทำได้ (Johnson, 1990)

Yamanaka และคณะ (1989) ได้ศึกษาโครงสร้างและคุณสมบัติของกระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลส โดยใช้เชื้อ *Acetobacter aceti* พบว่ากระดาษที่ได้มีค่า Young's modulus สูงกว่า 15 GPa ซึ่งแสดงว่าโมเลกุลเซลลูโลสจับตัวแน่นมาก ทำให้กระดาษที่ได้มีความแข็งแรง

ไคโตซานเป็นพอลิแซคคาไรด์ในธรรมชาติเพียงชนิดเดียวที่มีประจุบวก ซึ่งมีการนำไปประยุกต์ใช้ในเชิงพาณิชย์อย่างมากมาย ในอุตสาหกรรมกระดาษได้มีงานวิจัยพบว่า การเติมไคโตซานลงไปในกระบวนการผลิตกระดาษทั้งจากเยื่อใยยาวและเยื่อใยสั้นที่มีประจุลบซึ่งใช้ในการผลิตกระดาษทั่วไป สามารถปรับปรุงสมบัติเชิงกลของกระดาษได้เหมือนกับการเติมแคทไอออนิกพอลิอิเล็กโทรไลท์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เช่น พอลิเอมีนต่างๆที่ใช้ปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษอยู่ในปัจจุบัน ทั้งนี้เพราะไคโตซานสามารถเพิ่มจำนวนพันธะอิออนิกและพันธะไฮโดรเจนในโครงร่างตาข่ายของเส้นใยเซลลูโลสได้ นอกจากนี้การใช้ไคโตซานยังมีข้อดีอีกหลายด้านเช่น ไม่ก่อให้เกิดสารตกค้าง เนื่องจากไคโตซานสามารถย่อยสลายในธรรมชาติไปเป็นปุ๋ยให้กับสิ่งแวดล้อมได้และไม่เป็นพิษ

ปัจจุบันนี้การผลิตกระดาษโดยทั่วไป นิยมนำไม้มาเพื่อผลิตกระดาษ ทำให้ป่าไม้ถูกทำลายและเป็นการทำลายทรัพยากรธรรมชาติของประเทศ ก่อให้เกิดปัญหาต่างๆตามมามากมาย ดังนั้น ถ้าเราสามารถหาวัตถุดิบอื่นมาทดแทนเนื้อไม้เพื่อนำมาใช้ผลิตกระดาษ เป็นการช่วยอนุรักษ์ธรรมชาติป่าไม้ไว้ได้ ขณะเดียวกันปัจจุบันนี้สถานการณ์ตลาดวุ้นมะพร้าว เพื่อใช้บริโภคเป็นอาหารเสริม เช่น วุ้นในน้ำเชื่อม วุ้นในไอศกรีม เป็นต้น มีภาวะอิ่มตัว จึงส่งผลกระทบต่อเกษตรกรผู้ผลิตในเรื่องภาวะราคาวุ้นน้ำมะพร้าวตกต่ำ งานวิจัยเรื่องนี้จึงได้สนใจใช้ประโยชน์จากวุ้นน้ำมะพร้าวไปในแนวทางอื่น โดยนำมาใช้ผลิตกระดาษร่วมกับไคโตซาน และศึกษาคุณสมบัติของกระดาษชนิดนี้ ทั้งเชิงกลและฤทธิ์ในการต้านทานจุลินทรีย์ ซึ่งนอกจากนี้จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นกระดาษที่มีคุณสมบัติแตกต่างจากกระดาษชนิดอื่น แล้วยังสามารถลดปัญหาจากการที่นำน้ำมะพร้าวซึ่งเป็นของเหลือทิ้งปล่อยลงในแม่น้ำลำคลองทำให้เกิดการเน่าเหม็นเกิดขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์

1. ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและอาหารสูตรเวย์ เพื่อดูว่าเชื้อมีการเจริญและการสร้างเซลลูโลสสูงสุดในอาหารสูตรใด และใช้เวลานานเท่าใด เพื่อนำมาใช้ในการทดลองต่อไป

2. ศึกษาการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน โดยเตรียมสารละลายไคโตซานผสมในอาหารสูตรที่คัดเลือกจากข้อ 1

3. ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ผลิตได้

4. ศึกษาคุณสมบัติฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเน่าเสียหรือจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคของกระดาษที่ผลิตได้

5. ศึกษาคุณสมบัติในการซึมผ่านของจุลินทรีย์บนกระดาษที่ผลิตได้ รวมทั้งคุณสมบัติต่างๆ เช่น ความสามารถในการอมน้ำ ความสามารถในการซึมน้ำและความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษที่ผลิตได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถนำวัสดุเหลือทิ้ง (น้ำมะพร้าวแก่ เวย์) มาใช้ประโยชน์โดยนำมาเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย เพื่อให้ผลิตเซลลูโลส จากนั้นนำเซลลูโลสที่ได้มาทำกระดาษโดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อผสมกับสารละลายไคโตซาน ซึ่งจะได้กระดาษที่มีคุณสมบัติที่แตกต่างจากกระดาษชนิดอื่น นอกจากได้กระดาษเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่แล้วยังช่วยลดปัญหาเกี่ยวกับสิ่งแวดล้อมได้อีกทางหนึ่ง และยังสามารถช่วยอนุรักษ์ป่าไม้ซึ่งเป็นทรัพยากรธรรมชาติอันมีค่ายิ่งของประเทศ

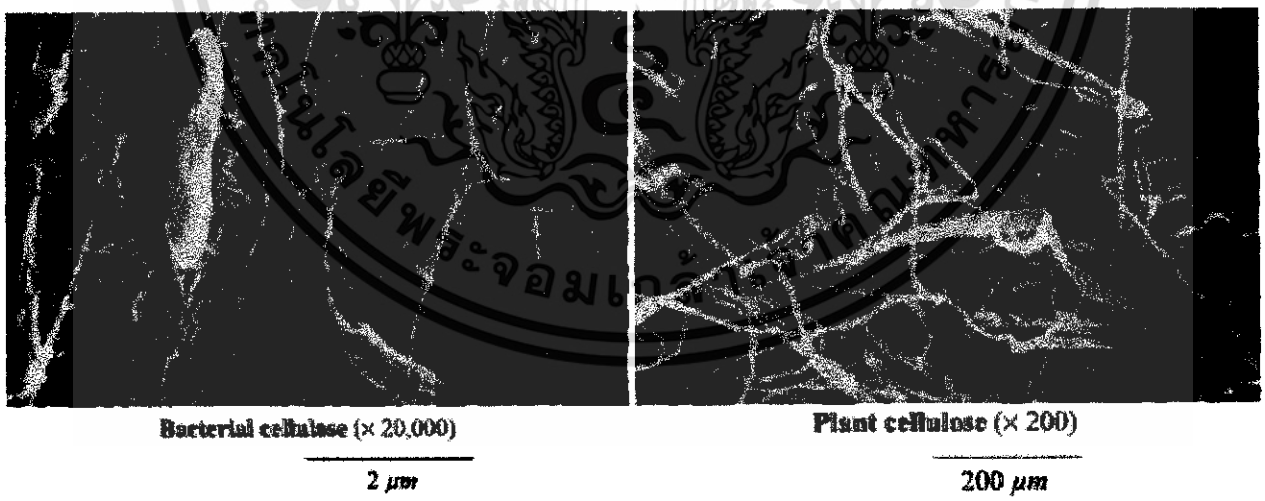
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการ

2.1 แบคทีเรียที่สามารถผลิตเส้นใยเซลลูโลสได้ (Bacterial cellulose)

เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักของผนังเซลล์พืช แต่มีแบคทีเรียบางชนิดที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้ เซลลูโลสที่สร้างจากแบคทีเรียนั้นจะเรียกว่า เซลล์ไบโอเซลลูโลส (celled biocellulose) หรือแบคทีเรียเซลลูโลส (bacterial cellulose) เซลลูโลสที่ได้จากพืชและเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียมีโครงสร้างทางเคมีเหมือนกัน แต่แตกต่างกันที่คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมี ดังแสดงในรูปที่ 1

ในปัจจุบันนี้ พบแบคทีเรียบางชนิดสามารถผลิตเส้นใยเซลลูโลสได้ เช่น แบคทีเรียใน Genus *Acetobacter* เช่น *A. aceti* *A. rancens* *A. pasteurianum* *A. kuetzigianum* แต่ที่นิยมใช้กัน คือเชื้อ *A. xylinum* หรือมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *A. aceti* subspecies *xylinum* เส้นผ่านศูนย์กลางของเซลลูโลสที่ผลิตได้มีประมาณ 1/100 เท่าของเซลลูโลสที่ได้จากพืช และมีค่ายังโมดูลัส (Young's modulus) ค่าใกล้เคียงกับอะลูมินัม ดังนั้น จึงมีการศึกษาเรื่องการนำเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้เป็นพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายได้ รวมทั้งการศึกษาเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมต่างๆ และได้มีการวิจัยถึงการเพิ่มผลผลิตในระดับอุตสาหกรรมเพื่อให้เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภค



รูปที่ 1 เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียและพืช

ที่มา : http://www.res.titech.ac.jp/~junkan/english/cellulose/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

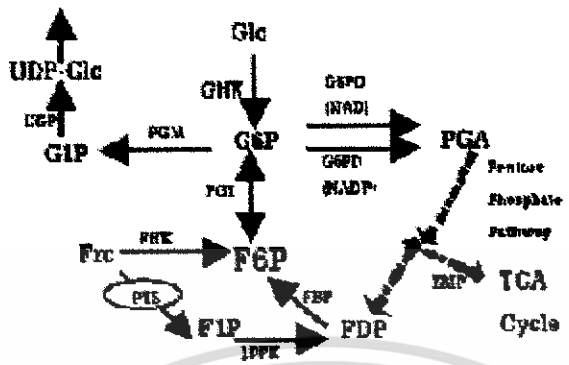
2.2 การสังเคราะห์เซลลูโลสโดยเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส

ลักษณะและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อ *A. xylinum* มีดังนี้คือ เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่งยาว ยาวประมาณ 2 ไมโครเมตร ไม่มีแฟลกเจลลา ที่ผนังเซลล์ปกคลุมด้วยชั้นของเมือกลื่น อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นเส้นสาย ไม่เคลื่อนที่ ติดสีแกรมลบ ต้องการอากาศในการเจริญ สามารถเจริญได้ในน้ำหมักที่เป็นกรด สามารถสร้างกรดกลูโคสเอธิลและโพรพิลแอลกอฮอล์ได้ สามารถออกซิไดซ์เอทานอลเป็นกรดอะซิติก และออกซิไดซ์กรดอะซิติกไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ไม่รีดิวซ์ไนเตรต ให้ผลการทดสอบ catalase เป็นบวก ไม่มีการเปลี่ยนสีลิตมัสมิลค์ สามารถสร้าง 5-ketogluconate,2- ketogluconate และ gluconate ได้ ไม่มีการสร้างอัลโดส, α-pyrone และไม่สร้างสีน้ำตาล คุณสมบัติสำคัญที่ทำให้แยกจุลินทรีย์ตัวนี้ได้คือ ความสามารถในการสร้างเยื่อเหนียวที่สามารถยึดเซลล์ให้รวมกันและให้ผลบวกเมื่อทำการทดสอบเซลลูโลส

ลักษณะการผลิตเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย *A.xylinum* เป็นแบบ Growth Assosiated (Ishikawa *et at*, 1995) มีลักษณะสำคัญคือการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสเกิดพร้อมกัน โดยในระหว่างการเจริญเติบโต (trophophase) แบคทีเรียจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นจำนวนมากและมีการผลิตเซลลูโลสออกมาน้อย แต่ในช่วงผลิตผลิตภัณฑ์คือเซลลูโลส (iodophase) จะมีการเจริญของเซลล์เพียงเล็กน้อยแต่มีการผลิตเซลลูโลสสูงสุด โดยเส้นใยเหล่านี้จะเจริญอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อเหลว (liquid culture) ซึ่งถ้าเปรียบเทียบโครงสร้างและวิถีของการสังเคราะห์พบว่าเส้นใยจากแบคทีเรียจะประกอบด้วยเส้นใยเล็ก ๆ มากมายเชื่อมกันเป็นร่างแห ซึ่งต่างจากเส้นใยจากพืช

ขบวนการสังเคราะห์ เส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีวิถีดังแสดงในรูปที่ 2 ในระหว่างการสังเคราะห์เซลลูโลส แบคทีเรียต้องการอากาศและแหล่งคาร์บอนเพื่อประสานโครงสร้างของแบคทีเรียเซลลูโลสในปฏิกิริยาโพลีเมอไรเซชั่น การสังเคราะห์เริ่มจากน้ำตาลกลูโคสจะถูกเมตาบอไลซ์ (metabolize) ผ่านทาง pentose phosphate pathway โดย cellulose pathway จะแยกออกที่ glucose-6-phosphate (G6P) และตัว direct precursor ของการสังเคราะห์เซลลูโลสก็คือ UDP-glucose ซึ่งการสังเคราะห์ UDP-glucose จาก G6PD นั้น จะประกอบด้วย 2 ขั้นตอนด้วยกัน โดยพบว่าการทำงานของเอนไซม์ phosphoglucose isomerase จะแตกต่างกันไปมากขึ้น เอนไซม์นี้จะมีกิจกรรมสูงเมื่อแหล่งคาร์บอนคือ น้ำตาล fructose UDP-glc จะถูกพอลิเมอไรซ์ (polymerized)ไปเป็นเซลลูโลส และเซลลูโลสจะถูกปล่อยสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ โดยจะมีลักษณะเป็นเส้นใยเจริญอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเส้นใยนี้จะประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 4 ชนิด ซึ่งจะถูกควบคุมโดยcellulose synthase operon (รูปที่ 3)

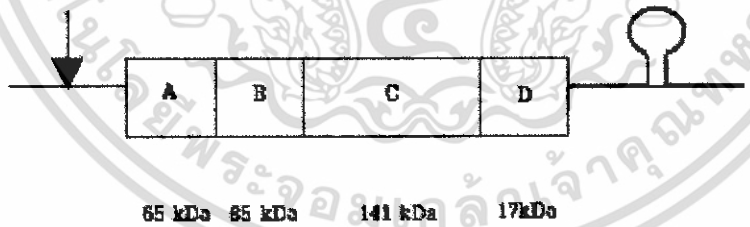
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2 วิถีการสังเคราะห์เซลลูโลสของ *Acetobacter xylinum*

Glc, glucose; G6P, glucose-6-phosphate; G1P, glucose-1-phosphate; PGA, phosphogluconic acid; Frc, fructose; F1P, fructose-1-phosphate; FDP, fructose-1,6- phosglucomutase; UGP, UDP-glucose pyrophosphorylase; PGH, phosphoglu-comutase; UGP, UDP-glucose pyrophorylase; G6PD, glucose-6-phosphate dehy-drogenase; PGI, phosphoglucose isomerase; FHK, fructose hexokinase; 1 PFk,fructose-1-phosphate kinase; FBP, fructose bis-phosphatase; PTS, phosphotransferase system; EMP, Embden-Myerhoff pathway.

ที่มา : http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/cellu.html



รูปที่ 3 โครงสร้างของ Cellulose Synthase (bcs) Operon.

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

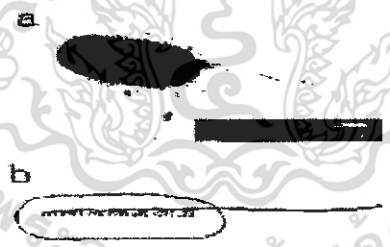
ที่มา : http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/cellu.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลส คือ bcs A, bcs B, bcs C และ bcs D ได้มีการทดลองพบว่ายีน bcs A, B และ C มีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ต่าง ๆ ส่วนยีน bcs D นั้นจะมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส ซึ่งผลของการทดลองพบว่าถ้าทำให้ยีน bcs D ลด activity ลง พบว่าจะทำให้การสังเคราะห์ เซลลูโลสลดลงถึงร้อยละ 40 ด้วย

แบคทีเรียเซลลูโลสที่สังเคราะห์จะเกิดการสะสมภายนอกเซลล์อย่างรวดเร็ว สารโพลีกลูแคนสายสั้น (polyglucan) ที่สังเคราะห์ภายในเซลล์ของแบคทีเรียจะถูกขับออกมาภายนอกเซลล์ผ่านทาง Pore like site ที่เรียงขนานกันตามความยาวของเปลือกเซลล์ (envelope) ของเชื้อ *A. xylinum* (Cousins *et al,* 1995) เปลือกเซลล์ประกอบด้วยสารประกอบไลโปโพลีแซคคาไรด์ (lipopolysaccharide) ซึ่งทำหน้าที่ขับสารตั้งต้นของเซลลูโลส (precellulosic polymer) ซึ่งเป็นโพลีกลูแคนออกจากเซลล์โพลีเมอไรเซชั่นเป็นเซลลูโลสเกิดด้วยพันธะ β-1,4 glucocidic จะเกิดขึ้นภายนอกเซลล์โดยมีเอนไซม์เซลลูโลสซินเตส ที่ถูกขับออกมานอกเซลล์เป็นตัวเร่ง อัตราความหนาของเส้นใยที่เกิดขึ้นประมาณ 2 นาโนเมตรต่อนาที เส้นใยเซลลูโลสเหล่านี้จะทำหน้าที่ล้อมรอบและหุ้มเซลล์ไว้ภายใน เพื่อป้องกันแสงอัลตร้าไวโอเลต (UV) และอิทธิพลของการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการผลิตเซลลูโลสโดยตรง

ในการผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum* นั้นพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการให้อากาศและมีการเขย่าจะให้ผลดีที่สุด สำหรับการสร้างเซลลูโลสจะเกิดขึ้นในเซลล์ของแบคทีเรียและเส้นใยเหล่านี้จะถูกขับออกมาทางรูของเซลล์เมมเบรน (รูปที่ 4)



รูปที่ 4 การสร้างเซลลูโลสในเซลล์ของแบคทีเรีย

(a) A transmission Electron Micrograph of a BPR2001 Cell and the Produced Cellulose Ribbon. (b) A possible Model of Cellulose Production. Boxes indicate pore-like cellulose extrusion sites. Cellulose microfibrils are synthesized and extruded from the pores on the bacterial cell surface. The bundles formed from several microfibrils and assembled into a ribbon.

ที่มา : http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/cellu.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* นั้นได้ทำการเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อในสภาพนิ่ง (static) และสภาพที่มีการเขย่า (agitation) พบว่าการเลี้ยงแบบสภาพนิ่งจะทำให้เส้นใยเจริญและจับตัวกันแน่น ทำให้สภาพอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืดสูงกว่าการเลี้ยงแบบเขย่า นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มกรดคาร์บอนิคจะช่วยให้เซลล์มีการเจริญเติบโตดีในช่วงของ lag phase และยังช่วยเพิ่มการผลิตเซลลูโลสด้วย การเพิ่มกรดแลกติกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยให้เชื้อสังเคราะห์ ATP ได้ดีขึ้น โดยจะไปเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของ lactate dehydrogenase และ TCA cycle

สำหรับกระบวนการผลิตต่างๆ ในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสแบ่งออกได้ดังนี้

1) . กระบวนการหมักบนอาหารเหลวในภาชนะ

การหมักวิธีนี้โดยทั่วไปใช้น้ำมะพร้าว ซึ่งเป็นวัตถุเหลือใช้จากโรงงานอุตสาหกรรมอาหารและภาชนะที่ใช้หมักเป็นถาดอลูมิเนียมหรือพลาสติกผิวเรียบ อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนโดยใช้น้ำตาลซูโครสให้มีความเข้มข้นร้อยละ 5-10 และค่าพีเอชเริ่มต้นปรับด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นให้อยู่ในช่วงค่าพีเอช 4.0-5.0 ธาตุอื่นๆ ที่เติม เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) (วราวุฒิและคณะ, 2535)หรือไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$) (Lapuz *et al*, 1967) สำหรับเป็นแหล่งไนโตรเจน การฆ่าเชื้อใช้วิธีการต้มให้เดือด เมื่ออาหารเย็นลงเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในถาดอลูมิเนียมหรือพลาสติกผิวเรียบ ให้มีระดับความลึก 10-15 เซนติเมตร คลุมภาชนะด้วยผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อแล้วบ่มรมควันฆ่าเชื้อด้วยไซยาไนด์ก่อนการหมัก 2-3 วัน ห้องมีการระบายอากาศ จากนั้นใส่กล้าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 10-40 (วราวุฒิและคณะ, 2536) หลังจากการหมักเป็นเวลา 7-14 วัน แบคทีเรียจะผลิตเซลลูโลสบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อมีลักษณะสีขาวครีม มีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและแน่น และที่สำคัญคือมีปริมาณเซลลูโลส

การหมักวิธีนี้อัตราการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสในช่วง 10 วันแรกของการหมักจะมีอัตราการผลิตสูง ดังนั้นในการควบคุมการหมักจำเป็นต้องคำนึงถึงแหล่งอาหารให้มีทั้งชนิดและปริมาณที่เหมาะสมสำหรับสายพันธุ์ที่ได้ผ่านการคัดเลือกมาแล้ว หลังจาก 10 วันแรกของการหมัก พบว่าอัตราการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสต่ำลง เนื่องจากธาตุอาหารเหลือน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อแบคทีเรียสร้างเซลลูโลสบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนามากขึ้น ทำให้อากาศซึมผ่านลงไปได้ยากขึ้น จึงมีผลต่ออัตราการเจริญและการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส ในระหว่างการหมักควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ช่วง 28-35 องศาเซลเซียสและปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 3.5-4.0 โดยการเติมกรดอะซิติก

นอกจากน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด แล้วยังสามารถผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสได้จากหางนมหรือเวย์ (whey) ซึ่งเป็นผลิตผลพลอยได้ส่วนใหญ่จากการผลิตเนยแข็งหรือการแยกเคซีน (casein) ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หางนมมีส่วนประกอบโดยประมาณดังนี้ น้ำตาลแลคโตสร้อยละ 4.8 โปรตีนร้อยละ 0.85 ไขมันร้อยละ 0.35 แร่ธาตุร้อยละ 0.60 และน้ำร้อยละ 93.40 หางนมสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* แบบอยู่กับที่ในถาด อัตราการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสมีความสัมพันธ์กับอัตราการใช้สารอาหาร การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสจะมีอัตราลดลงเมื่อสารอาหารมีความเข้มข้นสูง เนื่องจากมีการผลิตกรดกลูโคนิกจากน้ำตาลกลูโคสบางส่วน และเกิด catabolite repression มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในน้ำหมักมีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียเซลลูโลสลดลง

2) กระบวนการหมักในอาหารเหลวในถังหมัก

Toyosaki และคณะ (1995a) ได้รายงานผลการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส โดยใช้เชื้อ *A. xylinum* BPR 2001 ในถังหมัก และใช้อาหารเหลว CSL-fructose medium พบว่าการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสมีประสิทธิภาพสูง องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยน้ำแช่ข้าวโพด (CSL) และน้ำตาลฟรุกโตส ทำการฆ่าเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นลงจะใส่กล้าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 5-10 ให้เชื้อเจริญในสภาพที่มีอัตราการกวนและให้อากาศ ควบคุมค่าพีเอชในระหว่างหมักให้คงที่ประมาณ 5.0 ด้วยกรดซัลฟูริก (H_2SO_4) และก๊าซแอมโมเนีย ควบคุมอุณหภูมิของหมักที่ 28-32 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 1,000 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรต่อนาที ระยะเวลาในการหมัก 3-5 วัน ซึ่งแบคทีเรียเซลลูโลสที่ได้รับจากกระบวนการหมักจะมีลักษณะเป็นเม็ด การหมักในอาหารเหลวมีหลายรูปแบบ เช่น การหมักแบบกะ ทั้งการหมักในถังหมักเดี่ยวและหลายถังหมัก แบบกึ่งกะและแบบต่อเนื่อง โดยทั่วไปการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสก็ยังใช้กรรมวิธีการหมักแบบกะ เนื่องจากประสิทธิภาพสูง นอกจากนี้ ปัจจัยอื่นได้แก่ ชนิดของใบพัดในถังหมัก ความเร็วรอบในการกวน ปริมาณอากาศและค่าพีเอช ที่มีผลต่อการเลี้ยงเซลลูโลสด้วย

การหมักแบบกะในอาหารเหลวมีข้อดีคือ ใช้วัตถุดิบที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบได้ทุกชนิด ผลผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสสูงกว่าการหมักแบบบนอาหารเหลวร้อยละ 40 ปรับปรุงวิธีและควบคุมกระบวนการหมักได้ง่าย ใช้พื้นที่และแรงงานคนน้อยและสามารถควบคุมสภาพปลอดเชื้อได้ง่าย

2.3 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์เซลลูโลสโดยแบคทีเรีย

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ตลอดจนการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* มีดังต่อไปนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) แหล่งคาร์บอน

คาร์บอนเป็นธาตุที่มีความสำคัญในการสังเคราะห์เซลล์และพลังงาน โดยทั่วไปจุลินทรีย์ที่เจริญในสภาพวะที่ไม่มีอากาศจะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 10 ในการสังเคราะห์เซลล์ ส่วนแบคทีเรียที่เจริญในสภาวะที่มีอากาศจะใช้แหล่งคาร์บอนประมาณร้อยละ 50-55 ในการสังเคราะห์เซลล์ (Stanbury and Whitaker, 1948) ในการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อแบคทีเรียนี้ต้องการแหล่งคาร์บอนที่จำเพาะเจาะจงและแน่นอนสำหรับใช้ในการสร้างเซลลูโลส ในกรณีนี้ซึ่งพบว่าแบคทีเรียเซลลูโลสซึ่งเป็นสารประเภทโฮโมโพลีแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์โดยเอนไซม์ชนิดเดียว แต่เชื้อแบคทีเรียที่ต้องการแหล่งคาร์บอนที่ไม่จำเพาะเจาะจง จะสามารถสังเคราะห์เซลลูโลสได้จากแหล่งคาร์บอนหลายชนิด (Crueger and Crueger, 1982)

Hestin และคณะ (1947) รายงานว่าแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* เช่น น้ำตาลกลูโคสและฟรุกโตส ตามลำดับ แหล่งไนโตรเจน อนินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส เช่น แอมโมเนียมฟอสเฟตและแอมโมเนียมซัลเฟต

Alaban (1962) ได้ศึกษาชนิดของน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. ประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคส ซูโครส กาแลคโตส แมนนิทอล มอลโทส แลคโตส และอะราบิโนส พบว่าการหมักเซลลูโลสในซับสเตรทที่มีน้ำตาลกลูโคส ซูโครสและกลีเซอรอล เป็นองค์ประกอบ สามารถผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสได้สูงกว่าน้ำตาลชนิดอื่นๆ ผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสต่อน้ำตาลชนิดต่างๆ สามารถสรุปได้ดังตารางที่ 1

Lapuz และคณะ (1967) พบว่าความเข้มข้นน้ำตาลซูโครสที่เหมาะสมต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสจะอยู่ในช่วงร้อยละ 5-7 และได้นำเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้หลายสายพันธุ์มาเพาะเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวที่มีการเติมน้ำตาลซูโครส ร้อยละ 5 เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มต้นอยู่ระหว่าง 4.0-6.0 ที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม ประกอบด้วยเปปโตนและสารสกัดจากยีสต์ แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม เช่น น้ำตาลซูโครส กลูโคส และแลคโตส ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 ผลของแหล่งคาร์บอนชนิดต่างๆ ในการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum*

แหล่งคาร์บอน	ชนิด	ผลผลิตของเซลลูโลส (%)
Monosaccharide	D-fructose	92
	D-galactose	15
	D-glucose	100
	D-mannose	3
	D-xylose	11
	D-arabinose	14
	D-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
Other	D-glucono lactone	62
	No carbon source	2

ที่มา : Satoshi และคณะ (1993)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Masoka และคณะ (1993) พบว่าผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสจะมีความสัมพันธ์กับการใช้น้ำตาลกลูโคส ผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสจะลดลงเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสถูกเปลี่ยนไปเป็นกรดกลูโคนิก และกรดคีโตกลูนิก

แหล่งคาร์บอนจะมีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตและการสังเคราะห์เซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. โดยเป็นแหล่งให้พลังงานแก่เซลล์และเป็นองค์ประกอบหลักของแบคทีเรียเซลลูโลส ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและน้ำตาลโมเลกุลคู่ ซึ่งรวมทั้งน้ำตาลกลูโคส ฟรุกโตส กาแลคโตส ซูโครส มอลโทส และแมนโนส เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสบางสายพันธุ์มีความสามารถในการใช้สารในกลุ่มแอลกอฮอล์ เช่น กลีเซอรอล ไกลคอล เอทานอลและโพรพานอล เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อเป็นแหล่งให้พลังงาน (Yoshinaga *et al*, 1997) แหล่งคาร์บอนที่ต่างกันจะมีผลต่อกิจกรรมของเอนไซม์ phosphocose isomerase และแหล่งคาร์บอนที่เป็นน้ำตาลฟรุกโตส พบว่ากิจกรรมของเอนไซม์ UDPG pyrophosphorylase สูงขึ้น ซึ่งมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส

2) แหล่งไนโตรเจนและสารอาหารอื่นๆ

เซลล์แบคทีเรียมีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 8-10 ของน้ำหนักแห้ง ความต้องการไนโตรเจนของแบคทีเรียแต่ละชนิดแตกต่างกันไป แบคทีเรียบางสายพันธุ์สามารถเจริญเติบโตได้ในอาหารที่มีสารไนโตรเจนอนินทรีย์ แต่บางสายพันธุ์ต้องการสารไนโตรเจนอินทรีย์ แหล่งไนโตรเจนอนินทรีย์ที่สำคัญเป็นสารประเภทก๊าซแอมโมเนียม เกลือแอมโมเนียม และไนเตรท สำหรับแอมโมเนียมซัลเฟต ปกติเมื่อแอมโมเนียม (NH_4^+) ถูกใช้ไปจะทำให้ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเป็นกรด เพราะจะเกิดการสะสมอนุมูลซัลเฟต (SO_4^{2-}) ขึ้น ส่วนก๊าซแอมโมเนียและไนเตรท เมื่อถูกเมตาบอไลท์และทำให้เกิดสภาวะที่เป็นด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อ (Stanbury and Whitaker, 1984) สารไนโตรเจนอินทรีย์ที่สำคัญ ประกอบด้วยเปปโตน สารสกัดจากยีสต์ และเคซีน

Stanbury และ Whitaker (1984) รายงานว่าธาตุอาหารอื่นๆ มีความจำเป็นเกี่ยวกับอัตราการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสภายนอกเซลล์ เช่น แหล่งไนโตรเจน แคลเซียม และฟอสเฟต เป็นต้น อย่างไรก็ตามชนิดและปริมาณของธาตุอาหารที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของผลิตภัณฑ์ที่ต้องการและสายพันธุ์ของแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส รวมถึงสภาวะการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส เช่น พีเอช อุณหภูมิ และการให้อากาศ แหล่งไนโตรเจนเป็นสารอาหารที่สำคัญต่อการเจริญเติบโตของแบคทีเรียแต่ถ้ามีปริมาณสูงจะลดประสิทธิภาพการเปลี่ยนสารคาร์โบไฮเดรตเป็นแบคทีเรียเซลลูโลส สำหรับไนไตรท์และไนเตรท แบคทีเรียไม่สามารถใช้ได้และยังเป็นพิษต่อเชื้ออีกด้วย (Lapuz *et al*, 1967)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) อุณหภูมิ

Alaban (1962) และ Lapuz และคณะ (1967) ได้รายงานสอดคล้องกันว่าในการหมักเชื้อ *Acetobacter* sp. ในน้ำมะพร้าว ที่อุณหภูมิในช่วง 10-45 องศาเซลเซียส พบว่าที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส เชื้อสามารถเจริญเติบโตได้แต่จะไม่ผลิตเซลลูโลส การสังเคราะห์เซลลูโลสจะเริ่มมีการผลิตตั้งแต่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียสจนถึงช่วงอุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อสามารถเจริญเติบโตและผลิตเซลลูโลสในปริมาณสูง เมื่ออุณหภูมิสูงจะเกิดผลเสียต่อคุณสมบัติของเอนไซม์หรือการเสียสภาพโปรตีน โครงสร้างของแฟลกเจลลา ไรโบโซม โปรโตพลาสและไมโตคอนเดรีย

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

4) อัตราการให้อากาศ

Krusong และ Yoshida (1995) พบว่าปริมาณการให้อากาศและปริมาณออกซิเจนมีผลต่อการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* โดยมีผลกับปริมาณพลังงานที่สร้างขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ ในกรณีของแบคทีเรีย *Klebsiella pneumoniae* และ *Aerobacter aerogenes* ที่เลี้ยงภายใต้สภาวะไม่มีอากาศ พบว่ามีการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลสในปริมาณที่ต่ำกว่าสภาพที่มีอากาศ โดยการสังเคราะห์จะต่ำกว่าร้อยละ 25-40 กรณีของเชื้อ *A. xylinum* พบว่าในสภาพที่ไม่มีอากาศ จะไม่สามารถสังเคราะห์เซลลูโลสได้เลย การสังเคราะห์จะเกิดขึ้นได้ต่อเมื่อปริมาณก๊าซออกซิเจนมีเพียงพอต่อความต้องการของเซลล์เท่านั้น

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

Ebner (1982) พบว่าเชื้อ *Acetobacter* sp. จะมีเอนไซม์อไพเรส (aprayrase) ทำหน้าที่ในการย่อยสลายพลังงาน ATP (ซึ่งเป็นแหล่งพลังงานและมีการสะสมในระหว่างปฏิกิริยาออกซิเดชันของแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก) ได้อย่างรวดเร็ว ทำให้เหลือพลังงาน ATP สำหรับกิจกรรมของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมแทบอลิซึมอื่นๆ ของเซลล์ในระดับต่ำ ดังนั้นเมื่องดให้พลังงาน ATP ในแหล่งเก็บพลังงานหรือ ATP pool สูญเสียไปอย่างรวดเร็ว ซึ่งจะส่งผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ

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

ปริมาณอากาศมีส่วนสัมพันธ์กับประสิทธิภาพในการสังเคราะห์แบคทีเรียเซลลูโลส และการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย เมื่อแบคทีเรียสังเคราะห์เซลลูโลสเพิ่มขึ้น จะทำให้การแผ่กระจายของอากาศลดลง เป็นเหตุให้ประสิทธิภาพในการสังเคราะห์เซลลูโลสลดลง เนื่องจากความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้น Kouda และคณะ (1997a) ได้ศึกษาการส่งผ่านออกซิเจน (oxygen transfer) ในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเชื้อ *A. xylinum* BPR2001 เพื่อผลิตเซลลูโลส พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความหนืดสูงจะทำให้อัตราการส่งผ่านก๊าซออกซิเจนลดลง เป็นผลให้ก๊าซออกซิเจนที่ละลายอยู่ในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงเช่นกัน นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อความหนืดของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เพิ่มขึ้น เป็นตัวจำกัดปริมาณก๊าซออกซิเจนที่มีอยู่ด้วย ชนิดของใบกวนในถังหมักแบบ Maxblen และ Gate with turbine จะช่วยเพิ่มการส่งผ่านก๊าซออกซิเจนได้สูงขึ้น ทั้งนี้เนื่องจากใบกวนจะช่วยเพิ่มฟองอากาศในอาหารเลี้ยงเชื้อและช่วยเพิ่มผิวสัมผัสระหว่างฟองอากาศกับอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ค่า K_La สูงขึ้น และนอกจากนี้ Kouda และคณะ (1997b) ยังพบว่าการเพิ่ม partial pressure ของก๊าซออกซิเจนในถังหมัก แบคทีเรียสามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงขึ้นและลดพลังงานในการกวน

5) ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

Ohara และคณะ (1992) รายงานว่าค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตของเซลล์และการสังเคราะห์ผลิตภัณฑ์ในกระบวนการหมัก แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสส่วนใหญ่สามารถเจริญเติบโตได้ดีในช่วงค่าพีเอช 4.0-4.5 และค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ในการย่อยสลายสารอาหาร รวมถึงการยอมให้สารอาหารผ่านผนังเซลล์ได้

Alaban (1962) ได้ศึกษาผลของค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* พบว่าค่าพีเอช 4.0-5.0 เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต และการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส พีเอช 3.0 ทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อจะลดลงและที่ค่าพีเอชมากกว่า 8.0 เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ การเติมกรดอะซิติกในอาหารเลี้ยงเชื้อร้อยละ 1-10 ลงในน้ำมะพร้าว นอกจากเป็นการปรับค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว จะช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อ *Aspergillus* sp. ได้ เมื่อเติมกรดอะซิติกร้อยละ 1 และเมื่อเพิ่มปริมาณกรดเป็นร้อยละ 2 จะช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Pennicillium sp. และ *Bacillus* sp. ได้ และมีรายงานว่ากรดอะซิติกที่เติมในอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้มีค่าพีเอชประมาณ 4.0-5.0 เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. xylinum* มีผลโดยตรงต่อเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์โปรโตพลาสซึม และการแบ่งเซลล์ของเชื้อ *A. xylinum* และเชื้อจุลินทรีย์ยังสามารถนำกรดอะซิติกใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้อีกด้วย (Naritomi et al, 1998a)

Mosaoka และคณะ (1993) รายงานว่าค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยหนึ่งที่ต้องมีการควบคุมก่อนการหมักเพื่อให้ได้สภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* sp. และยังช่วยป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อราและแบคทีเรียชนิดอื่นๆ ที่ไม่สามารถทนต่อการเป็นกรดได้

2.4 กระบวนการผลิตเต้าหู้

เต้าหู้เป็นอาหารที่มีโปรตีนในปริมาณและคุณค่าทางอาหารไม่แพ้โปรตีนจากเนื้อสัตว์ จนมีผู้ให้สมญานามว่า โปรตีนแห่งท้องทุ่งหรือเนื้อไม่มีกระดูก ซึ่งเป็นโปรตีนที่ย่อยง่าย นอกจากนี้ยังมีไขมันที่มีความจำเป็นกับร่างกายอีกด้วย ไม่มีคลอเลสเตอรอล และมีวิตามินเกลือแร่ต่างๆ เช่น แคลเซียม ฟอสฟอรัสและเลซิติน ที่ช่วยลดระดับคลอเลสตอรอลในเลือดและป้องกันการแข็งตัวของเกล็ดเลือด ทำให้ลดการเสี่ยงต่อการเป็นโรคหัวใจ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้สูงอายุจะช่วยเสริมสร้างแคลเซียมเป็นการบำรุงกระดูกที่สึกกร่อน นอกจากนี้ยังมีสารสำคัญอีกตัวคือ เลซิติน ซึ่งจะช่วยลดคลอเลสเตอรอลในเลือดและป้องกันเกร็ดเลือดแข็งตัว ทำให้ลดการเสี่ยงต่อการเป็นโรคต่างๆ เช่น โรคความดันโลหิตสูงและโรคหัวใจเป็นต้น

การผลิตเต้าหู้ในประเทศไทยมีปริมาณสูงขึ้นทุกปี เนื่องจากคนไทยนิยมบริโภคเต้าหู้กันมาก ไม่ว่าจะเป็นกลุ่มคนที่มีรายได้ต่ำหรือมีรายได้สูง ทั้งนี้เพราะเต้าหู้เป็นอาหารที่มีคุณค่าทางโภชนาการราคาถูก และสามารถนำไปประกอบอาหารได้หลายรูปแบบ ปัจจุบันได้มีโรงงานผลิตเต้าหู้มากมายแต่ยังคงเป็นอุตสาหกรรมขนาดเล็ก

ขั้นตอนการผลิตเต้าหู้จะคล้ายการผลิตน้ำนมถั่วเหลือง ขั้นตอนการผลิตมีดังนี้ คือ คัดเลือกถั่วเหลืองที่มีคุณภาพ โดยเลือกถั่วที่ใหม่ มาแช่ในน้ำที่มีอุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องเล็กน้อยประมาณ20-22 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง หรือค้าง 1 คืน จะส่งผลให้ถั่วมีลักษณะนิ่มตัวดีและน้ำหนักจะเพิ่มขึ้น จากนั้นนำมาบดโดยผสมกับน้ำในอัตราที่เหมาะสม กล่าวคือ ถ้าใส่น้ำมาก ทำให้ได้โปรตีนในช่วงสกัดน้อยลง และเป็นผลให้เต้าหู้มีเนื้อหยาบ อัตราส่วนของถั่วต่อน้ำที่พอเหมาะ คือน้ำต่อถั่วเท่ากับ 10 :1 หรือน้ำ 1ลิตรต่อถั่วเหลือง 1 ขีด (ถั่วเมล็ดแห้ง) นำมากรองเอากากถั่วเหลืองออก จะได้น้ำเต้าหู้ออกมาจากนั้นใส่สารตกตะกอน เช่น Calcium Sulfate ($CaSO_4$, H_2O) , Magnesium sulfate

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

($MgSO_4$) , Glucono Delta Lactone (GDL) เป็นต้น ซึ่งในกระบวนการผลิตช่วงนี้จะมีน้ำเหลือทิ้งจากการอัดให้เป็นก้อน น้ำที่ได้จากขั้นนี้จะนำไปใช้ในการศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ส่วนโปรตีนจะตกตะกอนเป็นก้อนเต้าหู้นำไปบรรจุหีบห่อและปิดผนึก หลังจากได้บรรจุเต้าหู้ใส่หีบห่อแล้วจะนำเต้าหู้ที่ได้ไปต้มในน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40-60 นาที และทำให้เย็นส่งขายตามท้องตลาด

ขั้นตอนการผลิตเต้าหู้แผ่น

คัดเลือกสิ่งสกปรกออกจากถั่วเหลือง

↓

แช่น้ำค้างคืนหรืออย่างน้อย 16 ชั่วโมง

↓

เทน้ำออก ล้างด้วยน้ำสะอาดอีกครั้ง

↓

นำถั่วเหลืองมาโม่หรือบดกับน้ำในอัตราส่วน น้ำต่อถั่วเท่ากับ 10 :1

↓

กรองด้วยผ้าขาวบาง

↓

นำถั่วเหลืองที่ได้ไปต้มในน้ำเดือด ทิ้งให้เย็นลงมาที่ 80 ℃

↓

เติมสารตกตะกอนลงในน้ำถั่วเหลือง

↓

ตักโปรตีนที่ได้ลงบนผ้าขาวบางที่เปียกน้ำ แล้ววางบนพิมพ์ที่มีทางให้น้ำไหลออก

↓

ทับน้ำออกโดยใช้ของหนัก ทับให้เนื้ออัดแน่นพอประมาณ

↓

นำไปนึ่งนาน 30 นาที หรือต้มในน้ำที่อุณหภูมิประมาณ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40-60 นาที

↓

เต้าหู้แผ่นพร้อมนำไปปรุงอาหาร

รูปที่ 5 ขั้นตอนการผลิตเต้าหู้แผ่นจากถั่วเหลือง

ที่มา : คัดแปลงจาก อุทัย, 2543

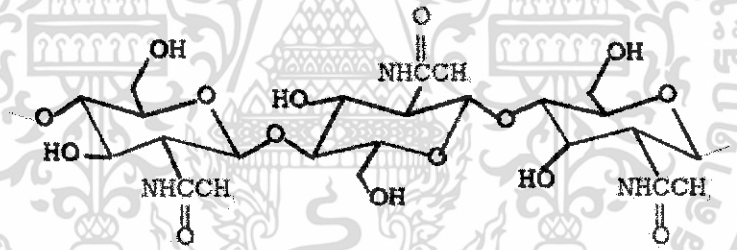
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

2.5 ไคติน (chitosan) และไคโตซาน (chitosan)

ไคตินและไคโตซานเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพซึ่งผลิตจากสิ่งเหลือจากอุตสาหกรรมสัตว์น้ำแช่แข็ง (เช่น เปลือกกุ้งและเปลือกปู) และเป็นพอลิเมอร์ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจโลกมากขึ้นเรื่อยๆ ไคติน และไคโตซานมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ (biocompatible) และสามารถสลายตัวได้ทางชีวภาพ (biodegradable) จึงถือได้ว่าเป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม

ไคติน จัดอยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรตประเภทโครงสร้างที่เป็นเส้นใย คล้ายคลึงกับเซลลูโลสจากพืช มีชื่อทางเคมีว่า poly [β(1→4) -2-acetamido-2-deoxy-D-glucopyranose] พบได้ในเปลือกของสัตว์ เช่น กุ้ง ปู แกนหมึก แมลง ตัวไหม หอยมุก และผนังเซลล์ของพวกรา ยีสต์ และจุลินทรีย์อีกหลายชนิด ไคตินในธรรมชาติมีโครงสร้างของผลึกที่แข็งแรง 3 ลักษณะ ได้แก่ แอลฟ่าไคติน เกิดจากเปลือกกุ้งและเปลือกปู เบต้าไคติน เกิดในแกนหรือกระดองหมึก และแกมม่าไคติน อย่างไรก็ตามการผลิตเชิงพานิชย์มักจะใช้เปลือกกุ้ง กระดองปูและแกนปลาหมึกเป็นวัตถุดิบ โดยผ่านกระบวนการผลิตที่ไม่ยุ่งยากนัก ได้แก่ กระบวนการสกัดโปรตีน โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง และกระบวนการสกัดแร่ธาตุ โดยใช้กรดเจือจาง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะเรียกว่า "ไคติน"

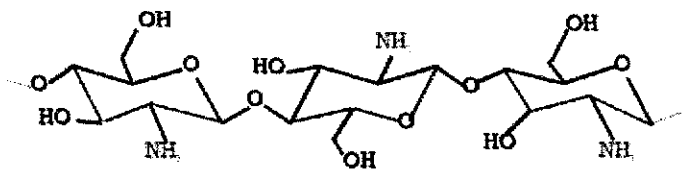


รูปที่ 6 โครงสร้างทางเคมีของไคติน

ที่มา : http://www.material.chula.ac.th/chitosan/CCB_thai_p9.htm

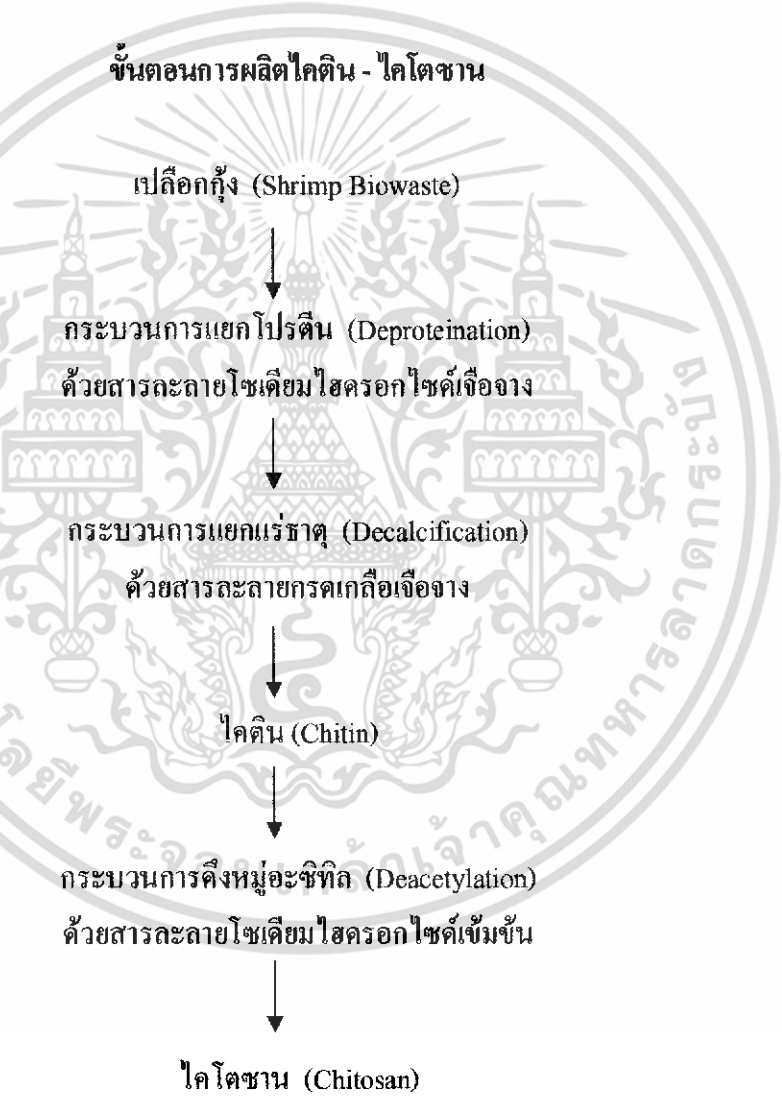
ไคโตซาน คือ สารโพลิเมอร์ชีวภาพที่สกัดจากไคติน ซึ่งเป็นโครงสร้างของเปลือกกุ้ง กระดองปู แกนปลาหมึก และผนังเซลของเห็ด ราบางชนิด มีชื่อทางเคมีว่า poly [β(1→4)-2-amino-2-deoxy-D-glucopyranose] ซึ่งเป็นอนุพันธ์ของไคตินที่สกัดโดยผ่านกระบวนการดึงหมู่อะซิทิลของไคตินออกด้วยด่างเข้มข้น เรียกกระบวนการนี้ว่า deacetylation ผลิตภัณฑ์ไคโตซานที่ได้จะมีคุณภาพและสมบัติแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับเทคนิคและขั้นตอนการผลิต

67300
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 โครงสร้างทางเคมีของไคโตซาน

ที่มา : http://www.material.chula.ac.th/chitosan/CCB_thai_p9.htm



รูปที่ 8 ขั้นตอนการผลิตไคตินและไคโตซาน

ที่มา : http://www.material.chula.ac.th/chitosan/CCB_thai_p9.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามปกติจะพบทั้งวงแหวนน้ำตาลของไคตินและไคโตซานในสายโซ่เดียวกันจึงมักจะรวมเรียกสารเคมีพวกไคติน/ไคโตซาน การแบ่งแยกไคตินกับไคโตซานจะอาศัยจำนวนหมู่เอมีน ถ้ามีหมู่เอมีนมากกว่าร้อยละ 70 จะเรียกว่าไคโตซาน ในแง่ของวัสดุแล้วไคตินและไคโตซานถือว่ามีสมบัติโดดเด่นทั้งนี้เนื่องจากเปลือกกุ้งและเปลือกปูซึ่งเป็นแหล่งไคตินและไคโตซานนั้นเป็นวัสดุเชิงประกอบที่นอกจากจะเหนียวฉีกขาดยาก ยังสามารถรับแรงได้สูง และไม่เปลี่ยนรูปร่างได้ง่าย ๆ ถ้าหากพิจารณาในเชิงโครงสร้าง ไคตินจะจัดเรียงตัวเป็นโครงสร้างผลึกเหลวแบบคลอเลสเทอริก (cholesteric liquid crystal structure) โดยมีโปรตีนและปูนขาวแทรก ทำให้วัสดุนี้ทนแรงได้ทุกทิศทางไคติน/ไคโตซานมีความเป็นวัสดุพิเศษ คือ ตัววัสดุสามารถทำหน้าที่ทางเคมีหรือทางชีวภาพบางอย่างได้ด้วยตัวเอง (functional materials) ตัวอย่างเช่น เป็นแผ่นโพลาร์เมมเบรน (polar membrane) ซึ่งสามารถใช้ในการแยกแอลกอฮอล์ (เจือจาง) โดยกระบวนการเพอร์วาพอเรชัน (pervaporation) เป็นต้น

ไคตินและไคโตซาน จัดเป็นโคโพลิเมอร์ที่อยู่ร่วมกันในธรรมชาติ มีปริมาณของไคตินมากเป็นอันดับสองรองจากเซลลูโลส ไคตินและไคโตซาน มีสมบัติพื้นฐานที่เข้ากับธรรมชาติได้ดี ย่อยสลายง่ายไม่ก่อให้เกิดอันตรายต่อสิ่งแวดล้อม โดยเฉพาะอย่างยิ่งไคติน-ไคโตซาน มีหมู่อะมิโนที่แสดงสมบัติพิเศษหลายประการที่ต่างจากเซลลูโลส เช่น การละลายได้ในกรดอินทรีย์เจือจาง การจับกับอิออนของโลหะได้ดี และการมีฤทธิ์ทางชีวภาพ ปัจจุบันมีการนำสารไคตินและไคโตซานมาประยุกต์ใช้จริงทั้งในภาคอุตสาหกรรม ภาคเกษตรกรรม ทางการแพทย์และเภสัชกรรม เช่น สารตกตะกอนในการบำบัดน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม อุตสาหกรรมเส้นใยสิ่งทอ เพื่อป้องกันแบคทีเรียและเชื้อรา ผลิตภัณฑ์เสริมอาหารเพื่อคุณภาพในการลดไขมันและคลอเลสเตอรอล สารเร่งการเจริญเติบโตในพืชและสัตว์แลกเนื้อต่าง ๆ เช่น สุกร กุ้ง เป็ด ไก่ สารเคลือบผลไม้เพื่อยืดอายุการเก็บรักษา สารถนอมอาหาร และแผ่นฟิล์มปิดแผล ช่วยให้แผลหายเร็วขึ้น

ในทางการแพทย์และเภสัชกรรม ได้มีการศึกษาแล้วว่าเมื่อรับประทานเข้าไปแล้วนั้นนอกจากที่จะไม่ดูดซึมเข้าไปในร่างกายและช่วยในการเคลื่อนตัวของอาหารในลำไส้ดังเช่นอาหารจำพวกไฟเบอร์โดยทั่วไปแล้ว ยังจะมีความสามารถในการจับคลอเลสเตอรอลและไขมันในอาหารที่รับประทานเข้าไปก่อนที่จะเกิดการดูดซึมสารเหล่านั้น ในปัจจุบันได้มีการนำไคโตซานบริสุทธิ์มาเป็นอาหารเพื่อสุขภาพในการประกอบการลดความอ้วน นอกจากนี้ ยังสามารถใช้ทำผิวหนังเทียมรักษาแผลไฟไหม้ น้ำร้อนลวก ใช้ปลดปล่อยยา รักษาเหงือกและฟัน นอกจากนี้ สารไคตินและไคโตซานยังสามารถประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์และอุตสาหกรรมต่าง ๆ อย่างหลากหลาย เช่นใช้หุ้มเมล็ดพันธุ์พืชเพื่อยืดอายุการเก็บและป้องกันราและจุลินทรีย์ในอุตสาหกรรมการเกษตรใช้เป็นสารต่อต้านราและจุลินทรีย์ ใช้เป็นสารกันบูดเคลือบอาหาร ผัก และผลไม้ ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เติมแต่งและเป็นสารพื้นฐานของแป้งทาหน้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แชมพู ครีม และสบู่ โลชั่นเคลือบป้องกันผิวและผมเนื่องจากไคตินและไคโตซานสามารถอุ้มน้ำและเป็นตาข่ายคลุมผิวหนัง ใช้ผสมเส้นใย เช่น สิ่งทอและกระดาษเพื่อป้องกันและต้านทานเชื้อโรคและยังทำให้เยื่อเหนียวและแข็งแรงเพิ่มขึ้น เป็นต้น

2.5.1 การใช้ไคโตซานเป็นสารเพิ่มความแข็งแรงหรือความเหนียวของกระดาษ

ปัจจุบันมีการรณรงค์ให้ใช้สารที่สามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ ที่รู้จักกันในนามของ “สารชีวภาพ” กันมากขึ้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อลดปัญหาสิ่งแวดล้อมที่กำลังเกิดขึ้น เช่นเดียวกับอุตสาหกรรมกระดาษที่พยายามจะค้นหาสารชีวภาพที่สามารถใช้ทดแทนสารสังเคราะห์ที่ใช้อยู่ในปัจจุบัน (ปราณี และคณะ)

แป้งแปรรูป เป็นสารเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษที่ใช้กันมากในปัจจุบัน ซึ่งมีข้อดี คือ ราคาถูก หาง่าย และย่อยสลายได้ตามธรรมชาติ อย่างไรก็ตาม แป้งเป็นแหล่งอาหารของจุลินทรีย์ หากมีการตกค้างในกระบวนการผลิต จะทำให้เกิดปัญหาเรื่องการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในสายการผลิต ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพของกระดาษและหากหลุดรอดมากับน้ำเสีย จะเป็นสาเหตุหนึ่งของการเพิ่มค่าความสกปรก (BOD) ของน้ำเสียในโรงงานได้ ดังนั้น นักวิจัยพยายามที่จะแก้ปัญหาดังกล่าว โดยการค้นหาสารชีวภาพตัวใหม่เพื่อทดแทนสารเดิม ซึ่งไคโตซานอาจจะเป็นทางเลือกหนึ่งของอุตสาหกรรมกระดาษ

ไคโตซาน หรือ โพลีกลูโคซามีน เป็นสารชีวภาพที่สามารถสกัดได้จาก เปลือกกุ้ง กระดองปู และแกนปลาหมึก รวมไปถึงเปลือกของแมลงและผนังเซลล์ของเห็ดรา

ไคโตซาน มีสมบัติหลายประการที่เหมาะสำหรับการนำไปใช้ในการปรับปรุงสมบัติของกระดาษ เช่น มีประจุบวก สามารถสร้างฟิล์มได้ น้ำหนักโมเลกุลสูงและมีโครงสร้างเป็นเส้นตรง นอกจากนี้ ไคโตซานยังสามารถย่อยสลายได้ตามธรรมชาติและไม่ก่อให้เกิดมลภาวะ

ประโยชน์ของไคโตซานในอุตสาหกรรมกระดาษมีดังนี้

- การทำกระดาษที่มีคุณภาพทางกายภาพสูง
- การทำกระดาษที่ต้องการคุณภาพของการพิมพ์สูง
- ใช้เคลือบกระดาษเพื่อคงสภาพของกระดาษไว้ได้นานๆ เช่น หนังสือในห้องสมุด

จากรายงานวิจัย พบว่า การใช้ไคโตซานในปริมาณร้อยละ 0.25 – 1 สามารถเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษได้ดี โดยเฉพาะสภาวะการผลิตที่เป็นกรดและกลาง นอกจากนี้ อิทธิพลที่มีผลต่อการใช้ไคโตซานเป็นสารเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษนั้น ได้แก่ ปริมาณการใช้และสภาวะการผลิต อย่างไรก็ตาม ไคโตซานมีสมบัติที่เด่นกว่าสารอื่นตรงที่ไคโตซานสามารถใช้ได้ทั้งในสภาวะที่เป็น กรด กลาง และด่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 กระดาษ

อุตสาหกรรมกระดาษเป็นอุตสาหกรรมที่มีลักษณะของการลงทุนสูงมาก ต้องใช้เงินทุนสูง รวมทั้งการใช้น้ำ พลังงานและพืชผลทางการเกษตรในปริมาณที่สูงมาก การลงทุนเพื่อสร้างโรงงานแบบอินทิเกรตเท็ดมิลล์ (integrated mill) ซึ่งมีหน่วยการผลิตเยื่อเคมีฟอกขาวและหน่วยการผลิตกระดาษอยู่ภายในโรงงานเดียวกัน จะต้องใช้เงินลงทุนสูงมากซึ่งเป็นค่าเครื่องจักรผลิตกระดาษ โรงงานกระดาษที่ทันสมัยสามารถผลิตกระดาษได้ 1,000 - 1,500 ตันต่อวัน ปริมาณน้ำที่ใช้ในการผลิตเยื่อ ฟอกเยื่อ และเดินแผ่นมีจำนวนมหาศาล พลังงานที่ใช้ในขั้นตอนการผลิตต่าง ๆ และเชื้อเพลิงที่นำมาใช้เป็นพลังงานอาจเป็นน้ำมันปิโตรเลียมหรือก๊าซธรรมชาติ นอกจากนี้ยังมีการใช้พืชผลทางการเกษตรในปริมาณสูงเพื่อใช้เป็นแหล่งเส้นใยเซลลูโลส ทำให้ต้องมีการปลูกสวนป่าเพื่อให้สามารถรองรับการผลิตเยื่อได้เพียงพอ

2.6.1 องค์ประกอบของกระดาษ

กระดาษเป็นแผ่นวัสดุซึ่งได้จากการนำวัสดุหลาย ๆ ชนิดมาผสมให้เข้ากันดีแล้วนำไปทำเป็น แผ่น วัสดุที่ใช้เป็นส่วนผสมเหล่านี้ ได้แก่ เส้นใยสั้น เส้นใยยาว และสารเคมี วัสดุที่ใช้ผสมเหล่านี้สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ ส่วนที่เป็นองค์ประกอบหลักของกระดาษ ได้แก่ ส่วนที่เป็นเส้นใย (Fibrous material) ซึ่งเป็นโครงสร้างของแผ่นกระดาษ และส่วนที่ไม่ใช่เส้นใย ซึ่งเป็นสารเติมแต่งใช้เติมผสมลงไปในส่วนเส้นใยเพื่อปรับปรุงสมบัติกระดาษให้ได้ตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

ในกระดาษโดยทั่วไปจะมีส่วนเส้นใยผสมอยู่ในปริมาณร้อยละ 70-95 ของน้ำหนักกระดาษปริมาณส่วนเส้นใยจะมีมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของกระดาษที่ต้องการผลิต ส่วนเส้นใยนี้จะได้จากพืชชนิดต่าง ๆ เช่น ไม้เนื้ออ่อน ไม้เนื้อแข็ง และพืชล้มลุก ส่วนเส้นใยหรือที่เรียกทั่วไปว่า เยื่อ เยื่อที่ใช้ทำกระดาษส่วนมากจะเป็นเยื่อผสมของเยื่อใยยาวและเยื่อใยสั้น

เยื่อใยยาวได้จากไม้เนื้ออ่อน (softwood) ซึ่งเป็นไม้ที่ขึ้นบริเวณที่สูง อากาศเย็น โตช้า ใบมีลักษณะแคบเรียวยาว (needle) เส้นใยมีลักษณะหยาบ มีความแข็งแรงสูง มีความยาวประมาณ 3 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 20-40 ไมครอน (1 ไมครอนเท่ากับ 0.001 มิลลิเมตร) ไม้ในกลุ่มนี้ได้แก่ สน (Pine) และ สปรู๊ซ(Spruce) เป็นต้น

เยื่อใยสั้นได้จากไม้เนื้อแข็ง (Hardwood) ซึ่งเป็นไม้ที่ขึ้นในบริเวณเขตร้อน โตเร็ว ใบมีลักษณะกว้าง (Leaf) เส้นใยมีลักษณะเล็ก ละเอียด ความแข็งแรงต่ำ มีความยาวประมาณ 1 มิลลิเมตร กว้างประมาณ 10-20 ไมครอน ไม้ในกลุ่มนี้ได้แก่ ยูคาลิปตัส (Eucalyptus) กระถินเทพา (Acacia) เบิร์ช(Birch)และ แอสเพน (Aspen) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบหลักของกระดาษที่ใช้ในกระบวนการผลิตกระดาษ สามารถแบ่งได้เป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นเส้นใย และส่วนที่ไม่ใช้เส้นใย

1) ส่วนที่เป็นเส้นใย

1.1 เยื่อใยสั้นเคมีฟอก (Leaf Bleached Kraft Pulp: LBKP) เส้นใยสั้นผลิตจากไม้เนื้อแข็งเมืองร้อน เช่น ผลิตเยื่อจากไม้ยูคาลิปตัส มีความยาวประมาณ 1-1.5 มิลลิเมตร คุณสมบัติเด่นของเยื่อใยสั้น คือ ช่วยให้เนื้อกระดาษแน่นสม่ำเสมอ เรียบ และมีความทึบแสงดี เนื่องจากเยื่อใยสั้นมีขนาดเล็ก สามารถแทรกตัวตามร่องช่องว่างของเยื่อใยยาวได้ แต่มีข้อเสียคือ ไม่สร้างความแข็งแรงให้กับกระดาษ ทำให้กระดาษขาดง่าย

1.2 เยื่อใยยาวเคมีฟอก (Needle Bleached Kraft Pulp: NBKP) เส้นใยยาวเป็นเยื่อที่ผลิตจากไม้อ่อนจำพวกสน โรงงานผลิตกระดาษในประเทศไทย ไม่มีการผลิตเนื้อเยื่อใยยาว จึงต้องนำเข้าจากต่างประเทศ เส้นใยยาวมีความยาวประมาณ 3-3.5 มิลลิเมตร ซึ่งจะทำให้มีความสามารถในการยึดเกี่ยวกันสูง ทำให้กระดาษมีความแข็งแรงดีขึ้น ทนต่อแรงดึง แรงฉีกขาด ทำให้การเดินเครื่องดีขึ้น แต่ถ้าใส่เป็นส่วนผสมในเนื้อกระดาษมาก จะเกิดทำให้ Formation ของกระดาษไม่ดี เกิด Flocculation กล่าวคือเป็นกระจุกของเส้นใยเยื่อที่จับตัวเป็นกลุ่มก้อน จะเกิดเมื่อการกระจายตัวของเยื่อไม่ดี เมื่อมองทะลุแผ่นกระดาษผ่านแสง จะเห็นเหมือนก้อนเมฆเป็นหย่อม ๆ ในเนื้อกระดาษเป็นจำนวนมากและทำให้ผิวกระดาษไม่เรียบ นอกจากนี้ยังมีเศษกระดาษหมุนเวียน (Broke) จากส่วนต่าง ๆ ของสายการผลิตรวมทั้ง recovered fiber ด้วย

2) ส่วนที่ไม่ใช่เส้นใย ส่วนมากเป็นสารเคมีที่ใช้ในกระบวนการผลิตกระดาษซึ่งมีหลายชนิด สารเคมีเหล่านี้เติมลงไปเพื่อปรับปรุงสมบัติกระดาษให้ได้ตามวัตถุประสงค์การใช้งาน

2.1 ตัวเติม (filler) สารเติมแต่งชนิดนี้จะเป็นผงแร่สีขาว ใส่ลงไปเพื่อเพิ่มสมบัติด้านทัศนศาสตร์และปรับปรุงสมบัติด้านการพิมพ์ของกระดาษ นอกจากนี้ยังใส่ลงไปเพื่อเป็นการลดต้นทุนในการผลิตกระดาษอีกด้วย เพราะตัวเติมส่วนมากจะมีราคาถูกเมื่อเทียบกับเส้นใยผงแร่ที่ใช้เป็นตัวเติมลงในกระดาษจะต้องมีขนาดเล็กละเอียด ตัวเติมที่ดีควรมีขนาดประมาณ 1-10 ไมครอน ผงแร่ที่มีขนาดเล็กนี้ เมื่อเติมลงไปจะช่วยเพิ่มเนื้อที่ผิวภายในกระดาษ โดยเพิ่มพื้นที่ผิวระหว่างผงแร่กับอากาศและผงแร่กับเส้นใย ทำให้เพิ่มค่าการกระจายแสง (light scattering) ของกระดาษ ทำให้กระดาษมีค่าความขาวสว่างเพิ่มขึ้นและเนื่องจากมีขนาดเล็กกว่าเส้นใยมาก เมื่อใส่ลงไปจะทำให้กระดาษมีผิวเรียบขึ้น ผงแร่ที่ใช้เป็นตัวเติมในกระดาษ ได้แก่ ดินขาว (kaolin clay) ไททาเนียมไดออกไซด์ (titanium dioxide, TiO_2) และแคลเซียมคาร์บอเนต (calcium carbonate, $CaCO_3$) ผงแร่เมื่อใส่ลงไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะช่วยปรับปรุงสมบัติต่าง ๆ ของกระดาษให้ดีขึ้นดังนี้ คือ ทำให้ผิวกระดาษเรียบขึ้น เพิ่มความขาวสว่างและความทึบแสงของกระดาษ ทำให้กระดาษมีการดูดซับหมึกได้ดีขึ้น และลดต้นทุนการผลิตกระดาษ แต่การเติมผงแร่ลงไปก็มีส่วนลดสมบัติด้านความเหนียวของกระดาษลงด้วย ผงแร่แต่ละชนิดมีลักษณะรูปร่าง ขนาด และดัชนีการหักเหของแสงต่างกัน

2.2 สารต้านการซึมน้ำ (sizing-agent) สารเติมแต่งชนิดนี้เป็นสารเคมีที่ใส่ลงไปเพื่อเพิ่มสมบัติด้านการต้านทานการซึมน้ำของกระดาษ ทำให้กระดาษต้านทานการเปียกน้ำได้ดีขึ้น เนื่องจากกระดาษทำจากเส้นใยเซลลูโลสซึ่งมีความสามารถในการดูดซับน้ำได้สูง กระดาษที่ไม่ได้ใส่สารต้านการซึมน้ำจึงเปียกน้ำและดูดซับน้ำได้ง่าย เช่น กระดาษชำระและกระดาษซับ (blotting paper) การเติมสารต้านการซึมน้ำลงไปจะช่วยลดพื้นที่ผิวของการดึงดูดระหว่างเส้นใยและโมเลกุลของน้ำทำให้ลดอัตราการซึมน้ำเข้าสู่เนื้อกระดาษ เมื่อกระดาษโดนน้ำจะไม่เปียกหรือซับน้ำในทันทีทันใด การเติมสารต้านการซึมน้ำแบ่งเป็น 3 ระดับ มีชื่อเรียกกระดาษที่เติมสารต้านการซึมน้ำแต่ละระดับดังนี้

2.2.1 กระดาษที่ไม่ใส่สารต้านการซึมน้ำเลย (water-leaf) เช่น กระดาษชำระ

2.2.2 กระดาษที่ใส่สารต้านการซึมน้ำเล็กน้อย มีระดับการซึมน้ำปานกลาง (slack-sized) เช่น กระดาษพิมพ์และเขียน

2.2.3 กระดาษที่ใส่สารต้านการซึมน้ำในปริมาณสูงมาก มีระดับต้านการซึมน้ำสูง (hardsized) กระดาษทำถ้วย กระดาษทำกล่องนม

2.3 สารเพิ่มความเหนียว สารเติมแต่งชนิดนี้เป็นสารเคมีที่เติมลงไปเพื่อเพิ่มสมบัติด้านความเหนียวของกระดาษ โดยเฉพาะความต้านแรงดึง และความต้านแรงดันทะลุนอกจากนี้ยังช่วยลดการหลุดลอกของเส้นใยที่ผิวกระดาษและเพิ่มพันธะแรงยึดเหนี่ยวระหว่างชั้นกระดาษแข็งซึ่งเป็นสมบัติที่สำคัญมาก เพราะถ้าแรงยึดเหนี่ยวระหว่างชั้นต่ำจะทำให้เกิดการแยกชั้นของกระดาษแข็งในระหว่างการพิมพ์ได้ สารเพิ่มความเหนียวที่ใช้ ได้แก่ แป้งธรรมชาติ (native starch) แป้งปรุงแต่ง (modified starch) ปรับให้เป็นประจุบวก กัม และพอลิอะคริลเอไมด์ (polyacrylamide) แป้งเป็นสารเพิ่มความเหนียวที่รู้จักกันดีและมีใช้มานานแล้ว แต่ในปัจจุบันนิยมใช้แป้งประจุบวกและพอลิอะคริลเอไมด์มากกว่า เนื่องจากสารเหล่านี้มีประจุบวก จึงสามารถจับกันได้ดีกับเส้นใยซึ่งมีประจุลบทำให้เพิ่มพันธะระหว่างเส้นใยในกระดาษส่งผลให้กระดาษมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้น

2.4 สารฟอกนวล (optical brightening agent: OBA) หรือสารเพิ่มความขาวสว่าง สารเติมแต่งชนิดนี้เป็นสารสีย้อมประเภทเรืองแสง (fluorescent dye) เมื่อเติมลงไปจะช่วยให้กระดาษมีความขาวสว่าง (brightness) เพิ่มมากขึ้น โดยปกติจะเติมที่ machine chest หรือหน้า fan pump

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 สารสีย้อม (dyes) สารเติมแต่งชนิดนี้เป็นสารเคมีที่ใส่ลงไปในการทำกระดาษ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อรักษาโทนสีของกระดาษให้คงที่และชดเชยกับสีของลิกนินซึ่งมีสีเหลือง โดยปกติถ้ากระดาษสัมผัสกับความร้อนหรือแสงอาทิตย์ ลิกนินที่หลงเหลืออยู่ในเนื้อกระดาษจะส่งสีของตัวเองออกมา ทำให้กระดาษมีสีเหลือง สารสีย้อมยังใช้แต่งสีกระดาษขาวให้ได้ระดับคล้ำสีที่ต้องการหรือเพื่อให้ดูขาวขึ้น ซึ่งเรียกว่าสีแต่ง (tinting dye) โดยใช้สีแต่งในปริมาณน้อย ๆ เติมในส่วนผสมของน้ำเยื่อ สีที่ใช้แต่งนี้อาจเป็นสีอะไรก็ได้ แต่ในกระดาษขาวจะใช้สีม่วงหรือสีน้ำเงิน

2.6 สารควบคุมจุลชีวะ (microbiological control agent หรือ biocide) เป็นสารที่ช่วยควบคุมการเจริญเติบโตของจุลชีวะจำพวกเชื้อราหรือแบคทีเรียในระบบ เพื่อป้องกันการเกิดเมือกจุลินทรีย์(filler) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้กระดาษสกปรก และทำให้กระดาษขาดในระหว่างการผลิตได้ง่าย

2.7 สารเพิ่มการตกค้าง (retention aid) เป็นสารเคมีที่เพื่อช่วยให้เยื่อและ filler จับตัวกันและคงอยู่ในเนื้อกระดาษให้มากที่สุดในช่วงการระบายน้ำบนตะแกรงลวดเดินแผ่น ซึ่งสารเคมีประเภทนี้จะทำหน้าที่คล้ายกาวช่วยยึดเหนี่ยวทั้งเยื่อและอนุภาคเล็ก ๆ ของ filler เข้าด้วย

2..2 กระบวนการผลิตกระดาษ

หลังจากผสมน้ำเยื่อเรียบร้อยแล้ว น้ำเยื่อจะถูกส่งเข้าสู่เครื่องจักรผลิตกระดาษ เพื่อทำให้เป็นแผ่นกระดาษที่ยาวต่อเนื่องเรียกว่า กระดาษม้วน โดยทั่วไปเครื่องจักรผลิตกระดาษจะประกอบด้วยส่วนต่าง ๆ ดังนี้

ถังจ่ายเยื่อ (Headbox) เป็นอุปกรณ์ชิ้นแรกของเครื่องจักรผลิตกระดาษ ทำหน้าที่จ่ายน้ำเยื่อเข้าสู่ตะแกรงลวดเดินแผ่น ทำลายกลุ่มเส้นใย (flocculated fiber) ในน้ำเยื่อ และปล่อยน้ำเยื่อลงบนตะแกรงลวดเดินแผ่นอย่างสม่ำเสมอตลอดความกว้างของเครื่องจักร เฮดบ๊อกซ์ที่ใช้กันทั่วไปมีอยู่ 2 ชนิดคือ ชนิดเบาะอากาศ (Air cushion headbox) และชนิดไฮดรอลิก (Hydralic headbox) นอกจากนี้ยังมีเฮดบ๊อกซ์ แบบเก่า เช่น แบบเปิด (Opened headbox) ซึ่งใช้กับเครื่องจักรความเร็วต่ำประมาณ 30-250 เมตร/นาที ซึ่งมีใช้น้อยมากในปัจจุบัน

1) ส่วนตะแกรงลวดเดินแผ่น (Wire section หรือ Forming section) ทำหน้าที่สำคัญ 2 ประการคือ การก่อตัวเป็นแผ่นกระดาษด้วยกระบวนการกรองและการแยกน้ำออก (dewatering) แผ่นเปียกที่ออกจากส่วนนี้จะมีน้ำอยู่ถึงร้อยละ 80 ส่วนตะแกรงลวดเดินแผ่นนี้เป็นอุปกรณ์ที่สำคัญมากต่อความสม่ำเสมอของเส้นใยในเนื้อกระดาษ ลำน้ำเยื่อจากเฮดบ๊อกซ์จะตกกระทบตะแกรงลวดเดินแผ่นที่ฟอร์มมิ่งบอร์ด ความเร็วของลำน้ำเยื่อจะสูงหรือต่ำกว่าความเร็วของตะแกรงลวดเดินแผ่นเล็กน้อยเพื่อให้ได้ความแข็งแรงและความสม่ำเสมอของเส้นใยในเนื้อกระดาษ ความแตกต่างของความเร็วลำน้ำเยื่อและตะแกรงลวดเดินแผ่นร่วมกับตำแหน่งที่น้ำเยื่อตกบนฟอร์มมิ่งบอร์ด เป็นปัจจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำคัญที่มีผลต่อคุณภาพของกระดาษอย่างมาก (บางครั้งเรียก อัตราส่วนของความเร็วน้ำเยื่อหารด้วยความเร็วของตะแกรงลวดเดินแผ่นว่า Efflux ratio) เมื่อน้ำเยื่อผ่านมาบนตะแกรง น้ำบางส่วนของน้ำเยื่อรวมทั้งเส้นใยและสารเติมแต่งที่มีขนาดเล็กกว่าขนาดของช่องตะแกรงจะไหลผ่านตะแกรงออกไปโดยอาศัยแรงดึงดูดของโลกและแรงดูดจากอุปกรณ์เสริมอื่นๆ ที่ติดตั้งอยู่ใต้ตะแกรง น้ำที่หายไปมีผลทำให้เส้นใยเซลลูโลสอยู่ใกล้ชิดกันและเกี่ยวประสานกันได้มากขึ้น จนเกิดลักษณะเป็นแผ่นกระดาษ แผ่นกระดาษที่ได้มีผิวหน้าสองด้านที่มีสมบัติหลายประการแตกต่างกัน ทั้งนี้การเรียกด้านของกระดาษใช้การสัมผัสและไม่สัมผัสตะแกรงเป็นเกณฑ์ โดยด้านของแผ่นกระดาษที่สัมผัสตะแกรงเรียกว่า "ด้านตะแกรง" (wire side) ส่วนด้านของแผ่นกระดาษที่อยู่ตรงข้ามด้านตะแกรงเรียกว่า "ด้านสักหลาด" (felt side) ซึ่งเป็นด้านที่สัมผัสกับผืนสักหลาดที่ทำหน้าที่ในการส่ง ผ่านสายของแผ่นกระดาษ (paper wed) บนเครื่องผลิตกระดาษ ปริมาณน้ำที่อยู่ในแผ่นกระดาษหลังการแยกน้ำออกแล้วมีอยู่ในแผ่นกระดาษหลักการแยกน้ำออกแล้วมีอยู่ประมาณร้อยละ 80-85 โดยน้ำหนัก

2) ส่วนกดรีดน้ำ (Pressing section) สายของแผ่นกระดาษที่เกิดขึ้นหลังจากการแยกน้ำแล้วจะเคลื่อนที่เข้าไประหว่างลูกกลิ้งกดรีดน้ำ (press rolls)ในขั้นนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อขจัดน้ำออกจากแผ่กระดาษให้ได้มากที่สุดก่อนที่จะส่งต่อไปยังหน่วยทำแห้ง ปริมาณน้ำที่ยังมีอยู่ในแผ่นกระดาษเปียกหลังผ่านการกดรีดน้ำแล้วเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 60-70 โดยน้ำหนัก ในส่วนกดรีดน้ำนี้ จะมีการจัดเรียงของชุดกดรีดน้ำหลายรูปแบบ ขึ้นอยู่กับชนิดของกระดาษที่ผลิต สำหรับกระดาษพิมพ์เขียนซึ่งต้องการให้ผิวสองด้านของกระดาษเรียบเท่า ๆ กัน ผิวทั้งสองด้านของกระดาษต้องถูกกดด้วยผิวลูกกดรีดน้ำที่เรียบโดยไม่มีผ้าสักหลาด แต่การกดรีดน้ำโดยไม่มีผ้าสักหลาดรองรับ จะทำให้น้ำระบายออกจากกระดาษได้ยาก การระบายน้ำไม่มีประสิทธิภาพ ดังนั้น จึงมักมีผ้าสักหลาดหนึ่งหรือสองผืนเสมอ ๆ ในบรรดาลูกกดรีดน้ำทั้งหมด จะมีอยู่หนึ่งลูกที่เป็นแบบลูกกดรีดน้ำสุญญากาศหรือลูกกดรัดน้ำที่มีผิวเป็นหรือช่อง เพื่อให้น้ำระบายออกจากกระดาษได้มากขึ้น นอกจากการกดรีดน้ำออกแล้วลูกกลิ้งกดรีดน้ำยังมีหน้าที่คล้ายกับลูกกลิ้งแดนดี (dandy roll) กล่าวคือ ช่วยกดอัดให้เส้นใยเซลลูโลสมาอยู่ใกล้กันและเกิดพันธะเคมีต่อกันได้มากยิ่งขึ้น ทำให้แผ่นกระดาษมีความแข็งแรงเพิ่มขึ้รวมทั้งช่วยเพิ่มความเรียบให้กับผิวกระดาษด้วย

3) ส่วนอบแห้งกระดาษ (Drying section) การทำแห้งกระดาษทำโดยอาศัยความร้อนจากไอน้ำอิ่มตัวความดันต่ำที่ถูกจ่ายเข้าไปข้างในลูกอบแห้ง ทำให้ผิวลูกอบแห้งร้อนขึ้น แล้วกลั่นตัวเป็นคอนเดนเสท (condensate) คอนเดนเสทจะฟอร์มตัวเป็นฟิล์มอยู่ที่ผิวด้านในของลูกอบแห้ง ฟิล์มนี้ต้องไม่หนาจนเกินไปเพราะจะทำให้การถ่ายเทความร้อนระหว่างไอน้ำและผิวลูกอบไม่ดี การระบายคอนเดนเสทออกจากลูกอบแห้งเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพในการอบแห้งกระดาษและรวมถึงค่าใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จ่ายด้วย ซึ่งความร้อนนี้จะทำให้ปริมาณน้ำที่มีอยู่ในแผ่นกระดาษเหลืออยู่ประมาณร้อยละ 2-8 โดยน้ำหนัก ในหน่วยทำแห้งนี้อาจมีการเคลือบสารละลายของสารเพิ่มความแข็งแรงผิวให้แก่กระดาษ การเคลือบสารเพิ่มความแข็งแรงผิวบนกระดาษเกิดขึ้นเมื่อสายของแผ่นกระดาษเคลื่อนที่ผ่านเข้าไปในหน่วยเคลือบสารเพิ่มความแข็งแรงผิว ซึ่งอยู่ก่อนส่วนทำแห้งส่วนสุดท้ายของหน่วยทำแห้ง เมื่อสารเพิ่มความแข็งแรงผิวได้รับการเคลือบบนกระดาษแล้วสายของกระดาษก็จะเคลื่อนที่เข้าสู่ส่วนทำแห้งส่วนสุดท้าย เพื่อทำให้สารเพิ่มความแข็งแรงผิวบนกระดาษเกิดการแห้งตัวก่อนที่สายของแผ่นกระดาษจะเคลื่อนเข้าสู่ชั้นต่อไป

4) **ส่วนฉาบผิวกระดาษ (Size-press section)** เป็นการฉาบผิวกระดาษ (surface sizing)กระดาษที่ผ่านส่วนอบแห้งชุดแรกจะถูกฉาบด้วยน้ำแป้งที่ต้มสุก โดยน้ำแป้งจะฉาบอยู่ที่ผิวกระดาษทั้ง 2 ข้างทำให้ผิวกระดาษแข็งแรงขึ้นและทำให้กระดาษมีความต้านทานน้ำเพิ่มขึ้นด้วยเพราะน้ำแป้งจะไปอุดรูที่ผิวกระดาษ ถัดจากเครื่องฉาบผิวจะเป็นส่วนให้ความร้อนแบบลมร้อน (air foil) และส่วนอบแห้งชุดหลังเพื่อให้กระดาษแห้ง อาจมีการเติมสารเติมบางอย่างลงในน้ำแป้งด้วย เช่น สารฟอกนวล เป็นต้น

5) **ส่วนรีดผิวกระดาษ (Calendering section)** เป็นอุปกรณ์ที่อยู่ถัดจาก ส่วนอบแห้งชุดหลังประกอบด้วยลูกรีดทรงกระบอกซึ่งทำจากโลหะวางซ้อนกัน ผิวของลูกรีดจะแข็งและเรียบมาก กระดาษจะถูกดึงผ่านไประหว่างลูกรีด ทำให้กระดาษบางลง เรียบขึ้น และมีความหนาสม่ำเสมอขึ้นด้วย ลูกรีดเรียบลูกล่างสุดเรียกว่า king roll จะมีขนาดใหญ่และมี crown เพื่อให้ความดันสม่ำเสมอตลอดหน้ากว้างของกระดาษการรีดผิวกระดาษนี้เป็นขั้นตอนสุดท้ายก่อนที่สายของแผ่นกระดาษจะเข้าม้วน (Peeling) แล้วนำออกจากเครื่องผลิตกระดาษเพื่อนำไปตัดเป็นม้วนขนาดเล็กหรือเป็นแผ่นเพื่อจำหน่ายต่อไป

กระดาษที่ผลิตเสร็จแล้วอาจมีการปรับปรุงคุณภาพของผิวกระดาษให้มีความเรียบเพิ่มขึ้นเพื่อเพิ่มความสามารถในการพิมพ์และมีความแข็งแรงขึ้น เช่น การเคลือบกระดาษโดยการนำกระดาษโดยการนำกระดาษที่ผลิตมาสำหรับเคลือบผิวโดยเฉพาะ ผ่านเข้าเครื่องผิวกระดาษ (Coater) และการขัดมันโดยการนำกระดาษที่ผ่านการเคลือบผิวแล้วไปผ่านเครื่องขัดมัน (Supercalender) หลังจากนั้นจึงนำกระดาษมารอแบ่งและเปลี่ยนแกนเป็นแกนกระดาษต่อไป

นอกจากขั้นตอนต่าง ๆ ที่ได้กล่าวมาแล้วในข้างต้น ยังมีขั้นตอนอีก 2 ขั้นตอนที่กระดาษอาจต้องผ่านการปรับปรุงคุณภาพของผิวกระดาษก่อนออกจำหน่ายได้แก่

1) **การเคลือบผิวกระดาษ (Coating)** การเคลือบผิวกระดาษเป็นขั้นตอนสำหรับเคลือบผิวกระดาษด้วยตัวเติม โดยมีสารยึดตัวเติมให้ติดบนผิวกระดาษได้ การเคลือบผิวเพื่อช่วยให้กระดาษมีผิวหน้าที่เรียบขึ้นทำให้สภาพพิมพ์ได้ของกระดาษดีขึ้น กระดาษที่ผ่านการเคลือบผิวมีชื่อเรียกว่า “กระดาษเคลือบผิว”(coated paper) ซึ่งการเคลือบผิวอาจเป็นแบบ “เคลือบด้านเดียว” หรือ “เคลือบ สองด้าน”

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของกระดาษ และอาจ "เคลือบด้าน" หรือ "เคลือบมัน" ก็ได้ ทั้งนี้การเคลือบด้านหรือเคลือบมันขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของสารเคลือบผิวที่ใช้ ความมันวาวของกระดาษที่นำมาเคลือบผิวและวิธีการที่ใช้ในการเคลือบผิวเป็นสำคัญ ทั้งนี้อุปกรณ์ในการเคลือบผิวกระดาษอาจเป็นส่วนหนึ่งของเครื่องผลิตกระดาษหรือแยกออกมาต่างหากก็ได้

2) การขัดผิวกระดาษ (Supercalendering) กระดาษที่ผ่านการรีดผิวและ/หรือผ่านการเคลือบผิวมาแล้ วเป็นกระดาษที่มีความเรียบและความมันวาวในระดับหนึ่ง อย่างไรก็ตามเพื่อเพิ่มความมันวาวของกระดาษให้มีมากยิ่งขึ้น กระดาษจะรับการขัดผิวโดยใช้อุปกรณ์ที่เรียกว่า "ซูเปอร์คาร์แลนเดอร์" (supercalender) ซึ่งเป็นอุปกรณ์ที่ต่อแยกออกจากเครื่องผลิตกระดาษ อุปกรณ์ดังกล่าวประกอบด้วยลูกกลิ้งขัดผิวจำนวนมาก มีลักษณะเป็นกระบอกเรียงซ้อนกันในแนวตั้งโดยมีลูกกลิ้งที่ทำจากเหล็กกล้าขัดมันเรียงสลับกับลูกกลิ้งที่หุ้มด้วยกระดาษหรือฝ้าย เมื่อสายของแผ่นกระดาษผ่าน เข้าไประหว่างลูกกลิ้งแรงกดอัดระหว่างลูกกลิ้งที่กระดาษได้รับมีผลให้เส้นใยเซลลูโลสอัดตัวกันได้มากขึ้น และทำให้กระดาษมีผิวที่เรียบมากขึ้น อันเป็นผลทำให้ความมันวาวของกระดาษเพิ่มขึ้นตามจำนวนครั้งที่กระดาษได้รับการขัดผิว

งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Pranee และคณะ (2002) ได้ศึกษาผลของไคโตซานต่อคุณสมบัติกระดาษที่ทำจากไม้ยูคาลิปตัส สภาวะในการศึกษามีทั้งสภาวะเป็นกรด กลางและด่าง ความเข้มข้นของไคโตซานที่ใช้มีดังนี้ ร้อยละ 0 ร้อยละ 0.25 ร้อยละ 0.5 และร้อยละ 1 น้ำหนักแห้งของเยื่อกระดาษ ผลการทดลองพบว่า การเติมไคโตซานร้อยละ 1 จะช่วยปรับปรุงคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษได้ แต่อัตราการเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษจะมีสูงในช่วงความเข้มข้นไคโตซานร้อยละ 0 – 0.5 เมื่อเปรียบเทียบกับร้อยละ 0.5 – 1 ไคโตซานช่วยเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษได้ทั้งในสภาวะกรดและกลาง แต่ในสภาวะที่เป็นด่างจะมีประสิทธิภาพน้อย ซึ่งโดยทั่งไปแล้วไคโตซานจะมีศักยภาพที่จะใช้เป็นตัวเพิ่มความแข็งแรงของกระดาษในสภาวะที่เป็นกรด กลางและด่าง ขึ้นอยู่กับความต้องการของกระบวนการ

Pranee และคณะ (2004) ได้ศึกษาการใช้ไคโตซานเคลือบกระดาษที่ใช้สำหรับพิมพ์ พบว่าการใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานต่างกัน และน้ำหนักโมเลกุลของไคโตซานที่ต่างกันมีผลต่อคุณภาพของกระดาษที่นำไปเคลือบ มีการทดลองเปรียบเทียบการเคลือบกระดาษด้วย polyvinyl alcohol oxidised starch และการนำ oxidised starch ผสมกับไคโตซานในปริมาณเล็กน้อยจะช่วยปรับปรุงคุณภาพของกระดาษให้ดีขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัสดุอุปกรณ์

3.1.1 จุลินทรีย์

3.1.1.1 *Acetobacter xylinum* TISTR 976

3.1.1.2 *Escherichia coli*

3.1.1.3 *Salmonella* sp.

3.1.1.4 *Staphylococcus aureus*

3.1.1.5 *Pseudomonas aeruginosa*

3.1.1.6 *Bacillus* sp.

3.1.1.7 *Serratia* sp.

3.1.1.8 *Micrococcus* sp.

3.1.2 วัตถุดิบ

3.1.1.1 ไคโตซาน ซื้อจากบริษัทสยามไบโอเนท จำกัด ซึ่งมี % deacetylation 85%

3.1.2.2 น้ำมะพร้าวแก่

3.1.3.3 เวย์ที่ได้จากกระบวนการผลิตเต้าหู้

3.1.2 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.1.3.1 อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

3.1.3.2 อาหารสูตรเวย์

3.1.3.3 อาหาร Mueller-Hinton broth (MHB)

3.1.3.4 อาหาร Mueller-Hinton Agar (MHA)

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.4.1 ถาดพลาสติก

3.1.4.2 กระดาษหนังสือพิมพ์

3.1.4.3 หนังยางรัดถาด

3.1.4.4 เครื่องอัดรีดน้ำ

3.1.4.5 หม้อสแตนเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.4.6 เครื่องนึ่งฆ่าเชื้อไอน้ำ (autoclave)

3.1.4.7 โถดูดความชื้น (desiccator)

3.1.4.8 เครื่องชั่งทศนิยมสี่ตำแหน่ง

3.1.4.9 วัสดุดูดซับน้ำ (แผ่นปูนปาสเตอร์)

3.1.4.10 ไมโครมิเตอร์

3.1.4.11 เวอเนียร์คาลิปเปอร์

3.1.4.12 กรอบยึดแผ่นเซลลูโลส

3.1.4.13 เครื่อง texture analyzer

3.1.4.14 ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.4.15 ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร

3.2 วิธีการทดลอง

3.2.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเปรียบเทียบกับอาหารสูตรเวย์

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ (Starter)

นำเวย์ที่ได้จากกระบวนการผลิตเต้าหู้มากรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นต้มให้เดือดนาน 10 นาที เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 1 กรดอะซิติกร้อยละ 0.1 ปรับพีเอชให้ได้ 4.5 แบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลีนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นทำการถ่ายเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ความเข้มข้นร้อยละ 10 ลงในขวดรูปชมพู่ บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในสภาพนิ่งนาน 3 วัน

3.2.1.2 การหมักโดยใช้อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบางให้สะอาด จากนั้นต้มให้เดือดนาน 10 นาที เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 กรดอะซิติกร้อยละ 1 อาหารเลี้ยงเชื้อมีพีเอช 4.5 แบ่งบรรจุขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลีแล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารที่ใช้ บ่มที่อุณหภูมิห้องในสภาพนิ่งนาน 12 วัน เก็บตัวอย่างทุกวันนำมาวัดความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์และผลผลิตของเซลลูโลสโดยการหาน้ำหนักแห้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.1.3 การหมักโดยใช้อาหารสูตรเวย์

นำเวย์ที่ได้จากกระบวนการผลิตเต้าหู้มากรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นต้มให้เดือดนาน 10 นาที เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 1 กรดอะซิติกร้อยละ 0.1 ปรับพีเอชให้ได้ 4.5 แบ่งใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ปิดด้วยจุกสำลีนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารที่ใช้ บ่มที่อุณหภูมิห้องในสภาพนิ่งนาน 12 วัน เก็บตัวอย่างทุกวันนำมาวัดความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้โดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์และผลผลิตของเซลลูโลสโดยการหาน้ำหนักแห้ง

3.2.1.2 การเก็บตัวอย่างและการวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลสที่ผลิตได้

นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้อาหารสูตรน้ำมะพร้าวและสูตรเวย์มาล้างด้วยน้ำหลายๆครั้งให้สะอาด วัดความหนาโดยใช้เวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ จากนั้นนำไปต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 นาน 30 นาทีเพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียที่เหลืออยู่ จากนั้นนำเข้าเครื่องอัดรีดน้ำแล้วนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาทำให้แห้งโดยอบที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งไว้ให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นนำมาชั่งหาน้ำหนักแห้งแผ่นเซลลูโลสที่ได้ รายงานเป็นค่าของน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสต่อปริมาตรอาหารที่ใช้

<u>หมายเหตุ</u> การวัดความหนาของแผ่นเซลลูโลส 1 แผ่นให้ทำการวัดความหนาที่จุดต่างๆ กัน 10 จุด แล้วจึงหาค่าเฉลี่ยของแผ่นวุ้นนั้นๆ

3.2.2 ศึกษาการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน

3.2.2.1 การเตรียมสารละลายไคโตซาน

ชั่งไคโตซานที่บดให้เป็นผงละเอียด 10 กรัม จากนั้นปิเปตกรดอะซิติกเข้มข้น 5 มิลลิลิตร เจือจางด้วยน้ำกลั่นจนได้ปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมน้ำเล็กน้อยลงในบีกเกอร์ขนาด 1,000 มิลลิลิตร เติมผงไคโตซานทีละน้อยและเติมกรดอะซิติกเจือจางลงไปเล็กน้อยโดยทำให้ไคโตซานละลายได้หมด เติมน้ำลงไปเล็กน้อยคนตลอดเวลาและอุณหภูมิในการคนไม่เกิน 70 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมไคโตซานและสารละลายกรดอะซิติกเจือจางทุกๆ 15 นาทีจนกระทั่งผงไคโตซานละลายหมด ปรับปริมาตรด้วยน้ำให้ได้ 500 มิลลิลิตร

3.2.2.2 การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารละลายไคโตซาน

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.2.1 บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 100 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จากนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผสมสารละลายไคโตซานลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ ปิดด้วยจุกสำลี นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหารที่ใช้ บ่มที่อุณหภูมิห้องในสภาพนิ่งนาน 10 วัน เก็บเซลลูโลสที่ได้มาวัดความหนา

3.2.2.3 การผลิตกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส

โดยการนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาล้างน้ำให้สะอาดแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายแอมโมเนียม ไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปิดฝากาชนะทิ้งไว้ 1 คืน เป็นการปรับแผ่นเซลลูโลสให้เป็นกลาง นำแผ่นเซลลูโลสต้มในน้ำเดือด 30 นาที เพื่อไล่แอมโมเนียออก นำมาเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จากนั้นนำไปฟอกสีโดยต้มในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 นาน 30 นาที ล้างน้ำให้สะอาด เข้าเครื่องอัดรีดน้ำ ขึงตึงด้วยกรอบยึด อบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จะได้กระดาษจากเซลลูโลสจากนั้นนำไปศึกษาคุณสมบัติต่างๆ ต่อไป

3.2.3 ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ได้

นำกระดาษที่ได้มาศึกษาคุณสมบัติเชิงกลดังนี้ ค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) และค่าการยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) โดยใช้เครื่อง Texture analyzer รุ่น TA plus เปรียบเทียบคุณสมบัติของกระดาษที่ได้จากการใช้สารละลายไคโตซานในความเข้มข้นที่แตกต่างกัน เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่เหมาะสมต่อการผลิตกระดาษและคัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานที่เหมาะสมเพื่อใช้ในการผลิตกระดาษต่อไป

3.2.4 ทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระดาษที่ผลิตได้

3.2.4.1 วิธีการเตรียมเชื้อที่ใช้

จุลินทรีย์ที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ *Escherichia coli, Salmonella* sp., *Staphylococcus aureus, Pseudomonas aeruginosa, Bacillus* sp. , *Serratia* sp., *Micrococcus* sp. โดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียเหล่านี้ลงในอาหารเหลว MHB นำมาเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เจือจางสารละลายของเชื้อโดยใช้น้ำกลั่นที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วนำสารละลายของเชื้อไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตรให้ได้ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 0.2 ซึ่งมีจำนวนเซลล์ 1.0×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร(ใช้อาหาร MHB เป็น Blank) เพื่อนำมาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4.2 วิธีการเตรียมกระดาษที่จะนำมาใช้ในการทดสอบ

กระดาษที่จะนำมาใช้ในการทดสอบมี 3 ชนิด ดังนี้ กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นที่เหมาะสมและแผ่นที่เป็น ไคโตซานอย่างเดียว ซึ่งกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และแผ่นที่เป็นไคโตซานอย่างเดียวจะใช้เป็นชุดควบคุม(control) ตัดกระดาษให้มีขนาด 1 x 1 ตารางเซนติเมตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

3.2.4.3 การเตรียมแผ่นที่เป็นไคโตซานอย่างเดียวซึ่งใช้เป็นชุดควบคุม

เตรียมโดยเทสารละลายไคโตซานลงในจานเพาะเชื้อที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง12 เซนติเมตร ปริมาตร 25 มิลลิลิตร นำไปอบในตู้อบอุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง นำแผ่นไคโตซานแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นาน 4 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นที่เป็นไคโตซานอบที่อุณหภูมิ 45 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง อีกครั้ง จะได้แผ่นไคโตซาน

3.2.4.4 การเตรียมกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์โดยไม่ได้เติมสารละลาย ไคโตซาน เลี้ยงในสภาวะนิ่งนาน 10 วัน นำเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ (NH_4OH) ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นาน 12 ชั่วโมง นำมาต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้รีดน้ำออก นำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง

3.2.4.1การเตรียมกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นที่เหมาะสม

เตรียมโดยเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ที่เติมสารละลายไคโตซานในความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งได้จากข้อ 3.2.2 เลี้ยงในสภาวะนิ่งนาน 10 วัน นำเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์(NH_4OH)ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นาน 12 ชั่วโมง นำมาต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้รีดน้ำออก นำไปอบที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 4 ชั่วโมง

3.2.4.5 วิธีการทดสอบฤทธิ์ต้านจุลินทรีย์ของกระดาษที่ผลิตได้

โดยเตรียมอาหาร MHA เทใส่จานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งไว้ให้เย็นจากนั้นใช้ไม้พันสำลี (cotton swab) ชุบสารละลายของแบคทีเรียมาป้ายให้ทั่วอาหารแข็ง MHA จากนั้นวางแผ่นกระดาษลงบนอาหารที่ป้ายเชื้อ นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั่วโมง ทำการทดสอบ 3 ซ้ำ การเช็คผลโดยวัดบริเวณส่วนใสรอบแผ่นกระดาษ (Clear zone or inhibition zone)

3.2.5 ทดสอบการซึมผ่านของแบคทีเรีย (Penetration of Bacteria)

3.2.5.1 วิธีการเตรียมเชื้อที่ใช้ทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 3.2.4.1

3.2.5.2 วิธีการเตรียมกระดาษที่จะนำมาใช้ในการทดสอบเช่นเดียวกับข้อ 3.2.4.2 แต่ตัดกระดาษให้มีขนาด 1.5 x 1.5 ตารางเซนติเมตร

3.2.5.3 วิธีการทดสอบการซึมผ่านของแบคทีเรียบนกระดาษที่ผลิตได้

โดยเตรียมอาหาร MHA เทใส่จานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งให้เย็น จากนั้นนำกระดาษที่ต้องการทดสอบวางลงบนจานอาหาร หยดสารละลายของเชื้อทดสอบลงบนกระดาษปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การตรวจสอบผลโดยยกแผ่นกระดาษออกจากจานเพาะเชื้อ สังเกตการเปลี่ยนแปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ลวดเขี่ยเชื้อเขี่ยเชื้อที่อยู่บนอาหารซึ่งอยู่ใต้แผ่นกระดาษ ลากบนจานอาหาร MHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง เพื่อดูการเจริญของจุลินทรีย์

3.2.6 ทดสอบความสามารถในการอมน้ำของกระดาษ

โดยการนำกระดาษมาชั่งเพื่อหาน้ำหนัก จากนั้นนำไปแช่น้ำ 1 นาที นำกระดาษขึ้นมาแขวนผึ่งไว้ 1 นาที ชั่งน้ำหนักของกระดาษอีกครั้ง

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

A = น้ำหนักของกระดาษหลังแช่น้ำ (กรัม)

B = น้ำหนักของกระดาษก่อนแช่น้ำ (กรัม)

3.2.7 ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ (มอก. 214-2520)

โดยหยดน้ำลงบนพื้นราบที่มีความเรียบเสมอกัน วางแผ่นกระดาษที่ต้องการทดสอบการซึมน้ำลงบนหยดน้ำพร้อมกับบันทึกเวลาจนกระทั่งหยดน้ำซึมขึ้นมาถึงด้านบนของกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.8. ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษ

วิธีการหาการซึมน้ำมันของกระดาษสามารถทำได้ด้วยวิธีการเดียวกับการทดลองเรื่องความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ

3.2.9. ทดสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ (Determination of Water Vapour Transmission Rate)

โดยใช้วิธี ISO 151061 : 2003 (E) Plastic-Film and Sheeting – Determination of Water Vapour Transmission Rate Part I : Humidity Detection sensor method เครื่องมือที่ใช้ทดสอบคือ Water vapor permeation tester ; Lyssy L80-4000

3.2.10. ทดสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

โดยวิธี ASTM D 3985-02 Oxygen Gas Transmission Rate Through Plastis Film and Sheeting Using a Coulometric Sensor เครื่องที่ใช้ทดสอบคือ Oxygen permeation tester ; Illinois 8000

วิธีการทดสอบในข้อ 3.2.9 และ 3.2.10 ได้ส่งตัวอย่างกระดาษไปวิเคราะห์ที่ห้องปฏิบัติการทดสอบบรรจุภัณฑ์ ศูนย์การบรรจุหีบห่อไทย สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

4.1. ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเปรียบเทียบกับอาหารสูตรเวย์

จากการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเปรียบเทียบกับอาหารสูตรเวย์ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 12 วัน พบว่า ความหนาและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6-7 วัน โดยวันที่ 7 แผ่นเซลลูโลสจะมีความหนาเฉลี่ย 0.57 เซนติเมตร น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส 0.781 กรัมต่อปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ดังแสดงในตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 และ 4.2 หลังจากนั้น ความหนาและน้ำหนักเซลล์แห้งของแผ่นเซลลูโลสยังคงเพิ่มขึ้นแต่เพิ่มในอัตราที่ช้าลงและคงที่ในที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของDuangjai และคณะ (2547) ซึ่งได้รายงานว่าจากการเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน พบว่าความหนาและน้ำหนักเซลล์แห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลา 6-8 วัน หลังจากนั้นความหนาและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสจะเพิ่มในอัตราที่ช้าลง

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงความหนาและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและสูตรเวย์ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน

วันที่	อาหารสูตรน้ำมะพร้าว		อาหารสูตรเวย์	
	น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส (กรัมต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร)	ความหนา (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส กรัมต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร)	ความหนา (เซนติเมตร)
1	-	-	-	-
2	-	-	-	-
3	0.158	0.16	0.499	0.20

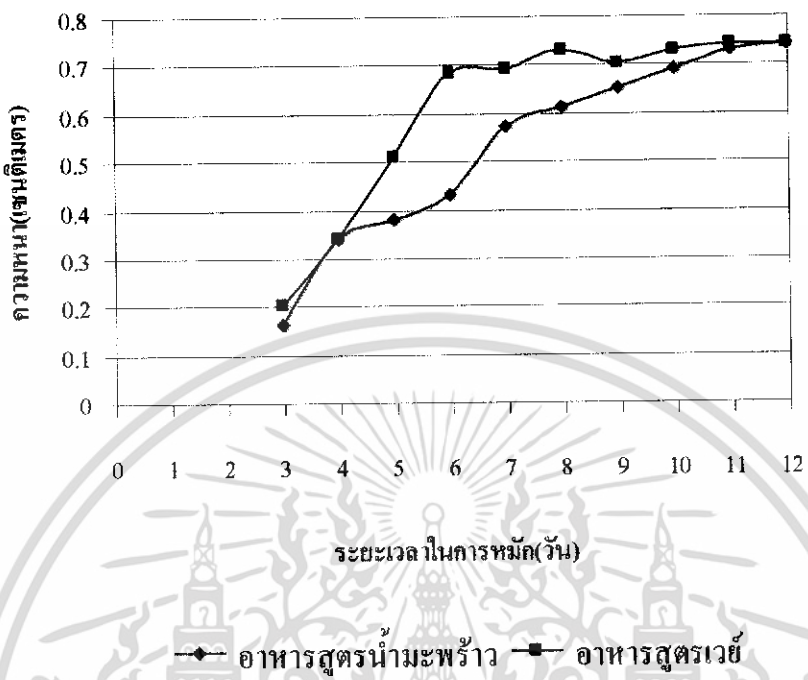
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วันที่	อาหารสูตรน้ำมะพร้าว		อาหารสูตรเวย์	
	น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส (กรัมต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร)	ความหนา (เซนติเมตร)	น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส กรัมต่ออาหาร 100 มิลลิลิตร)	ความหนา (เซนติเมตร)
4	0.337	0.34	0.513	0.34
5	0.431	0.38	0.582	0.51
6	0.573	0.43	0.778	0.68
7	0.781	0.57	1.045	0.69
8	0.791	0.61	1.265	0.73
9	0.865	0.65	1.374	0.7
10	0.910	0.69	1.512	0.73
11	0.912	0.73	1.512	0.74
12	0.912	0.74	1.512	0.74

- หมายถึง ไม่สามารถวัดความหนาและหาน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสได้

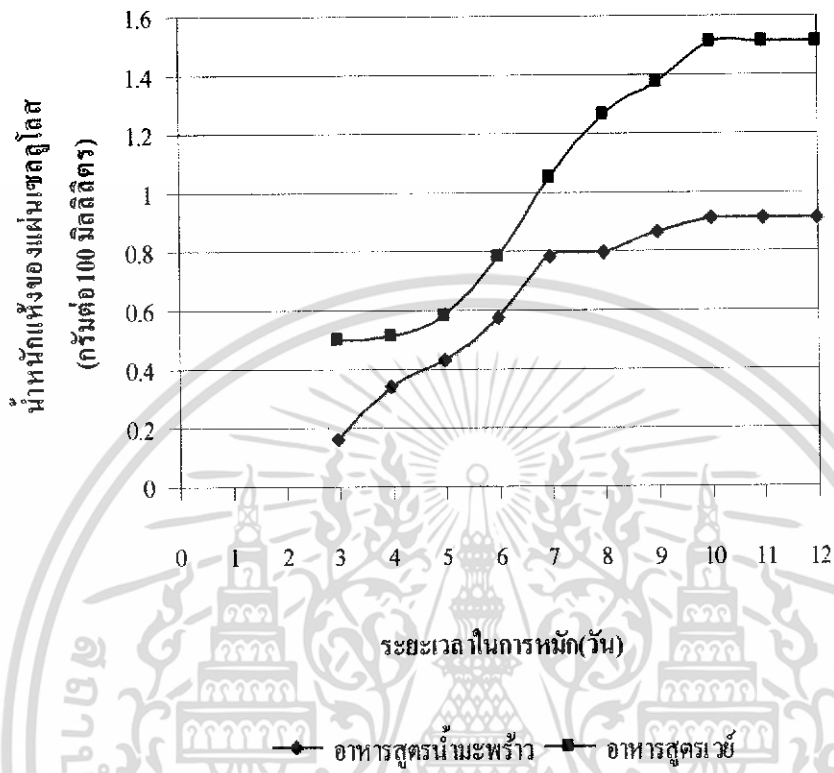
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.1 ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและอาหารสูตรเวย์ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน

ส่วนอาหารสูตรเวย์พบว่า ความหนาและน้ำหนักเซลล์แห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้ จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 4-6 วัน โดยวันที่ 6 แผ่นเซลลูโลสมีความหนาเฉลี่ย 0.68 เซนติเมตร น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส 0.778 กรัมต่อปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ดังแสดงในรูปที่ 4.2 หลังจากนั้นความหนาและน้ำหนักเซลล์แห้งของแผ่นเซลลูโลสยังคงเพิ่มขึ้นแต่เพิ่มในอัตราที่ช้าลงและคงที่ในที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 น้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและอาหารสูตรเวย์ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 12 วัน

จากการทดลองพบว่าเมื่อเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์จะทำให้ได้ความหนาและผลผลิตเซลลูโลส(โดยคิดจากน้ำหนักแห้ง)สูงกว่าสูตรน้ำมะพร้าว จึงเลือกใช้อาหารสูตรเวย์ระยะเวลาการหมัก 10 วัน เพื่อนำมาเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในการผลิตกระดาษต่อไป

4.2 ศึกษาการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน

4.2.1 การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารละลายไคโตซาน

เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ผสมละลายไคโตซานลงในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานร้อยละ 0 0.2 0.4 0.6 0.8 และ 1.0 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ เลี้ยงในสภาวะนิ่งนาน 10 วัน จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาล้างน้ำให้สะอาด นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้วัดความหนาโดยใช้เวอร์เนียคาร์ลิปเปอร์ พบว่าการใช้

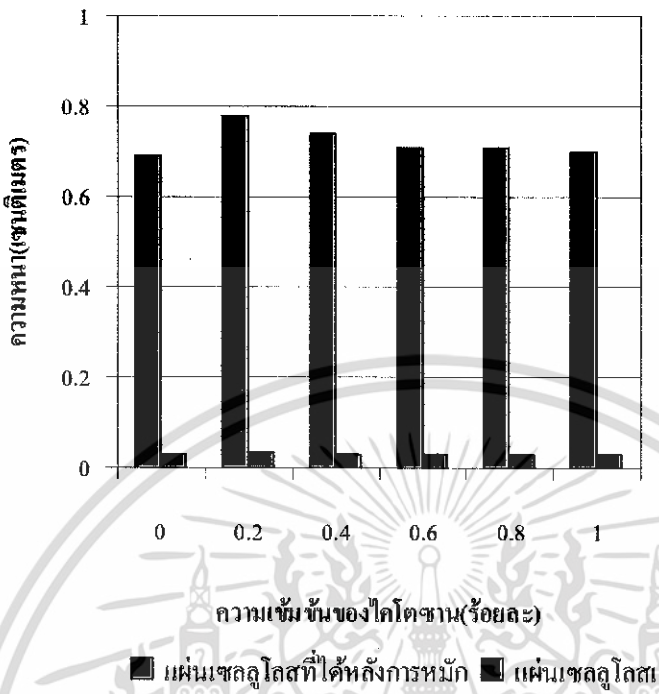
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารละลายไคโตซานร้อยละ 0.2 จะทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสมีความหนาสูงสุดเท่ากับ 0.78 เซนติเมตร ดังแสดงในตารางที่ 4.2 จากนั้นแช่แผ่นเซลลูโลสในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ปิดฝาภาชนะทิ้งไว้ 1 คืน เป็นการปรับแผ่นเซลลูโลสให้เป็นกลาง นำแผ่นเซลลูโลสต้มในน้ำเดือด 30 นาที เพื่อไล่แอมโมเนียออก นำมาเข้าเครื่องอัดรีดน้ำ จากนั้นนำไปฟอกสีโดยต้มในสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 นาน 30 นาที ล้างน้ำให้สะอาด เข้าเครื่องอัดรีดน้ำ ขึงตึงด้วยกรอบยึด อบในตู้อบลมร้อนอุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 3 ชั่วโมง จะได้แผ่นเซลลูโลสแห้งหรือกระดาษจากเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน นำแผ่นเซลลูโลสแห้งมาวัดความหนาโดยใช้ไมโครมิเตอร์ พบว่าที่ความเข้มข้นของไคโตซานร้อยละ 0.2 มีความหนาของแผ่นเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 0.0333 เซนติเมตร ซึ่งมีค่าสูงกว่าการใช้สารละลายไคโตซานในความเข้มข้นอื่น ดังแสดงในตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.3

ตารางที่ 4.2 ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

ความเข้มข้นของไคโตซาน (ร้อยละ)	ความหนาของแผ่นเซลลูโลสภายหลังการหมัก (เซนติเมตร)	ความหนาของแผ่นเซลลูโลสแห้ง (เซนติเมตร)
0	0.69	0.0315
0.2	0.78	0.0333
0.4	0.74	0.0325
0.6	0.71	0.0316
0.8	0.71	0.0316
1.0	0.70	0.0300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.3 ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

4.3 ศึกษาคุณสมบัติเชิงกลของกระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับสารละลายไคโตซาน

จากการผลิตกระดาษโดยใช้อาหารสูตรเวย์ผสมกับสารละลายไคโตซานความเข้มข้นต่างๆเลี้ยงเชื้อนาน 10 วัน จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาผลิตกระดาษพบว่า การใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.2 จะทำให้กระดาษที่ได้มีค่ามอดูลัสของยัง (Young's Modulus) เท่ากับ 2,107.67 MPa ซึ่งสูงกว่าการใช้สารละลายไคโตซานในความเข้มข้นอื่น และมีค่าใกล้เคียงกับแผ่นเซลลูโลสที่ไม่ได้ผสมสารละลายไคโตซานในอาหารเลี้ยงเชื้อ(ชุดควบคุม) โดยมีค่าเท่ากับ 2,108.39 MPa และเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายไคโตซานเพิ่มขึ้นจะทำให้ค่ามอดูลัสของยังมีแนวโน้มลดลงดังแสดงในตารางที่ 4.3

เมื่อนำกระดาษที่ผลิตได้มาวัดค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) พบว่าการใช้สารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.2 จะทำให้กระดาษที่ได้มีค่าความแข็งแรงดึงสูงกว่าการใช้สารละลายไคโตซานในความเข้มข้นอื่นๆรวมทั้งชุดควบคุม โดยมีค่าความแข็งแรงดึงเท่ากับ 56.18 MPa สำหรับค่าการยืด ณ จุดขาด(Elongation at Break) พบว่ากระดาษที่ได้จากการเติมสารละลายไคโตซานความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นร้อยละ 0.2 จะมีค่าการยืด ณ จุดขาดสูงสุดคือร้อยละ 2.33 ขณะที่การเติมสารละลายไคโตซานร้อยละ 0.4 0.6 0.8 1.0 และไม่เติมสารละลายไคโตซาน(ชุดควบคุม) มีค่าการยืด ณ จุดขาดดังนี้ ร้อยละ 1.89 2.04 2.02 1.99 และ 1.26 ตามลำดับ

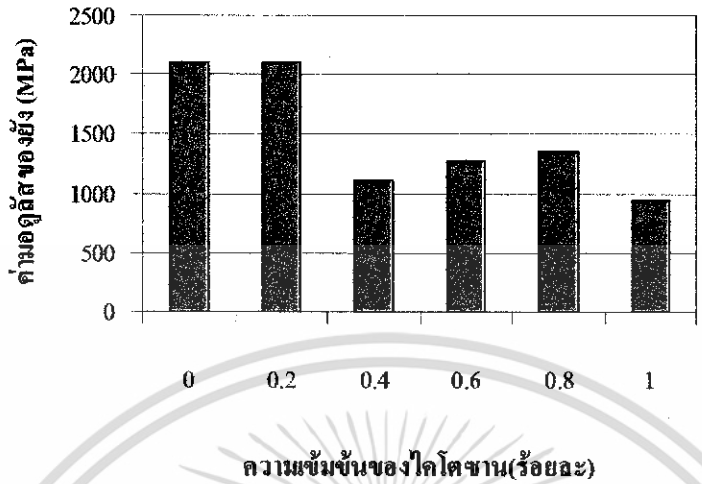
ดังนั้นจะเห็นได้ว่ากระดาษที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ที่เติมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.2 จะทำให้กระดาษที่ได้มีค่ามอดูลัสของยัง ค่าความแข็งแรงดึง และค่าการยืด ณ จุดขาด สูงกว่าการเติมสารละลายไคโตซานในความเข้มข้นอื่นรวมทั้งการไม่เติมสารละลายไคโตซาน จึงได้เลือกความเข้มข้นสารละลายไคโตซานร้อยละ 0.2 มาผลิตกระดาษและศึกษาคุณสมบัติของกระดาษที่ผลิตได้ต่อไป

ตารางที่ 4.3 คุณสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

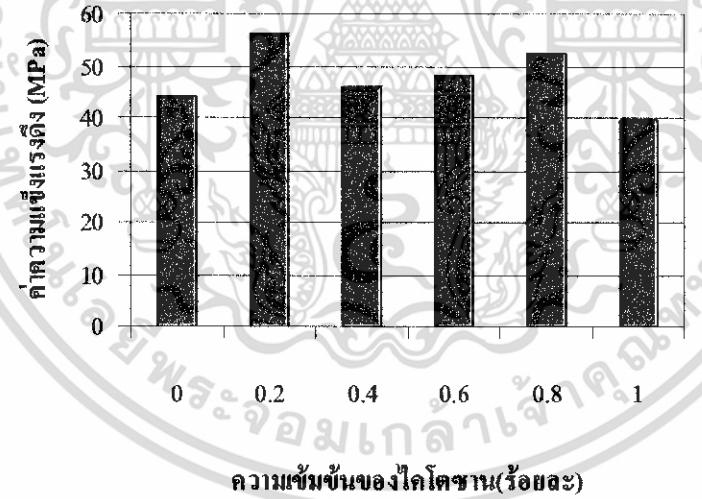
ความเข้มข้นของไคโตซาน (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของยัง (MPa)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)
0	2,108.39^{a}	44.13^{a}	1.26^{b}
0.2	2,107.67^{a}	56.18^{a}	2.33^{a}
0.4	1,107.06^{c}	46.18^{a}	1.89^{ab}
0.6	1,278.71^{bc}	48.31^{a}	2.04^{a}
0.8	1,357.88^{b}	52.55^{a}	2.02^{a}
1.0	951.73^{d}	39.61^{a}	1.99^{a}

อักษรเหมือนกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่า ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

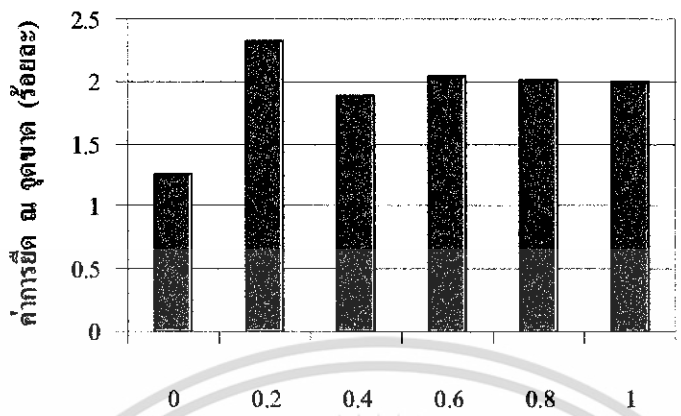


รูปที่ 4.4 ค่ามอดูลัสของยังที่ได้จากกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน ใน ความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน



รูปที่ 4.5 ค่าความแข็งแรงดึงที่ได้จากกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซาน ในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ค่าการยืด ณ จุดขาดที่ได้จากกระดาษที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับไคโตซานในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรเวย์ภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

4.4 ศึกษาการทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ของกระดาษ

จากการนำแผ่นกระดาษที่ได้จากเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และกระดาษที่ได้จากเซลลูโลสจากแบคทีเรียรวมทั้งแผ่นไคโตซานซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมวางลงบนอาหาร MHA ที่มีการใช้ไม้พันสำลีชุบสารละลายของแบคทีเรียมาป้ายให้ทั่วอาหารแข็ง จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า กระดาษที่ผลิตได้ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบทั้ง 7 ชนิด โดยไม่พบการสร้างบริเวณใสรอบแผ่นกระดาษที่นำมาวางบนอาหารรวมทั้งกระดาษที่เป็นชุดควบคุม ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5

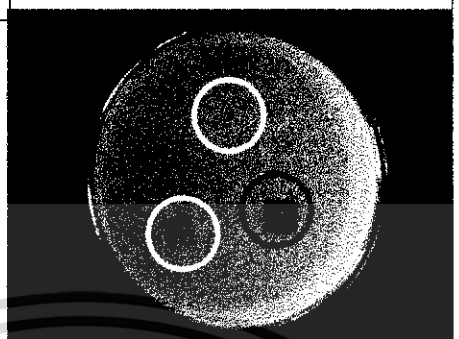
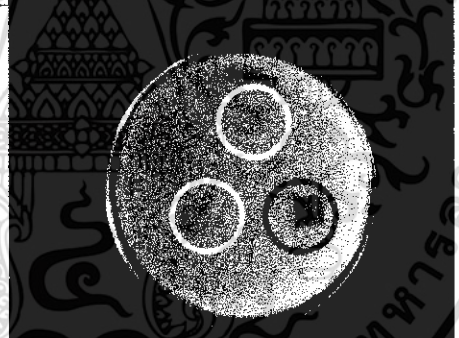
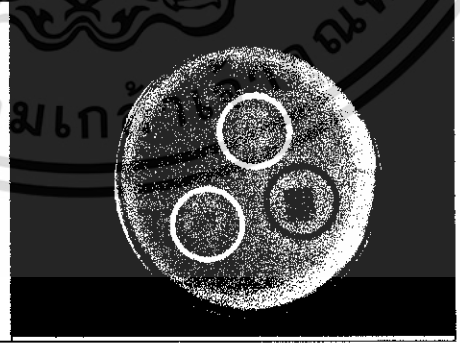
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.4 ค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง (Inhibition Zone) การเจริญของแบคทีเรีย เมื่อใช้ไคโตซานที่ผลิตได้มาทดสอบ

ชุดการทดลอง	เส้นผ่านศูนย์กลางของบริเวณยับยั้ง(มิลลิลิตร)						
	E. coli	*Serratia* sp.	*Bacillus* sp.	*P. aeruginosa*	*Salmonella* sp.	*S. aureus*	*Micrococcus* sp.
กระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
แผ่นไคโตซาน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
กระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับสารละลายไคโตซาน	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00

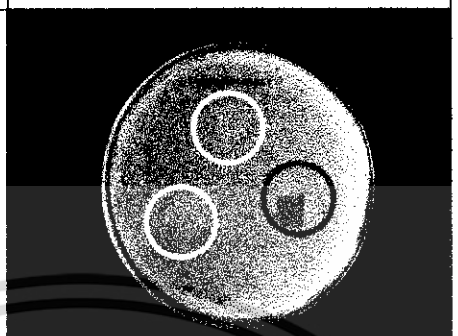
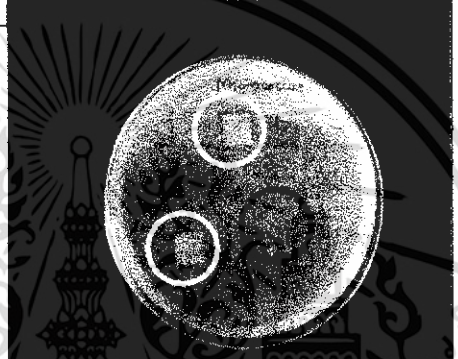
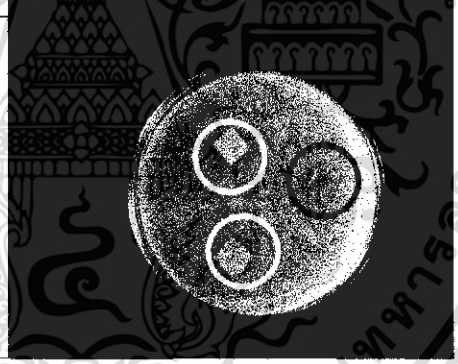
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเชื้อแบคทีเรียชนิดต่างๆ จากกระดาษที่ผลิตได้

เชื้อจุลินทรีย์	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น
Escherichia coli	
Salmonella sp.	
Bacillus sp.	
Pseudomonas aeruginosa	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

เชื้อจุลินทรีย์	การเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้น
Staphylococcus aureus	
Micrococcus sp.	
Serratia sp.	

กระดาษจากแบคทีเรียเซลลูโลส

แผ่นไคโตซาน

กระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับสารละลายไคโตซาน

4.5 การศึกษาการซึมผ่านของแบคทีเรีย

โดยเตรียมอาหาร MHA เทใส่จานเพาะเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งให้เย็น จากนั้นนำกระดาษที่ต้องการทดสอบวางลงบนจานอาหาร หยดสารละลายของเชื้อทดสอบลงบนกระดาษปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร นำไปบ่มเพาะเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง การ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตรวจสอบผลโดยยกแผ่นกระดาษออกจากจานเพาะเชื้อ สังเกตการเปลี่ยนแปลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ใช้ลวดเขี่ยเชื้อเขี่ยเชื้อที่อยู่บนอาหารซึ่งอยู่ใต้แผ่นกระดาษ ลากบนจานอาหาร MHA บ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง ไม่พบการเจริญของจุลินทรีย์บนอาหาร MHA แสดงว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบทั้ง 7 ชนิดไม่สามารถซึมผ่านกระดาษที่ผลิตได้

4.6 ทดสอบความสามารถในการอมน้ำของกระดาษ

โดยการนำกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย มาชั่งเพื่อหาน้ำหนัก จากนั้นนำไปแช่น้ำ 1 นาที นำกระดาษขึ้นมาแขวนผึ่งไว้ 1 นาที ชั่งน้ำหนักของกระดาษอีกครั้ง คำนวณหาค่าความสามารถในการอมน้ำของกระดาษตามภาคผนวก ข. พบว่ากระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 มีความสามารถในการอมน้ำร้อยละ 122 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย มีความสามารถในการอมน้ำร้อยละ 133 ดังแสดงในตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ความสามารถในการอมน้ำของกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ในเวลา 1 นาที

ผลิตภัณฑ์กระดาษ	น้ำหนักของแผ่นกระดาษที่นำมาทดสอบการอมน้ำ		ค่าการอมน้ำของกระดาษ (ร้อยละ)
	ก่อน	หลัง	
กระดาษจากเซลลูโลสผสมไคโตซาน	0.009	0.020	122
กระดาษจากเซลลูโลส	0.018	0.042	133

4.7 ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ

นำกระดาษที่ผลิตจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำ โดยทำการหยดน้ำ (ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร) ลงบนพื้นราบเรียบโดยใช้หลอดหยด จากนั้นวางชิ้นทั้งสองชนิดลงไปแล้วทำการจับเวลาตั้งแต่เริ่มวางจนกระทั่งเห็นน้ำเริ่มซึมผ่านที่ด้านบนของกระดาษ พบว่า กระดาษที่ผลิตจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 ใช้เวลาประมาณ 1.40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วินาที และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียใช้เวลาประมาณ 1.37 วินาที ดังแสดงในตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 การเปรียบเทียบความสามารถในการอมน้ำของเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ชนิดของกระดาษ	ความสามารถในการซึมน้ำของกระดาษ(วินาที)
เซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2	1.40
กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	1.37

4.8 ทดสอบความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษ

นำกระดาษที่ผลิตจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ0.2 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำมัน โดยทำการหยดน้ำมัน (ประมาณ 0.2 มิลลิลิตร) ลงบนพื้นราบเรียบโดยใช้หลอดหยด จากนั้นวางชิ้นทั้งสองชนิดลงไป แล้วทำการจับเวลาตั้งแต่เริ่มวางจนกระทั่งเห็นน้ำมันเริ่มซึมผ่านที่ด้านบนของกระดาษ พบว่ากระดาษที่ผลิตจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียไม่มีความสามารถในการซึมน้ำมัน

ตารางที่ 4.8 การเปรียบเทียบความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ชนิดของกระดาษ	ความสามารถในการซึมน้ำมันของกระดาษ(วินาที)
เซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2	-
กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	-

- ไม่มีความสามารถในการซึมน้ำมัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.9 ทดสอบอัตราการซึมผ่านของไอน้ำ

พบว่ากระดาษที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ผสมสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.2 มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำเท่ากับ 1,105 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 และกระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสโดยไม่ได้ผสมสารละลายไคโตซาน(ชุดควบคุม) มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำเท่ากับ 916 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 การเปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านไอของกระดาษเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ชนิดของกระดาษ	อัตราการซึมผ่านไอน้ำ (กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน)
เซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2	1,105
กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	916

4.10 ทดสอบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน

พบว่ากระดาษที่ได้จากการเลี้ยงแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับสารละลายไคโตซานความเข้มข้นร้อยละ 0.2 มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 22,750 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวันที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 และกระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสโดยไม่ได้ผสมสารละลายไคโตซาน (ชุดควบคุม) มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 1,256 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ดังตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 เปรียบเทียบอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 ของกระดาษเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และ กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

ชนิดของกระดาษ	อัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน)
เซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2	22,750
กระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	1,256

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการหาระยะเวลาและสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเซลลูโลสจากอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเปรียบเทียบกับสูตรเวย์ โดยใช้เชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 พบว่า อาหารสูตรเวย์จะให้แผ่นเซลลูโลสที่มีความหนาและน้ำหนักแห้งสูงกว่าอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อ 6 วัน เซลลูโลสที่ผลิตได้จากเวย์จะมีความหนาและน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลสสูงสุด โดยมีค่า 0.68 เซนติเมตร และ 0.778 กรัมต่อปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร ตามลำดับ จากนั้นทำการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรเวย์ผสมกับไคโตซานที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำแผ่นเซลลูโลสที่ผลิตได้มาผลิตเป็นกระดาษ นำกระดาษที่ได้ไปวัดความหนาของแผ่นเซลลูโลสก่อนและหลังทำเป็นกระดาษ พบว่าที่ความเข้มข้นของไคโตซานร้อยละ 0.2 มีความหนาของแผ่นเซลลูโลสก่อนทำกระดาษเท่ากับ 0.78 เซนติเมตร ความหนาของแผ่นเซลลูโลสแห้ง(หลังจากทำเป็นกระดาษแล้ว)เท่ากับ 0.033 เซนติเมตร ซึ่งมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับการใช้สารละลายไคโตซานที่ความเข้มข้นอื่นๆ และกระดาษที่ได้มีค่ามอดูลัสของยัง เท่ากับ 2107.67 MPa ค่าความแข็งแรงดึงเท่ากับ 56.18 MPa และค่าการยืด ณ จุดขาดเท่ากับร้อยละ 2.33 ซึ่งเป็นค่าที่สูงที่สุดเมื่อเทียบกับกระดาษที่ใช้ไคโตซานความเข้มข้นอื่นๆ

จากการนำกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซานในความเข้มข้นร้อยละ 0.2 และกระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาทดสอบฤทธิ์ในการต้านจุลินทรีย์ ไม่พบฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ที่นำมาทดสอบทั้ง 7 ชนิด และเมื่อนำกระดาษที่ได้มาทดสอบความสามารถในการซึมผ่านได้ของแบคทีเรียบนกระดาษ พบว่าแบคทีเรียที่นำมาทดสอบทั้ง 7 ชนิดไม่สามารถซึมผ่านกระดาษที่ผลิตได้ กระดาษที่ผลิตได้มีความสามารถในการอมน้ำร้อยละ 122 มีความสามารถในการซึมน้ำ โดยใช้เวลา 1.40 และไม่มีความสามารถในการซึมน้ำมัน

กระดาษที่ผลิตได้มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำเท่ากับ 1,105 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน ที่อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 90 ขณะที่กระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสโดยไม่ได้ผสมสารละลายไคโตซาน(ชุดควบคุม) มีอัตราการซึมผ่านของไอน้ำเท่ากับ 916 กรัมต่อตารางเมตรต่อวัน กระดาษที่ผลิตได้มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 22,750 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 ขณะที่กระดาษที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสโดยไม่ได้ผสมสารละลายไคโตซาน(ชุดควบคุม) มีอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 1,256 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งอัตราการซึม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผ่านของไอน้ำและอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของกระดาษที่ได้จะมีค่าสูงกว่ากระดาษที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย แสดงว่าเมื่อผสมสารละลายไคโตซานลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เชื้อจะสร้างแผ่นเซลลูโลสขึ้นมาโดยมีไคโตซานเข้าไปมีส่วนเกี่ยวข้องบกับการสร้างเซลลูโลส ทำให้แผ่นเซลลูโลสที่ได้มีช่องว่างมากขึ้น ไอน้ำและก๊าซออกซิเจนซึมผ่านได้มากขึ้น

ข้อเสนอแนะ

1. การหมักแบคทีเรียเซลลูโลส ไม่ควรนำภาชนะหมักวางบริเวณใกล้แสงแดด จะทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสบางและมีลักษณะไม่สม่ำเสมอ
2. ควรศึกษาการเติมสารบางชนิดลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสที่มีคุณสมบัติยืดหยุ่นมากขึ้น ง่ายต่อการขึ้นรูป เช่น กลีเซอรอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

นีโลบล สุวรรณาภินันทน์. 2545. กระดาษ parchment ชนิดใหม่จากวุ้นน้ำมะพร้าว เอกสารประกอบการฝึกอบรมหลักสูตร "เทคนิควิธีการผลิตกระดาษด้วยวุ้นน้ำมะพร้าวและนำมาผลิตเป็นผลิตภัณฑ์แบบ" 20-23 พฤษภาคม 2545

วราวุฒิ ครูส่ง, กรวิภา สุขศรีวงศ์ และปนัดดา พวงเกษม. 2536. การผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ Acetobacter xylinum ในน้ำหางนม. วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง. 1(1) : 47-50

เยาวพา สุวัตถิ. http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/cellu.html. งานวิจัยอุตสาหกรรมเทคโนโลยีชีวภาพ.

อุทัย ไชยานนท์. 2543. ถั่วเหลือง. พิมพ์ครั้งแรก. กรุงเทพ.

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

Ebner, H. 1982 Vinegar. In G. Reed (ed.). Proscott and Dunn's Industrial Microbilogy. 4th. Reed. A VI Publishing com., Inc Wesport, Connecticut.

Cousins, S. K. and Brown, R. M. 1995. Cellulose microfibril assembly : computational molecular machanics energy analysis flavous bonding by Vander Waals forces as the intial step in crystallization. Polymer. 36 : 3,885-3,888

Crueger, W. and Crueger, A. 1982. Biotechnology : A textbook of industrial Microbiology. Sinauer Associates, Sunderland. P.380.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ochaikul, O., Rakchonlatee, S., Fapratanchai, T., Soisant, P. and Aramruang, S. 2004. Paper production from bacterial cellulose *Acetobacter xylinum* TISTR 976. Processdings of The 1st KMITL International Conference, Thailand.

Guzman, M.P., Alabastro, E.F. and Tinsay , C.B. 1982. A submerged process for the production of Nata. NRCP Research Bull. 37(1) : 1-50.

Hestrin, S., Ascher , M. and Mager, J. 1947. Synthesis of cellulose by resting cells of *Acetobacter xylinum*. Nature (London). 159 : 64-65.

Ishikawa, A., Matsuoka, M., Tsuchuida, T. and Yoshinaga , F. 1995. Increase in cellulose production by sulfaquanidine-resistant mutant derived from *Acetobacter xylinum* subsp. *Sucrofermentans*. Bioscience Biotechnology Biochemistry 59(2) : 2,259 – 2,260.

Johnson, D.C. 1990. Pulp 2 Paer, May, 105-107.

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

Kouda, T., Hisato, Y., Fumihiro, Y. and Hisato, Y. 1997. Effect of agitator configulation on bacterial cellulose productivity in aerated and agitated culture. J. Fermentataion and Bioengineering. 83(4) : 371-374.

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Naritomi, T., Kouda, T., Yano, H. and Yoshinaga, F.1998°. Effect of lactate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. J.Fermentation and Bioengineering. 85910 : 89-95.

Ohara, H., Hiyama, K. and Yoshida, T.1992. Kinetic study on pH dependence of growth and death of *Streptococcus faecalis.* Applied Microbiology Biotechnology. 38 : 403-407.

Lertsutthiwong, P., Chandrkrachang, S., Mousa, M. N. and Willem F. S. Chitosan as a dry strength agent for paper. *Appita Journal*. 55(3): 208-212.

Satoshi, M., Ohe, T. and Sakota, N.1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum.* J. of fermentation and Bioengineering. 75 : 18-22.

Stanbury, P. F. and Whitaker. 1984. Principle of fermentation Technology. Oxford, Pergamon Press. P.459.

Toyosaki, H., Naritomi, T., Seto, A., Matsuoka, M., Tsuchida M. and Yoshonaga, F. 1995. Screening of bacterial cellulose – producing *Acetobacter* strain suitable for agitated culture. Bioscience Biotechnology Biotechnology. 59 : 1,459 – 1,502.

Yamanaka, S., Watanabe, K. , Kitamura, N. , Iguchi, M. , Mitsuhashi, S. , Nishi , Y. and Uryu, M. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. J. Mat. Sci. 24. 3,141-3,145.

Yoshinaga, F., Naota, T. and Kunihiko, W.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 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http://www.gpo.or.th/rdi/htmls/cellu.html

http://www. material.chula.ac.th/chitosan/CCB_thai_p9.htm

http://www.res.titech.ac.jp/~junkan/english/cellulose/.

http://www.smejelly.com/nata_whats.asp

http://3w.doae.go.th/webboard/view.asp?room=6&ID=4189

http://thailabonline.com/chitin-chitosan.htm .

http://www.idahoforests.org/paprmake.htm

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

สูตรอาหารที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976

อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ประกอบด้วย

น้ำมะพร้าว

แอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.1

น้ำตาลทราย ร้อยละ 5

กรดอะซิติก ร้อยละ 1

วิธีการเตรียม

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

อาหารสูตรเวย์

ประกอบด้วย

น้ำมะพร้าว

แอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 1

น้ำตาลทราย ร้อยละ 5

กรดอะซิติก ร้อยละ 0.1

วิธีการเตรียม

1. กรองเวย์ด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกสิ่งเจือปนออกจากเวย์
2. ต้มเวย์ที่กรองแล้วให้เดือดนาน 15 นาที
3. เติมน้ำตาลทรายและแอมโมเนียมซัลเฟต ในเวย์ทิ้งไว้ให้เย็นเติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 0.1 เพื่อปรับค่าพีเอชของอาหารเป็น 4-5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. นำใส่ขวดรูปชมพู่และนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton broth (MHB)

ประกอบด้วย

Beef, infusion from	300.0 กรัม
Acid hydrolysate	17.5 กรัม
Starch	1.5 กรัม
น้ำกลั่น	1000.0 มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดด่าง(pH) ให้ได้ประมาณ 7.2 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller-Hinton Agar (MHA)

ประกอบด้วย

Beef, infusion from	300.0 กรัม
Acid hydrolysate	17.5 กรัม
Starch	1.5 กรัม
ผงวุ้น	13.0 กรัม
น้ำกลั่น	1000.0 มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดด่าง(pH) ให้ได้ประมาณ 7.2 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การวิเคราะห์คุณภาพของกระดาษ

1. ความหนาของกระดาษเครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ ไมโครมิเตอร์ (micrometer)

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

เครื่องมือที่ใช้วิเคราะห์ คือ texture analyzer

วิธีคำนวณ

ความแข็งแรงดึง (นิวตัน/ตารางเมตร) = F /A

เมื่อ F = แรงดึง (นิวตัน)

A = พื้นที่หน้าตัดของชิ้นทดสอบ (ตารางมิลลิเมตร)

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

เครื่องที่ใช้วิเคราะห์ คือ texture analyzer

วิธีคำนวณ

ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ) = ผลต่างระหว่างความยาวเริ่มต้นกับความยาวสุดท้ายหลังดึง x 100

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

เครื่องที่ใช้วิเคราะห์ คือ texture analyzer

วิธีการคำนวณ

$$\text{Young's Moduluse, } E = \frac{\text{Tensile stress}}{\text{Tensile strain}} \qquad (1)$$

$$\text{Tensile stress} = \frac{\text{Tensile Force}}{\text{Area of cross – section}}$$

$$= Mg / A \qquad (2)$$

$$\text{Tensile strain} = \frac{\text{Extension}}{\text{Original length}}$$

$$= l / L \qquad (3)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แทนค่า (2) และ (3) ใน (1) จะได้

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

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.

การวิเคราะห์ค่าทางสถิติ

การวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) ค่าการยืด ณ จุดขาด (Elongation at Break) และค่ายังมอดูลัส (Young's Modulus) ของกระดาษเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมกับไคโตซาน ในความเข้มข้นต่างๆ โดยวิธีทางสถิติ

Oneway

ANOVA

Tensile Strength

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1037.502	5	207.500	.767	.581
Within Groups	8120.779	30	270.693		
Total	9158.281	35			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Tensile Strength

Duncan[a]

per	N	Subset for alpha = .05
		1
1.00	6	39.6083
.00	6	44.1333
.40	6	48.1783
.60	6	48.3117
.80	6	52.5450
.20	6	56.1800
Sig.		.135

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.
a Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oneway

ANOVA

Elongation at Break

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.784	5	.757	2.320	.068
Within Groups	9.784	30	.326		
Total	13.568	35			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Elongation at Break

Duncan[a]

per	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.00	6	1.2617	
.40	6	1.8850	1.8850
1.00	6		1.9900
.80	6		2.0217
.60	6		2.0383
.20	6		2.3283
Sig.		.068	.240

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oneway

ANOVA

Young's Modulus

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	27740057	5	5548011.446	1.713	.162
Within Groups	97149743	30	3238324.782		
Total	1.25E+08	35			

Post Hoc Tests

Homogeneous Subsets

Young's Modulus

Duncan[a]

per	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.20	6	884.7467	
1.00	6	951.7250	
.40	6	1113.4833	1113.4833
.80	6	1265.8833	1265.8833
.00	6	2271.3617	2271.3617
.60	6		3302.4783
Sig.		.243	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 6.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้