สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาสมบัติเชิงกลและฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มปิดแผลจากแบคทีเรียเซลลูโลส

นางสาวทิวารัตน์ ชำนาญกูล
นางสาวศุภัชญา คนสมบูรณ์
นางสาวสุพัตรา เจริญทรัพย์พานิช

ปพ.
ท๔๑๓๙
๒๕๔๙

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 72609
วัน,เดือน,ปี 20 มิ.ย. 2550

b 11764981
i.....

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Studies on Mechanical and Antimicrobial Properties of Wound Dressing from Bacterial Cellulose

Tiwarat Chamnankul

Supatchaya Konsomboon

Supatta Jaroensubpanich

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

Department of Applied Biology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

Academic Year 2006

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษเรื่อง การศึกษาสมบัติเชิงกลและฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มปิดแผลจากแบคทีเรียเซลลูโลส

นักศึกษา น.ส.ทิวารัตน์ ชำนาญกูล รหัส 46050123

น.ส.ศุภัชญา คนสมบูรณ์ รหัส 46050146

น.ส.สุพัตรา เจริญทรัพย์พานิช รหัส 46050148

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 ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โครงงานพิเศษ การศึกษาสมบัติเชิงกลและฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มปิดแผลจากแบคทีเรียเซลลูโลส

นักศึกษา น.ส.ทิวารัตน์ ชำนาญกูล รหัส 46050123
น.ส.ศุภัชญา คนสมบูรณ์ รหัส 46050146
น.ส.สุพัตรา เจริญทรัพย์พานิช รหัส 46050148

ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์

สาขา เทคโนโลยีชีวภาพ

ปีการศึกษา 2549

อาจารย์ที่ปรึกษา รศ. ดวงใจ โอชัยกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร.สุภารัตน์ รักชลธี

บทคัดย่อ

จากการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 576 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว พบว่าจากการเลี้ยงเชื้อ 7 วัน จะทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสหลังรีดน้ำมีความหนา 0.11 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นความหนาพอเหมาะที่จะนำมาผลิตแผ่นฟิล์มปิดแผล จากนั้นนำพลาสติไซเซอร์ชนิดต่างๆ (กลีเซอรอล ซอร์บิทอล และโพลีโพรพิลีนไกลคอล) มาผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ในความเข้มข้นร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 เลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 7 วัน นำแผ่นฟิล์มที่ได้มาศึกษาสมบัติเชิงกล พบว่าการผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะทำให้ได้แผ่นฟิล์มมีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุดคือ 6.60 MPa ค่ามอดุลัสของยังมีค่าสูงสุด 43 MPa ค่าการยืด ณ จุดขาดมีค่าร้อยละ 51 จากนั้นนำแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มาศึกษาสมบัติต่างๆพบว่าความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนบนแผ่นฟิล์มเซลลูโลสซึ่งใช้เป็นชุดควบคุมมีค่าเท่ากับ 2,077 ลูกบาศก์เซนติเมตรมิลลิเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ขณะที่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 2,151 ลูกบาศก์เซนติเมตรมิลลิเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน แผ่นฟิล์มเซลลูโลสและแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของ *E.coli* และ *Staphylococcus aureus* และ แบคทีเรียเหล่านี้สามารถซึมผ่านแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ชนิดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special Project Title	Studies on Mechanical and Antimicrobacterial properties of Wound dressing from Bacterial Cellulose	
Name	Miss.Tiwarat	Chamnankul
	Miss.Supatchaya	Konsomboon
	Miss.Supatta	Jaroensubpanich
Department	Applied Biology	
Program	Biotechnology	
Academic Year	2006	
Special Project Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul	
Special Project Coadvisor	Asst. Prof. Dr. Suparat Rukchonlatee	

Abstract

Acetobacter xylinum TISTR 976 was cultured in coconut water medium , the result showed that the thickness of cellulose production reached 0.11 mm in 7 days which suitable thickness for produce wound dressing. Plasticizers were mixed in coconut water medium at the concentration of 0 , 0.5 , 1.0 , 1.5 , 2.0% and cultivated for 7 days. Studied on mechanical properties of cellulose films found that mixed with glycerol concentration of 1.5 % gaved the highest tensile strength , young's modulus and elongation at maximum load were 6.60 MPa , 43 MPa and 51 % , respectively. Gas oxygen permeability of cellulose film (control) was 2,077 $cm^3 mm/m^2/day$ whereas cellulose film mixed with glycerol 1.5 % was 2,151 $cm^3 mm/m^2/day$. In addition , cellulose film and cellulose film mix with glycerol was 1.5% didn't have antimicrobial properties of *E.coli* and *Staphylococcus. aureus* and bacterials can through both films.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล ที่กรุณาให้ความรู้ ให้คำแนะนำต่าง ๆ และให้คำปรึกษาในทุกๆด้าน จนโครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์ ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งใจมากที่อาจารย์ให้ความกรุณาช่วยเหลือในทุกด้านและอาจารย์เป็นแบบอย่างที่ดีของข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. สุภารัตน์ รักชลธี อาจารย์ที่ปรึกษาร่วมโครงงานพิเศษที่ให้ความรู้มาโดยตลอด

ขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านในภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ที่ให้คำปรึกษา ให้วิชาความรู้ตลอดเวลาที่ผ่านมา

ขอขอบพระคุณนักวิทย์ทุกท่านที่ให้การช่วยเหลือในการทำโครงงานพิเศษเป็นอย่างดี

ขอขอบพระคุณคุณพ่อ คุณแม่ ที่ให้ความรัก ความเข้าใจ ดูแลสั่งสอน ข้าพเจ้าไม่อาจมาถึงวันนี้หากขาดพระคุณของท่าน

ขอขอบพระคุณพ่อค้า แม่ค้า ร้านคั้นกะทิในตลาดหัวตะเข้ ที่เอื้อเฟื้อน้ำมะพร้าวมาโดยตลอดจนโครงงานพิเศษฉบับนี้เสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณเพื่อนๆ ที่น่ารักทุกๆคนที่เป็นเพื่อนที่ดีตลอดมา

ทิวารัตน์ ชำนาญกูล
ศุภัชญา คนสมบูรณ์
สุพัตรา เจริญทรัพย์พานิช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ข
สารบัญ	ค
สารบัญตาราง	จ
สารบัญรูป	ฉ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ	2
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง	
2.1 แบคทีเรียเซลลูโลส	4
2.2 แหล่งที่มาของเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส	5
2.3 คุณสมบัติทั่วไปของเชื้อ *Acetobacter*	5
2.4 ลักษณะทางกายภาพและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Acetobacter*	6
2.5 การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียเซลลูโลส	6
2.6 กระบวนการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *A.xylinum*	8
2.7 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส	10
2.8 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ	16
2.9 ประโยชน์ของเซลลูโลสและการนำไปใช้	17
2.10 วิธีการทำให้เป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์	18
2.11 แผ่นปิดบาดแผล (wound dressing)	19
2.12 การจำแนกชนิดของแผ่นฟิล์มปิดแผล	20
2.13 ชนิดของบาดแผลและแผ่นปิดบาดแผล	20
2.14 Plasticizer	22
2.15 ซอร์บิทอล	23
2.16 สมบัติทางกายภาพของซอร์บิทอล	24
2.17 สมบัติทางเคมีของซอร์บิทอล	25
2.18 การประยุกต์ใช้ซอร์บิทอลในอุตสาหกรรม	26

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.19 ประโยชน์ของซอร์บิทอล 27
2.20 โพรไพลีนไกลคอล (propylene glycol) 27
2.21 กลีเซอรอล (Glycerol) 28
2.22 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 29
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี 31
3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน 32
บทที่ 4 ผลการวิจัยและวิจารณ์
4.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นฟิล์มจากเซลลูโลสโดย เชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 37
4.2 การผลิตแผ่นฟิล์มจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับพลาสติไซเซอร์ 38
4.3 ศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก 39
4.4 เปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่เติมกลีเซอรอลและซอร์บิทอล ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ 45
4.5 ศึกษาสมบัติด้านต่างๆของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส 47
4.6 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค 47
4.7 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของแบคทีเรียบนแผ่นฟิล์ม 48
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 49
เอกสารอ้างอิง 51
ภาคผนวก ก. 56
ภาคผนวก ข. 57
ภาคผนวก ค. 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *A .xylinum* ใช้ในการผลิตเซลลูโลส	11
2	สภาวะที่เหมาะสมในการสร้างเซลลูโลสจากน้ำตาลแมนนิทอล โดย *A. xylinum* KU-1	12
3	แสดงผลผลิตของเซลลูโลสจากการใช้น้ำตาลแมนนิทอล โดย *A. xylinum* KU-1	13
4	ผลของโคซับสเตรทต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเซลลูโลสโดย *Acetobacter* sp. V6	15
5	การจำแนกชนิดของแผ่นฟิล์มปิดแผล	20
6	ชนิดของแผ่นฟิล์มปิดบาดแผลและสมบัติ	20
7	ชนิดของบาดแผลและแผ่นปิดแผลที่ควรใช้	22
8	ผลของระยะเวลาการหมักแผ่นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	37
9	ผลจากการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ ผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน ในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	38
10	ผลจากการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นต่างๆ ผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน ในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส	39
11	สมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	40
12	สมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	43
13	ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคของแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ชนิดหลังจากเลี้ยงเชื้อที่สภาวะนิ่งเป็นเวลา 7 วัน	48
14	ค่าการดูดกลืนแสงของอาหาร MHB ที่ใช้ทดสอบกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสและแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่		หน้า
1	แสดงรูปร่างลักษณะของเชื้อ *A. xylinum*	6
2	วิถีสังเคราะห์เซลลูโลสจาก *Acetobacter xylinum*	7
3	โครงสร้างของ Cellulose Synthase (bcs) Operon	8
4	รูปร่างของ *A. xylinum* BPR2001 และเซลลูโลสที่ถูกสร้างขึ้น โดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (a) และ (b) แสดงแบบจำลองในการสร้างเซลลูโลส	16
5	โครงสร้างทางเคมีของซอร์บิทอล	23
6	โครงสร้างของโพรไพลินไกลคอล	28
7	โครงสร้างของกลีเซอรอล	29
8	กราฟเปรียบเทียบความหนาของแผ่นฟิล์มก่อนอัดรีดน้ำและหลังอัดรีดน้ำที่ระยะเวลาต่างๆ	38
9	ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วันกราฟเปรียบเทียบความหนาของแผ่นฟิล์มหลังอัดรีดน้ำระหว่างกลีเซอรอลและซอร์บิทอล	41
10	ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	41
11	ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	42
12	ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	43
13	ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	44
14	ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
15	การเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่ได้จากเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ	45
16	การเปรียบเทียบค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ	46
17	การเปรียบเทียบค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มที่ได้จากเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ	46

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของโครงงานพิเศษ

เซลลูโลสเป็นโฮโมโพลีแซคคาไรด์สายตรงของน้ำตาลกลูโคสอีกชนิดหนึ่ง และเป็นคาร์โบไฮเดรตที่มีมากที่สุดในโลก โครงสร้างของเซลลูโลสจะรวมตัวหรือจับกับพอลิเมอร์ชนิดอื่น (เพคติน ลิกนิน และอะราบิแนน เป็นต้น) ซึ่งพบในผนังเซลล์ของพืช สาหร่าย รวมทั้งสัตว์ชั้นต่ำ เช่น *Tunicata* และ แบคทีเรียบางชนิด เช่น *Rhizobium* *Agrobacterium* *Alcaligenes* และมีแบคทีเรียบางชนิดเท่านั้น เช่น *Acetobacter xylinum* ที่จะปล่อยเซลลูโลสออกมาและสร้างเส้นใยได้

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Microbial cellulose, MC) สังเคราะห์ขึ้นมาได้จาก *Acetobacter xylinum* ซึ่งแบคทีเรียชนิดนี้มีประสิทธิภาพสูงในการผลิตเซลลูโลสและนิยมนำมาใช้กันมากที่สุด (Jonas และ Farah, 1998., Yang และคณะ, 1998) เชื้อนี้มีความสามารถในการเจริญบนภาชนะปากกว้างได้ดี อาหารที่เชื้อนี้สามารถนำไปใช้ในการเจริญเติบโตได้ เช่น น้ำมะพร้าว น้ำอ้อย น้ำส้มสายชู และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Benziman และ Rachamimou, 1962., Weinhouse และ Buviman, 1974., Yoshinaga และคณะ, 1997) แผ่นเซลลูโลสที่เชื้อนี้สร้างขึ้นจะลอยอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ และมีคุณสมบัติในการต้านทานแรงดึงสูง ยืดหยุ่นได้ ไม่เป็นพิษต่อเซลล์ (Schmitt และคณะ, 1991) และสามารถทนต่ออุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสได้นานอย่างน้อย 3 ชั่วโมง (Chang และ Shyn, 1999)

ปัจจุบันมีการนำเซลลูโลสจากจุลินทรีย์มาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ เช่น นำมาใช้ประโยชน์ในการตบแต่งบาดแผลแบบใหม่ และนำมาใช้ในการแทนที่ผิวหนังซึ่งต้องคำนึงถึงวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการสังเคราะห์ การปฏิบัติการทางเทคนิคและความก้าวหน้าในทางการค้า สำหรับการนำเซลลูโลสจากจุลินทรีย์มาใช้กับผลิตภัณฑ์ในการดูแลรักษาบาดแผลจะกลายเป็นสิ่งจำเป็นสำหรับวงการผลิตพอลิเมอร์ในอนาคต

การรักษาบาดแผลทางผิวหนังเป็นกระบวนการที่ซับซ้อนซึ่งจำเป็นต้องใช้เนื้อเยื่อเป็นจำนวนมากที่แตกต่างกันเข้ามาเกี่ยวข้อง ทิศทางสำหรับงานวิจัยด้านการรักษาบาดแผลในปัจจุบันมี 3 ประการ ได้แก่

1. การปรับปรุงพัฒนาบาดแผลที่อาจจะรักษาให้หายเร็วขึ้นและช่วยลดการเกิดแผลเป็น
2. การพัฒนาในด้านการใช้ผิวหนังส่วนอื่นทดแทน
3. การสร้างกระบวนการในการรักษาแบบใหม่โดยใช้การสร้างใหม่มากกว่าการทดแทน (การก่อตัวของแผลเป็น)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตบแต่งบาดแผลและลักษณะทางชีววิทยาที่แตกต่างกันนั้นถูกพัฒนาขึ้นเพื่อประโยชน์ทั้งในทางศัลยกรรมและที่ไม่ใช่ทางศัลยกรรม ลักษณะของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการตบแต่งและรักษาบาดแผลแบบสมัยใหม่ ได้แก่

- ไม่เป็นพิษ ไม่ทำให้เกิดไข้เนื่องจากความร้อน เข้ากันได้ดีกับสิ่งมีชีวิต
- สามารถจัดการกับอุปสรรคในการติดเชื้อได้
- สามารถควบคุมการสูญเสียของของเหลวได้
- สามารถลดความเจ็บปวดในระหว่างการรักษาได้ดี
- สามารถสร้างและคงไว้ซึ่งสภาพแวดล้อมส่วนใหญ่ที่เกี่ยวกับบาดแผลได้
- สามารถปิดบาดแผลได้อย่างง่ายดายและสนิท
- สามารถให้ยาผ่านเข้าไปในบาดแผลได้
- สามารถดูดซึมของเหลวที่ไหลออกมาได้
- ทำให้กลไกการทำงานเกิดความแข็งแรง มีความยืดหยุ่นและมีความสอดคล้องกัน
- สามารถเลือกรูปร่างและขอบเขตของพื้นผิวได้
- ไม่ทำให้เจ็บปวดและรักษาบาดแผลได้ง่าย

พลาสติไซเซอร์ (plasticizer) คือ สารที่เติมผสมกับพอลิเมอร์ เพื่อทำให้พอลิเมอร์มีความอ่อนตัวมากขึ้น มีผลทำให้ค่าอุณหภูมิการเปลี่ยนสถานะคล้ายแก้ว (glass transition temperature, T_g) ลดลงเนื่องจาก plasticizer จะไปแทรกตัวอยู่ระหว่างสายโมเลกุลพอลิเมอร์ ทำให้แรงดึงดูดระหว่างสายโมเลกุลพอลิเมอร์อ่อนแอลง ค่า T_g จึงเปลี่ยนไปในทางที่มีค่าลดลง นอกจากนี้ยังมีผลต่อสมบัติเชิงฟิสิกส์ด้วย เช่น ทำให้ความแข็งแรงลดลง การไหลตัวเมื่อหลอมเกิดได้ง่ายขึ้น และยังมีผลถึงการลดลงของอุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูปอีกด้วย

จากสมบัติของเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ที่กล่าวมาแล้วข้างต้น โครงงานพิเศษนี้จึงนำเซลลูโลสจากจุลินทรีย์มาใช้ในการผลิตแผ่นฟิล์มเพื่อดกแต่งแผลที่โดนไฟไหม้ น้ำร้อนลวก โดยศึกษาสมบัติเชิงกลและสมบัติในการต่อต้านการเจริญของจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ ซึ่งนอกจากจะได้ผลิตภัณฑ์ใหม่เกิดขึ้นแล้วยังเป็นการช่วยลดมลภาวะทางสิ่งแวดล้อมอีกทางหนึ่งด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาผลของพลาสติไซเซอร์ชนิดต่างๆ ต่อสมบัติเชิงกลของเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย
2. เพื่อศึกษาสมบัติต่างๆของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียและแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมพลาสติไซเซอร์ที่เหมาะสม เช่น อัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำบนแผ่นฟิล์ม และฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

เป็นการนำวัสดุเหลือทิ้งมาประยุกต์ใช้ให้เกิดประโยชน์ โดยการนำมาผลิตเป็นแผ่นฟิล์มปิดแผล ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและหลักการที่เกี่ยวข้อง

2.1 แบคทีเรียเซลลูโลส

ในปี 1886 Brown พบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตเซลลูโลสได้ ซึ่งจะสร้างเนื้อเยื่อที่มีความแข็งเมื่อเลี้ยงให้เจริญในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตอยู่มาก เขาพบว่าเยื่อเหนียวสามารถละลายได้ใน ammonium copper hydroxide และให้น้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากเขาพบว่าในฝ้ายก็สามารถเกิดสารเหล่านี้เช่นกัน และเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า Bacteria Cellulose (BC) Producer ซึ่งแบคทีเรียในกลุ่มนี้ ได้แก่ *Acetobacter*, *Achromobacter*, *Agrobacterium*, *Alcaligenes*, *Azotobacter*, *Pseudomonas*, *Rhizobium* และ *Sacrina* (Deinema และ Zevenhuizen, 1971) โดยแบคทีเรียเหล่านี้สามารถผลิตเส้นใยเซลลูโลส (Cellulose microfibril) ออกมาภายนอกเซลล์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวและเจริญบนผิวหน้าอาหาร มีการสร้างเส้นใยสีขาว (pellicle) ซึ่งประกอบกันเป็นเซลลูโลสในระหว่างที่มีการเจริญของเชื้อจะมีการสร้างเส้นใยไปพร้อมๆกัน เมื่อระยะเวลาการเจริญนานขึ้นก็จะมีปริมาณมากขึ้น โดยจะสานและรวมตัวกันเป็นเส้นสายขุ่นขาวอยู่ในอาหารเหลวและจะค่อยๆลอยขึ้นสู่ผิวหน้าอาหาร เมื่ออยู่ที่ผิวหน้าอาหารเหลวจะเริ่มสานกันแน่นขึ้นเป็นแผ่นวุ้นมีลักษณะขุ่นมีความเหนียว ทั้งนี้ได้สันนิษฐานว่าการสร้างแผ่นวุ้นของเชื้อที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องจากเชื้อที่ต้องการอากาศสามารถลอยตัวอยู่บนผิวหน้าอาหารเหลวได้ เพื่อรับออกซิเจนให้ได้มากที่สุด (Schramm และ Hestrin, 1954) นอกจากนี้ยังพบว่ามีเชื้อบางชนิดที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (microaerophilic) ที่สามารถเจริญและสร้างเซลลูโลสได้เช่นกัน (Cook และ Colvin, 1980) โดยเฉพาะเซลลูโลสที่สร้างโดย *Acetobacter* นั้น พบว่ามีความบริสุทธิ์ทางเคมีโดยปราศจากลิกนินและเฮมิเซลลูโลส

กลไกการสร้างเส้นใยเล็กๆที่ก่อให้เกิดเป็นเซลลูโลสในแบคทีเรียเซลลูโลสและปฏิกิริยาที่เกี่ยวข้องในการสังเคราะห์มีความแตกต่างกันด้านโครงสร้างของเซลลูโลสที่พบในพืช (Yamanaka และคณะ, 1989., Ross และคณะ, 1991) เซลลูโลสที่ได้จากการสังเคราะห์โดยแบคทีเรียมีการสร้าง 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนแรกกลูโคสอยู่ในรูปของโมเลกุลอิสระเข้าไปภายในเซลล์และรวมตัวกันเป็นสารตั้งต้น คือ พอลีกลูโคแซน โดยสารนี้จะถูกส่งผ่านออกมาภายนอกเซลล์ ขั้นที่สอง คือ สารพอลิเมอร์เหล่านี้จะรวมตัวกันทำให้เกิดเส้นใยขนาดเล็กๆ (microfibril) เมื่อมีจำนวนมากจะมีความแข็ง แรงมากขึ้นเซลลูโลสที่เกิดขึ้นจะมีลักษณะเป็นเมือกและเป็นแผ่นวุ้นลอยอยู่บนผิวหน้าอาหารเหลวในการเลี้ยงเชื้อแบบกะ (Colvin และคณะ, 1977)

กรรมวิธีในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียเซลลูโลสส่วนใหญ่มักจะใช้การหมักแบบกะหรือในสภาพนิ่งและนำเส้นใยที่สร้างได้นั้นทำการแยกให้บริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 แหล่งที่มาของเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส

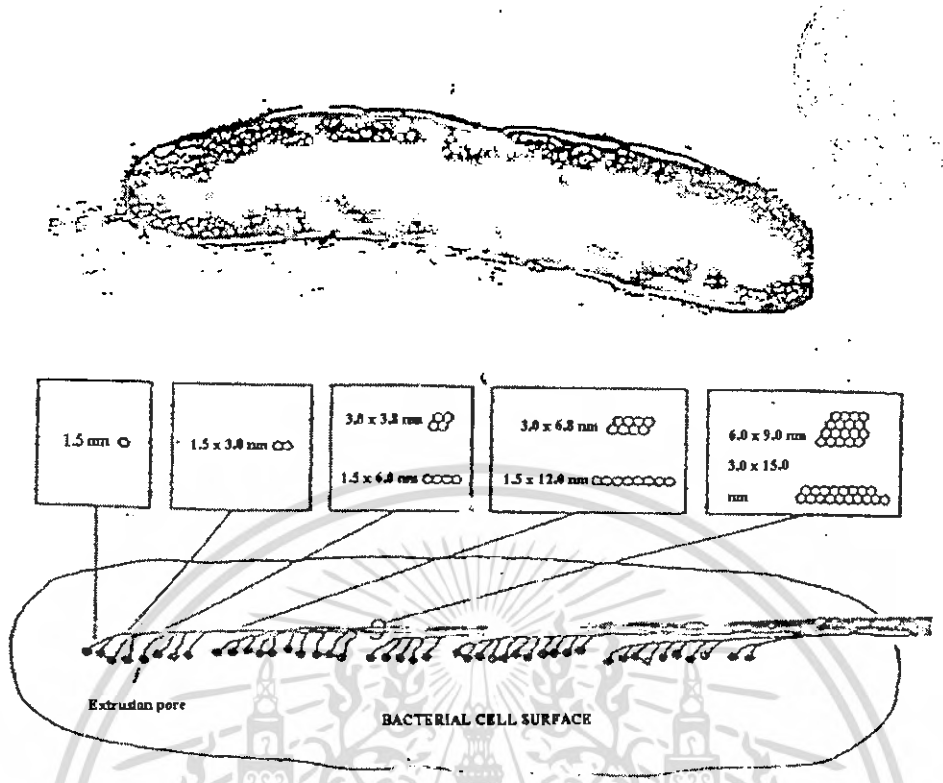
เชื้อในกลุ่มแบคทีเรียเซลลูโลสจะใช้เชื้อ *Acetobacter* เป็นตัวแทนในการศึกษาการสร้างเซลลูโลส และเป็นเชื้อที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้ปริมาณสูงมาก สามารถพบได้ทั่วไปจากแหล่งต่างๆ เช่น บนผักและผลไม้ ไวน์ น้ำผลไม้ เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Krigg และ Holt, 1984) ผลไม้เน่าเสีย (rolting) เช่น มะม่วง ฝรั่ง สับปะรด ละมุด (Lapuz และคณะ, 1967) ดอกไม้ ถั่ว ดิน (Soto และคณะ, 1997., Toyosaki และคณะ, 1995) อ้อย (Coronel และ Joson, 1986) น้ำผึ้ง นอกจากนี้ยังสามารถแยกเชื้อได้จากน้ำเสีย (activated sluge) (Dienema และ Zevenhuizen, 1971)

ในปี 1861 ชาวฟิลิปปินส์ได้นำเชื้อแบคทีเรียมาหมักในน้ำมะพร้าว น้ำผลไม้ ซึ่งได้แก่ น้ำสับปะรด และตั้งทิ้งไว้จนเกิดแผ่นวุ้นหรือเซลลูโลสที่มีลักษณะเป็นเยื่อเหนียวมีลักษณะพิเศษ และเรียกเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในน้ำมะพร้าวว่า nata de coco ส่วนเซลลูโลสที่ได้จากการหมักจากน้ำสับปะรดว่า nata de pina (Sanchez, 1990) และเรียกแบคทีเรียที่สร้างวุ้นเซลลูโลสนั้นว่า *Bacterium xylinum* ซึ่งต่อมาพบว่าเป็นเชื้อ *A.xylinum* (Brown, 1886) หรือมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *A.aceti* subspecies *xylinum* อยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียที่ผลิตน้ำส้มสายชู ซึ่งสามารถสร้างชิ้นวุ้นที่มีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลส แบคทีเรียนี้พบทั่วไปในธรรมชาติโดยเฉพาะในผักและผลไม้ที่เน่าเสีย หรือในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆที่ตั้งไว้แล้วเกิดการหมัก

2.3 สมบัติทั่วไปของเชื้อ Acetobacter

โดยทั่วไปแล้วเซลล์ของ *Acetobacter* มีหลายลักษณะ (very heterogeneous morphological) แต่ปกติจะพบในรูปท่อนสั้น (rod) ตรงหรือโค้ง ขนาด 0.6-0.8 ไมครอน × 1.0-1.4 ไมครอนไม่มีแฟลกเจลลา ที่ผนังเซลล์ปกคลุมด้วยชั้นของเมือกลื่น อาจพบเซลล์อยู่เดี่ยวๆจับคู่หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ไม่เคลื่อนที่ ซึ่งบางครั้งจะพบเซลล์ที่มีรูปร่างลักษณะที่ต่างจากที่กล่าวมา คือ อาจพบว่ามีลักษณะรูปร่างทรงกลม ยืดยาวบวม หรือรูปกระบอก บางตัวคล้ายดอกจิก โค้ง ไม่สร้างสปอร์ภายในเซลล์ (endospore) ระยะแรกของการเจริญส่วนใหญ่ติดสีแกรมลบ แต่เมื่ออายุมากขึ้นจะติดสี Gram variable ส่วนมากไม่สร้างรงควัตถุ แต่เมื่อเซลล์รวมอยู่กันมากๆอาจมีสีชมพู เนื่องจากอิทธิพลของพอร์ไฟริน (porphyrins) และบางสายพันธุ์สามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาลได้ ต้องการอากาศในการเจริญ สามารถเจริญได้ในน้ำหมักที่เป็นกรด สามารถสร้างกรดกลูโคนิก เอทิล และโพรพิลแอลกอฮอล์ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 รูปร่างลักษณะของเชื้อ *A .xylinum*

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

2.4 ลักษณะทางกายภาพและการเจริญเติบโตของเชื้อ *Acetobacter*

การเจริญเติบโตบนอาหารแข็งของ *Acetobacter* โคโลนีของเชื้อที่เจริญบนอาหารแข็งจะมีลักษณะเป็นทรงกลมนูน (pulvinate) สีขาว ผิวเรียบ แยกโคโลนีต่ยวๆชัดเจน (Toyosaki และคณะ, 1995) เมื่อมีอายุมากขึ้นจะมีผิวขาวขรุขระ หรือมีรอยย่น หรือสร้างโคโลนีซ้อนขึ้นมา ขุ่นเหนียวหรือสีน้ำตาลอ่อน ความเหนียวจะเพิ่มขึ้นเมื่ออายุมากขึ้น โคโลนีมีทั้งขนาดใหญ่และเล็ก ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของเชื้อ

2.5 การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียเซลลูโลส

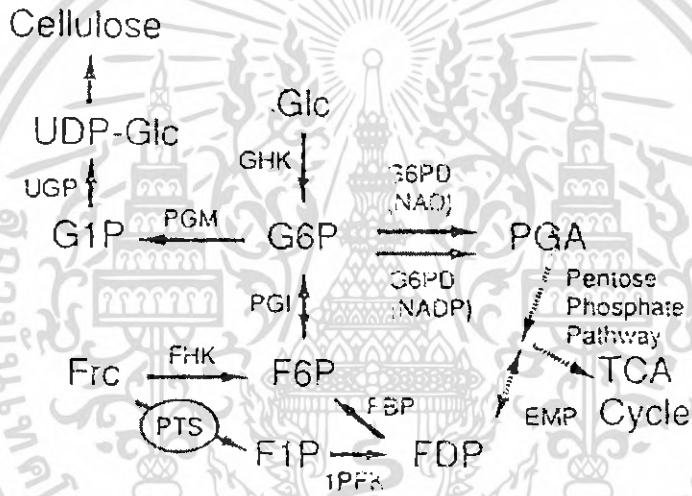
การศึกษาการสร้างเซลลูโลสจากแบคทีเรียเซลลูโลสนั้น ส่วนใหญ่จะเป็นที่ทราบกันโดยทั่วไปว่าใช้ *A.xylinum* เป็นตัวแทนของกลุ่มในการศึกษาการสังเคราะห์เซลลูโลส ทั้งด้านรูปร่างและด้านชีวเคมีในเซลล์ ซึ่งการศึกษาการสังเคราะห์เซลลูโลสส่วนใหญ่จะใช้กลูโคสเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นที่เข้าสู่กระบวนการสังเคราะห์ ซึ่งอัตราการเจริญเติบโตของเซลล์ขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการสังเคราะห์เซลลูโลส นอกจากกลูโคสแล้วยังสามารถใช้กลูโคเนตหรือฟรุกโตสในการสังเคราะห์เซลลูโลส โดยที่กลูโคสที่อยู่ในเซลล์จะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคเนต จากนั้นกลูโคสในส่วนที่เป็นกลูโคเนตจะถูกเปลี่ยนเป็น 2-ketogluconate และ 5-ketogluconate ซึ่งทั้งสองตัวนี้อาจถูกเปลี่ยนเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งอาจเข้าร่วมหรือไม่เข้าร่วมในการสร้างเซลลูโลสก็ได้ ส่วนในไพรูเวทอะซิเทต และตัวกลางในวงจรซิเทรตเมื่อถูกออกซิไดส์ จนได้คาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งคาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้นั้นไม่มีความเกี่ยวข้องกับการสร้างเซลลูโลสเลย

วัตถุดิบที่ใช้สร้างเซลลูโลสนี้เป็นวงจรของเพนโตสที่เป็นส่วนหนึ่งในการเข้าสู่ระบบวงจรหลายวิถีที่มีการให้กลูโคเนสต้องผ่านตัวกลางก่อน และจากวงจรที่แสดงยังได้แสดงอีกหลายวิธีที่ต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงจากกลูโคสเป็นกลูโคเนทก่อน ซึ่งกลูโคเนทนี้สามารถเข้าสู่วงจรได้ 2 วิธี คือ การเข้าโดยตรง ซึ่งจะต้องใช้กลูโคไอเนส และทางอ้อมจะต้องผ่านเข้าทาง 5-ketogluconate และ 2-ketogluconate (Ross และคณะ, 1991)

Yoshinaga (1997) ศึกษาการสังเคราะห์เซลลูโลสแบคทีเรียมีวิถีสังเคราะห์ดังแสดงในรูปที่ 2



รูปที่ 2 วิถีสังเคราะห์เซลลูโลสจาก *Acetobacter xylinum*

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

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้มีการศึกษาถึงขบวนการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียและพบว่าน้ำตาลกลูโคสจะถูกใช้โดยผ่านวิถีเพนโตสฟอสเฟต โดยวิถีเซลลูโลสจะแยกออกที่ glucose-6-phosphate (G6P) และสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เซลลูโลส คือ UDP-glucose ซึ่งการสังเคราะห์ UDP-glucose จาก G6PD นั้นประกอบด้วย 2 ขั้นตอนด้วยกัน โดยพบว่าการทำงานของเอนไซม์ phosphoglucose isomerase จะแตกต่างกันหรือใช้เอนไซม์นี้จะมี activity สูง เมื่อแหล่งคาร์บอน คือ น้ำตาลฟรุกโตส UDP-glucose จะถูก polymerized ไปเป็นเซลลูโลส และเซลลูโลสจะถูกปล่อยสู่อาหารเลี้ยงเชื้อ โดยจะมีลักษณะเป็นเส้นใยเจริญอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยเส้นใยนี้จะประกอบด้วยโปรตีนอย่างน้อย 4 ชนิด ซึ่งจะถูกควบคุมโดย cellulose synthase operon (รูปที่ 3)

รูปที่ 3 โครงสร้างของ Cellulose Synthase (bcs) Operon

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

โดยยีนที่ควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลส คือ bcs A, bcs B, bcs C และ bcs D ได้มีการทดลองพบว่ายีน bcs A,B และ C มีความสำคัญต่อการทำงานของเอนไซม์ต่างๆ ส่วนยีน bcs D นั้นจะมีความสำคัญต่อการสังเคราะห์เซลลูโลส ซึ่งผลของการทดลองพบว่าถ้าทำให้ยีน bcs D ลดกิจกรรมลง จะทำให้การสังเคราะห์เซลลูโลสลดลงถึงร้อยละ 40 ด้วย

2.6 กระบวนการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *A.xylinum*

ลักษณะการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A.xylinum* เป็นแบบ Growth associated (Ishikawa และคณะ, 1995) มีลักษณะสำคัญคือการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสเกิดพร้อมกัน โดยในระหว่างช่วงการเจริญเติบโต (trophophase) แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสจะมีการเพิ่มจำนวนเซลล์เป็นจำนวนมากและมีการผลิตเซลลูโลสออกมาน้อย แต่ในช่วงการผลิตผลิตภัณฑ์ (idiophase) แบคทีเรียจะมีการเจริญของเซลล์เพียงเล็กน้อย แต่มีการผลิตเซลลูโลสสูงสุดสำหรับกระบวนการต่างๆในการผลิตเซลลูโลสมีดังนี้

2.6.1 กระบวนการหมักในสภาวะนิ่ง

การหมักวิธีนี้โดยทั่วไปใช้น้ำมะพร้าว ซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอาหารและภาชนะที่ใช้หมักเป็นถาดอะลูมิเนียมหรือพลาสติกผิวเรียบ อาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมกับการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอนโดยใช้น้ำตาลซูโครส ความเข้มข้นร้อยละ 5-10 และพีเอชเริ่มต้นปรับด้วยกรดอะซิติกเข้มข้นให้อยู่ในช่วงพีเอช 4.0-5.0 ธาตุอื่นๆที่เติม เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) (วราวุฒิ และคณะ, 2535) หรือไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ($(NH_4)_2HPO_4$) (Lapus และคณะ, 1967) สำหรับเป็นแหล่งไนโตรเจน การฆ่าเชื้อใช้วิธีการต้มให้เดือด เมื่ออาหารเย็นลงเทอาหารเลี้ยงเชื้อลงในถาดอะลูมิเนียมหรือพลาสติกผิวเรียบ ให้มีระดับความลึก 10-15 เซนติเมตร คลุมภาชนะด้วยผ้าขาวบางที่ฆ่าเชื้อแล้ว ห้องบ่มรมควันฆ่าเชื้อด้วยก๊าซไซยาไนด์ก่อนการหมัก 2-3 วัน ห้องมีระบายอากาศ จากนั้นใส่กล้าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 10-14 (วราวุฒิ และคณะ, 2536) หลังจากการหมักเป็นเวลา 7-14 วัน แบคทีเรียจะผลิตเซลลูโลสบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีลักษณะสีขาวครีม มีเนื้อสัมผัสที่เหนียวและแน่น ที่สำคัญคือมีปริมาณเซลลูโลสสูง ซึ่งมีชื่อเรียกหลายชื่อ เช่น วุ้นสวรรค์ วุ้นมะพร้าว และเห็ดรัสเซีย

การหมักวิธีนี้อัตราการผลิตเซลลูโลสในช่วง 10 วันแรกของการหมักจะมีอัตราการผลิตสูง ดังนั้นในการควบคุมการหมักจำเป็นต้องคำนึงถึงแหล่งอาหารให้มีทั้งชนิดและปริมาณให้เหมาะสม หลังจาก 10 วันแรกของการหมัก พบว่าอัตราการผลิตเซลลูโลสต่ำลง เนื่องจากธาตุอาหารเหลือน้อย นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสบนผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนามากขึ้น ทำให้อากาศซึมผ่านลงไปได้ยากขึ้น จึงมีผลต่ออัตราการเจริญและการผลิตเซลลูโลส ในระหว่างการหมักควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ในช่วง 28-35 องศาเซลเซียส และปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 3.5-4.0 โดยการเติมกรดอะซิติก

นอกจากน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด เซลลูโลสยังสามารถผลิตได้จากหางนมหรือเวย์ (whey) (วราวุฒิ และคณะ, 2536) ซึ่งเป็นผลพลอยได้ส่วนใหญ่จากการผลิตเนยแข็งหรือการแยกเคซีน (casein) ซึ่งหางนมมีส่วนประกอบโดยประมาณดังนี้ น้ำตาลแลคโทสร้อยละ 4.8 โปรตีนร้อยละ 0.85 ไขมันร้อยละ 0.35 แร่ธาตุร้อยละ 0.6 และน้ำร้อยละ 93.40 (Delhi, 1980) หางนมสามารถนำมาเพาะเลี้ยงเพื่อผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *A.xylinum* แบบอยู่กับที่ในถาด อัตราการผลิตเซลลูโลสขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ ผลผลิตเซลลูโลสมีความสัมพันธ์กับการใช้สารอาหาร การผลิตเซลลูโลสจะมีอัตราลดลงเมื่อสารอาหารมีความเข้มข้นสูงเนื่องจากมีการผลิตกรดกลูโคนิกจากน้ำตาลกลูโคสบางส่วน และเกิด catabolite repression มีการผลิตเอนไซม์เซลลูเลสในน้ำหมักมีผลทำให้ปริมาณแบคทีเรียเซลลูโลสลดลง (Tahara และคณะ, 1997)

2.6.2 กระบวนการหมักในสภาวะเขย่าหรือในถังหมัก

Toyosaki และคณะ (1995) ได้รายงานผลการผลิตเซลลูโลส โดยใช้เชื้อ *A.xylinum* BPR *2001* ในถังหมักและใช้อาหารเหลว CSL-fructose medium พบว่าการผลิตเซลลูโลสมีประสิทธิภาพสูง องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อประกอบด้วยน้ำแช่ข้าวโพด (Corn steep liquor) และน้ำตาลฟรุคโตส อาหารเลี้ยงเชื้อฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่ออาหารเย็นลงจะใส่กล้าเชื้อที่มีอายุ 24 ชั่วโมง ประมาณร้อยละ 5-10 ให้เชื้อเจริญในสภาพที่มีอัตราการกวน และการให้อากาศ ควบคุมพีเอชในระหว่างการหมักให้คงที่ประมาณ 5.0 ด้วยกรดซัลฟูริก และก๊าซ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แอมโมเนีย ควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 28-32 องศาเซลเซียส อัตราการกวน 100 รอบต่อนาที และอัตราการให้อากาศ 1 ปริมาตรต่อปริมาตรต่อนาที ระยะเวลาการหมัก 3-5 วัน ซึ่งแบคทีเรียเซลลูโลสที่ได้จากกระบวนการหมักจะมีลักษณะเป็นเม็ด การหมักในอาหารเหลวมีหลายรูปแบบ อาทิเช่น การหมักแบบกะ (batch culture) (Toyosaki; และคณะ 1995) ทั้งการหมักในถังหมักเดี่ยวและหลายถังหมัก (single และ multi stages) แบบกึ่งกะ (fed batch culture) (yung และคณะ, 1998) และแบบต่อเนื่อง (continuous culture) โดยทั่วไปการผลิตเซลลูโลสใช้กรรมวิธีการหมักแบบกะเนื่องจากมีประสิทธิภาพสูง

การหมักแบบกะในอาหารเหลวมีข้อดีคือ ใช้วัตถุดิบที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบได้ทุกชนิด ผลผลิตเซลลูโลสสูงกว่าการหมักในสภาวะนิ่งร้อยละ 40 สามารถปรับปรุงวิธี และควบคุมกระบวนการหมักได้ง่าย ใช้พื้นที่และแรงงานคนน้อย และสามารถควบคุมสภาพปลอดเชื้อได้ง่าย

2.7 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส

การเจริญของเชื้อที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อ องค์ประกอบของอาหาร เครื่องมือ วิธีการเพาะเลี้ยง และองค์ประกอบต่างๆดังนี้

2.7.1 อุณหภูมิ

เชื้อ *Acetobacter* ส่วนใหญ่มีการเจริญและผลิตเซลลูโลสได้ที่อุณหภูมิระหว่าง 10-40 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่าหรือสูงกว่านี้มากๆ เชื้อไม่สามารถเจริญได้ อุณหภูมิเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้ออยู่ระหว่าง 28-32 องศาเซลเซียส

2.7.2 ความเป็นกรด-ด่าง

Acetobacter เจริญในอาหารที่มีพีเอช ระหว่าง 3.0-7.0 และเจริญได้ดีที่สุดอยู่ในช่วงพีเอช 4.0-5.0 (Kouda และคณะ, 2000) และถ้าหากมีพีเอชต่ำกว่า 3.0 หรือสูงกว่า 8.0 จะไม่มีการสร้างเซลลูโลสเกิดขึ้น

Verschuren และคณะ (2000) ศึกษาการหมักที่สภาวะนิ่ง โดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นน้ำหมักและมีการเติมซูโครสลงไป โดยศึกษาที่พีเอชต่างๆกัน ได้แก่ พีเอช 3.0 4.0 5.0 และ 6.0 พบว่าที่พีเอช 4.0 และ 5.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลสจากของเชื้อ *A .xylinum* ได้มากที่สุด

Masaoka และคณะ (1993) ศึกษาการผลิตเซลลูโลสโดย *A .xylinum* โดยใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในอาหาร standard medium ที่พีเอช ระหว่าง 2.5-7.0 พบว่าที่พีเอช 4.0-6.0 เชื้อสามารถสร้างเซลลูโลสสูง โดยเฉพาะพีเอช 5.0 สามารถสร้างเซลลูโลสได้สูงที่สุด

Oikawa และคณะ (1995) ศึกษาการเจริญของ *A. xylinum* KU-1 ในอาหารสังเคราะห์ standard medium ที่มีน้ำตาล D-Arabitol เป็นองค์ประกอบของอาหารที่พีเอชต่างๆ ได้แก่ 3.0-8.0 พบว่าที่พีเอชที่ 5.0 เชื้อมีการเจริญและสร้างเซลลูโลสได้ดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.3 แหล่งคาร์บอน

เชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้คาร์บอนจากแหล่งต่างๆในการผลิตเซลลูโลส นอกจากกลูโคสแล้วยังสามารถใช้คาร์บอนแหล่งอื่นๆ ได้แก่ ฟรุคโตส แมนนิทอล ซอร์บิทอล กลีเซอรอล กาแลคโตส แลคโตส ซูโครส มอลโตส (Hestrin, 1947) ทั้งนี้เชื้อสามารถสร้างเซลลูโลสได้จากเดรกซ์โตสและซูโครส เซลลูโลสที่ได้มีความหนาแน่นและแข็ง ดังนั้นจึงเลือกใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิต เนื่องจากหาง่ายและราคาไม่แพง

แหล่งของซูโครสจะอยู่ในรูปของแป้ง กากส้ม กากผักหวาน (beet) กากของผักหรือผลไม้ที่คัดแล้ว หรือชานอ้อย (Kouda และคณะ, 2000)

Masaoka และคณะ (1993) ได้ศึกษาและเปรียบเทียบความเข้มข้นของแหล่งคาร์บอน ได้แก่ น้ำตาล กลูโคส ฟรุคโตส กลีเซอรอล และคาร์บอนจากแหล่งต่างๆในความเข้มข้นที่เท่ากัน คือ 0.3 กรัม/ฟลาสก์ ในอาหาร standard medium โดยเลี้ยงเชื้อ *A .xylinum* ให้เจริญเป็นระยะเวลา 3 วัน แล้ววัดปริมาณเซลลูโลสที่ได้ โดยนำไปวัดค่าดูดกลืนแสง (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร พบว่า มีการใช้แหล่งคาร์บอนจากแหล่งต่างๆ ในการผลิตเซลลูโลสในปริมาณที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *A .xylinum* ใช้ในการผลิตเซลลูโลส

แหล่งคาร์บอน		ปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตได้ร้อยละ (Cellulose yield relative)
Monosaccharide	D-fructose	92
	D-galactose	15
	D-glucose	100
	D-mannose	3
	D-xylose	11
	L-arabinose	14
	L-sorbose	11
Disaccharide	Lactose	16
	Maltose	7
	Sucrose	33
Polysaccharide	starch	18
Alcohols	Ethanol	4
	Ethylene glycol	1
	di-ethylene glycol	1
	propylene glycol	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 (ต่อ) แหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *A .xylinum* ใช้ในการผลิตเซลลูโลส

แหล่งคาร์บอน		ปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตได้ร้อยละ (cellulose yield relative)
	glycerol	93
	mMyo-inositol	17
Organic acids	Citric acid	20
	L-malic acid	15
	Succinic acid	12
other	D-gluconolactone	62
No carbon source	-	2

ที่มา : Masaoka และคณะ (1993)

จากการทดลองของ Masaoka และคณะ (1993) พบว่าการสร้างเซลลูโลสของเชื้อนอกจากจะขึ้นอยู่กับชนิดของแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการผลิตเซลลูโลสแล้วยังขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวของอาหารเหลว ส่วนความลึกและปริมาณอาหารไม่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลสเมื่อเลี้ยงเชื้อที่สภาวะนิ่ง

Oikawa และคณะ (1995) ศึกษาเลี้ยงเชื้อ *A .xylinum* KU-1 ในอาหารที่เติมน้ำตาลแมนนิทอล (D-mannitol)ในส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า สภาวะเหมาะสมที่สุดในการผลิตเซลลูโลส คือ น้ำตาลแมนนิทอลร้อยละ 1.5 โพลีเปปโตนร้อยละ 0.5 สารสกัดจากยีสต์ร้อยละ 2.0 พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และเลี้ยงนาน 48 ชั่วโมง ผลผลิตของเซลลูโลสจากน้ำตาลแมนนิทอลนั้นมากกว่าผลผลิตจากน้ำตาลกลูโคสถึง 3 เท่า ภายใต้สภาวะเดียวกัน

ตารางที่ 2 สภาวะที่เหมาะสมในการสร้างเซลลูโลสจากน้ำตาลแมนนิทอล โดย *A. xylinum* KU-1

สภาวะ	ค่าที่ตรวจสอบ	ค่าที่เหมาะสม
ดี-แมนนิทอลเข้มข้น (%)	0-3.0	1.5
ยีสต์สกัดเข้มข้น (%)	0-2.0	2.0
โพลีเปปโตนเข้มข้น (%)	0-2.0	0.5
อุณหภูมิการหมัก (^{0}C)	25-45	3.0
พีเอชเริ่มต้น	3-9	5
ปริมาตรอาหาร (ml)	25-100	50
ปริมาณหัวเชื้อ (%)	0.1-5.0	1.0
เวลาเพาะเลี้ยง (h)	0-120	48

ที่มา : Oikawa และคณะ (1994)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ผลผลิตของเซลลูโลสจากการใช้น้ำตาลแมนนิทอล โดย *A. xylinum* KU-1

แหล่งคาร์บอน	เซลลูโลส (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)[a]	ผลผลิต (เปอร์เซ็นต์)[b]
D-แมนนิทอล	4.6	31
D-กลูโคส	1.2	8

[a] ต่อมิลลิลิตรของอาหาร

ที่มา : Oikawa และคณะ (1994)

Oikawa และคณะ (1995) ศึกษาเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* KU-1 ในอาหาร standard medium และเปรียบเทียบการใช้น้ำตาลดีกลูโคส และดีอะราบิทอล ซึ่งเป็นส่วนประกอบของอาหารในการเจริญเติบโตและผลิตเซลลูโลส พบว่าเชื้อสามารถใช้น้ำตาลดีอะราบิทอลได้ดีกว่าใช้น้ำตาลดีกลูโคส โดยปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตได้จากน้ำตาลดีอะราบิทอลจำนวน 12.4 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร และ จากน้ำตาลดีกลูโคสจำนวน 2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ตามลำดับ

Seto และคณะ (1996) ได้คัดเลือก *Acetobacter* ที่เหมาะสมเพื่อผลิตเซลลูโลส และใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดีจากอาหาร corn steep liquor

2.7.4 ออกซิเจน

เป็นที่ทราบกันทั่วไปแล้วว่าการเจริญของแบคทีเรียเซลลูโลสที่เจริญที่สภาวะนิ่ง สภาวะเขย่า การให้อากาศ การกวนด้วยใบพัด มีความสำคัญในการผลิตเซลลูโลส ตามปกติแบคทีเรีย *Acetobacter* เป็นแบคทีเรียที่ต้องการอากาศหรือออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นในการหมักเพื่อให้จุลินทรีย์มีการเจริญเติบโตได้เร็ว และสร้างเซลลูโลสได้ดีที่สภาวะนิ่ง ภาชนะที่ใช้หมักต้องมีผิวหน้ากว้างเพื่อให้มีการซึมผ่าน และถ่ายเทออกซิเจนได้ดี เชื้อจะลอยตัวอยู่บนผิวหน้าอาหารที่สภาวะนิ่ง เมื่อเชื้อมีจำนวน และความหนาแน่นในระดับหนึ่งจะเริ่มสร้างวุ้นขึ้น (Schramm และ Hestrin, 1994) นอกจากนี้ Masaoka และคณะ (1993) พบว่าการเลี้ยงเชื้อที่สภาวะนิ่งในอาหารเหลว การสร้างเซลลูโลสขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวของอาหารเหลวที่ใช้ ส่วนความลึก และปริมาณไม่มีผลต่อการสร้างความหนาของเซลลูโลส จึงได้มีการนำวิธีเพิ่มออกซิเจนให้กับเชื้อโดยวิธีการเขย่าในฟลาสก์ และการใช้วิธีการกวนด้วยใบพัดเพื่อเพิ่มออกซิเจนระหว่างการหมักในถังหมัก แต่พบว่าปริมาณของเซลลูโลสที่ผลิตได้กลับน้อยลงกว่าที่สภาวะนิ่ง (Schramm และ Hestrin, 1954., Dudman, 1960., Yamanaka, 1989) ต่อมา Kouda และคณะ (1997) พบว่าความเร็วรอบในการเขย่า การกวน ชนิด และสายพันธุ์จุลินทรีย์มีผลต่อการสร้างเซลลูโลส นอกจากนี้ขนาด และชนิดของใบพัดที่ใช้กวนก็มีผลต่อการผลิตเช่นกัน ซึ่งผลของการศึกษาออกซิเจน และความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ในการผลิตเซลลูโลสที่สภาวะการเจริญแบบมีการให้อากาศในถังหมัก และมีใบพัดกวนโดยใช้วิธี Static gassing out method ทำให้ประสิทธิภาพการถ่ายเทออกซิเจน และอัตราการผลิตเซลลูโลสสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Watanabe และ Yamanaka (1995) ศึกษาผลของออกซิเจนที่มีต่อการสร้างเซลลูโลส พบว่าที่สภาวะนิ่ง การเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter*เพื่อผลิตเซลลูโลส ขณะที่มีการเจริญเติบโตและสร้างเซลลูโลสนั้น เชื้อมีการสร้างเจล หรือเจลาตินเกิดขึ้นด้วย ซึ่งเจลาตินมีผลต่อการสร้างเซลลูโลส เนื่องจากไปขัดขวางการถ่ายเทออกซิเจนของเชื้อในอาหารเหลวทำให้การถ่ายเทอากาศไม่ดี จึงได้เพิ่มออกซิเจนลงไปในอาหาร จากการทดลองการให้ออกซิเจน ร้อยละ 10 และร้อยละ 15 พบว่าจะไปทำให้การสร้างเซลลูโลสสูงกว่าสภาพออกซิเจนที่บรรยากาศปกติ

นอกจากการเติมอากาศลงในอาหารโดยตรงเพื่อเป็นการเพิ่มออกซิเจนให้กับเชื้อในระหว่างการหมักแล้ว ยังได้มีการเติม micro-particle ลงในอาหารหมักที่สภาวะเขย่า เช่น cellulose porous beads (CPBs) ซึ่งพบว่าสามารถเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลสที่การหมักในสภาพกวน (agitated condition) ได้ด้วย (Krusong และคณะ, 1998)

2.7.5 ไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นสารที่มีความสำคัญในการสร้างเซลลูโลส อาหารเลี้ยงเชื้อที่ไม่มีไนโตรเจนเป็นส่วนประกอบของอาหารจะทำให้ *Acetobacter* ไม่สามารถเจริญและสร้างเซลลูโลสได้ แหล่งไนโตรเจนได้แก่ สารอินทรีย์ และอนินทรีย์ เช่น เกลือแอมโมเนีย แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมคลอไรด์ แอมโมเนียมฟอสเฟต หรืออาจอยู่ในรูปของไนเตรต เช่น ยูเรีย หรืออยู่ในรูปของสารอาหารที่สกัดจากธรรมชาติที่มีอยู่ใน Bacto-peptone Bacto-soytone Yeast-extract CSL (corn steep liquor) และ Bean-Condensate (Kouda และคณะ, 2000)

จากการศึกษาของ Lapuz และ Gallardo (1967) พบว่าการใช้ $NH_4H_2PO_4$ ร้อยละ 0.5 สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดเมื่อเทียบกับ $(NH_4)_2SO_4$ และเปปโตน ในขณะที่ใช้ KNO_3 และ $NaNO_3$ ไม่พบการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย และไม่เกิดการสร้างเซลลูโลสเลย เนื่องจากพบว่าสารประกอบไนเตรทเป็นพิษต่อแบคทีเรียชนิดนั้น

2.7.6 เอทานอลและกรดอะซิติก

Acetobacter เป็นกลุ่มเชื้อที่สามารถออกซิไดส์เอทานอลเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้ ดังนั้น *Acetobacter sp.* ทั้งหมดสามารถใช้ไวน์ได้ ซึ่งกระบวนการผลิตขึ้นอยู่กับระดับอัตราการหายใจของเชื้อ โดยส่วนใหญ่จะเป็นพวกที่ต้องการออกซิเจนเกือบทุกสายพันธุ์รวมทั้ง *A. aceti* สามารถเจริญในอาหารเหลว และลอยบนผิวอาหารได้โดยไม่มีการสร้างเส้นใยสีขาวเกิดขึ้นที่สภาวะนิ่ง นอกจากนี้ *A. xylinum* สามารถสร้างเส้นใย และจัดอยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียเซลลูโลสด้วย (Brow และคณะ, 1976) แต่เชื้อจะไม่มีการสร้างเซลลูโลสเกิดขึ้นถ้าหากไม่มีกลูโคสในอาหาร นอกจากนี้ยังไม่สามารถเจริญในอาหารที่มีเอทานอลเดี่ยวๆ ถ้าหากไม่มีการเติมกรดอะซิติก เกลืออะซิเตต หรือกลูโคสลงไปด้วย

Toda และคณะ (1997) ศึกษาการสร้างเซลลูโลสที่สภาวะนิ่งของเชื้อ *A. xylinum* ในอาหาร glucose medium เมื่อมีการเติมกรดอะซิติกลงไปจะทำให้การสร้างเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจากเดิม 4 เท่า และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ถ้าเติมกรดอะซิติกลงไป 20 กรัมต่อลิตร พบว่ามีการสร้างเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า เมื่อเทียบกับการเลี้ยงเชื้อ *A. pasteurianus* ที่สภาวะเดียวกัน

Naritome และคณะ (1998) ศึกษาเอทานอลที่มีผลต่อการสร้างเซลูโลสโดยใช้น้ำตาลฟรุกโตสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญแบบต่อเนื่อง จากการศึกษาพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum sucrofermentans* BPR3001A ในอาหาร CSL-Fru medium ซึ่งมีน้ำตาลฟรุกโตสเป็นแหล่งคาร์บอน และเติมเอทานอลลงไปในอาหาร 10 กรัมต่อลิตรน้ำ มีการสร้างเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ร้อยละ 46 แต่เมื่อเปลี่ยนเอทานอลจาก 10 กรัมต่อลิตร เป็น 15 กรัมต่อลิตร หรือมากกว่า พบว่าอัตราการสร้างเซลลูโลสลดลง ซึ่งเอทานอลจะยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อ และการใช้น้ำตาลในกระบวนการสังเคราะห์เซลลูโลส

Masuoka และคณะ (1996) ได้ทดลองกระตุ้นการการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดย *A. xylinum sucrofermentans* โดยเติมกรดแลคติกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีการศึกษาการเติมโคซับสเตรตหลายชนิดลงไปในอาหารที่ใช้เลี้ยง *Acetobacter sp.* V6 เพื่อดูผลกระทบที่เกิดกับการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส สารที่ทดลองเติมลงไปได้แก่ เอทานอล และกรดอินทรีย์หลายชนิด โดยใช้ปริมาณร้อยละ 0.2 ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นส่วนประกอบร้อยละ 1.5 (Son และคณะ, 2001) เพาะเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีกลูโคสเป็นเวลา 7 วัน ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ผลที่ได้เป็นไปดังตารางที่ 4 โคซับสเตรทที่เติมลงไปทั้งหมดมีผลทำให้การผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด

ตารางที่ 4 ผลของโคซับสเตรทต่างๆ ที่มีต่อการผลิตเซลลูโลสโดย *Acetobacter* sp. V6

ความเข้มข้น (0.2%)	ผลผลิตของแบคทีเรียเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)
None	1.31
Acetic acid	3.01
Citric acid	3.16
Ethanol	3.22
Fumaric acid	3.11
Lactic acid	3.19
Pyruvic acid	3.19
Succinic acid	3.18

ที่มา : Masuoka และคณะ (1996)

2.7.7 สารอื่นๆ

นอกจากน้ำตาล และไนโตรเจนแล้ว ยังมีสารอื่นๆ ที่เติมลงไปในอาหารในรูปแบบต่างๆ เช่น สารอินทรีย์ที่อยู่ในรูปของกรดอะมิโน วิตามิน กรดไขมัน นิวคลีอิคแอซิด 2,7,9 tricarboxyl-hpyrro (2,3,5)-quinoline-4,5-dione, sulfite pulp น้ำทิ้งเยื่อกระดาษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารอินทรีย์ในรูปของเกลือต่างๆ เช่น ฟอตเฟส แมกนีเซียม แคลเซียม โคบอล โมลิปเดต ยีมา ไตท์ คีเลต

2.8 การเพาะเลี้ยงแบคทีเรียผลิตเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ

ในการเลี้ยง *Acetobacter* เพื่อผลิตเซลลูโลสนั้นพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ การเลี้ยงในอาหารเหลวที่มีการให้อากาศ และมีการเขย่าจะให้ผลดีที่สุด สำหรับการสร้างเซลลูโลสเกิดขึ้นในเซลล์ของแบคทีเรียและเส้นใยเหล่านี้จะถูกขับออกมาทางรูของเซลล์เมมเบรน โดยมีลักษณะการเจริญเติบโดแสดงดังรูปที่ 4 ซึ่งแสดงการเจริญเติบโตของ *Acetobacter* ในถังหมัก ในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter* นี้ใช้น้ำตาลฟรุกโตส เป็นแหล่งคาร์บอนที่ความเข้มข้นเริ่มต้น 40 กรัมต่อลิตร จะให้เซลลูโลสสูงถึง 9 กรัมต่อลิตร การทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter* นั้นได้ทำการเปรียบเทียบการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่ง (static) และสภาวะเขย่า (agitation) พบว่าการเลี้ยงในสภาวะนิ่งจะให้เส้นใยเจริญและจับตัวกันแน่น ทำให้สภาพอาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืดสูงกว่าการเลี้ยงแบบเขย่า นอกจากนี้ยังพบว่าการเพิ่มกรดคาร์บอนิกจะช่วยให้เซลล์มีการเจริญเติบโตดีในช่วงของ log phase และยังช่วยเพิ่มการผลิตเซลลูโลสด้วย การเพิ่มกรดแลคติกลงในอาหารเลี้ยงเชื้อจะช่วยให้เชื้อสังเคราะห์ ATP ได้ดีขึ้น โดยจะไปเพิ่มประสิทธิภาพการทำงานของแลคเตตดีไฮโดรจีเนส และ TCA cycle นอกจากนี้ปัจจัยอื่นได้แก่ ชนิดของใบพัดในถังหมัก ความเร็วรอบในการกวน ปริมาณอากาศ และความเป็นกรดต่างก็มีผลต่อการผลิตเซลลูโลสด้วย

รูปที่ 4 รูปร่างของ *A. xylinum* BPR2001 และเซลลูโลสที่ถูกสร้างขึ้น โดยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนแบบส่องกราด (a) และ (b) แสดงแบบจำลองในการสร้างเซลลูโลส

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

เชื้อ *Acetobacter xylinum* นอกจากผลิตเซลลูโลสแล้วยังผลิตอะซิแตนควบคู่ไปด้วย อะซิแตนมีลักษณะเป็นสารพอลิแซคคาไรด์ที่ละลายน้ำได้ จัดเป็นผลิตภัณฑ์พลอยได้ โครงสร้างหลักของอะซิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตนประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (Iannino และคณะ, 1998) การสังเคราะห์อะซิแตนเริ่มจากอะซิแตนถูกสังเคราะห์ขึ้นภายในเซลล์แล้วถูกขับออกนอกเซลล์ โดยเชื้อ *Acetobacter aceti* โดยทั่วไปแล้วองค์ประกอบทางเคมีของอะซิแตนประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ ได้แก่ ดีกลูโคส แอลแมนโนส และโออะซิธิล ในอัตราส่วน 4:1:1 ตามลำดับ (Schramm และคณะ, 1957) ในการสังเคราะห์อะซิแตนใช้ ยูดีพีกลูโคส (UDP-glucose)เป็นสารตั้งต้นเช่นเดียวกับเซลลูโลส การสังเคราะห์อะซิแตนเพิ่มขึ้นทำให้การผลิตเซลลูโลสลดลง (Hwang และคณะ, 1999) ในกระบวนการหมักเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลสูงขึ้นปริมาณการสังเคราะห์อะซิแตนสูงขึ้นด้วย การลดปริมาณอะซิแตนโดยการใช้เอนไซม์เซลลูเลสจากเชื้อ *Bacillus subtilis* เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสามารถลดปริมาณการสังเคราะห์อะซิแตนได้มีผลทำให้แบคทีเรียเซลลูโลสเพิ่มขึ้น

2.9 ประโยชน์ของเซลลูโลสและการนำไปใช้

2.9.1 ด้านอาหาร

ปัจจุบันพบว่าการนำแผ่นวุ้นหรือเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในน้ำมะพร้าวมาทำเป็นส่วน ประกอบของอาหารทั้งคาว หวาน และทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารต่างๆ เช่น วุ้นในสลัด เจลลี นมเปรี้ยว ไอศกรีม วุ้นผสมน้ำผลไม้ และยังทำเป็นส่วนประกอบอาหารคาวที่มีแคลอรี่ต่ำ เช่น แฮมเบอร์เกอร์ และไส้กรอก (Okiyama และคณะ, 1992)

นอกจากนี้ยังสามารถนำไปใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ (healty food) โดยใช้ในการเพิ่มเยื่อใยและกากอาหาร ซึ่งเหมาะสำหรับผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก

2.9.2 ด้านการแพทย์และอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้อง

ในทางการแพทย์มีการใช้เซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย *A. xylinum* โดยทำการเลี้ยงเชื้อที่สภาวะนิ่งให้เชื้อสร้างเซลลูโลสเป็นแผ่นวุ้น และนำแผ่นวุ้นที่ได้มาใช้ในการรักษาบาดแผลที่ผิวหนังเนื่องจากการไหม้ในระยะที่ 2 และระยะที่ 3 โดยใช้เป็นผ้าซับแผล หรือพันแผลแทนผ้าพันแผล ใช้ในการตกแต่งเนื้อเยื่อ และอวัยวะต่างๆ (Ring และคณะ, 1986)

นอกจากนี้ Geyor และคณะ(1994) ได้นำเซลลูโลสมาพัฒนารูปแบบการผลิตให้มีลักษณะเป็นทรงกระบอกเพื่อใช้เป็นวัตถุแทนท่อเลือด ท่อน้ำเปลือง ท่อปัสสาวะและหลอดลม

2.9.3 กระดาษลำโพง

กระดาษที่ผลิตเพื่อใช้เป็นลำโพงต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ ต้องให้คลื่นเสียงความเร็วสูง(hight sonic velocity) และต้องลดคลื่นที่รบกวนได้ดีเพื่อให้ได้คุณภาพเสียงที่ชัดเจนวัสดุที่ใช้ในการผลิตกระดาษลำโพงมีหลายชนิด ซึ่งแต่ละชนิดมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกันไป เช่น บางชนิดมีข้อเสียที่มีคุณสมบัติในการลดคลื่นรบกวนได้ไม่ดี ในขณะที่บางชนิดให้ความเร็วคลื่นได้ต่ำเกินไป เช่น เพียง 1500 เมตรต่อนาทีเท่านั้น แต่จากการนำเซลลูโลสที่ผลิตได้จาก *A. xylinum* มาทำเป็นกระดาษลำโพง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
72609

พบว่ามีข้อได้เปรียบหลายประการคือ ให้เสียงสูงที่ดี มีความเร็วสูงเท่ากับอลูมิเนียมและยังมีคุณสมบัติในการลดเสียงรบกวนได้ดี (Yamanaka,1989)

2.9.4 ผลิตภัณฑ์กระดาษ

ฟีนอลเรซิล (phenol resin fiber) หรือเส้นใยคาร์บอน (carbon fiber) ซึ่งโดยปกติไม่สามารถทำเป็นแผ่นได้ แต่เมื่อนำเซลลูโลสที่ผลิตได้จาก *A. xylinum* ที่ผ่านการอบแห้งและบดเป็นผลแล้วมาผสมเป็นตัวเชื่อม (binder) จะทำให้เส้นใยเหล่านี้ขึ้นรูปเป็นแผ่นได้ ในการผลิตกระดาษคาร์บอน(Activated carbon fiber sheets) เพื่อใช้ในการดูดซับสารพิษ การเติมเซลลูโลสลงไปช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับสารให้ดีขึ้น

2.9.5 ใช้ในการยืดอายุความสดของผลไม้

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* DK ที่ผ่านการดีปั่นอย่างละเอียดสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมเพื่อเตรียมสารเคลือบผิวของกล้วยไข่ได้ดี โดยสูตรที่เหมาะสมประกอบด้วยแป้งมันต่อเซลลูโลสต่อน้ำเท่ากับอัตราส่วน 1 ต่อ 60 ต่อการเคลือบผิวกล้วยไข่ด้วยสูตรดังกล่าวสามารถช่วยยืดความสดโดยเฉพาะช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีผิวของกล้วยไข่ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสได้อย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยไข่ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบผิว

2.9.6 สารให้ความหนืดและความคงตัว

การนำเซลลูโลสจากการผลิตในอาหารเหลวของ *A. xylinum* ผสมกับพอลิเมอร์อื่นๆ เช่น พอลีไวนิลแอลกอฮอล์ เพื่อผลิตวัสดุที่มีความแข็งแรงและทนทาน ใช้เป็นสารให้ความหนืดและความคงตัวในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง

นอกจากนี้ยังได้นำเซลลูโลสที่ผลิตได้มาทำปฏิกิริยาทางเคมีเพื่อให้ได้อนุพันธ์ของเซลลูโลส (cellulose derivatives) เช่น ไฮดรอกซีเมทิลเซลลูโลส (hydroxymethyl cellulose) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) หรือเซลลูโลสอะซิเตด(cellulose acetate) จึงทำให้การใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสของ *A.xylinum* เป็นไปอย่างกว้างขวางทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร ยา ผงซักฟอก กาว สิ่งทอ กระดาษ และ เครื่องสำอาง เป็นต้น

2.10 วิธีการทำให้เป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์

วิธีการผลิตเซลลูโลสที่สร้างขึ้นมาแล้วจะมีเซลล์ของแบคทีเรียอื่นๆรวมอยู่ด้วย จึงต้องนำเซลลูโลสที่ผลิตได้ มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีการต่างๆ

วิธีการต่างๆที่ทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีความบริสุทธิ์ ได้แก่ การล้าง การระเหย ภายใต้ความดัน การล้างด้วยกรด ล้างด้วยด่าง ฟอกสีให้ขาวด้วยไฮโปรคลอไรท์ หรือ ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ใช้เอนไซม์ไลซิง (lysing) ร่วมกับไลติค (lytic) หรือใช้ laury sulfate หรือ deoxycholate ที่อุณหภูมิห้อง หรือที่ 200 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การล้างด้วยน้ำเป็นการเอาอาหารออกจากเซลลูโลส จากนั้นสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อเอาเซลล์ของแบคทีเรียออก ล้างด้วยน้ำให้หมด นำไปอบด้วยตู้อบแห้งแบบสุญญากาศ (vacuum oven) ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงเพื่อทำให้เซลล์แห้ง

Kasaoka (1993) ทำการเก็บเกี่ยวเซลลูโลสจากการเลี้ยงด้วย *A. xylinum* ในอาหารเหลวจากนั้นนำเซลลูโลสที่ได้กรองด้วยตะแกรง ขนาด 45 ไมครอน จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนหลายๆ ครั้ง นำไปต้มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นเวลา 20 นาทีและล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากอิออนอีกหลายๆครั้ง จนหมดด่าง นำเซลลูโลสไปอบที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาหนึ่งคืน ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้งของเซลลูโลสที่ผลิตได้

Ramana และคณะ(2000) ศึกษาการใช้ด่าง (alkali treatment) ในการล้างอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากเซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย จะเห็นโครงสร้างที่เป็นรูพรุน (porous structure) และลักษณะเส้นใย (fibrillar structure) หลังการล้างด้วยด่าง

2.11 แผ่นปิดบาดแผล (wound dressing)

ใช้ในการปิดบาดแผล ในช่วงแรกมี 2 ชนิด ได้แก่ ชนิดที่เป็นผ้า (guaze-based dressing) และชนิดที่เป็นผ้าพันแผลและมียาที่ใช้รักษาบาดแผลอยู่ด้วย (paste bandages) ในกลางปี ค.ศ. 1980 ได้มีการพัฒนาแผ่นปิดบาดแผลที่ทันสมัยมากขึ้นซึ่งมีลักษณะที่สำคัญเป็นแผ่นปิดบาดแผลในอุดมคติ สามารถเก็บและดูดซับความชื้น อีกทั้งยังสามารถต่อต้านแบคทีเรียได้ด้วย กลางปี ค.ศ. 1990 มีการผลิตแผ่นปิดบาดแผลมากขึ้น โดยใช้วัสดุดังต่อไปนี้

- แผ่นฟิล์มที่ไอน้ำสามารถผ่านเข้าออกได้ (vapour-permeable adhesive films)
- ไฮโดรเจล (hydrogels)
- ไฮโดรคอลลอยด์ (hydrocolloids)
- ผ้าพันแผลที่มียารักษาแผล (synthetic foam dressings)
- ผ้าพันแผลที่ผลิตจากซิลิโคน (silicone meshes)
- แผ่นปิดแผลที่มีลักษณะคล้ายเนื้อเยื่อ (tissue adhesives)
- แผ่นปิดแผลที่มีซิลเวอร์หรือคอลลาเจนเป็นส่วนประกอบ

แผ่นปิดแผลในอุดมคติ (Ideal wound dressing)

ไม่มีแผ่นปิดบาดแผลชนิดใดเลยที่สามารถรักษาบาดแผลได้ทุกชนิด การใช้แผ่นปิดบาดแผลหลายชนิดในการรักษาบาดแผลเพียงชนิดเดียว ซึ่งแผ่นปิดบาดแผลที่ดีควรจะมีสมบัติในข้อใดข้อหนึ่งหรือมากกว่าดังต่อไปนี้

1. รักษาความชื้นที่บริเวณผิวหน้าของบาดแผล
2. ดูดซับของเหลวที่ไหลออกมาจากบาดแผลโดยไม่ทำให้เกิดการซึมผ่านไปยังบริเวณผิวหน้าของแผ่นปิดบาดแผล มีการแลกเปลี่ยนก๊าซและของเหลว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. รักษาอุณหภูมิให้เหมาะสม เป็นฉนวน และมีกลไกในการป้องกัน
4. ป้องกันแบคทีเรีย ไม่มีความเป็นพิษ ไม่ก่อให้เกิดการแพ้
5. ดูดซับกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ที่เกิดจากบาดแผล
6. ไม่ติดแน่นที่บาดแผลมากเกินไป สามารถดึงออกได้ง่ายโดยไม่ทำให้เกิดความเจ็บปวด
7. สามารถนำเอาเนื้อเยื่อที่ตายแล้วออกจากบาดแผล

2.12 การจำแนกชนิดของแผ่นฟิล์มปิดแผล (Classification of wound dressings)

ตารางที่ 5 การจำแนกชนิดของแผ่นฟิล์มปิดแผล

ชนิด	สมบัติ
Passive products	เป็นแผ่นปิดบาดแผลแบบดั้งเดิมที่ใช้ปิดเหนือบริเวณบาดแผล เช่น ผ้าก๊อซ และแผ่นปิดบาดแผลที่ทำมาจากผ้าใยสังเคราะห์
Interactive products	มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มทำมาจากพอลิเมอร์และโฟม ส่วนใหญ่จะใส โปร่งแสง ยอมให้ไอน้ำและออกซิเจนผ่านเข้าออกได้แบคทีเรียไม่สามารถผ่านเข้าไปได้ เช่น ไฮโดรเจล
Bioactive products	แผ่นปิดแผลชนิดนี้จะช่วยในการรักษาบาดแผล เช่น อัลจีเนต คอลลาเจน ไคโตซาน

ที่มา : http://www.dermnetnz.org/procedures/dressings.html

2.13 ชนิดของบาดแผลและแผ่นปิดบาดแผล (Wound types and dressings)

ตารางที่ 6 ชนิดของแผ่นปิดบาดแผลและสมบัติ

ชนิดของแผ่นปิดแผล	สมบัติ
ผ้าก๊อซ	- แผ่นปิดแผลชนิดนี้ใช้พันบริเวณผิวหน้าของบาดแผล - ใช้เฉพาะกับบาดแผลที่มีขนาดเล็กหรือใช้เป็นแผ่นปิดบาดแผลชั้นที่สอง
ไฮโดรคอลลอยด์	- ประกอบด้วยคาร์บอกซีเมทธิลเซลลูโลส เจลาติน เพกติน อีลาสโตเมอร์ (elastomer) และมีความเหนียว มีลักษณะเป็นเจลเมื่อดูดซับของเหลวที่ออกมาจากบาดแผล ทำให้เกิดความอุ่นความชื้น สามารถกำจัดเนื้อเยื่อที่ตายแล้วพร้อมทั้งช่วยในการรักษาบาดแผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ) ชนิดของแผ่นปิดบาดแผลและสมบัติ

ชนิดของแผ่นปิดแผล	สมบัติ
	- ใช้กับบาดแผลที่มีของเหลวไหลออกมามาก น้ำหนอง ขี้ขุย - มีหลายรูปแบบ เช่น adhesive non-adhesive pad และ paste powder แต่โดยส่วนใหญ่นิยมใช้ self-adhesive pads - เช่น DuoDERM®, Tegasorb®
พอลียูรีเทนหรือซิลิคอนโฟม	- ออกแบบมาเพื่อใช้กับการดูดซับของเหลวที่ไหลออกมาจากบาดแผลในปริมาณมาก - รักษาระดับความชื้นในบาดแผลให้คงที่ ใช้กับบาดแผลที่ไม่สามารถใช้อัลจีเนตหรือไฮโดรคอลลอยด์ในการกำจัดเนื้อเยื่อที่ตายแล้วออกได้ - ไม่เหมาะกับบาดแผลที่มีของเหลวไหลออกมาน้อยเพราะจะทำให้ผิวแห้งและเกิดโรคผิวหนัง - เช่น Allevyn®, Lyofoam® - ออกมาในรูปของวัสดุรอง เจล หรืออนุภาค - ดูดซับของเหลวที่ไหลออกมาจากบาดแผลและช่วยในการรักษาความชื้น
คอลลาเจน	- ออกมาในรูปของวัสดุรอง เจล หรืออนุภาค - ดูดซับของเหลวที่ไหลออกมาจากบาดแผลและช่วยในการรักษาความชื้น - ไม่สามารถพันบริเวณผิวหน้าของบาดแผลได้ - เหมาะกับบาดแผลที่มีลักษณะแบนราบ แผลไม่ลึก ใช้กับผู้ป่วยที่มีผิวแพ้ง่าย
ผ้าใยสังเคราะห์	- ไม่สามารถพันบริเวณผิวหน้าของบาดแผลได้ - เหมาะกับบาดแผลที่มีลักษณะแบนราบ แผลไม่ลึก ใช้กับผู้ป่วยที่มีผิวแพ้ง่าย
แผ่นฟิล์มที่ยอมให้สารบางอย่างผ่านได้	- เป็นแผ่นฟิล์มที่ทำมาจากพอลียูรีเทนเคลือบด้วยอะคริลิกปราศจากเชื้อ มีลักษณะใสสามารถตรวจดูบาดแผลได้ - เหมาะกับบาดแผลดื้นๆที่มีของเหลวไหลออกมาจากบาดแผล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 (ต่อ) ชนิดของแผ่นปิดบาดแผลและสมบัติ

ชนิดของแผ่นปิดแผล	สมบัติ
ไฮโดรเจล	- ประกอบด้วยน้ำอยู่ในโครงสร้างที่เป็นเส้นใยหรือโครงสร้างที่ซับซ้อนทำให้มีลักษณะเป็นเจล น้ำจะถูกปล่อยออกมาเพื่อช่วยรักษาความชื้น - ใช้กับบาดแผลที่เปื่อยหรือมีน้ำหนองเพื่อที่จะกำจัดเนื้อเยื่อที่ตายแล้ว ไม่ควรใช้กับบาดแผลขนาดกลางหรือบาดแผลที่มีของเหลวไหลออกมามาก - Tegagel®, Intrasite®

ที่มา : http://www.dermnetnz.org/procedures/dressings.html

ชนิดของบาดแผลที่แตกต่างกันและระยะที่แตกต่างกันในการรักษาบาดแผลต้องการแผ่นปิดแผลที่แตกต่างกันหรือใช้แผ่นปิดแผลหลายชนิด ตารางที่ 3 แสดงให้เห็นถึงแผ่นปิดบาดแผลที่เหมาะสมกับบาดแผลแต่ละชนิด

ตารางที่ 7 ชนิดของบาดแผลและแผ่นปิดแผลที่ควรใช้

ชนิดของบาดแผล	แผ่นปิดแผลที่ควรใช้
สะอาด มีของเหลวไหลออกมาปานกลางถึงมาก	- พาราฟีน ผ้าก๊อซ
สะอาด แห้ง มีของเหลวไหลออกมาน้อย	- แผ่นฟิล์มที่ไอน้ำสามารถซึมผ่านได้ - แผ่นฟิล์มพลาสติก
มีน้ำหนอง	- ไฮโดรคอลลอยด์ ไฮโดรเจล
แห้ง เนื้อเยื่อเปื่อย	- ไฮโดรคอลลอยด์ ไฮโดรเจล

ที่มา : http://www.dermnetnz.org/procedures/dressings.html

2.14 Plasticizer

plasticizer คือ สารที่เติมผสมกับพอลิเมอร์ เพื่อทำให้พอลิเมอร์มีความอ่อนตัวมากขึ้น มีผลทำให้ค่า glass transition temperature (T_g) ลดลงเนื่องจาก plasticizer จะไปแทรกตัวอยู่ระหว่างสายโมเลกุลพอลิเมอร์ ทำให้แรงดึงดูดระหว่างสายโมเลกุลพอลิเมอร์อ่อนแอลง ค่า T_g จึงเปลี่ยนไปในทางที่มีค่าลดลง นอกจากนี้ยังมีผลต่อสมบัติเชิงฟิสิกส์ด้วย เช่น ทำให้ความแข็งแรงลดลง การไหลตัวเมื่อหลอมเกิดได้ง่ายขึ้น และยังมีผลถึงการลดลงของอุณหภูมิที่ใช้ในการแปรรูปอีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.14.1 ประเภทของ plasticizer

plasticizer แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ internal และ external plasticizer

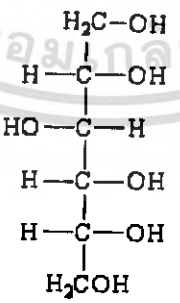
1. Internal plasticizer มักจะเป็น secondary หรือ tertiary monomer ที่เติมลงไปเพื่อให้เกิดโคพอลิเมอไรเซชันกับพอลิเมอร์ตัวพื้นฐานในลักษณะของการเกิดแบบสุ่ม (เพราะเติมระหว่างทำการสังเคราะห์พอลิเมอร์) หรือเกิดปฏิกิริยาแบบ substitution บนสายโมเลกุลหลักแบบกราฟโคพอลิเมอร์ (เพราะเติมหลังจากทำการสังเคราะห์พอลิเมอร์แล้ว)

2. External plasticizer เป็นสารเคมีที่เติมลงไปผสมกับพอลิเมอร์พื้นฐานและเกิดแรงกระทำกับพอลิเมอร์พื้นฐานด้วยแรง ทางฟิสิกส์หรือเคมี plasticizer ประเภทนี้มีความสำคัญมากในเชิงพาณิชย์ เพราะสามารถจะกำหนดชนิดที่ต้องการใช้หรือปริมาณที่ต้องการใช้ได้ แล้วยังทำให้สามารถคาดคะเนถึงผลลัพธ์ที่จะเกิดขึ้น หรือควบคุมพฤติกรรมของพอลิเมอร์ได้ จึงมีความสะดวกมาก สามารถทำได้ทั้งในขณะที่กำลังเกิดการสังเคราะห์พอลิเมอร์อยู่ หรือ ผสมเติมเข้าไปเมื่อการสังเคราะห์พอลิเมอร์เสร็จสิ้นไปแล้ว

สารเคมีหลายกลุ่มชนิดสามารถทำหน้าที่เป็น plasticizer ได้ เช่น aromatic esters, aliphatic esters, epoxidized oils, aryl/alkyl phosphate, chlorinated paraffins, polymer

2.15 ซอร์บิทอล

ซอร์บิทอล (Sorbitol) หรือเรียกอีกชื่อว่า ดี-กลูซิทอล (D-glucitol) เป็นสารอินทรีย์จำพวกเฮกซะไฮดริลแอลกอฮอล์ (hexahydril alcohol) หรือที่เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า เฮกซิทอล (hexitol) คือน้ำตาลแอลกอฮอล์ซึ่งหมายถึงสารที่มีโครงสร้างเป็นน้ำตาลและได้ผ่านปฏิกิริยาไฮโดรจีเนชัน (hydrogenation) ซอร์บิทอลมีสูตรโมเลกุลคือ $C_6H_{14}O_6$ มีสูตรโครงสร้างดังรูป 5



รูปที่ 5 โครงสร้างทางเคมีของซอร์บิทอล
ที่มา : กระทรวงอุตสาหกรรม (2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โพลิไฮดริกแอลกอฮอล์ (polyhydric alcohol) หรือที่เรียกอีกชื่อหนึ่งว่า โพลิออล (polyol) หมายถึง สารอินทรีย์ที่ประกอบด้วยกลุ่มไฮดรอกซิล 3 กลุ่ม เรียกว่า กลีเซอรอล หรือมากกว่า 3 กลุ่ม เรียกว่า น้ำตาลแอลกอฮอล์ มีสูตรเคมี $CH_2OH(CHOH)_nCH_2OH$ เมื่อ n มีค่า 2 ถึง 5 (กระทรวงอุตสาหกรรม, 2538)

ซอร์บิทอลพบครั้งแรกในปีคริสต์ศักราช 1872 ในผลไม้สด (มีประมาณ 5-10 เปอร์เซนต์) พวก แอปเปิ้ล พลัม ลูกแพร์ พีช แอปปริคอท องุ่น เบอร์รี่ ผลนัท นอกจากนี้ยังพบในสาหร่ายและใบยาสูบด้วย แต่ปริมาณที่พบในอาหารตามธรรมชาติไม่มากเพียงพอที่จะนำมาใช้ในทางอุตสาหกรรมได้ จึงต้องมีการสังเคราะห์ขึ้นมา ปัจจุบันซอร์บิทอลที่ใช้กันอยู่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาเคมีโดยใช้กระบวนการ Catalytic hydrogenation จาก Dextrose มีนิกเกิล (Ni^{2+}) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ภายใต้อุณหภูมิ 150 องศาเซลเซียส ความดัน 100-150 บรรยากาศ ซึ่งเป็นภาวะที่รุนแรง อาจก่อให้เกิดอันตรายและก่อปัญหาทางสภาพแวดล้อมจากการกำจัดนิกเกิล อีกทั้งยังใช้ต้นทุนการผลิตค่อนข้างสูง (ลดาวัลย์, 2526) นอกจากกระบวนการทางเคมีแล้ว ซอร์บิทอลยังสังเคราะห์ได้จากกระบวนการทางชีวภาพโดยอาศัยจุลินทรีย์ จากการศึกษาพบว่า ยีสต์สายพันธุ์ *Candida boidinii* สามารถเปลี่ยนกลูโคสให้เป็นซอร์บิทอลได้ นอกจากนี้แบคทีเรีย *Zymomonas mobilis* ก็สามารถเปลี่ยนซูโครสไปเป็นซอร์บิทอลได้เช่นเดียวกัน (Tani และ Vogosu vanlert, 1987., Viikari, 1984)

2.16 สมบัติทางกายภาพของซอร์บิทอล

1. ซอร์บิทอลมีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ไม่มีกลิ่น
2. มีความหวานประมาณ 60 เปอร์เซ็นต์ของน้ำตาลซูโครส
3. ให้พลังงาน 3 แคลอรีต่อกรัม
4. เมื่อรับประทานซอร์บิทอลในรูปผลึกจะรู้สึกเย็นลิ้น และมีรสซ่าคล้ายเมนทอล เนื่องจากมีค่าความร้อนของการละลายเป็นลบ (-110 กิโลจูลต่อกรัม)
5. ละลายน้ำได้อย่างสมบูรณ์ในของเหลวใส ไม่มีสี มีความหนืดน้อยกว่าของสารละลายน้ำตาลเมื่อเปรียบเทียบที่ความเข้มข้นเดียวกัน นอกจากนี้ซอร์บิทอลยังสามารถละลายได้เล็กน้อยในเมทานอล เอทานอล และกรดน้ำส้ม
6. ดูดซับความชื้นได้ดี ช่วยลดการสูญเสียน้ำในอาหาร
7. มีจุดหลอมเหลวประมาณ 92.7 ถึง 97.2 องศาเซลเซียส
8. ซอร์บิทอลมีน้ำหนักโมเลกุล 182
9. สารละลายซอร์บิทอล 70 เปอร์เซ็นต์ มีความหนาแน่น 1.2879
10. ความสามารถในการละลายน้ำที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส 27 กรัมต่อน้ำ 100 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.17 สมบัติทางเคมีของซอร์บิทอล

1. ซอร์บิทอลมีความคงตัวแม้ในที่ที่มีอุณหภูมิสูงหรือในสภาวะที่เป็นกรด-ด่าง เพราะมีหมู่คาร์บอนิล (C=O) ของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ซึ่งว่องไวในการทำปฏิกิริยาถูกรีดิวซ์ด้วยไฮโดรเจน

2. ซอร์บิทอลไม่เกิดปฏิกิริยาเมลลาร์ด (Maillard reaction) ซึ่งทำให้อาหารเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลไหม้

2.17.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีในทางโภชนาการ (Metabolism)

ซอร์บิทอล เป็นสารอาหารในร่างกายซึ่งให้พลังงาน 4.1 กิโลแคลอรีต่อกรัม (เท่ากับพลังงานจากน้ำตาล) ซอร์บิทอลจะถูกดูดซึมช้าๆผ่านลำไส้ และจะถูกเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วในตับให้เป็นฟรุกโตสโดยไม่เกี่ยวข้องกับฮอร์โมนอินซูลินซึ่งเป็นตัวควบคุมระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือดเนื่องจากซอร์บิทอลถูกดูดซึมได้ช้า จึงมีฤทธิ์เป็นยาถ่ายถ้ารับประทานมากเกินไป ปริมาณบริโภคสำหรับผู้ใหญ่ไม่ควรเกิน 60 ถึง 80 กรัมต่อวัน ในเด็กอายุ 5 ถึง 16 ปีไม่ควรเกิน 30 ถึง 40 กรัมต่อวัน ปริมาณบริโภคในแต่ละครั้งสำหรับผู้ใหญ่ไม่ควรเกิน 20 กรัมต่อวันหรือครั้ง และในเด็กไม่ควรเกิน 10 กรัมต่อวันหรือครั้ง

สมบัติพื้นฐานของผลึกซอร์บิทอล

D-sorbitol (HPLC)	96% min
Specific optical rotation	$+(4\text{-}7)^0$
Reducing sugars	0.2 % max
Total sugars	0.3 % max
Loss on drying (Karl Fisher) :	1 % max
Clarity and color	colorless and clear
Acidity (NaOH 0.01 N/g)	0.2 ml
Residue on ignition	0.1 % max
Chloride	10 ppm max
Sulphate	50 ppm max
Arsenic	1 ppm max
Heavy metals	5 ppm max
Nickel	1 ppm max
Lead	0.5 ppm max
Periodate titration	98-101 %
Melting point	$95\text{-}98^0$C

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Crystalline form	gamma form
Partical size : 80-450 micrometer	80 % min
Microbiological index	Passes test

2.18 การประยุกต์ใช้ซอร์บิทอลในอุตสาหกรรม

2.18.1 อุตสาหกรรมอาหารและเครื่องดื่ม ขนมอบ ขนมเค้ก ท็อฟฟี่ ลูกอม ลูกกวาด แยม มัสตาร์ด มายองเนส น้ำสลัด

- เป็นสารให้ความหวานแทนน้ำตาลในอาหารหรือเครื่องดื่มสำหรับผู้เป็นโรคเบาหวานและผู้ที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก

- ช่วยการคงรูปของสี กลิ่น และลักษณะของเครื่องดื่ม

- ช่วยให้เนื้อขนมมีความเนียนนุ่ม ไม่แห้งกระด้าง

- ในท็อฟฟี่ที่ผสมถั่ว เม็ดอัลมอนด์ ซอร์บิทอลจะช่วยให้ไขมันเหม็นหืนช้าลง

- ในลูกกวาด ซอร์บิทอลจะช่วยไม่ให้เกิดผลึกน้ำตาล ผิวของลูกกวาดจึงดูใสเรียบและไม่เหนียวเหนอะหนะ

- ช่วยให้แยมมีสี กลิ่น รสดีขึ้น เก็บรักษาได้นาน

- ถ้าใส่ซอร์บิทอลในปริมาณที่เหมาะสม จะช่วยลดค่าน้ำอิสระ (water activity) ของของเหลวจุลินทรีย์จึงเจริญเติบโตไม่ได้ อาหารไม่เสียเร็ว เก็บรักษาอาหารได้นานขึ้น

2.18.2 อุตสาหกรรมยาและเภสัชกรรม

- ใช้เป็นยาถ่าย

- เป็นตัวพา (carrier) ในการเตรียมเภสัชภัณฑ์และช่วยแต่งกลิ่นรส

- ใช้ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยากับออกซิเจน (antioxidant) ของสารที่ถูกออกซิไดส์ได้ง่าย

- ใช้ในการสังเคราะห์กรดแอสคอบิก (วิตามินซี) และการคงตัวของวิตามิน

- ในเภสัชภัณฑ์ที่เป็นครีม ของเหลวแขวนลอยและอิมัลชัน (ของเหลวสองชนิดที่ไม่ละลายเข้ากัน) ซอร์บิทอลจะช่วยให้การแยกชั้น (phase seperation) ช้าลง ไม่แยกให้เห็นเป็นชั้นไขมัน และยังช่วยรักษาความชุ่มชื้น

- ใช้เป็นยาขับปัสสาวะ โดยให้ทางหลอดเลือดดำเพื่อลดอาการบวม

- ใช้ลดความดันในซีโรโบสไพนอล (cerebrospinal)

- ใช้ลดความดันภายในลูกตา จึงใช้เป็นยารักษาโรคต้อหิน

- ใช้เป็นตัวทำละลายในการเตรียมยาต่างๆ และแทนกลีเซอรีนได้ในการเป็นตัวดูดความชื้นในยาเตรียม ซึ่งในยาเตรียมมักใช้ความเข้มข้นประมาณ 70 เปอร์เซนต์น้ำหนักต่อน้ำหนักของสารละลาย

2.18.3 อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง ยาสีฟัน น้ำยาบ้วนปาก

- ในครีม โลชั่น ซอร์บิทอลจะช่วยให้ความชุ่มชื้น เนื้อครีมไม่แห้งหรือข้นจนเหนอะหนะเวลาใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ให้รสหวาน เย็นลิ้น ชุ่มปาก ไม่ระคายเคืองต่อเยื่อบุช่องปาก ไม่ทำให้ฟันผุ เนื่องจากกรดแลกติดจากการย่อยซอร์บิทอลโดยจุลินทรีย์ในช่องปากจะมีปริมาณต่ำกว่ากรดแลกติดจากการย่อยน้ำตาลมาก ค่าพีเอชจึงไม่ต่ำจนทำให้ฟันเริ่มผุได้

2.18.4 อุตสาหกรรมเครื่องหนัง สิ่งทอ กาว เครื่องแก้ว พลาสติก หมึกพิมพ์

- ช่วยเพิ่มสีสันและความงามของหนัง

- ผสมกับสารอื่นเพื่อเคลือบเส้นด้าย ช่วยให้เส้นด้ายเป็นเงา ทอง่าย เส้นด้ายไม่รุ่ย ไม่ติดเครื่องทอผ้า

- ช่วยให้กาวติดแน่น ทนความร้อน

- ซอร์บิทอลจะเป็นตัวให้ความชื้น (humectant) เป็นพลาสติไซเซอร์ (plasticiser) และสเตบิไลเซอร์ (stabilizer) ในผลิตภัณฑ์เหล่านี้

2.19 ประโยชน์ของซอร์บิทอล

1. ใช้ในอุตสาหกรรมผลไม้กระป๋องแทนน้ำตาลเทียม เช่น แซคคารีน ซึ่งเชื่อกันว่าเป็นพวกที่ทำให้เกิดมะเร็ง

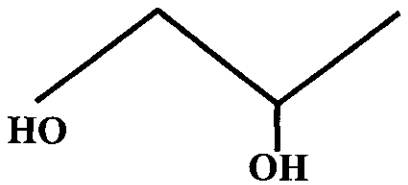
2. ใช้เป็นส่วนผสมของยาสีฟันจะช่วยป้องกันการหมักหมมของเศษอาหารภายในปาก โดยจะเปลี่ยนให้เป็นกรดอ่อนๆ ดังนั้นซอร์บิทอลจึงสามารถป้องกันฟันผุได้

3. ใช้ซอร์บิทอลในเครื่องดื่มที่ต้องการพลังงานต่ำ โดยจะใช้ร่วมกับสารให้ความหวานตัวอื่นๆ เช่น โซเดียม-ไซโคลเฮกซิลซัลฟาเมต

4. ใช้ในอุตสาหกรรมลูกกวาด โดยจะใช้เป็นสารรักษาความชื้นและทำให้อ่อนนุ่ม นอกจากนี้ยังใช้กับพวกพีนัทบัตเตอร์ ชอกโกแลต เพื่อลดความแห้งของผลิตภัณฑ์

2.20 โพรพิลีนไกลคอล (propylene glycol)

โพรพิลีนไกลคอลหรือที่รู้จักกันในชื่อ 1,2-โพรพานีไดออล (1,2-propanediol) เป็นสารประกอบอินทรีย์ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น ไม่มีรส มีลักษณะเป็นของเหลวใส ละลายในน้ำ อะซิโตน และคลอโรฟอร์ม ผลิตจากปฏิกิริยาไฮเดรชันของโพรพิลีนออกไซด์ โครงสร้างของโพรพิลีนไกลคอล แสดงในรูปที่ 6



รูปที่ 6 โครงสร้างของโพรพิลีนไกลคอล

ที่มา : http:/en.wikipedia.org/wiki/Propylene_glycol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.20.1 การนำโพรไพลีนไกลคอลไปใช้ประโยชน์

2.20.1.1 ใช้เป็นมอยส์เจอไรเซอร์ (moisturizer) ในยา เครื่องสำอาง อาหาร และผลิตภัณฑ์พวกยาสูบ

2.20.1.2 ใช้เป็นยาและสารหล่อลื่น

2.20.1.3 ใช้เป็นตัวให้กลิ่น รส ในเครื่องดื่มจำพวก Angostura และ Orange bitters

2.20.1.4 ใช้เป็นตัวทำละลายในอาหารที่ผสมสีผสมอาหารและใส่กลิ่นรสเลียนแบบธรรมชาติ

2.20.1.5 ใช้เป็นตัวพาทำให้เกิดกลิ่นในพวกน้ำมันหอมระเหย

2.20.1.6 ใช้เติมลงไปในอาหารป้องกันอาหารแข็งตัว

2.20.1.7 ใช้สร้างควันเพื่อใช้ในการถ่ายละคร หรือใช้ในการซ้อมดับเพลิง

2.20.1.8 ใช้ในการทำความสะอาดมือ เป็นโลชันต่อต้านแบคทีเรีย และสารละลายน้ำเกลือ

2.20.1.9 ใช้เป็นส่วนประกอบหลักในผลิตภัณฑ์เครื่องสำอางหลายชนิด เช่น ผลิตภัณฑ์อาบน้ำ และแชมพูของเด็ก

2.20.1.10 ใช้เป็นส่วนประกอบพื้นฐานในเครื่องบินทำให้เครื่องบินปราศจากน้ำแข็ง และป้องกันการแข็งตัวของของเหลวในรถยนต์

2.20.1.11 ใช้รักษาศพในสภาพอุณหภูมิต่ำ

2.20.1.12 ใช้เป็นตัวควบคุมความชื้นของใบยาสูบที่ใช้ในซิการ์

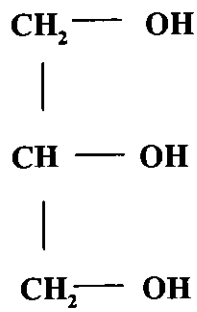
2.20.2 ความปลอดภัยในการนำโพรไพลีนไกลคอลไปใช้ประโยชน์

องค์การอาหารและยาของประเทศสหรัฐอเมริกา (FDA) ประกาศว่า โพรไพลีนไกลคอลมีความปลอดภัยสามารถนำไปใช้กับอาหาร เครื่องสำอาง และยา เช่นเดียวกับเอทธิลีนไกลคอล โพรไพลีนไกลคอลจะมีผลต่อร่างกายก็ต่อเมื่อเกิดการเพิ่มปริมาณกรด โดยที่มันจะถูกเมทาบอไลท์ให้เป็นกรดแลคติกเมื่อเราออกกำลังกาย ขณะที่เอทธิลีนไกลคอลจะถูกเมทาบอไลท์ให้กลายเป็นกรดออกซาลิก ทำให้มีความเป็นพิษต่อร่างกาย

2.21 กลีเซอรอล (Glycerol)

กลีเซอรอล มีชื่อเรียกได้หลายชื่อ เช่น กลีเซอรีน กลีเซอริน และ 1, 2, 3-propanetriol เป็นสารที่ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น มีรสหวาน เป็นของเหลวข้นหนืด ในโมเลกุลของกลีเซอรอลประกอบด้วยหมู่แอลกอฮอล์ 3 โมเลกุล มีจุดหลอมเหลวที่อุณหภูมิ 17.8 องศาเซลเซียส เกิดการสลายตัวที่อุณหภูมิ 290 องศาเซลเซียส และสามารถละลายได้ในน้ำและเอทานอล โครงสร้างของกลีเซอรอล แสดงในรูปที่ 7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 7 โครงสร้างของกลีเซอรอล

ที่มา : http:/en.wikipedia.org/wiki/ glycerol

กลีเซอรอลเป็นตัวดูดซับความชื้น เช่น ดูดซับน้ำจากอากาศ จากคุณสมบัติดังกล่าวทำให้กลีเซอรอลสามารถนำไปใช้เป็นสารให้ความชุ่มชื้นในเครื่องสำอาง กลีเซอรอลที่พบในสัตว์ทุกชนิด ในไขมันพืชและน้ำมันจะอยู่ในรูปอนุพันธ์ของเอสเทอร์ เรียกว่า กลีเซอไรด์ (Glyceride) โดยปกติกลีเซอรอลที่นำไปใช้ทางการค้าถูกสังเคราะห์ขึ้นมาจากโพรพิลีน (ได้มาจากการกลั่นน้ำมันปิโตรเลียม) กลีเซอรอลสามารถผลิตได้จากกระบวนหมักของน้ำตาล ในกรณีที่มีการเติมยีสต์ลงไปในโซเดียมไบซัลเฟต

กลีเซอรอลสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้เป็นตัวทำละลาย สารเพิ่มความหวาน อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง สบู่เหลว ลูกอม เหล้าหวาน หมึกพิมพ์ สารหล่อลื่น ใช้เป็นสารเพิ่มความอ่อนนุ่ม และเป็นแหล่งอาหารที่ใช้ในการผลิตยาปฏิชีวนะ

2.22 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Khan และคณะ (2000) ศึกษาการเตรียมแผ่นฟิล์มไคโตซานเพื่อใช้เป็นวัสดุปิดแผล (wound dressing) โดยใช้ไคโตซานความเข้มข้น 1.4 % (w/v) ตัวทำละลายที่ใช้มี 2 ชนิดคือ 1 % (w/v) ของกรดแลคติก และ 2% (w/v) ของกรดอะซิติก นำแผ่นฟิล์มที่ได้มาทดสอบสมบัติเชิงกล เช่น ค่าต้านแรงดึง (tensile strength) ค่าการยืด ณ จุดขาด (elongation at break) และคุณสมบัติในการยึดเกาะของเซลล์ ความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ จากการทดลองพบว่า แผ่นฟิล์มที่ได้จากการใช้กรดแลคติกเป็นตัวทำละลาย (chitosan-LA) มีความอ่อนตัว ความยืดหยุ่นที่ดี และสามารถยึดติดกับเซลล์ได้ดีเมื่อเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์มที่ได้จากการใช้กรดอะซิติกเป็นตัวทำละลาย (chitisan-AA)

Khan และ Peh (2003) ศึกษาประสิทธิภาพในการรักษาแผลของแผ่นฟิล์มไคโตซาน 2 ชนิดคือ chitosan-LA และ chitisan-AA โดยเปรียบเทียบกับแผ่นฟิล์ม Omiderm ซึ่งผลิตในทางการค้า เมื่อทดลองกับหนูพบว่า คุณสมบัติของ chitosan-LA เทียบเท่ากับแผ่นฟิล์ม Omiderm สามารถทำให้แผลหายเร็วขึ้น และเกิดแผลเป็นน้อยลง

Sakchai และ Chureerat (2006) ศึกษาการพัฒนาของการผลิตวัสดุปิดแผลจากการใช้ไคโตซานร่วมกับพอลิแซคคาไร์ พบว่าเมื่อนำไคโตซานมาผสมกับแป้งข้าวโพด และเด็กซ์แทรนซ์จะช่วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปรับปรุงคุณสมบัติทางกายภาพให้ดีขึ้น การเติมพอลิโพรไพลีนไกลคอลที่ความเข้มข้น 0.5 % 1.0% และ 1.5% (w/v) จะทำให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีความยืดหยุ่นมากขึ้น สามารถดูดซับน้ำได้สูง การซึมผ่านของไอน้ำ และก๊าซออกซิเจนบนแผ่นฟิล์มได้ดีทุกสูตร และแผ่นฟิล์มไคโตซานที่เติมแป้งข้าวโพด และเด็กซ์แทรนซ์จะมีอัตราการซึมผ่านของของไอน้ำและก๊าซออกซิเจนได้สูง การทดสอบโดยการยึดติดกับเซลล์โดยทดสอบกับโมเดลที่เป็นลำไส้ของหมู พบว่าคุณสมบัติในการยึดติดกับเซลล์ของแผ่นฟิล์มเหล่านี้ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ความยืดหยุ่นของแผ่นฟิล์มที่เติมแป้งข้าวโพดและเด็กซ์แทรนซ์จะสูงกว่าแผ่นฟิล์มไคโตซาน ดังนั้นการปรับปรุงของแผ่นฟิล์มไคโตซานโดยการเติมแป้งข้าวโพดและเด็กซ์แทรนซ์ รวมทั้งพอลิโพรไพลีนไกลคอลจะทำให้วัสดุปิดแผลมีคุณสมบัติดีขึ้น

Wu และคณะ (2004) ศึกษาการเตรียม คุณสมบัติเชิงกล และฤทธิ์ในการยับยั้งแบคทีเรียของแผ่นฟิล์มไคโตซานที่ผสมกับเซลลูโลส เตรียมแผ่นเมมเบรนโดยการใช้กรดไดรฟลูออโรอะซิติกเป็นตัวทำละลายในไคโตซานและเซลลูโลส จากนั้นนำสารละลายทั้งสองมาผสมกันในอัตราส่วนต่างๆ พบว่าส่วนผสมทั้งสองไม่สามารถผสมเป็นเนื้อเดียวกันได้ ซึ่งเชื่อว่าพันธะไฮโดรเจนถูกทำให้แยกออกและสร้างพันธะมาเชื่อมต่อระหว่างพันธะไฮโดรเจนของส่วนผสมระหว่างเซลลูโลสกับไคโตซาน อย่างไรก็ตามพันธะไฮโดรเจนภายในโมเลกุลจะประสานกันเป็นโครงตาข่ายที่มีลักษณะเรียบ แผ่นเมมเบรนผสมระหว่างไคโตซานกับเซลลูโลสจะช่วยลดการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapour transpiration rate) แสดงให้เห็นว่าแผ่นเมมเบรนนี้สามารถนำมาใช้เป็นวัสดุปิดแผลได้ ซึ่งจะปกป้องบาดแผลจากการดึงน้ำออกมากเกินไป (excessive dehydration) แผ่นเมมเบรนมีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์พวก *E. coli* และ *Staphylococcus aureus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

- ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 976

3.1.2 วัตถุดิบ

- น้ำมะพร้าวแก่
- น้ำตาลทราย

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

- อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

- แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$
- โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) เกรดการค้า
- กรดอะซิติกเข้มข้น
- โพลีโพรพีลีนไกลคอล (polypropyleneglycol)
- ซอร์บิทอล (sorbitol)
- กลีเซอรอล (glycerol)

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

- ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 500 มิลลิลิตร
- ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ขวดรูปชมพู่ (flask) ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- ปิเปต 10 มิลลิลิตร
- ปิเปต 1 มิลลิลิตร
- หลอดทดลองขนาด 16×150 มิลลิเมตร
- บีกเกอร์ ขนาด 1,000 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร
- บีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร
- กระบอกตวงขนาด 500 มิลลิลิตร
- ช้อนตักสาร
- ตะเกียงแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- จานเพาะเชื้อ
- คีมคีบ (Forceps)
- ขวดน้ำกลั่น
- กระบอกใส่ปิเปต
- จุกยาง
- แท่งแก้วคน
- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) รุ่นHV-50 ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่อง Texture analyzer รุ่นTA plus ประเทศอังกฤษ
- เครื่องไมโครมิเตอร์แบบตัวเลข (digital micrometer) RANGE 0-25 MM., RESOLUTION 0.001 MM. ประเทศญี่ปุ่น
- เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (spectophotometer) รุ่นUV-1601 ประเทศออสเตรเลีย

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินงาน

การดำเนินงานแบ่งเป็นขั้นตอน ดังนี้

3.2.1 ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ร่วมกับสารเพิ่มความยืดหยุ่น (พลาสติไซเซอร์)

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบางให้สะอาดจากนั้นนำไปตั้งไฟ เติมน้ำตาลทราย ร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 ต้มให้ละลายนำลงจากเตาทิ้งไว้ 15 นาที เติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 ของปริมาตรน้ำมะพร้าว แบ่งใส่ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ปิดจุกสำลี นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ลงไปร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาพนิ่งนาน 3 วัน วัดการเจริญของเชื้อโดยนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้มีค่าการดูดกลืนแสง 0.2-0.8 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการทดลองต่อไป

3.2.1.2 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นเซลลูโลส

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบางให้สะอาดจากนั้นนำไปตั้งไฟ เติมน้ำตาลทราย ร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 ต้มให้ละลายนำลงจากเตาทิ้งไว้ 5-10 นาที เติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 ของปริมาตรน้ำมะพร้าว แบ่งใส่ฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 200 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยจุกสำลี นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ที่ได้จากหัวข้อ 3.2.1.1 ลงไปร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้องในสภาพนิ่งเป็นระยะเวลาต่างๆกัน ดังนี้ 3, 5, 7, 9 และ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ในการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัน เมื่อครบกำหนด นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาวัดความหนาโดยใช้เวอร์เนียคาลิปเปอร์ สังเกตว่าที่ระยะเวลาใดที่ทำให้แผ่นเซลลูโลสมีความหนาเหมาะสมในการผลิตเป็นแผ่นฟิล์มมากที่สุด

3.2.1.3 การหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียร่วมกับสารเพิ่มความยืดหยุ่น (plasticizer) เพื่อผลิตแผ่นฟิล์ม

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบางให้สะอาด จากนั้นนำไปตั้งไฟ เติมน้ำตาลทราย ร้อยละ 5 เติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 ตั้งไฟให้ละลาย ยกลงจากเตา ทิ้งไว้ 15 นาที เติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 ของปริมาตรน้ำมะพร้าว แบ่งใส่ฟลาส์กขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 200 มิลลิลิตร เติมสารที่ใช้เป็นสารเพิ่มความยืดหยุ่น ได้แก่ สารละลายโพลีโพรพีลีนไกลคอล สารละลายกลีเซอรอล และน้ำตาลซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2 ปริมาตรต่อปริมาตร โดยทำความเข้มข้นละ 3 ซ้ำ นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมหัวเชื้อที่เตรียมได้ร้อยละ 10 ของปริมาตรอาหาร บ่มที่อุณหภูมิห้อง ในสภาวะนิ่งเป็นเวลาที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.1.2

3.2.1.4 การเก็บเกี่ยวเซลลูโลสเพื่อนำมาผลิตแผ่นฟิล์ม

เก็บวุ้นมะพร้าวหรือเซลลูโลสออกมาล้างน้ำให้สะอาด จากนั้นนำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นาน 12 ชั่วโมง เพื่อทำให้แผ่นเซลลูโลสมีความเป็นกลางและมีความคงตัวมากขึ้น นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดด่างออก นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้ไปอัดรีดน้ำจะได้แผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก บรรจุแผ่นฟิล์มในลักษณะเปียกในถุงพลาสติกไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ก่อนที่จะนำไปศึกษาสมบัติต่างๆต่อไป

3.2.2 การศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก

ได้แก่ ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) ค่าการยืด ณ จุดขาด (Percent Elongation at Break) ค่ามอดุลัสของยัง (Young's Modulus) ตาม มอก. 1353 เล่ม 3-2540 โดยใช้เครื่องมือที่ใช้ในการวิเคราะห์ คือ Texture Analyzer รุ่น TA plus

3.2.2.1 ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength)

วิธีการคำนวณ

ความแข็งแรงดึง (นิวตัน/ตารางเมตร) = F/A

เมื่อ F = แรงดึงสูงสุด (นิวตัน)

A = พื้นที่หน้าตัดของชิ้นทดสอบ (ตารางมิลลิเมตร)

3.2.2.2 ค่าการยืด ณ จุดขาด (Percent Elongation at Break)

วิธีการคำนวณ

$$\text{ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)} = \frac{L_1 - L_0}{L_0} \times 100$$

เมื่อ L_0 = ความยาวเริ่มต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

L_t = ความยาว ณ จุดที่รับแรงสูงสุด

3.2.2.3 ค่ามอดุลัสของยัง (Young's Modulus)

คำนวณจากความชันในช่วงเริ่มต้นของกราฟความสัมพันธ์ระหว่าง tensile stress กับ tensile strain

$$\textit{Young}\text{'s Modulus} = \frac{\text{tensile stress}}{\text{tensile strain}}$$

$$\text{tensile stress} = \frac{\text{tensile force}}{\text{area of cross-section}}$$

$$= \frac{Mg}{A}$$

$$\text{Tensile strain} = \frac{L_t - L_0}{L_0}$$

Tensile stress (ความเค้นดึง) คือ ความสามารถหรือความทนต่อแรงภายนอกที่มากระทำต่อวัตถุ (loads) ต่อหน่วยพื้นที่หน้าตัดมีหน่วยเป็นนิวตันต่อตารางเมตร (N/m^2) หรือพาสคัล(Pascals, Pa)

ในการทดลองได้ใช้ load cell น้ำหนัก 1000 กิโลนิวตัน ความเร็วการดึง 20 มิลลิเมตรต่อวินาที หัวจับแบบเหล็ก โดยทำการตัดตัวอย่างเป็นรูปสี่เหลี่ยมผืนผ้าขนาด 40×20 มิลลิเมตร จากการวัดสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ผลิตได้ คัดเลือกความเข้มข้นของสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่เหมาะสมซึ่งทำให้แผ่นฟิล์มมีความยืดหยุ่นมากที่สุด นำแผ่นฟิล์มที่มีความเข้มข้นของสารเพิ่มความยืดหยุ่นที่เหมาะสมที่สุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.3 ศึกษาสมบัติด้านต่างๆของแผ่นฟิล์มที่ได้

3.2.3.1 ศึกษาการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (Oxygen Gas Transmission Rate)

นำแผ่นฟิล์มวัดความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน โดยใช้เครื่อง Oxygen permeation tester ; Illinois 8000 ทดสอบโดยใช้วิธี ASTM D3985-02 Oxygen Gas Transmission Rate Throungh Plastic Film and Shecting Using a Coulometic Sensor

3.2.3.2 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability)

โดยนำแผ่นฟิล์มมาตัดและวางลงบนปากขวดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 2.5 เซนติเมตร ซึ่งภายในขวดบรรจุด้วย silica gel 5 กรัม แล้วนำไปวางในขวที่มีฝาปิด (พื้นที่ทดสอบประมาณ 4.5 เซนติเมตร) ขวดนี้นำปวางใน desictor ที่มี silica gel เป็นเวลา 12 ชั่วโมงก่อนเพื่อเป็นการปรับสภาพ จากนั้นนำขวดที่มีแผ่นฟิล์มมาวางใน desicator ที่มีสารละลายอิ่มตัวของ K_2SO_4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งมีความชื้นสัมพัทธ์ 97-98 % (97-98% RH) จุดสมดุลย์ของการซึมผ่านของความชื้นวัดจากน้ำหนักขวดที่เวลา 0 24 48 72 และ 96 ชั่วโมง ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค (ดัดแปลงจากวิธีของ Grzybowski และคณะ, 1991)

3.2.4.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียที่จะนำมาทดสอบ

โดยถ่ายเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ทดสอบมีดังนี้ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ลงในอาหารเหลว MHB นำมาเพาะเลี้ยงที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำสารละลายเชื้อที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนแสง ที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร ให้ได้ 0.5 โดยใช้อาหาร MHB เป็น blank จะได้สารละลายเชื้อ *E. coli* และ *S. aureus* ซึ่งมีความหนาแน่นของจุลินทรีย์ประมาณ 1.0×10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร สารแขวนลอยของเชื้อที่ได้นำมาใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น

3.2.4.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มที่ได้จากเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และได้จากเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมพลาสติไซเซอร์ที่เหมาะสม

แผ่นฟิล์มที่นำมาใช้ทดสอบมี 2 ชนิด คือ แผ่นฟิล์มที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และแผ่นฟิล์มที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมพลาสติไซเซอร์ที่เหมาะสม ตัดแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ชนิดให้มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 16 มิลลิเมตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที

3.2.4.2.1 การเตรียมแผ่นฟิล์มที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เตรียมโดยเลี้ยงเชื้อ *Acetobactor xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว เลี้ยงเชื้อสภาวะนิ่งนาน 7 วัน นำเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นาน 12 ชั่วโมง นำมาต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้รีดน้ำออก

3.2.4.2.2 การเตรียมแผ่นฟิล์มที่เป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียผสมพลาสติไซเซอร์ที่เหมาะสม

เตรียมโดยเลี้ยงเชื้อ *Acetobactor xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่เติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 เลี้ยงเชื้อสภาวะนิ่งนาน 7 วัน นำเซลลูโลสที่ได้มาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 นาน 12 ชั่วโมง นำมาต้มในน้ำเดือดนาน 30 นาที นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้รีดน้ำออก

3.2.4.3 การทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์ม

เทอาหาร MHA ใส่จานเพาะเชื้อ ทิ้งให้อาหารเย็นลง นำแผ่นฟิล์มที่ต้องการทดสอบทั้ง 2 ชนิดมาวางใน 24-well plate นำสารละลายของเชื้อแบคทีเรียปริมาตร 50 ไมโครลิตรหยดลงบนแผ่นฟิล์ม (ซึ่งสารละลายเชื้อแบคทีเรียมีเชื้อเริ่มต้น 10^6 เซลล์ต่อมิลลิเมตร) ชุดที่ใช้เป็นชุดควบคุมจะใส่สารละลายเชื้อแบคทีเรียใน well โดยใน well นั้นไม่มีแผ่นฟิล์ม นำแผ่นฟิล์มบ่มที่ 37 องศาเซลเซียส หลังจากบ่ม 1 2 และ 4 ชั่วโมง นำแผ่นฟิล์มแต่ละแผ่นลงในหลอดทดลองที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรจุ PBS 1 มิลลิลิตร นำไป sonicated เป็นเวลา 2 นาที จากนั้นเก็บตัวอย่างออกจากหลอดทดลองหลอดละ 50 ไมโครลิตร นำมาเลี้ยงบนอาหาร MHA บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และนับจำนวนโคโลนีที่ขึ้นบนจานอาหารเพื่อศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียจากแผ่นฟิล์ม

3.2.5 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของแบคทีเรียบนแผ่นฟิล์ม

3.2.5.1 การเตรียมเชื้อจุลินทรีย์และแผ่นฟิล์มที่จะนำมาทดสอบ

เตรียมเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.4.1 และ 3.2.4.2

3.2.5.2 การทดสอบการซึมผ่านของแบคทีเรียบนแผ่นฟิล์ม

นำแผ่นฟิล์มมาวางบนขวด vial ขนาด 10 มิลลิลิตร ที่มีอาหาร MHB 5 มิลลิลิตรบรรจุอยู่ภายในขวด แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น negative control จะใช้เป็นขวด vial ที่มีฝาปิด ในขณะที่ positive control จะเปิดฝาขวด vial จากนั้นนำขวด vial ที่จะใช้ทดสอบมาวางในสภาวะแวดล้อมที่เป็นสภาวะเปิดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ขวด vial ขวดใดสีของอาหาร MHB ขุ่น และค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นแสดงว่าขวดนั้นมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

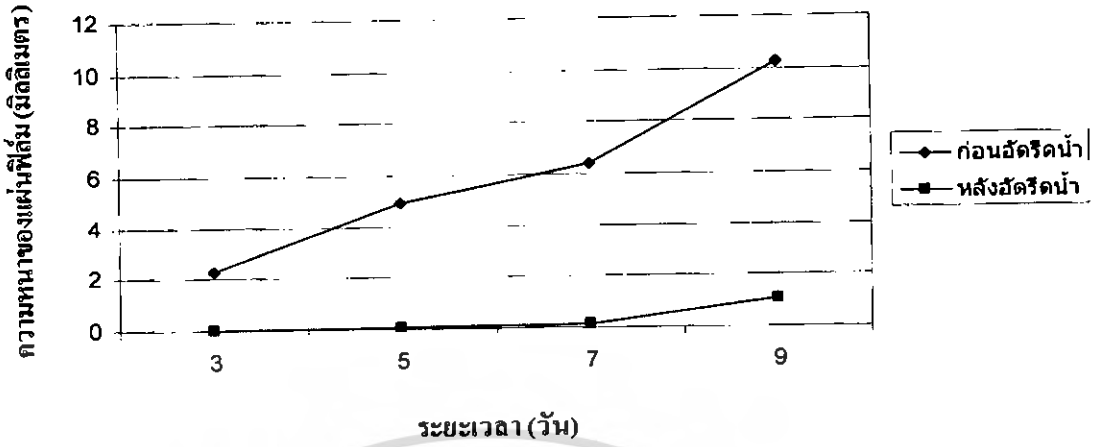
4.1 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นฟิล์มจากเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976

จากการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 9 วัน พบว่า จากการเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 3 วัน เชื้อมีการสร้างแผ่นเซลลูโลสที่บางมาก เมื่อทำการอัดรีดน้ำออกจากแผ่นเซลลูโลสจะทำให้แผ่นเซลลูโลสขาด ไม่สามารถนำออกมาวัดความหนาได้ ขณะที่การเลี้ยงเชื้อเป็นเวลา 5 7 และ 9 วัน ความหนาของแผ่นเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก และพบว่าแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมัก 7 วัน จะมีความหนาก่อนอัดรีดน้ำ 6.38 มิลลิเมตร และภายหลังอัดรีดน้ำแล้วมีความหนา 0.11 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นความหนาที่เหมาะสมที่จะนำมาผลิตแผ่นฟิล์ม โดยมีรายงานก่อนหน้านี้พบว่าวัสดุที่นำมาใช้ปิดแผลควรมีความหนาอยู่ในช่วง 0.15 ถึง 0.25 มิลลิเมตร (www.mt.mahidol.ac.th) ขณะที่การเลี้ยง 9 วันจะได้แผ่นเซลลูโลสหนามากเกินไป แสดงดังตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลของระยะเวลาการหมักแผ่นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ระยะเวลาในการหมัก (วัน)	ความหนาของแผ่นฟิล์มก่อนอัดรีดน้ำ (มิลลิเมตร)	ความหนาของแผ่นฟิล์มหลังอัดรีดน้ำ (มิลลิเมตร)
3	2.32	0.02
5	4.89	0.07
7	6.38	0.11
9	10.26	1.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 8 กราฟเปรียบเทียบความหนาของแผ่นฟิล์มก่อนอัดรีดน้ำและหลังอัดรีดน้ำที่ระยะเวลาต่างๆ

4.2 การผลิตแผ่นฟิล์มจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับพลาสติไซเซอร์

4.2.1 กลีเซอรอล

จากการใช้พลาสติไซเซอร์ชนิดต่างๆ คือ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล และโพลีโพรพิลีนไกลคอล ผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในความเข้มข้นร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตร เลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน พบว่า เมื่อเติมกลีเซอรอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อในความเข้มข้นที่สูงขึ้นความหนาของแผ่นเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้น โดยพบว่าการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสก่อนอัดรีดน้ำมีความหนาสูงสุด คือ 9.99 มิลลิเมตร แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นเป็นร้อยละ 2.0 จะทำให้แผ่นเซลลูโลสที่ได้มีความหนาลดลง ดังแสดงในตารางที่ 9

ตารางที่ 9 ผลจากการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆ ผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว เลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน ในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของกลีเซอรอล (ร้อยละ)	ความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มก่อนรีดน้ำ (มิลลิเมตร)	ความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มหลังรีดน้ำ (มิลลิเมตร)
0.0	8.84	0.11
0.5	8.73	0.10
1.0	9.48	0.13
1.5	9.99	0.15
2.0	7.20	0.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ซอร์บิทอล

จากการเติมซอร์บิทอลในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวความเข้มข้นร้อยละ 0.0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซอร์บิทอล จะทำให้ความหนาของแผ่นฟิล์มก่อนรีดน้ำและหลังรีดน้ำมีความหนาเพิ่มขึ้น โดยที่ความเข้มข้นของซอร์บิทอลร้อยละ 2.0 จะทำให้ได้แผ่นเซลลูโลสก่อนอัดรีดน้ำมีความหนาสูงสุด คือ 10.06 มิลลิเมตร ดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลจากการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นต่างๆ ผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว เลี้ยงเชื้อนาน 7 วัน ในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของซอร์บิทอล (ร้อยละ)	ความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มก่อนรีดน้ำ (มิลลิเมตร)	ความหนาเฉลี่ยของแผ่นฟิล์มหลังรีดน้ำ (มิลลิเมตร)
0.0	8.79	0.10
0.5	8.86	0.13
1.0	9.67	0.15
1.5	9.77	0.16
2.0	10.06	0.17

4.2.3 โพลีโพรพิลีนไกลคอล

จากการใช้โพลีโพรพิลีนไกลคอลผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในความเข้มข้นร้อยละ 0.0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ปริมาตรต่อปริมาตร พบว่าแผ่นเซลลูโลสที่ได้มีลักษณะขรุขระ แสดงว่าเมื่อผสมโพลี โพรพิลีนไกลคอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ สารชนิดนี้เชื้อ *A.xylinum* TISTR 976 สามารถใช้เป็นแหล่งคาร์บอน และให้ผลผลิตเซลลูโลสน้อยคือร้อยละ 8 (Satoshi และคณะ, 1993) จากการทดลองพบว่า ลักษณะของแผ่นเซลลูโลสที่ได้มีลักษณะขรุขระ มีโพรงอากาศอยู่ภายในแผ่นผิวหน้าไม่เรียบ ไม่สามารถนำมาใช้ในการทดลองต่อไปได้

4.3 ศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก

4.3.1 การเติมกลีเซอรอล

จากการเพาะเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่เติมสารละลายกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นต่างๆ เลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาผลิตแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก พบว่าการเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็นร้อยละ 1.5 จะทำให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีค่าความแข็งแรงดึงและค่ามอดุลัสของยังสูงสุด คือ 6.60 และ 43.03 MPa ตามลำดับ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็นร้อยละ 2 .0 ค่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความแข็งแรงดึงและค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มจะลดลงเป็น 2.60 และ 12.36 MPa ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 11 นำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการเติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ทำให้ค่าความแข็งแรงดึงและค่ามอดุลัสของยังมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นอื่นรวมทั้งชุดควบคุม

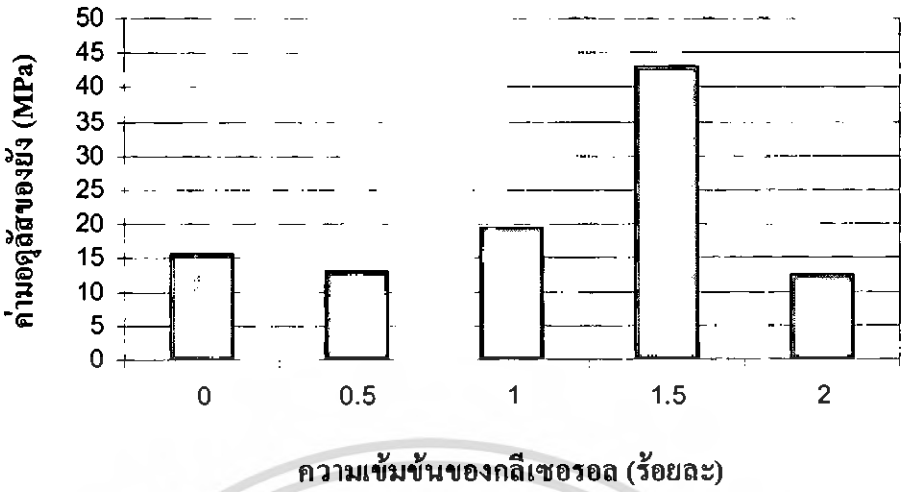
สำหรับค่าการยืด ณ จุดขาด พบว่า เมื่อมีการผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 1.0 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ แผ่นฟิล์มที่ได้มีค่าการยืด ณ จุดขาดน้อยกว่าแผ่นฟิล์มที่ใช้เป็นชุดควบคุม แต่เมื่อเติมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะทำให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีค่าการยืด ณ จุดขาดสูงสุด คือ ร้อยละ 50.94 ขณะที่แผ่นฟิล์มที่เป็นชุดควบคุมมีค่าการยืด ณ จุดขาดร้อยละ 41.25 แสดงดังตารางที่ 11 เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการเติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะมีค่าการยืด ณ จุดขาดสูงสุดแต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นอื่น

ตารางที่ 11 สมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

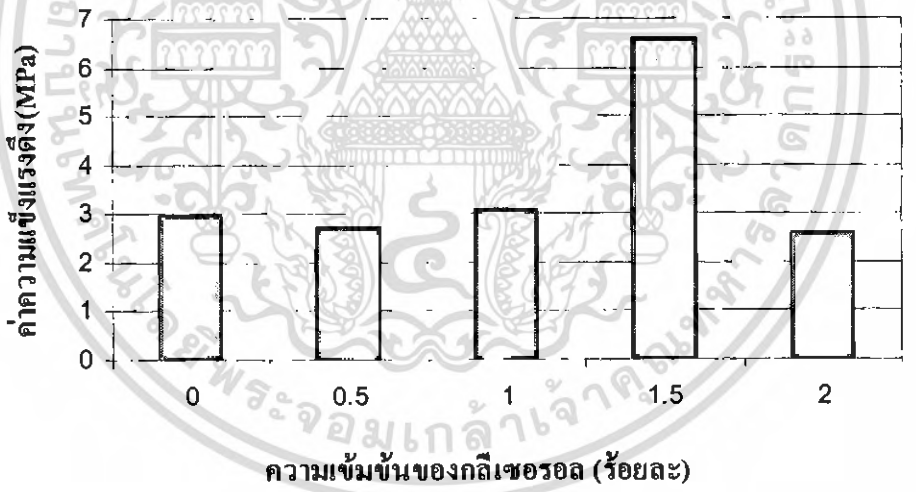
ความเข้มข้นของกลีเซอรอล (ร้อยละ)	สมบัติเชิงกล		
	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)	ค่ามอดุลัสของยัง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)
0	2.99^{b}	15.70^{c}	41.25^{ab}
0.5	2.73^{b}	13.01^{d}	34.22^{b}
1.0	3.11^{b}	19.45^{b}	35.88^{ab}
1.5	6.60^{a}	43.03^{a}	50.94^{a}
2.0	2.60^{b}	12.36^{d}	40.86^{ab}

* อักษรเหมือนกันในแนวตั้งแสดงว่าไม่มีความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

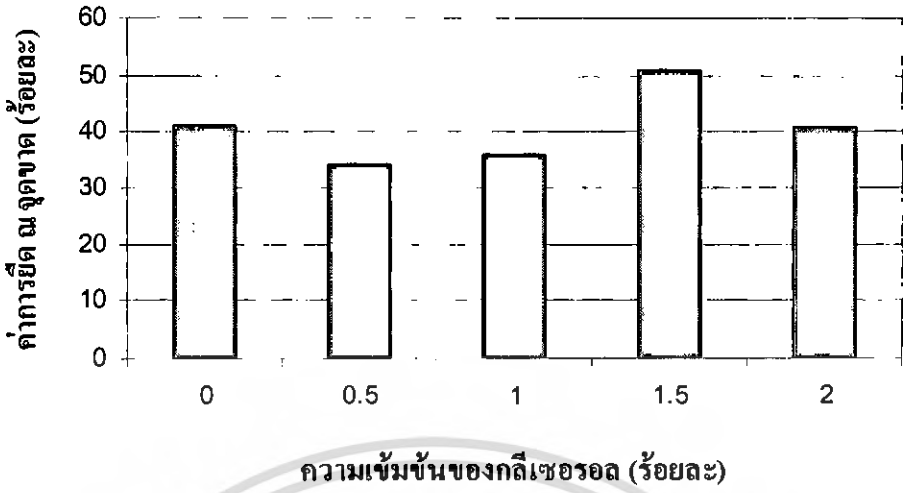


รูปที่ 9 ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน



รูปที่ 10 ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความ เข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 11 ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับกลีเซอรอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4.3.2 การเติมซอร์บิทอล

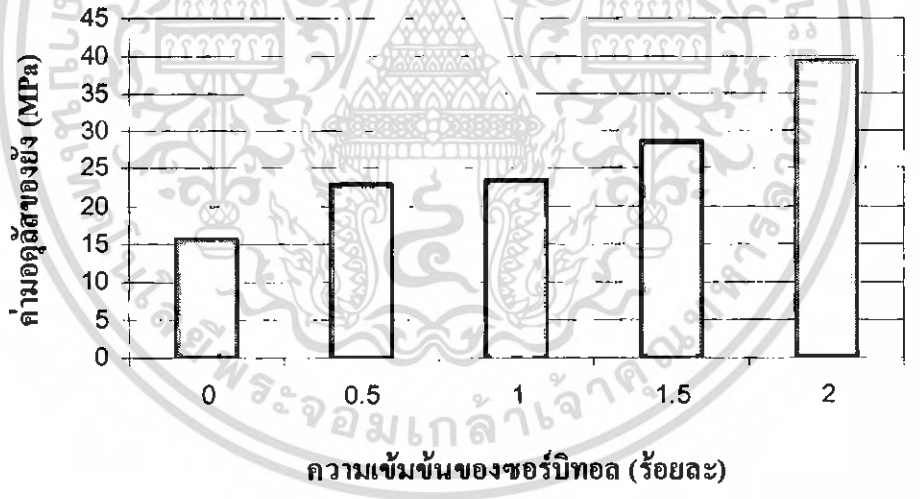
จากการเพาะเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่เติมซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ เลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้มาผลิตแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก พบว่าเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซอร์บิทอล ค่ามอดุลัสของยังและค่าความแข็งแรงดึงเพิ่มขึ้น โดยจะพบว่าเมื่อใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ค่ามอดุลัสของยังและค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มมีค่าสูงสุด คือ 39.51 และ 6.29 MPa ตามลำดับ ขณะที่ค่าการยืด ณ จุดขาด พบว่าการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 1.0 จะทำให้แผ่นฟิล์มมีค่าการยืด ณ จุดขาดสูงสุด คือ ร้อยละ 43.17 แสดงดังตารางที่ 12

เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การเติมซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 จะทำให้แผ่นฟิล์มมีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 0 0.5 1.0 แต่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 สำหรับค่ามอดุลัสของยังพบว่าการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 ให้ค่ามอดุลัสของยังสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นอื่น แสดงดังตารางที่ 12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

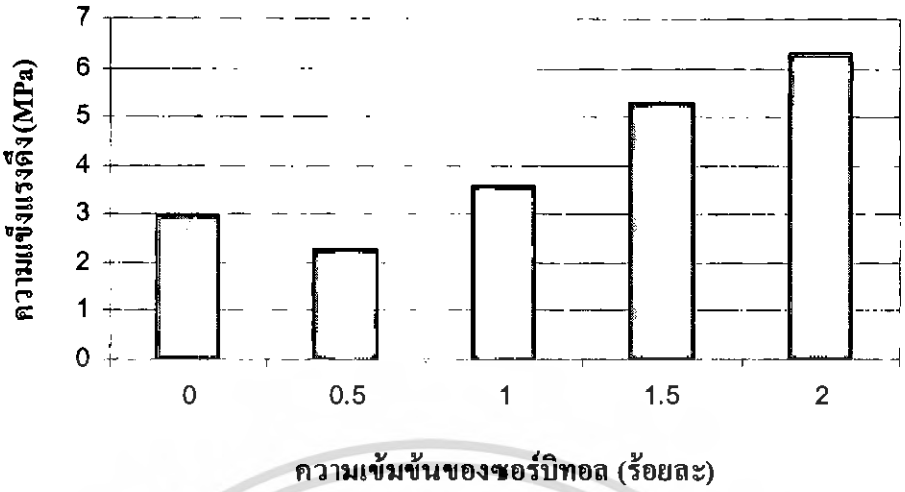
ตารางที่ 12 สมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของซอร์บิทอล (ร้อยละ)	สมบัติเชิงกล		
	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa)	ค่ามอดุลัสของยัง (MPa)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)
0	2.99^{b}	15.70^{c}	41.25^{ab}
0.5	2.29^{b}	23.09^{bc}	37.79^{a}
1.0	3.57^{b}	23.61^{bc}	43.17^{a}
1.5	5.28^{a}	28.72^{b}	35.28^{a}
2.0	6.29^{a}	39.51^{a}	28.81^{a}

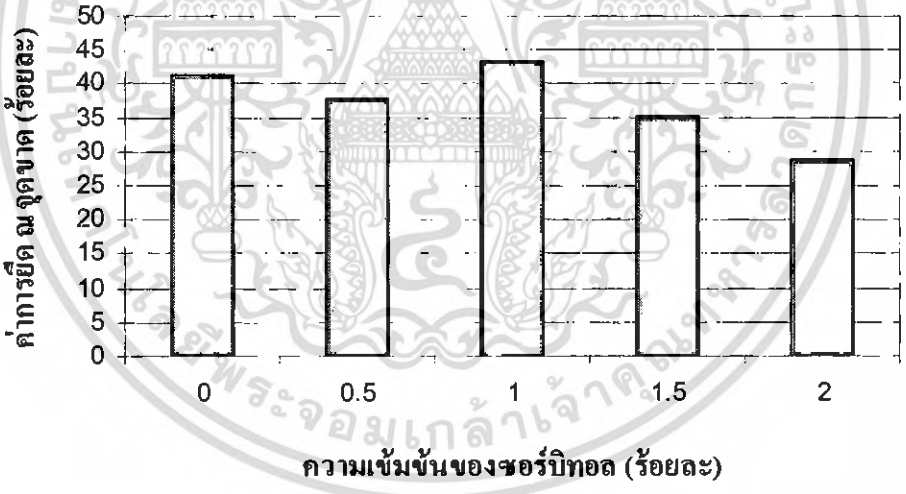


รูปที่ 12 ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 13 ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน



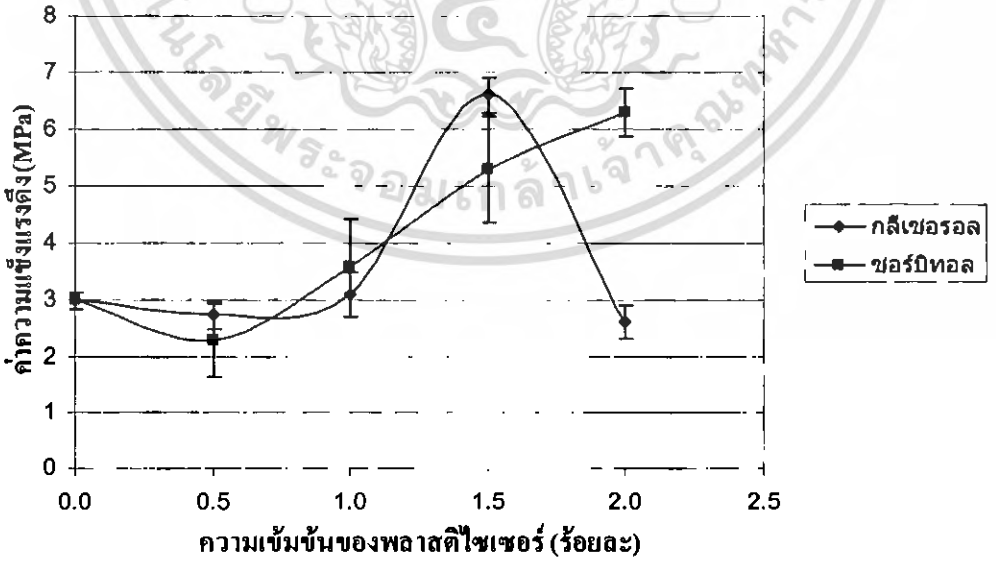
รูปที่ 14 ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มที่ผลิตจากแบคทีเรียเซลลูโลสร่วมกับซอร์บิทอลในความเข้มข้นที่ต่างกันในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวภายหลังการเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 เปรียบเทียบสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่เติมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

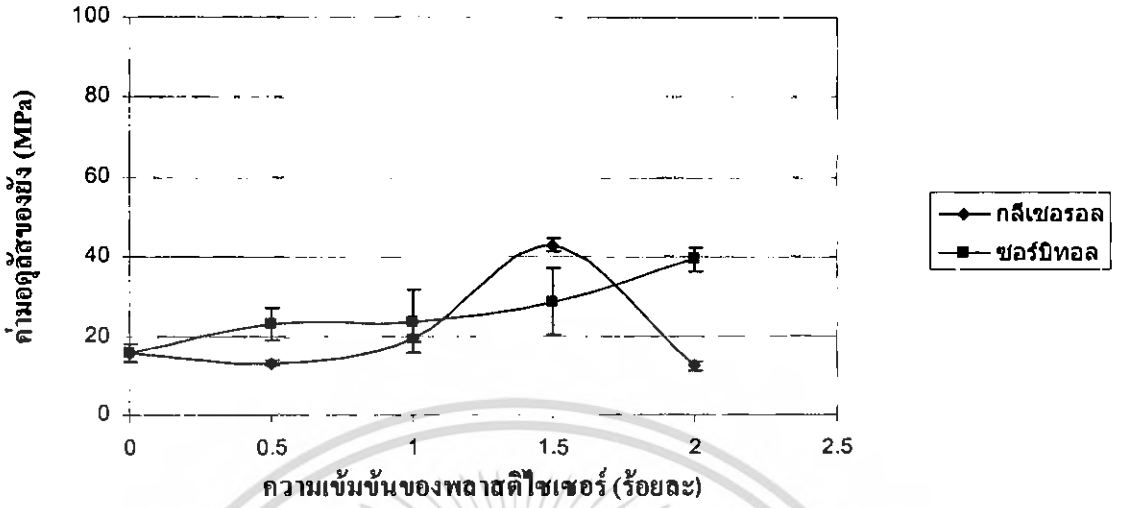
จากการทดสอบสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่เติมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลลงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว พบว่าค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่า 6.60 MPa ขณะที่แผ่นฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 จะมีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุดคือ 6.29 MPa แสดงดังรูปที่ 15 สำหรับค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าสูงสุดคือ 43.03 MPa ขณะที่แผ่นฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีค่าสูงสุดคือ 39.51 แสดงดังรูปที่ 16 ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มที่เติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าสูงสุดคือร้อยละ 50.94 ขณะที่แผ่นฟิล์มที่เติมซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 1.0 มีค่าการยืด ณ จุดขาดสูงสุดคือ 43.17 แสดงดังรูปที่ 17

ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการเติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ลงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 976 ในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน แผ่นฟิล์มในลักษณะเปียกที่ได้จะมีค่าความแข็งแรงดึง ค่ามอดุลัสของยัง และค่าการยืด ณ จุดขาดสูงกว่าการเติมซอร์บิทอลลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการทดลองขั้นต่อไปจึงได้ใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.50 เป็นพลาสติไซเซอร์เติมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีความแข็งแรงและมีความยืดหยุ่นเพิ่มขึ้น

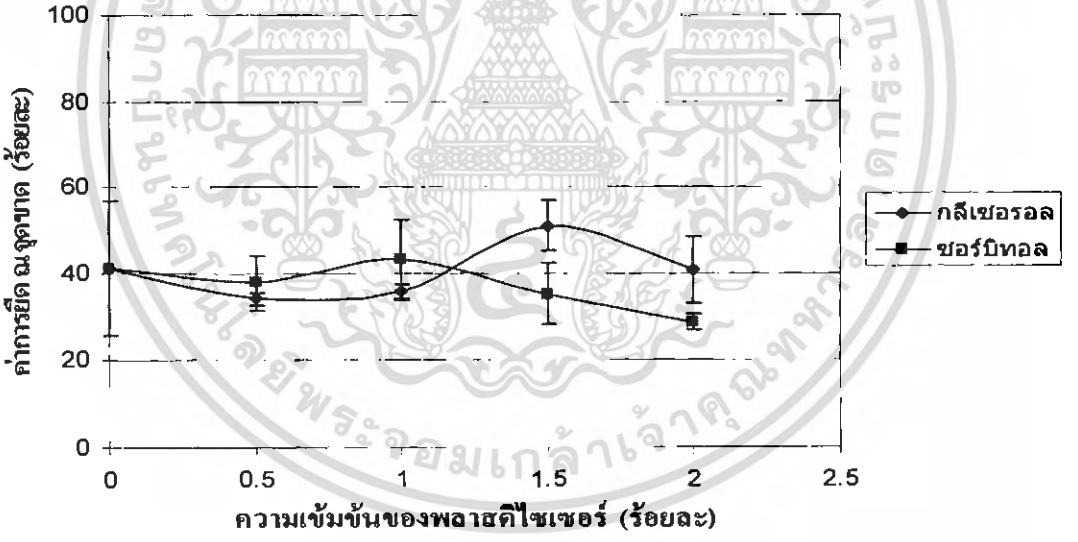


รูปที่ 15 การเปรียบเทียบค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มที่ได้จากเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 16 การเปรียบเทียบค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ



รูปที่ 17 การเปรียบเทียบค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มที่ได้จากเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลและซอร์บิทอลที่ความเข้มข้นต่างๆ

4.5 ศึกษาสมบัติต้านต่างๆของแผ่นฟิล์มเซลลูโลส

นำแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่เติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.50 มาฆ่าเชื้อโดยการใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที จากนั้นนำแผ่นฟิล์มที่ได้มาศึกษาสมบัติต่างๆ ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.1 ศึกษาการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน (Oxygen Gas Transmission Rate)

นำแผ่นฟิล์มเซลลูโลส (ชุดควบคุม) และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มาวัดความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน โดยวิธี ASTM D3985-02 Oxygen Gas Transmision Rate Through Plastic Film and Sheting Using a Coulometric Sensor โดยใช้เครื่อง Oxygen permeation tester; Illinois 8000 ภาวะการทดสอบที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ 0 % อัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสและแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีค่าเท่ากับ 5,192 และ 5,379 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ตามลำดับ

เมื่อนำความหนาของแผ่นฟิล์มมาพิจารณาพบว่า แผ่นฟิล์มเซลลูโลสซึ่งเป็นชุดควบคุมมีค่าความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 2,077 ลูกบาศก์เซนติเมตรมิลลิเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งมีค่าน้อยกว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2,151 ลูกบาศก์เซนติเมตรมิลลิเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน

4.5.2 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ (water vapor permeability)

จากการนำแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มาวัดความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ ไม่สามารถวัดได้ เนื่องจากแผ่นฟิล์มที่นำมาทดสอบมีลักษณะเป็นแผ่นเปียก ซึ่งในการทดลองวัดความสามารถในการซึมผ่านของไอน้ำ จะนำซิลิกาเจลใส่ในขวดและนำแผ่นฟิล์มมาปิดปากขวด จากนั้นนำขวดไปวางในเดซิเคเตอร์เป็นเวลาต่างๆ เมื่อครบกำหนดนำขวดมาชั่งน้ำหนัก จากการทดลองพบว่า แผ่นฟิล์มที่นำมาปิดปากขวดเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อรา ทำให้ไม่สามารถทำการทดลองต่อไปได้

4.6 ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค

นำแผ่นฟิล์มเซลลูโลสและแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 1.5 หลังจากเลี้ยงเชื้อที่สภาวะนิ่งเป็นเวลา 7 วัน มาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดสอบคือ *Escherichia coli* และ *Staphylococcus aureus* ผลที่ได้แสดงดังตารางที่ 13 พบว่า แผ่นฟิล์มเซลลูโลสและแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคที่นำมาใช้ในการทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 ผลการทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคของแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ชนิด

จุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค	จำนวนโคโลนีของจุลินทรีย์		
	ชุดควบคุม	แผ่นฟิล์มเซลลูโลส	แผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5
Escherichia coli	> 300	> 300	> 300
Staphylococcus aureus	> 300	> 300	> 300

4.7 ศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของแบคทีเรียบนแผ่นฟิล์ม

เลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเติมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มาผลิตแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก และนำมาทดสอบความสามารถในการซึมผ่านของแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค จากการทดลองพบว่า ภายหลังจากที่นำขวดอาหารมาวางในสภาวะเปิดเป็นเวลา 1 สัปดาห์ พบว่า อาหารมีการเปลี่ยนแปลงเล็กน้อย คือ สีขุ่นขึ้น เมื่อนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร แผ่นฟิล์มที่เป็นเซลลูโลสจะมีค่าการดูดกลืนแสงเพิ่มขึ้นจากเดิมเล็กน้อย คือ 0.052 ขณะที่แผ่นฟิล์มที่เป็นเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลค่าการดูดกลืนแสงจะเพิ่มขึ้นจากเดิม คือ 0.066 แสดงดังตารางที่ 14

ตารางที่ 14 ค่าการดูดกลืนแสงของอาหาร MHB ที่ใช้ทดสอบกับแผ่นฟิล์มเซลลูโลสและแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5

ชนิดของแผ่นฟิล์ม	การเปลี่ยนแปลงค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร	
	ค่าการดูดกลืนแสงเริ่มต้น	ค่าการดูดกลืนแสงภายหลัง 7 วัน
- แผ่นฟิล์มเซลลูโลส	0.051	0.052
- แผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5	0.051	0.066

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตแผ่นฟิล์มเซลลูโลสโดยเชื้อ *A. xylinum* TISTR 976 โดยการเลี้ยงเชื้อในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 3 5 7 และ 9 วัน พบว่าแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมัก 7 วัน จะมีความหนาก่อนอัดรีดน้ำคือ 6.38 มิลลิเมตร และความหนาภายหลังอัดรีดน้ำคือ 0.11 มิลลิเมตร ซึ่งเป็นความหนาที่เหมาะสมที่จะนำมาผลิดแผ่นฟิล์ม สำหรับการเลี้ยงเชื้อเป็นระยะเวลา 3 และ 5 วัน เชื้อมีการสร้างแผ่นเซลลูโลสที่ค่อนข้างบาง ขณะที่การเลี้ยงเชื้อ 9 วัน จะได้แผ่นเซลลูโลสที่ค่อนข้างหนามากเกินไป ดังนั้นจึงใช้ระยะเวลา 7 วันในการศึกษาต่อ

จากการศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียร่วมกับสารเพิ่มความยืดหยุ่น ได้แก่ กลีเซอรอล ซอร์บิทอล และโพลีโพรพิลีนไกลคอล ที่ความเข้มข้นต่างๆกัน พบว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลสลักษณะแผ่นเปียกมีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุดเมื่อผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ถ้าเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลสูงกว่านี้จะทำให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีค่าความแข็งแรงดึงลดลง ขณะที่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอล พบว่า ค่าความแข็งแรงดึงจะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซอร์บิทอล เมื่อนำมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้น ร้อยละ 1.5 จะมีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุดและแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับการใช้ความเข้มข้นอื่น

ค่ามอดุลัสของยัง พบว่า แผ่นฟิล์มเซลลูโลสที่ได้จากการผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะมีค่ามอดุลัสของยังสูงที่สุดคือ 43.03 MPa เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอลเป็นร้อยละ 2.0 ค่ามอดุลัสของยังจะลดลง ขณะที่แผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 2.0 มีค่ามอดุลัสของยังสูงสุดคือ 39.51 MPa เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของซอร์บิทอลค่ามอดูลัสของยังจะเพิ่มมากขึ้นตามไปด้วย เมื่อนำค่ามอดูลัสของยังมาวิเคราะห์ผลทางสถิติ พบว่า ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียกเมื่อใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับเมื่อใช้กลีเซอรอลที่ความเข้มข้นร้อยละ 0.0 0.5 1.0 และ 2.0

ค่าการยืด ณ จุดขาด พบว่า เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของกลีเซอรอล ค่าการยืด ณ จุดขาดจะเพิ่มขึ้น โดยเมื่อใช้กลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 จะทำให้แผ่นฟิล์มที่ได้มีค่าการยืด ณ จุดขาดมีค่าสูงสุดคือ 50.94 MPa ขณะที่การใช้ซอร์บิทอลความเข้มข้นร้อยละ 1.0 จะทำให้แผ่นฟิล์มมีค่าการยืด ณ จุดขาดมีค่าสูงสุดคือ 43.17 MPa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำแผ่นฟิล์มเซลลูโลส และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 มาศึกษาอัตราการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ความชื้นสัมพัทธ์ร้อยละ 0 มีค่าเท่ากับ 5,192 และ 5,379 ลูกบาศก์เซนติเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ตามลำดับ

เมื่อนำความหนาของแผ่นฟิล์มมาพิจารณาพบว่า แผ่นฟิล์มเซลลูโลสซึ่งเป็นชุดควบคุมมีค่าความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนเท่ากับ 2,077 ลูกบาศก์เซนติเมตรมิลลิเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน ซึ่งมีค่าน้อยกว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ซึ่งมีค่าเท่ากับ 2,151 ลูกบาศก์เซนติเมตรมิลลิเมตรต่อตารางเมตรต่อวัน

จากการที่ความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจนของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลร้อยละ 1.5 มีค่ามากกว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลสซึ่งเป็นชุดควบคุม อาจเนื่องมาจากการเติมสารบางชนิดผสมลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้การสร้างเส้นใยของแบคทีเรียถูกขัดขวางจากสารที่เติมลงไป ทำให้เส้นใยเซลลูโลสมีการประสานกันห่างมากกว่าเดิม จึงทำให้ก๊าซออกซิเจนสามารถซึมผ่านได้มากขึ้น

ศึกษาฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค พบว่า แผ่นฟิล์มเซลลูโลส และแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ไม่มีฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรค จากการศึกษาความสามารถในการซึมผ่านของแบคทีเรียบนแผ่นฟิล์ม พบว่า แบคทีเรียสามารถซึมผ่านแผ่นฟิล์มทั้ง 2 ชนิดได้โดยสามารถซึมผ่านแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอลความเข้มข้นร้อยละ 1.5 ได้มากกว่าแผ่นฟิล์มเซลลูโลส เนื่องจากกลีเซอรอลจะเข้าไปจับกับโครงสร้างของเซลลูโลสทำให้เกิดช่องว่างของโครงสร้างมากขึ้นแบคทีเรียจึงสามารถซึมผ่านได้มากกว่า

ข้อเสนอแนะ

1. การศึกษาการผลิตแผ่นฟิล์มจากการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ควรเลี้ยงในตู้บ่ม (incubator) ที่สามารถควบคุมอุณหภูมิได้ เพื่อจะได้ผลผลิตเซลลูโลสที่สม่ำเสมอ
2. ในงานวิจัยนี้ศึกษาแผ่นฟิล์มในลักษณะแผ่นเปียก จึงต้องควบคุมความชื้นในแผ่นฟิล์มให้คงที่
3. ไม่ควรเก็บแผ่นฟิล์มเซลลูโลสไว้เป็นระยะเวลานาน เนื่องจากแผ่นฟิล์มอาจเกิดการปนเปื้อน ทำให้ไม่สามารถนำแผ่นฟิล์มไปทดสอบคุณสมบัติต่างๆได้
4. ควรวัดค่าวอเตอร์ แอกติวิตี (a_w) ของแผ่นฟิล์มก่อนทำการเก็บรักษา เพื่อพิจารณาชนิดของสารละลายอิ่มตัวให้มีความชื้นสัมพัทธ์ที่เหมาะสมในการเก็บรักษาแผ่นฟิล์ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

วราวุฒิ ครูส่ง. 2536. การยืดอายุความสดใสของกล้วยไข่โดยอาศัยการเคลือบผิวด้วยวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* DK. *วารสารเกษตรพระจอมเกล้า*. 19(2):42-49

Brown, M.R., Willison, J. H. M. and Richardson, C. L. 1976. Cellulose biosynthesis in *Acetobacter xylinum*: visualization of the site of synthesis and direct measurement of the in vivo process. *Proc Natl Acad Sci USA* 73, 4565-4569

Brown, A.J.1886. An acetic ferment which forms cellulose. *Journal of Chem Soc 49:432–439*

Colvin, M. R., Dennis, J. Grab and Irukulla R. 1972. *The* intracellular pathway of newly formed rat liver catalase. *Journal of Biochemistry. 152(2) :496-501*

Deinema, M.H., Zevenhuizen, L.P. 1971. Formation of cellulose fibrils by gram-negative bacteria and their role in bacterial flocculation. *Arch Mikrobiol. 1971;78(1):42–51*

Dudman, W.F. 1959. *Journal of Genetic Microbiol. 21, 327-337*

Geyer, U., Heinze, Th., A, Stein and D, KlemmS. Marsch and Schumann D. 1994. Schmauder Formation, derivatization and applications of bacterial cellulose. *Journal of bacteriology. 16(6): 343-347*

Hestrin, 1947. Systhesis of cellulose by resting cells of *Acetobacter xylinum*. Nature. *Journal of bacteriology. 159:64-65*

Iannio, N., Briones, G., Tolmasky, M. and Ugelde, R.A., 1998. Molecular cloning and characterization of *cgs*, the Brucella abortus cyclic 1,2-β-glucan synthetase gene : genetic

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

complementation of *Rhizobium meliloti ndvB* and *Agrobacterium tumefaciens chvB* mutants. *Journal of Bacteriol. 180, 4392-4400*

Ishikawa, A., Matsuoka, M., Tsuchida, T.and Yoshinaga, F. 1995.Increasing of bacterial cellulose production by sulfo-guanidine-resistant mutants derived from *Acetobacter xyi-num subsp.sucrofermentans* BPR2001.*Biosci.Biotechnol. Biochem.59:2259–2263*

Khen, T.A., Peh, K.K., and Ch'ng, S. 2000. Mechanical, Bioadhesive strength and biological evolutions of chitosan film for wound dressing. *J. Pharm.Pharmaceut. Sci* (www.ualberta.ca/~csps) *3(3):303-311*

Kouda, T., Nagata, Y., Yano, H.and Yoshinaga, F. 2000. Method for cultivating apparatus for the production of bacterial cellulose in and aerated and agitated culture. Bio Polymer. *Applied Microbiology Biotechnology 57(1) : 321-328*

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

Lapus, M.M., Gallardo, E.G. And Palo, M.A.1967. The nata organism-cultural requirements, characteristics and identify. Phillippine. *J. Science. 96 : 91-109*

Masaoka, S., Ohe, T. and Sakota N.1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum* . *Journal of bacteriology 75(1): 18-22*

Naritomi, T., Kouda, T., Yano, H. and Yoshinaga, F.1998. Effect of laetate on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. *Journal of bacteriology 85 (1): 89-95*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oikawa, T., Ohtori, T. and Ameyama M.1995. Production of Cellulose from D-Arabitol by *Acetobacter xylinum* KU-1. *Biosci. Biotech. Biochem. 59(2):1564-1565*

Oikawa, T., Ohtori, T. and Ameyama M.1995. Production of Cellulose from D-mannitol by *Acetobacter xylinum* KU-1. *Biosci. Biotech. Biochem. 59(2):331-332*

Okiyama, A., Motoki, M. and Yamanaka, S.1993. Bacterial cellulose III. Development of a new form of cellulose. *Food Hydrocolloids, 6 No.6, 493-501*

Pharm, J., Khan, T., Peh , K., and Ch'ng H. 2000. Mechanical Bioadhesive Strength and Biological Evaluations of Chitosan films for Wound Dressing. *Journal of Pharmacent 3(3) : 303-311*

Ramana, V., John, D., Doppalapudi, B. and Adam, G. 2000. The synthesis and evaluation of 3-substituted-7-(alkylidene)cephalosporin sulfones as β-lactamase inhibitors. *Journal of Biochemistry 10(9): 853-857*

Ring, D.F., Nashed, W. and Dow, T . 1986. Liquid loaded pad for medical applications. *US Patent* 45884000.

Ross, P., Mayer, R. and Benziman, M.1991. Cellulose biosynthesis and function in bacterial. *Microbial. Rev.55(1) : 35-38*

Sakchai, W.A, Chureerat, P. and Srisagul S. 2006. Development and *In Vitro* Evaluation of Chitosan-Eydragit RS 30D Composite Wound Dressing. *AAPSPharm*. 2006, 7(1): Article 30. DOI: 10.1208/pt070130

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Seto, A., Kojima, Y. and Tonouchi, N. 1994. Screening of Bacteria Cellulose-producing *Acetobacter* Strains Suitable for Sucrose as a Carbon Source. *Biosci. Biotech. Biochem. 61(4):735-736*

Tahara, N., Tabuchi, M., Watanabe, K., Yano, H., Morinaga, Y. and Yoshinaga, F.1997. Degree of polymerization of cellulose from *Acetobacter xylinum* BPR2001 decreased by cellulase produced by the strain.*Biosci.Biotechnol.Biochem. 61(11):1862–1865*

Viikari, L. 1984. Formation of sorbitol by *Zymomonas mobilis. Applied Microbial Biotechonology. 20 : 118-123*

Verschuren, P.G., Cardona, T.D., Robert M.J., De Goo-ijer, K.D. and Van den Heuvel, J.C. 2000. Location and lim-itation of cellulose production by *Acetobacter xylinum* established from oxygen pro les. *Journal of Biosci. Bioeng.89(5): 414–419.*

Watanabe, T., Akutsu, Y., Hara, T., Michihata, T., Yamanaka , H., Okazaki, O., Kashida, M., Hasegawa, M., Harumi, K. and Katagir T.1995. Functional role of coronary collaterals with exercise in infarct-related myocardium . *Biosci. Biotech. Biochem 51(1): 47-55*

Yamanaka, S., Watanabe, K. and Kitamura, N. 1989 The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. *Journal of Material Science, 24,3141-3145*

Yoshinaga, F.,Tonochi, N. and Watanabe, K. 1997. Research Progress in Production of Bacterial Cellulose by Aeration and Agitation Culture and Its Application as a New Industrial Material. *Biosci.Biotech.Biochem. 61(2) : 219-224*

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

http://www.dermnetnz.org/procedures/dressings.html

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

http:/en.wikipedia.org/wiki/Propylene_glycol

http:/en.wikipedia.org/wiki/ glycerol

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก.
อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรน้ำมะพร้าว

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรน้ำมะพร้าว

น้ำตาลทราย	50	กรัม
แอมโมเนียมซัลเฟต	1	กรัม
กรดอะซิติกเข้มข้น	10	กรัม
น้ำมะพร้าวแก่	1	ลิตร

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบางให้สะอาดจากนั้นนำไปตั้งไฟ เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 ต้มให้ละลายนำลงจากเตาทิ้งไว้ 5-10 นาที เติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1 ของปริมาตรน้ำมะพร้าว แบ่งใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยจุกสำลี นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที

2. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Broth (MHB)

Peptone	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Solids of meat infusion	4.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ให้ได้ประมาณ 7.2 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารเลี้ยงเชื้อ Mueller Hinton Agar (MHA)

Peptone	17.5	กรัม
Starch	1.5	กรัม
Solids of meat infusion	4.0	กรัม
ผงวุ้น	17.0	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

ปรับค่าความเป็นกรดด่าง (pH) ให้ได้ประมาณ 7.2 แล้วนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข.

การวิเคราะห์ทางสถิติ

Oneway

ANOVA

ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	34.109	4	8.527	106.096	.000
Within Groups	.804	10	.080		
Total	34.913	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอล

Duncan[a]

		Subset for alpha = .05	
เข้มข้น	N	1	2
2.0	3	2.6000	
.5	3	2.7300	
.0	3	2.9867	
1.0	3	3.1133	
1.5	3		6.6000
Sig.		.065	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oneway

ANOVA

ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	24.577	4	6.144	13.730	.000
Within Groups	4.475	10	.448		
Total	29.052	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

ค่าความแข็งแรงดึงของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอล

Duncan[a]

เข้มข้น	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.0	3	2.9867	
.5	3	3.2933	
1.0	3	3.5733	
1.5	3		5.2767
2.0	3		6.2933
Sig.		.329	.092

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oneway

ANOVA

ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	1965.601	4	491.400	217.218	.000
Within Groups	22.622	10	2.262		
Total	1988.223	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอล

Duncan[a]

		Subset for alpha = .05			
เข้มข้น	N	1	2	3	4
2.0	3	12.3567			
.5	3	12.9167			
.0	3		15.7033		
1.0	3			19.4500	
1.5	3				43.0267
Sig.		.658	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oneway

ANOVA

ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	930.231	4	232.558	6.761	.007
Within Groups	343.948	10	34.395		
Total	1274.179	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

ค่ามอดุลัสของยังของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอล

Duncan[a]

เข้มข้น	N	Subset for alpha = .05		
		1	2	3
.0	3	15.7033		
.5	3	23.0867	23.0867	
1.0	3	23.6067	23.6067	
1.5	3		28.7200	
2.0	3			39.5100
Sig.		.146	.288	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oneway

ANOVA

ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	511.565	4	127.891	1.900	.187
Within Groups	673.203	10	67.320		
Total	1184.768	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมกลีเซอรอล

Duncan[a]

เข้มข้น	N	Subset for alpha = .05	
		1	2
.5	3	34.2167	
1.0	3	35.8767	35.8767
2.0	3	40.8567	40.8567
.0	3	41.2467	41.2467
1.5	3		50.9433
Sig.		.350	.062

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Oneway

ANOVA

ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	379.198	4	94.799	1.120	.400
Within Groups	846.740	10	84.674		
Total	1225.938	14			

Post Hoc Test

Homogeneous Subsets

ค่าการยืด ณ จุดขาดของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสผสมซอร์บิทอล

Duncan[a]

เข้มข้น	N	Subset for alpha = .05
		1
2.0	3	28.8100
1.5	3	35.2767
.5	3	37.7900
.0	3	41.2467
1.0	3	43.1667
Sig.		.109

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค.
การวิเคราะห์ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ตารางที่ 1 ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) ของแผ่นฟิล์มในลักษณะเปียก เมื่อใช้สารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของสารละลายกลีเซอรอลในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa ± SD) ของแผ่นฟิล์ม
0	2.99 ± 0.14
0.5	2.73 ± 0.23
1.0	3.11 ± 0.39
1.5	6.60 ± 0.31
2.0	2.60 ± 0.29

ตารางที่ 2 ค่าความแข็งแรงดึง (Tensile Strength) ของแผ่นฟิล์มในลักษณะเปียก เมื่อใช้สารละลายซอร์บิทอลความเข้มข้นต่างๆผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของสารละลายซอร์บิทอลในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)	ค่าความแข็งแรงดึง (MPa ± SD) ของแผ่นฟิล์ม
0	2.99 ± 0.14
0.5	2.29 ± 0.66
1.0	3.57 ± 0.85
1.5	5.28 ± 0.93
2.0	6.29 ± 0.43

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ค่ามอดุลัสของยัง (Young's modulus) ของแผ่นฟิล์มในลักษณะเปียก เมื่อใช้สารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของสารละลายกลีเซอรอลในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)	ค่ามอดุลัสของยัง (MPa ± SD) ของแผ่นฟิล์ม
0	15.70 ± 2.34
0.5	13.01 ± 0.75
1.0	19.45 ± 0.91
1.5	43.03 ± 1.78
2.0	12.36 ± 1.09

ตารางที่ 4 ค่ามอดุลัสของยัง (Young's modulus) ของแผ่นฟิล์มในลักษณะเปียก เมื่อใช้สารละลายซอร์บิทอลความเข้มข้นต่างๆผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของสารละลายซอร์บิทอลในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)	ค่ามอดุลัสของยัง (MPa ± SD) ของแผ่นฟิล์ม
0	15.70 ± 2.34
0.5	23.09 ± 4.29
1.0	23.61 ± 7.99
1.5	28.72 ± 8.66
2.0	39.51 ± 3.04

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ค่าการยืด ณ จุดขาด (Percent Elongation at Maximum Load) ของแผ่นฟิล์มในลักษณะเปียก เมื่อใช้สารละลายกลีเซอรอลความเข้มข้นต่างๆผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของสารละลายกลีเซอรอลในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (MPa ± SD) ของแผ่นฟิล์ม
0	41.25 ± 15.53
0.5	34.22 ± 1.37
1.0	35.88 ± 1.60
1.5	50.94 ± 5.73
2.0	40.86 ± 7.63

ตารางที่ 6 ค่าการยืด ณ จุดขาด (Percent Elongation at Maximum Load) ของแผ่นฟิล์มในลักษณะเปียก เมื่อใช้สารละลายซอร์บิทอลความเข้มข้นต่างๆผสมในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

ความเข้มข้นของสารละลายซอร์บิทอลในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (ร้อยละ)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (MPa ± SD) ของแผ่นฟิล์ม
0	41.25 ± 15.53
0.5	37.79 ± 6.19
1.0	43.17 ± 9.44
1.5	35.28 ± 7.15
2.0	28.81 ± 1.93

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้