

การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยใยบัว
ในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้ำเชื้อ

Bacterial cellulose formation by immobilized microfibril with
luffa sponge during semi-continuous fermentation



ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2559

การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยใยบวบ

ในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้ำเชื้อ

Bacterial cellulose formation by immobilized microfibril with
luffa sponge during semi-continuous fermentation



T148860

กัลยรัตน์ บุญเกื้อ

ณัฐตา โสภามาตร

ณัฐพร สายพรม

เลขหมู่ 148860
เลขทะเบียน
วันเดือนปี 30 11 91-2500

b. 12876483
i.

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยใยบัว
ในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้ำเชื้อ

Bacterial cellulose formation by immobilized microfibril with luffa
sponge during semi-continuous fermentation

จัดทำโดย

นางสาว กัลยรัตน์ บัญเกื้อ รหัสนักศึกษา 55080074

นางสาว ณัฐธิดา โสภามาตร รหัสนักศึกษา 55080094

นางสาว ณัฐพร สายพรม รหัสนักศึกษา 55080095

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

(รศ.ดร.วรวุฒิ ครูสง)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

16, มิ.ย., 59

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยไยบวบ ในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้าเชื้อ	
ชื่อนักศึกษา	กัลยรัตน์ บุญเกื้อ	รหัสนักศึกษา 55080074
	ณัฐธิดา โสภามาตร	รหัสนักศึกษา 55080094
	ณัฐพร สายพรม	รหัสนักศึกษา 55080095
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม	
พ.ศ.	2559	
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง	

บทคัดย่อ

การศึกษาเกี่ยวข้องกับสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเซลลูโลสด้วยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสโดยใช้ไยบวบ ในการหมักแบบ Semi-continuous หมักในอาหาร Coconut water medium ทำการศึกษาผลของไยบวบ 3 ขนาด ได้แก่ 0.5 cm, 1.0 cm, 1.5 cm ควบคุมการหมักโดยใช้ไยบวบปริมาณ 0.5%(w/v) ให้อากาศที่ระดับ 15 ml/min , 30 ml/min , 45 ml/min และทำการทดลองและบันทึกผลเป็นระยะเวลาที่ 0, 1, 3, 5, 7 วัน

จากการศึกษาพบว่า ขนาดไยบวบขนาด 1.5cm ในอาหาร Coconut water medium ที่ปริมาณไยบวบ 0.5%(w/v) ทำการหมักให้อากาศที่ระดับ 30 ml/min และใช้ระยะเวลาในการหมักเฉลี่ย 7 วัน สามารถสรุปได้ว่าขนาดไยบวบและการให้อากาศที่เหมาะสมมีผลต่อการสร้างเซลลูโลส

คำสำคัญ: ขนาดไยบวบ , ปริมาณให้อากาศ , เวลา

Special problem title	Bacterial cellulose formation by immobilized microfibril with luffa sponge during semi-continuous fermentation	
Student name	Kanyarat Boonkua	Student ID 55080074
	Natthida Sophamart	Student ID 55080094
	Natthaporn Saiprom	Student ID 55080095
Program	Bachelor of Science Program in Industrial Fermentation Technology	
Year	2016	
Advisor	Assoc.Prof.Dr. Warawut Krusong	

ABSTRACT

The optimum condition for cellulose (Bacterial cellulose or BC) production by *Acetobacter xylinum* by using luffa as immobilized matrix were studied. Fermentation medium consisting of coconut water on Bacterial cellulose production were period investigated. Results showed that size of luffa sponge (0.5 cm, 1.0 cm, 1.5 cm) amount 0.5% w/v and level aeration supplied (15 ml/min, 30 ml/min, 45 ml/min) were investigated. The 1.5 cm luffa sponge and aeration supplied at 30 ml/min provided highest Bacterial cellulose content. The investigated on Bacterial cellulose at optimum condition were subsequently done. Period (0-7 day) were ferment at 7 days of optimum conditions.

Keywords: size of luffa, amount of aeration, periods

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์เรื่อง การสร้างแบบที่เรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยใยบวบในระหว่าง การหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้าเชื้อ ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับความร่วมมือ ความช่วยเหลือ และความอนุเคราะห์จากหลายฝ่ายมาโดยตลอด ข้าพเจ้าขอขอบพระคุณ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูสง ซึ่งเป็นอาจารย์ ที่ปรึกษาปริญญานิพนธ์เรื่องนี้ ที่กรุณาสละเวลาอันมีค่าที่ช่วยให้คำปรึกษา คำแนะนำ และการดูแลเอาใจใส่ เป็นอย่างมากรวมถึงแก้ไขข้อบกพร่องต่างๆระหว่างการทำปริญญานิพนธ์เรื่องนี้ ให้มีความถูกต้องและสมบูรณ์ มากยิ่งขึ้น จึงขอกราบของพรคุณอาจารย์มา ณ ที่นี้ด้วย

ขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ให้ความช่วยเหลือและแนะนำให้ปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลงได้ด้วยดี

ขอบคุณ กรรมการสอบโครงร่างปริญญานิพนธ์ที่ได้ให้คำแนะนำตลอดจนคำชี้แนะ ทำให้ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้ มีความสมบูรณ์มากขึ้น

กัลยรัตน์ บุญแก้ว
ณัฐธิดา โสภามาตร
ณัฐพร สายพรม
16 มิถุนายน 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	II
กิตติกรรมประกาศ.....	III
สารบัญ.....	IV
สารบัญตาราง.....	VI
สารบัญภาพ.....	VIII
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา.....	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	3
2.1 เชื้อแบคทีเรีย <i>Acetobacter xylinum</i>	3
2.2 เซลลูโลส.....	5
2.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและการสร้างวุ้นของเชื้อ.....	7
2.4 การผลิตวุ้นเซลลูโลสในสภาวะให้อากาศ.....	8
2.5 ไยบวบ.....	9
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง.....	10
3.1 วัสดุดิบและสารเคมี.....	10
3.2 อุปกรณ์.....	10
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง.....	12
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....	14
4.1 ขนาดไยบวบที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial Cellulose ในสภาวะให้อากาศ.....	14
4.2 ระยะเวลาติดตามค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในสภาวะให้อากาศ.....	16
4.3 จำนวนรอบของการสร้าง Bacterial cellulose ด้วย Bacterial cellulose-luffa เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารน้ำมะพร้าว.....	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ.....	23
5.1 สรุปผลกาทดลอง.....	23
5.2 อภิปรายผลการทดลอง.....	24
5.3 ข้อเสนอแนะ.....	24
บรรณานุกรม.....	25
ภาคผนวก.....	27
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์.....	28
ภาคผนวก ข สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	30
ภาคผนวก ค วิธีเตรียมสารเคมี.....	31
ภาคผนวก ง ข้อมูลผลการทดลอง.....	32
ประวัติผู้เขียน.....	43



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	แสดงถึงอนุกรมวิธานของเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i>	3
ง.1	การหมักแบบ batch ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบปริมาณ 5 กรัมตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 3 สายยาง.....	32
ง.1.2	การหมักแบบ batch ให้อากาศปริมาณ 45 ml/min ระยะเวลา 7 วัน โดยใช้ 3 ขนาดใยบวบในการตริงเซลลีใน Coconut water medium.....	33
ง.2.1	การหมักแบบ batch ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบปริมาณ 5 กรัมตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 1 สายยาง.....	34
ง.2.2	การสร้างเซลล์ลอส ทำการหมักแบบ batch fermentation ให้อากาศปริมาณ 15 ml/min ระยะเวลา 7 วัน โดยใช้ 3 ขนาดใยบวบในการตริงเซลลีใน Coconut water medium.....	34
ง.3	การละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบbatch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/minระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน โดยใช้ขนาดใยบวบ 0.5cmในการตริงเซลลีใน Coconut water medium ภายใต้ condition ที่กำหนดไซ.....	35
ง.4	ค่าการละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบbatch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/minระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน โดยใช้ขนาดใยบวบ 1.0cmในการตริงเซลลีใน Coconut water medium ภายใต้ condition ที่กำหนด.....	36
ง.5	การละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบbatch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/minระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน โดยใช้ขนาดใยบวบ 1.5cmในการตริงเซลลีใน Coconut water medium ภายใต้ condition ที่กำหนด.....	37
ง.6	จำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cmปริมาณ 5 กรัมตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 15 ml/min.....	38
ง.7	จำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cmปริมาณ 5 กรัมตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 30 ml/min.....	39
ง.8	จำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยใช้ใยบัวขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัม ตริงเซลล์ใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 45 ml/min.....	40
--	----



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า	
2.1	ลักษณะของ <i>Acetobacter xylinum</i>	3
2.2	β ,1-4 glucan chain containing cellulose.....	5
2.3	การสังเคราะห์เส้นใยเซลลูโลส.....	6
2.4	บวบหอม (sponge gourd), <i>Luffa cylindrical</i>	9
4.1	ผลการสร้าง cellulose และปริมาณอากาศ 15 ml/min ทำการหมักแบบ batch มีขนาดใยบวบ 3 ขนาด ระยะเวลา 7 วัน ใน Coconut water medium.....	14
4.2	ผลอัตราการให้อากาศและค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมัก การหมักแบบ batch ใยบวบขนาด 1.5 cm มี condition ที่ใช้ในการหมักคือ ใสใยบวบและไม่ใสใยบวบ.....	17
4.3	ผลอัตราการให้อากาศและค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในเนื้อวุ้น การหมักแบบ batch ใยบวบขนาด 1.5 cm มี condition ที่ใช้ในการหมักคือ ใสใยบวบและไม่ใสใยบวบ.....	18
4.4	ผลการสร้างเซลลูโลสและปริมาณอากาศ 30ml/min ทำการหมักแบบ Semi-continuous ใช้ขนาดใยบวบ 1.5 cm. ระยะเวลา 7 วัน ใน Coconut water medium ทำการเก็บเกี่ยว cellulose แล้วนำใยบวบที่ผ่านการเก็บเกี่ยวกลับมาหมักต่อ.....	20
ง.1	การละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นของจำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัม ตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 15 ml/min.....	41
ง.2	การละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นของจำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัม ตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 30 ml/min.....	41
ง.3	การละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นของจำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัม ตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 45 ml/min.....	42

- ง.4 การละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบbatch ให้อากาศ ปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min โดยใช้ขนาดโบบว 0.5cmในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium ภายใต้ condition ใส่โบบว..... 43
- ง.5 การละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบbatch ให้อากาศ ปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min โดยใช้ขนาดโบบว 0.5cmในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium ภายใต้ condition ใส่ไม่โบบว..... 44



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (bacterial cellulose) เป็นชีววัสดุธรรมชาติที่ได้รับความสนใจและศึกษากันอย่างแพร่หลาย รู้จักกันดีในชื่อ Nata de Coco หรือ วุ้นมะพร้าว หรือ วุ้นสวรรค์ ผลิตจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีการเจือปนของ เฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพกตินเหมือนเซลลูโลสที่ได้ จากพืช มีโครงสร้างประกอบด้วยหน่วยย่อยที่เรียกว่า ไมโครไฟบริล

ในการศึกษานี้ต้องการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเียวบวของเชื้อ *Acetobacter xylinum* ทำด้วยการเพาะเลี้ยงเชื้อด้วยน้ำมะพร้าว ในสภาวะให้อากาศโดยใช้สายยาง 1 เส้น มีการเพาะเลี้ยงแบบการกึ่งเขย่าคงที่(เขย่าให้แผ่นวุ้นจมลงในน้ำหมักแล้วตั้งในสภาวะปกติ) แล้วทำการทดลองโดยการติดตามการตรึงเส้นใยเซลลูโลสบนเียวบว การหาขนาดเียวบวที่เหมาะสมต่อการเตรียมหัวเชื้อ bacterial cellulose – luffa (การหาขนาดเียวบวที่สร้างเซลลูโลสได้ดีที่สุด) และการหารอบของการสร้าง bacterial cellulose– luffa ที่มากที่สุดในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

- 1.2.1 เพื่อศึกษาหาขนาดเียวบวที่เหมาะสมต่อการสร้างเตรียมหัวเชื้อจาก *A. xylinum*
- 1.2.2 เพื่อศึกษาการตรึงเส้นใยเซลลูโลสบนเียวบวโดยใช้หัวเชื้อจาก *A. xylinum*
- 1.2.3 เพื่อศึกษาหาจำนวนรอบของการสร้าง bacterial cellulose– luffa ที่มากที่สุดโดยใช้หัวเชื้อ

จาก *A. xylinum*

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.3.1 เซลลูโลสที่ผลิตโดยสายพันธุ์ *Acetobacter* เรียกว่าแบคทีเรียเซลลูโลส ซึ่งแบคทีเรียเซลลูโลสนี้ มีคุณสมบัติโครงสร้างและคุณสมบัติเชิงกลที่มีเอกลักษณ์และแตกต่างอย่างมากจากบรรดาเซลลูโลสพืชและแบคทีเรียเซลลูโลสที่คาดว่าจะถูกนำมาใช้กันอย่างแพร่หลายในอุตสาหกรรมต่างๆ

1.3.2 คุณสมบัติที่โดดเด่นของ Bacterial cellulose คือ เส้นใยมีขนาดเล็กเชื่อมกันเป็นร่างแหทำให้มีความเหนียวสูง ดังนั้นจึงได้มีการนำ Bacterial cellulose มาดัดแปลงใช้เป็นส่วนประกอบของ membrane ต่าง ๆ เช่น เป็นส่วนประกอบของลำโพง และกระดาษที่ต้องการความเหนียวสูง ในทางเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การแพทย์ได้มีการนำ Bacterial cellulose มาพัฒนาใช้เป็น artificial skin (wound dressing) เพราะว่ามี ความเหนียวแม้ในสภาพเปียก และไม่ก่อให้เกิดการระคายเคือง นอกจากนี้ยังได้มีการนำ Bacterial cellulose มาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารและเครื่องสำอางอีกด้วย

1.3.3 ปัจจุบันชีววัสดุธรรมชาติเข้ามามีบทบาทต่อการแพทย์เป็นอย่างมาก เนื่องจากเป็นมิตร กับ ร่างกาย (biocompatibility) และกระตุ้นการซ่อมแซมเนื้อเยื่อได้ดีกว่าชีววัสดุสังเคราะห์สามารถแบ่งได้ 3 กลุ่ม คือ

- 1) ชีววัสดุประเภท โปรตีน อาทิ คอลลาเจน เจลาติน ไฟบรอนเนกติน (fibronectin) โปรตีนไหม
- 2) ชีววัสดุประเภทพอลิแซ็กคาไรด์ อาทิ อัลจิเนต เพกติน อะกาโรส ไกล โคซามิโนไกลแคน (glycosaminoglycans) และ อนุพันธ์ของเซลลูโลส
- 3) ชีววัสดุประเภทไขมันฟอสเฟต (phospholipids) (มณชัย, 2013)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

วุ้นสวรรค์หรือวุ้นมะพร้าว (Nata de coco) เป็นวุ้นเซลลูโลสที่เกิดขึ้นจากการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* โดยกิจกรรมการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* จะผลิตสารออกมานอกเซลล์ในสภาวะที่สารอาหารครบถ้วนและเหมาะสม จะเจริญอยู่บนผิวหน้าของอาหารและรวมตัวกันเป็นชั้นๆที่มีลักษณะเหนียวชุ่มชื้นเป็นวุ้น วุ้นที่ได้มีส่วนประกอบหลักสำคัญคือ เส้นใยเซลลูโลส (microfibril cellulose)

A. xylinum เป็นแบคทีเรียที่ย้อมติดสีแกรมลบ ไม่สร้างเอนโดสปอร์(endospore) มีลักษณะเป็นรูปแท่งซึ่งรู้จักกันในชื่อ *Gluconacetobacter xylinus* ความยาวของตัวเซลล์ *A. xylinum* อยู่ในช่วง 2 – 10 ไมครอน มีความกว้างอยู่ในช่วง 0.5 – 1 ไมครอน จัดเป็นจุลินทรีย์ในกลุ่ม aerobic ซึ่งสามารถเจริญได้ในที่มีอากาศ (Mohammad et al., 2014)



ภาพที่ 2.1 : ลักษณะของ *Acetobacter xylinum*

ที่มา : Mohammad et al. (2014)

ตารางที่ 2.1 : แสดงถึงอนุกรมวิธานของเชื้อ *Acetobacter xylinum*

Taxonomy of <i>Acetobacter xylinum</i> (อนุกรมวิธานของเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i>)	
Domain	Bacteria
Phylum	Proteobacteria
Class	Alphaproteobacteria
Order	Rhodospirillales
Family	Acetobacteraceae
Genus	Acetobacter
Sub-species	Xylinum
Scientific name	<i>Acetobacter aceti xylinum</i>

ที่มา : Mohammad et al. (2014)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 เซลลูโลส

เส้นใยละเอียดของเซลลูโลส ที่อยู่ในรูปของเจลที่เรียกว่า cellulose microfiber ลักษณะของวุ้นที่ได้เป็นเยื่อเหนียว มีสีขาวหรือครีม มีหลายชื่อเรียก เช่น วุ้นน้ำส้ม วุ้นสวรรค์ วุ้นน้ำมะพร้าว ลูกพร้าว เห็ดขาแดง และเห็ดรสเซีย (สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์, 2545) นอกจากนี้ยังมี แบคทีเรียสกุลอื่น ๆ ที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้ เช่น *Rhizobium* spp., *Alcaligenes* spp., *Agrobacterium* spp., *Pseudomonas* spp. และ *Trichoderma reesei* เป็นต้น (Ross et al., 1991; Wen et al., 2005)

เซลลูโลสเป็นโพลิเมอร์จากธรรมชาติที่พบได้มากและพบว่าเป็นองค์ประกอบของโครงสร้างสิ่งต่างๆ ที่พบในโลก มักจะพบในรูปที่เกาะอยู่กับโพลิเมอร์อื่นๆ ซึ่งโครงสร้างของเซลลูโลสที่ได้จากพืชมีสูตรโมเลกุลคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ เป็นโครงสร้างเดียวกันกับเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียหรือแบคทีเรียเซลลูโลส (BC) ประกอบด้วยกลุ่มย่อยๆ พันธะของ $\beta(1-4)$ D- glucose มีสมบัติทางเคมีและกายภาพที่แตกต่างกัน เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียเซลลูโลสจะมีลักษณะที่บริสุทธิ์กว่าเซลลูโลสที่ได้จากพืช เนื่องจากไม่มีความเป็นเอมิเซลลูโลสหรือลินีสสูง มีความสามารถในอุ้มน้ำได้ดี และมีเส้นใยที่แข็งแรงกว่าเมื่อเทียบกับเซลลูโลสที่ได้จากพืช

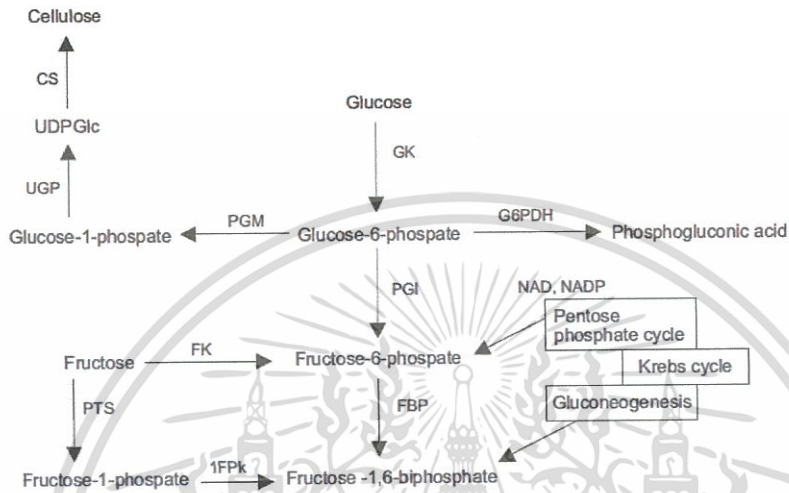


ภาพที่ 2.2 : $\beta,1-4$ glucan chain containing cellulose

ที่มา : Mohammad et al., 2014

การผลิตเซลลูโลสในรูปของวุ้นสวรรค์ สามารถเลือกใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น น้ำมะพร้าว น้ำสัปะรด น้ำกะทิ น้ำหางนม เป็นต้น เมื่อนำวัตถุดิบเหล่านี้มาผลิตวุ้นสวรรค์ เนื้อวุ้นที่ได้จะมีลักษณะที่คล้ายกัน แต่อาจมี กลิ่นของวัตถุดิบ (วรารุณี และคณะ 2536; สุขเมธ 2537)

การสังเคราะห์แบบที่เรียเซลล์ูโลสมีหลายขั้นตอนและมีความซับซ้อนต้องใช้เอนไซม์เชิงซ้อนหลายตัวในการเร่งปฏิกิริยาให้มีการสร้างเซลล์ูโลสอย่างไรก็ตามยังไม่มีหลักเกณฑ์ที่ดีที่สุด ซึ่งการรวมตัวของสาร UDPGlc และกิ่งของน้ำตาลกลูโคส β ,1-4 glucan เป็นสารตั้งต้นในการสร้างเซลล์ูโลส



ภาพที่ 2.3 : การสังเคราะห์เส้นใยเซลล์ูโลส

ที่มา : Prashant et al. (2008)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการเจริญและการสร้างวุ้นของเชื้อ

2.3.1 น้ำมะพร้าว

มะพร้าวที่ใช้ควรเป็นน้ำพร้าวแก่ เพราะมีไขมันน้อยและไม่มีการปนเปื้อนจากน้ำมะพร้าวที่เน่าเสีย ต้องมีการนำมาผ่านความร้อนเพื่อเป็นการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับน้ำมะพร้าว เพราะในน้ำมะพร้าวมีสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์จึงต้องทำการฆ่าเชื้อก่อนทำการทดลองทุกครั้ง ควรซื้อใหม่ในทุกครั้งที่ทำการทดลอง

2.3.2 เชื้อวุ้นที่ใช้ในการหมัก

ปริมาณของเชื้อที่ใช้ในการผลิตวุ้นจะต้องใช้เชื้อในปริมาณมากพอ ซึ่งปริมาณที่เหมาะสมจะอยู่ในช่วง 10-20 % จะให้ผลผลิตวุ้นที่มากที่สุด แต่ถ้าใช้เกินมากกว่านั้นผลผลิตจะลดลง

2.3.3 ออกซิเจน

A. xylinum เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นภาชนะในการหมักต้องมีผิวหน้ากว้างเพราะเชื้อจะสร้างแผ่นวุ้นเฉพาะส่วนบนของมะพร้าวเท่านั้น และระหว่างการหมักต้องระวังไม่ให้เกิดการกระทบกระเทือน มิฉะนั้นจะทำให้แผ่นวุ้นจม

2.3.4 อุณหภูมิ

A. xylinum สามารถเจริญและสร้างวุ้นได้ดีที่อุณหภูมิห้องหรืออยู่ในช่วงอุณหภูมิที่ 28-32 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียสการสร้างวุ้นจะไม่เกิดขึ้น

2.3.5 ขนาดใยบวบ

ใยบวบที่ใช้เป็นผลิตภัณฑ์แปรรูปที่เกิดจากใยบวบ ต้องนำมาทำการตัดตามขนาดที่กำหนด และนำไปฆ่าเชื้อทุกครั้งก่อนทำการทดลองเพื่อป้องกันเชื้อราที่จะเกิดขึ้น

2.3.6 ความเป็นกรด

เนื่องจากความเป็นกรดสามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นๆที่ไม่เป็นที่ต้องการจึงใช้ Acetic acid นำมาใช้ปรับความเป็นกรดต่าง

2.4 การผลิตวุ้นเซลลูโลสในสภาวะให้อากาศ

เนื่องจากการพัฒนากระบวนการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสเพิ่มเติมจากที่นิยมใช้ในระบบวางนิ่งมาเป็นระบบอื่นๆ ซึ่งประกอบด้วย ระบบการกวนหรือระบบการให้อากาศ แต่มีข้อสันนิษฐานหลากหลายต่อผลกระทบของการกวน หรือการให้อากาศต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* โดยที่ Hestin และ Schramm (1945); Cook และ Colvin (1980) รวมถึง Byrom (1991) เสนอแนวความคิดว่าระบบกวน หรือการให้อากาศจะส่งผลกระทบต่อผลผลิตเชิงลบ (Negative effect) ต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* อย่างไรก็ตามมีข้อคิดเห็นในทางตรงข้าม เช่น จาก Kouda และคณะ (1998) ที่กล่าวว่าการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสจำเป็นต้องได้รับการถ่ายออกซิเจน (oxygen transfer) ในอัตราที่สูง

ออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อเป็นปัจจัยสำคัญที่มีผลต่อการสร้างเซลลูโลส สภาพของออกซิเจนที่พร้อมใช้งาน อาจเป็นปัจจัยจำกัดสำหรับการเผาผลาญของเซลล์ และส่งผลกระทบต่อคุณภาพของเซลลูโลสและเซลลูโลสผลิต (Prashant et al., 2008)

สำหรับผลผลิตของ Bacterial cellulose ผลิต organisms รวมถึงการเพิ่มความหนาแน่นของเซลล์เป็นสิ่งจำเป็นสำหรับการเพิ่มผลผลิต Bacterial cellulose เนื่องจากการเจริญเติบโตของ *Acetobacter* การผลิต Bacterial cellulose aerobic จะขึ้นอยู่กับปริมาณออกซิเจน, โดยออกซิเจนมีความเกี่ยวข้องโดยตรงกับการผลิต Bacterial cellulose ใน aerated culture (Kouda, et al., 1997)

2.5 ไยบวบ

ไยบวบ (luffa sponge) สามารถผลิตได้จากบวบหรือ บวบหอม (sponge gourd) มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Luffa cylindrica* (L.) M. Roem. เป็นพืชในวงศ์ Cucurbitaceae เช่นเดียวกับ แตงกวา มะระ และฟักทอง (ปิยะ, 2538) มีถิ่นกำเนิดในทวีปเอเชียเขตร้อน (Porterfield, 1955) บวบหอมที่ปลูกในประเทศไทยส่วนใหญ่เป็นพันธุ์พื้นเมืองที่ปลูกกันมานานและมีการเก็บรักษาเมล็ดพันธุ์ไว้ใช้ปลูกในฤดูต่อไปมีการปลูกบวบชนิดต่าง ๆ เพื่อบริโภคผลสดและใช้ประโยชน์จากผลแก่ โดยเมื่อผลแห้งแล้วภายในผลจะมีเส้นใย เรียกว่า ,รังบวบ หรือ ,ไยบวบ (สุภาพร, 2544) ซึ่งมีสารไซแลน (xylan) เซลลูโลส (cellulose) แมนแนน (mannan) และลิกนิน (lignin) สามารถนำไปแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ ได้ เช่น การขัดถู ทาความสะอาด ป้องกันแรงกระแทก (จรัญญา และคณะ, 2551) หรือใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ เช่น เป็นตัวกรอง (filters) ของ เครื่องยนต์ กรองน้ำมันในเรือเดินทะเล หรือทาเยื่อกระดาษ เป็นต้น (Davis and DeCourley, 1993)



ภาพที่ 2.4 : บวบหอม (sponge gourd), *Luffa cylindrica*

ที่มา : <http://www.gardeningknowhow.com/wp-content/uploads/2012/08/luffa-vine2-400x533.jpg>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

หัวเชื้อ *Acetobacter xylinum*.

น้ำมะพร้าว (Coconut Juice)

ใยบวบ (loofa sponge)

น้ำตาล (Sugar)

น้ำกลั่น (Distilled Water)

น้ำส้มสายชูกลั่น 5% (Vinegar 5%)

3.1.2 สารเคมี

Acetic acid 5% ,Merck,Germany

NaOH,Ajax Finechem Phy Ltd,Australia

Alchol

3.2 อุปกรณ์

บีกเกอร์(Beaker)

ปิเปต(Graduated Pipette)

กระบอกใส่ปิเปต(Pipette Can)

ลูกยางดูดปิเปต(Rubber for pipette)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขวดแลปฝาเกลียว 250 ml (Laboratory bottle)

ขวดแลปฝาเกลียว 1,000 ml (Laboratory bottle)

ถาดสแตนเลส(Stainless Tray)

ช้อนตักสาร(Plastic Spoon)

แท่งแก้วคนสาร (Glass Rod)

ตัวกรองอากาศ (Air filter)

สายยาง (Rubber tube)

ถุงพลาสติกกันร้อน

กระบอกตวง (Cylinder)

กระบอกน้ำกลั่น (Watch bottle)

หลอดทดลอง (Test Tube)

ที่ตั้งหลอดทดลอง (Rack For Tube)

ขวดวัดปริมาตร (Volumetric Flask)

อลูมิเนียมฟอยด์ (Aluminium Foil)

ตะเกียงแอลกอฮอล์ (Alcohol Burner)

สำลี (Cotton)

ถุงมือผ้ากันร้อน (Glove)

มีดสำหรับปอกมะพร้าว(Knife for coconut)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส *A. xylinum* DK ในลักษณะเส้นใย cellulose microfibril

ทำการเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส *Acetobactor xylinum* DK ในลักษณะเส้นใย cellulose microfibril ในสภาวะนิ่ง ตามวิธีของ Krusong et al.(1996) และ วราวุฒิ ครุสง(2551) ซึ่งได้พัฒนา “เทคนิคการเตรียมหัวเชื้อเส้นใยเซลลูโลส” เพื่อมุ่งเน้นการใช้เส้นใยเซลลูโลส(Cellulose microfibril)ที่มีขนาดเล็ก โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ข) ปริมาณ 95 มิลลิลิตร แล้วนำไปเข้าเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที และหัวเชื้อ *A. xylinum* DK ปริมาณ 5 มิลลิลิตร ต่อ 1 ขวด (ขวดขนาด 250 ml) บ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส (อุณหภูมิห้อง) เป็นเวลา 7 วัน ที่สภาวะนิ่ง

3.3.2 การเตรียมใยบวบ

ต้มใยบวบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที รอให้เย็นและนำไปแช่ในน้ำส้มสายชูกลั่น 5 % เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาที เพื่อล้างกรดออกจากใยบวบ แล้วทิ้งไว้ให้เย็นโดยแช่ในน้ำเป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วต้มใยบวบที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 30 นาทีเพื่อฆ่าเชื้ออีกครั้ง แล้วนำไปเข้าเครื่อง Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 45 นาทีเพื่อฆ่าเชื้อรอบสุดท้าย

3.3.3 ปัจจัยที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial cellulose ของเชื้อ *A. xylinum* ในสภาวะให้อากาศ

3.3.3.1 ขนาดใยบวบที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial cellulose ในสภาวะให้อากาศ เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ข) ปริมาณ 900 มิลลิลิตร, หัวเชื้อ *A. xylinum* จากข้อ 3.3.1 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร และใยบวบ จากข้อ 3.3.2 ขนาด 1x1 เซนติเมตร, 0.5x0.5 เซนติเมตร, 1.5 x1.5 เซนติเมตร ปริมาณ 0.5% ต่อ 1 ขวด (ขนาดขวด 2000 มิลลิลิตร) ให้เชื้อเจริญที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ที่สภาวะให้อากาศ แล้วทำการเก็บตัวอย่าง ในวันที่ 7 ทำการวิเคราะห์ค่าน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลส ค่าเซลลูโลสปริมาณเซลล์ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (ในน้ำหมักและเนื้อวุ้น) และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.3.2 การติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่า Dissolved oxygen (DO) ในสภาวะการให้อากาศ โดยใช้อัตราการให้อากาศ 15 ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min เพื่อตรวจสอบปริมาณการให้อากาศในระบบการหมัก เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ข) ปริมาณ 900 มิลลิลิตร, หัวเชื้อ *A. xylinum* จากข้อ 3.3.1 ปริมาณ 100 มิลลิลิตร และใยบวบ ขนาด 1.5 x1.5 เซนติเมตร ปริมาณ 0.5% ต่อ 1 ขวด (1000 มิลลิลิตร) ให้เชื้อเจริญที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ที่สภาวะให้อากาศ แล้วทำการเก็บตัวอย่างมาวิเคราะห์ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้น ในทุกวันที่ 0, 1, 3, 5, 7

3.3.3.3 จำนวนรอบของการสร้าง Bacterial cellulose ด้วย Bacterial cellulose-luffa เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารน้ำมะพร้าว (ภาคผนวก ข) ปริมาณ 900 มิลลิลิตร, หัวเชื้อ *A. xylinum* DK จากข้อ 3.3.1 ปริมาณ 100 มิลลิลิตรและขนาดใยบวบที่เหมาะสมจากข้อ 3.3.3.1 ต่อ 1 ขวด (ขวดขนาด 2000 มิลลิลิตร) ให้เชื้อเจริญที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7วัน ที่สภาวะให้อากาศโดยใช้อัตราการให้อากาศที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 3.3.3.2 เมื่อครบกำหนดจึงดำเนินการเก็บเกี่ยวเซลลูโลสจากนั้นปรับสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีปริมาณเท่าเดิมด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Coconut water medium แล้วนำใยบวบที่ใช้ตรึงเซลลูโลสและผ่านการเก็บเกี่ยวเซลลูโลสออกไปแล้วทำมากลับมาหมักต่อไป เพื่อหาจำนวนรอบใยบวบที่มากที่สุดต่อการสร้างเซลลูโลส แล้วทำการเก็บตัวอย่าง ในวันที่ 7 ทำการวิเคราะห์ ค่าน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลส ค่าเซลลูโลส ปริมาณเซลล์ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ(ในน้ำหมักและเนื้อวุ้น) และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ

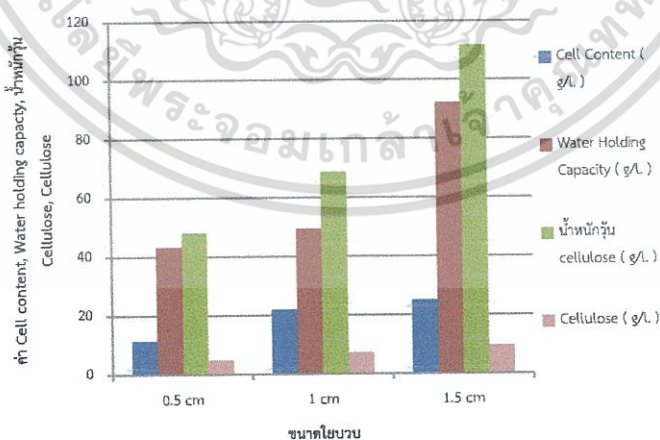
บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

บทนี้จะแสดงที่ได้จากการดำเนินงานในบทที่ 3 ได้อธิบายเกี่ยวกับการศึกษาการทดลอง และนำมาเสนอในรูปแบบที่เหมาะสม เช่น ตาราง กราฟ พร้อมทั้งคำอธิบายเพื่อให้เกิดความเข้าใจ วิเคราะห์ผล ทิศทาง แนวโน้มต่างๆที่เป็นไปได้จากการทดลองเมื่อเปรียบเทียบกับทฤษฎีที่ได้ศึกษา เพื่อนำไปเป็นแนวทางของบทสรุปเกี่ยวกับสถานะที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial Cellulose ของเชื้อ *A. xylinum*

4.1 ขนาดใยบวบที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial Cellulose ในสถานะให้อากาศ

จากการศึกษาขนาดใยบวบที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial Cellulose ในสถานะให้อากาศ พบว่าขนาดใยบวบมีผลต่อประสิทธิภาพในการสร้าง cellulose โดยใช้ใยบวบ 3 ขนาด ในการตรึงเส้นใยเซลล์ ได้แก่ 0.5cm, 1.0cm, 1.5cm ใช้ปริมาณใยบวบ 0.5% (w/v) หรือ 5 g. ทำการหมักแบบ batch ให้อากาศ ปริมาณ 15 ml/min ทำการหมักในขวดแลบฝาเกลียว ขนาด 2000 ml ปริมาตรน้ำหมัก 1 ลิตร เพาะเลี้ยง เชื้อใน Coconut water medium เพื่อหาประสิทธิภาพของขนาดใยบวบที่เหมาะสมที่สามารถสร้าง cellulose ได้เหมาะสมที่สุด ทำการวิเคราะห์ค่าน้ำหนักของวุ้น cellulose ค่า Cellulose ค่าปริมาณเซลล์ (Cell content) ค่าการอุ้มน้ำของเซลล์ (Water holding capacity) ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) (ในน้ำหมักและเนื้อวุ้น) และค่าปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ (Brix) ระยะเวลาในการหมัก 7 วัน



ภาพที่ 4.1 ผลการสร้าง cellulose และปริมาณอากาศ 15 ml/min ทำการหมักแบบ batch มีขนาดใยบวบ 3 ขนาด ระยะเวลา 7 วัน ใน Coconut water medium

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากภาพที่ 4.1 จะทราบถึงผลการสร้าง cellulose โดยเปรียบเทียบจากขนาดของขนาดใยบวบที่ใช้ในการทดลองคือ 1.5 cm, 1.0 cm และ 0.5 cm ใช้ปริมาณใยบวบ 0.5% (w/v) หรือปริมาณ 5 g. ทำการหมักแบบ batch เพาะเลี้ยงเชื้อใน Coconut water medium ทำการหมักในขวดแลปฝาเกลียว ขนาด 2000 ml ปริมาตรน้ำหมัก 1 ลิตร เพื่อหาประสิทธิภาพของขนาดใยบวบที่เหมาะสมที่สามารถสร้าง cellulose ได้เหมาะสมที่สุด ในสภาวะให้อากาศปริมาณ 15 ml/min จากการทดลองได้ค่าน้ำหนักของวุ้น cellulose เท่ากับ 111.74 g/L, 68.78 g/L, 48.13 g/L ค่า cellulose เท่ากับ 9.56 g/L, 7.29 g/L, 4.94 g/L ค่า cell content เท่ากับ 25.18 g/L, 21.92 g/L, 11.47 g/L ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายในน้ำ ($^{\circ}$ Brix) เท่ากับ 10.87g/L, 6.70g/L, 7.93g/L ค่า Water holding capacity เท่ากับ 92.12 g/L, 49.39 g/L, 43.24 g/L และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) (ในน้ำหมักและเนื้อวุ้น) เท่ากับ 2.90 ppm, 0.79 ppm, 4.85 ppm, 2.32 ppm, 0.41 ppm, 2.22 ppm ตามลำดับ เมื่อพิจารณาจากกราฟแผนภูมิแท่ง (ภาพที่4.1) จะแสดงให้เห็นว่าขนาดใยบวบมีผลต่อประสิทธิภาพในการสร้างเซลลูโลส โดยจากการทดลองใช้ใยบวบ 3 ขนาด ในการตรึงเส้นใยเซลล์ จะเห็นได้ว่าขนาดใยบวบ 1.5 cm สามารถสร้าง cellulose ได้ดีกว่าขนาด 1.0 และ 0.5 cm จากค่าวิเคราะห์ ค่า Cell content, Water holding, capacity, น้ำหนักวุ้น Cellulose, Cellulose ที่มากที่สุด จากการทดลองจะเห็นว่าขนาดใยบวบ 1.5 cm มีผลต่อสามารถในการสร้าง cellulose ของ *A. xylinum* ลงคือ 1.0 cm และ 0.5 ตามลำดับ สรุปได้ว่าขนาดใยบวบที่พื้นที่มากกว่ามีประสิทธิภาพในการสร้าง cellulose มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ระยะเวลาติดตามค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในสภาวะให้อากาศ

เนื่องจากการศึกษาขนาดไยบวบที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial Cellulose ในสภาวะให้อากาศ พบว่าขนาดไยบวบมีผลต่อประสิทธิภาพในการสร้างเซลลูโลสจากนั้นทำการศึกษการติดตามค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการทดลองเป็นระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน และ 7 วันโดยทำการหมักแบบ batch ให้อากาศปริมาณ 15 ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min ตามลำดับใช้ปริมาณไยบวบ 0.5% (w/v) และขนาดไยบวบที่เหมาะสมได้แก่ 1.5 cm ทำการหมักในขวดแลปฝาเกลียว ขนาด 2000 ml ปริมาตรน้ำหมัก 1 ลิตร เพาะเลี้ยงเชื้อใน Coconut water medium โดยมีการกำหนด condition ที่ใช้ในการหมัก คือ ใส่ไยบวบและไม่ใส่ไยบวบ เพื่อเปรียบเทียบอัตราการสร้างเซลลูโลสภายใต้ condition ที่กำหนด

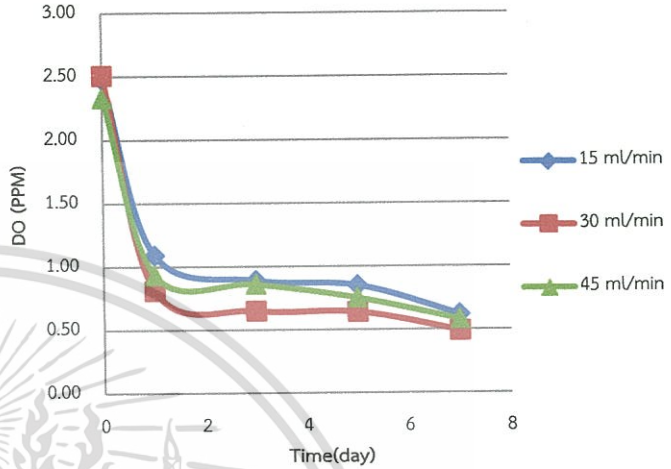
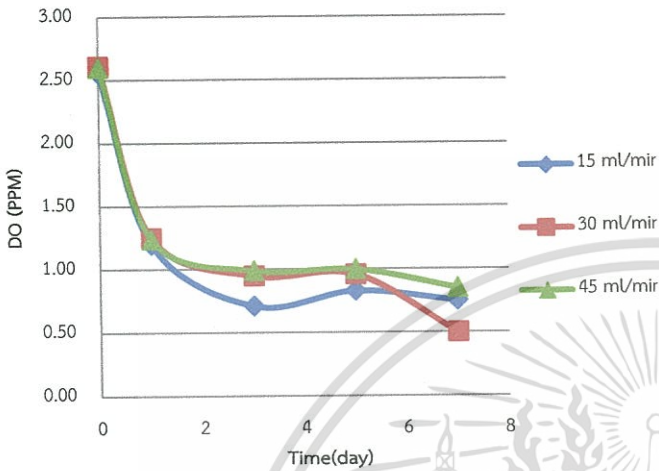


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ค่า DO ในน้ำหมัก

Luffa

Non-Luffa

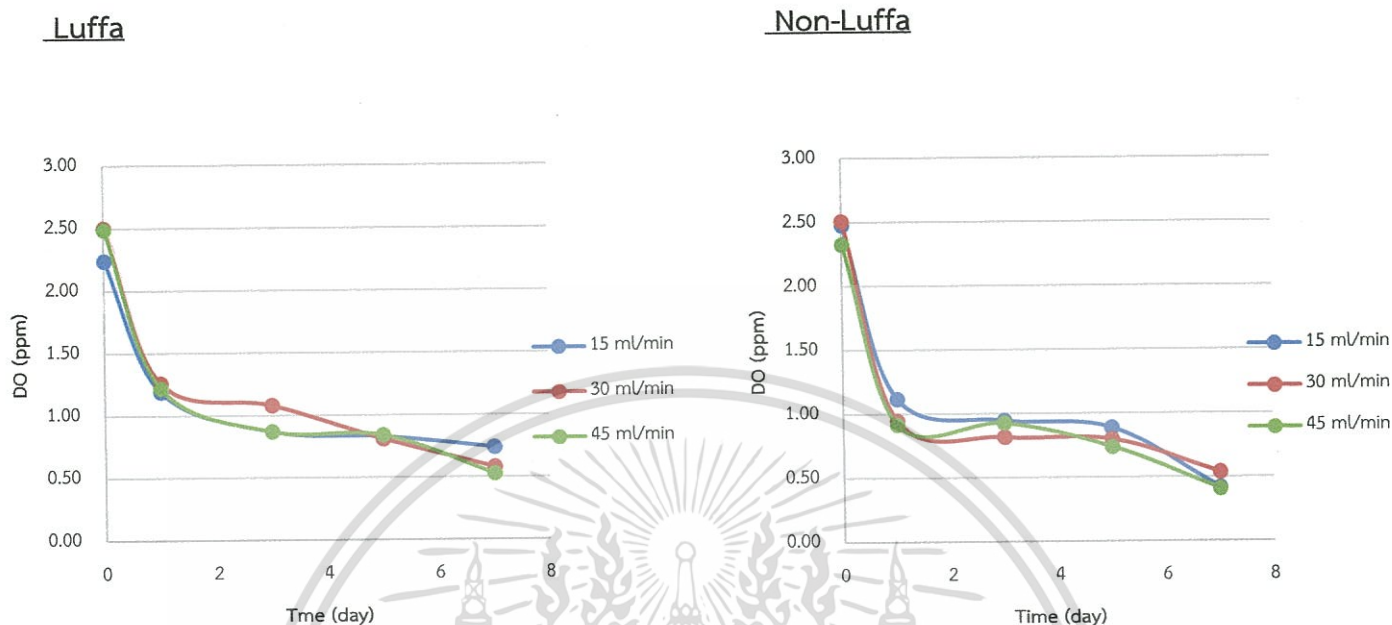


ภาพที่ 4.2 ผลอัตราการให้อากาศและค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมัก การหมักแบบ batch ไยบวบ ขนาด 1.5 cm มี condition ที่ใช้ในการหมักคือ ไส้ไยบวบและไม่ไส้ไยบวบ

จากภาพที่ 4.2 แสดงผลอัตราการให้อากาศและค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมัก การหมักแบบ batch ไยบวบขนาด 1.5 cm มี condition ที่ใช้ในการหมักคือ ไส้ไยบวบและไม่ไส้ไยบวบ ให้อากาศปริมาณ 15 ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min ตามลำดับ พบว่าทั้ง 2 condition มีค่า DO ที่ไปในทิศทางเดียวกันคือมีผลของค่า DO ที่ลดลงอย่างสม่ำเสมอ และอัตราการให้อากาศ 30 ml/min จะมีผลของค่า DO ดีที่สุด พิจารณาว่าค่า DO ที่ลดลงอย่างสม่ำเสมอ

148860

- ค่า DO ในเนื้อวุ้น



ภาพที่ 4.3 ผลอัตราการให้อากาศและค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในเนื้อวุ้น การหมักแบบ batch โยบวบ ขนาด 1.5 cm มี condition ที่ใช้ในการหมักคือ ใส่โยบวบและไม่ใส่โยบวบ

จากภาพที่ 4.3 แสดงผลอัตราการให้อากาศและค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมัก การหมักแบบ batch โยบวบขนาด 1.5 cm มี condition ที่ใช้ในการหมักคือ ใส่โยบวบและไม่ใส่โยบวบ ให้อากาศปริมาณ 15 ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min ตามลำดับ พบว่ามีค่า DO ของ condition ที่ใส่โยบวบ อัตราการให้อากาศ 45 ml/min มีผลของค่า DO ที่ลดลงอย่างสม่ำเสมอ และที่ค่าที่ใกล้เคียงกันในวันที่ 5,7 การทดลองที่ไม่ใส่โยบวบอัตราการให้อากาศ 30 ml/min จะมีค่า DO ต่ำที่สุด พิจารณาจากค่า DO ลดลงอย่างสม่ำเสมอมาก ในทั้ง 2 condition มีผลที่ไปในทิศทางเดียวกันคือมีของค่า DO ที่ลดลงทั้งการทดลองที่ใส่โยบวบและไม่ใส่โยบวบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

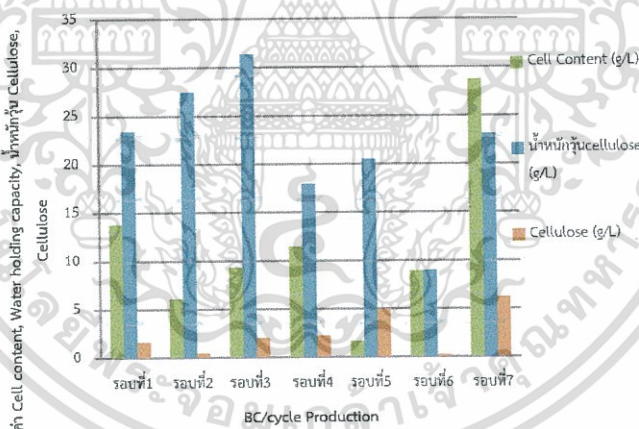
การติดตามค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการทดลองเป็นระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน และ 7 วัน โดยทำการหมักแบบ batch ให้อากาศปริมาณ 15 ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min ตามลำดับใช้ปริมาณใยบัว 0.5% (w/v) และขนาดใยบัว 3 ขนาด ได้แก่ 0.5cm, 1.0cm, 1.5 cm โดยมีการกำหนด condition ที่ใช้ในการหมัก คือ ใส่ใยบัวและไม่ใส่ใยบัว จะได้ว่าในส่วนของน้ำหมัก ทั้ง 2 condition คือที่ใส่ใยบัวลงไปในการหมักและไม่ใส่ใยบัว การให้อากาศ 30 ml/min มีผลของค่า DO ดีที่สุด ส่วนของเนื้อวุ้น ใน 2 condition ที่ไม่ใส่ใยบัวการให้อากาศ 30 ml/min มีผลของค่า DO ดีที่สุด แต่ใน condition ที่ใส่ใยบัว อัตราการให้อากาศ 45 ml/min มีผลของค่า DO ดีที่สุด กล่าวได้ว่าอัตราการให้อากาศมีผลต่อค่า DO ในการทดลอง และอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ค่า DO ดีที่สุดคือ 30 ml/min



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 จำนวนรอบของการสร้าง Bacterial cellulose ด้วย Bacterial cellulose-luffa เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารน้ำมะพร้าว

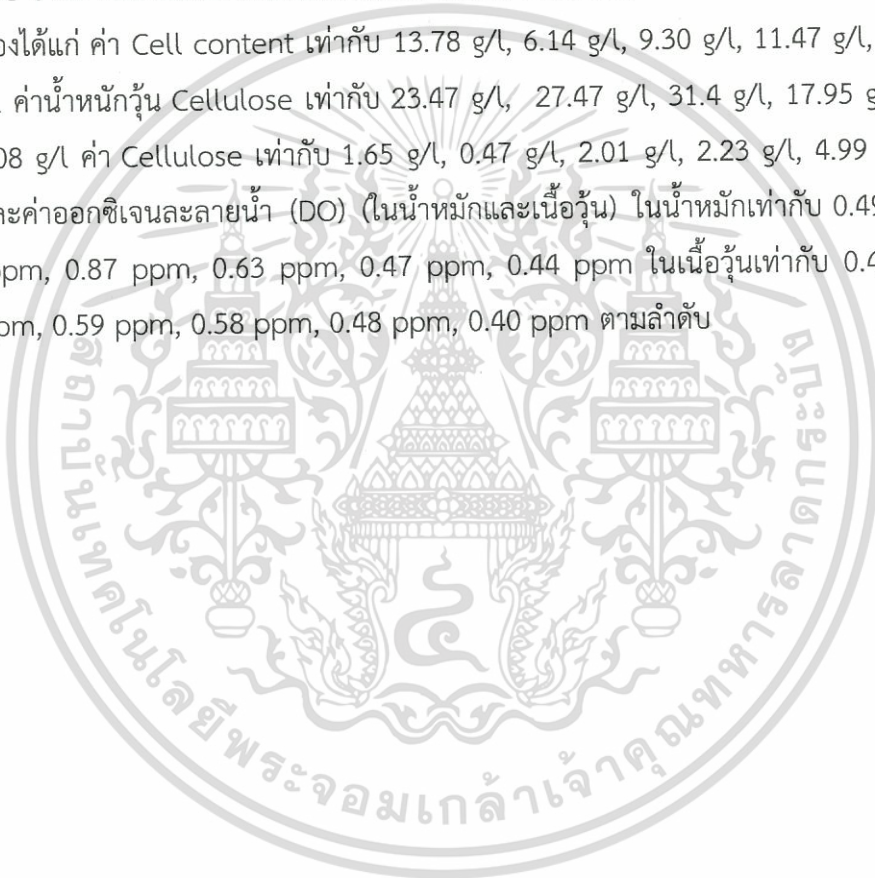
จากการศึกษาขนาดไยบวบที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial Cellulose ในสภาวะให้อากาศและระยะการติดตามค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในสภาวะให้อากาศ พบว่าขนาดไยบวบที่ใช้ในการตรึงเซลล์และการเปลี่ยนแปลงค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมักและในเนื้อวุ้น มีผลต่อประสิทธิภาพในการการสร้าง cellulose จากนั้นทำการศึกษารอบของการสร้าง Bacterial cellulose ด้วย Bacterial cellulose-luffa เพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารน้ำมะพร้าว โดยใช้ขนาดไยบวบ 1.5cm ปริมาณไยบวบ 0.5% (w/v) ให้อากาศ ปริมาณ 30 ml/min ทำการหมักแบบ semi – continuous fermentation ทำการหมักในขวดแลกเปลี่ยน เกลียว ขนาด 2000 ml ปริมาตรน้ำหมัก 1 ลิตร เพาะเลี้ยงเชื้อใน Coconut water medium ระยะเวลาในการหมัก 7 วัน เมื่อครบกำหนดดำเนินการเก็บเกี่ยว cellulose จากนั้นปรับสภาพอาหารเลี้ยงเชื้อให้มีปริมาณเท่าเดิมด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ Coconut water medium แล้วนำไยบวบที่ใช้ตรึง cellulose และผ่านการเก็บเกี่ยว cellulose ออกไปแล้ว นำกลับมาหมักต่อไป เพื่อหาจำนวนรอบของ Bacterial cellulose-luffa (ไยบวบ) ที่มากที่สุดต่อการสร้าง cellulose



ภาพที่ 4.4 ผลการสร้างเซลลูโลสและปริมาณอากาศ 30ml/min ทำการหมักแบบSemi-continuousใช้ขนาดไยบวบ 1.5 cm.ระยะเวลา 7 วันใน Coconut water medium ทำการเก็บเกี่ยว cellulose แล้วนำไยบวบที่ผ่านการเก็บเกี่ยวกลับมาหมักต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการศึกษาของขนาดใยบวบที่เหมาะสมต่อการสร้าง Bacterial Cellulose ในสภาวะให้อากาศ และผลอัตราการให้อากาศต่อการเปลี่ยนแปลงค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) ในน้ำหมักและในเนื้อวุ้น ที่มีผลต่อ ประสิทธิภาพในการการสร้าง cellulose จากนั้นทำการศึกษำนวนรอบของการสร้าง Bacterial cellulose ด้วย Bacterial cellulose-luffa จากขนาดใยบวบและปริมาณอัตราการให้อากาศที่เหมาะสม โดยการใช้ใย บวบขนาด 1.5 cm และอัตราการให้อากาศ 30 ml/min เพื่อศึกษาจำนวนรอบของการสร้าง Bacterial cellulose ด้วย Bacterial cellulose-luffa วิเคราะห์ผลค่าต่างๆหลังจากแยกวุ้นออกจากใยบวบเพื่อนำใย บวบเดิมใช้หมักในรอบต่อไปจะได้จำนวนรอบของ Bacterial cellulose-luffa(ใยบวบ) ที่มากที่สุดต่อการ สร้าง cellulose จากการทดลองได้จำนวนรอบของการสร้าง Bacterial cellulose ทั้งหมด 7 รอบได้ผล ได้ผลการทดลองได้แก่ ค่า Cell content เท่ากับ 13.78 g/L, 6.14 g/L, 9.30 g/L, 11.47 g/L, 1.7 g/L, 8.92 g/L, 28.74 g/L ค่าน้ำหนักรวุ้น Cellulose เท่ากับ 23.47 g/L, 27.47 g/L, 31.4 g/L, 17.95 g/L, 20.50 g/L, 9.01 g/L, 23.08 g/L ค่า Cellulose เท่ากับ 1.65 g/L, 0.47 g/L, 2.01 g/L, 2.23 g/L, 4.99 g/L, 0.26 g/L, 6.22 g/L และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) (ในน้ำหมักและเนื้อวุ้น) ในน้ำหมักเท่ากับ 0.49 ppm, 0.50 ppm, 0.54 ppm, 0.87 ppm, 0.63 ppm, 0.47 ppm, 0.44 ppm ในเนื้อวุ้นเท่ากับ 0.47 ppm, 0.25 ppm, 0.59 ppm, 0.59 ppm, 0.58 ppm, 0.48 ppm, 0.40 ppm ตามลำดับ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

บทนี้จะเป็นการนำข้อมูลตั้งแต่บทแรกจนถึงขั้นตอนการทดลองมาประกอบกัน เพื่อทำการสรุปใจความสำคัญของการศึกษาการสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยไยบวบในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้ำเชื้อ ว่าที่สภาวะใดมีความเหมาะสมมากที่สุด

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิต cellulose ด้วยการตรึงเซลล์ *A. xylinum* โดยไยบวบทำการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง หมักในอาหาร Coconut water medium ในสภาวะให้อากาศทำการศึกษขนาดของไยบวบ 3 ขนาดได้แก่ขนาด 0.5 cm 1.0 cm และ 1.5 cm จากการศึกษพบว่าไยบวบขนาด 1.5 cm สามารถสร้าง cellulose ได้ดีกว่าไยบวบขนาด 0.5 cm และ 1.0 cm พิจารณาจากผลวิเคราะห์ค่า Cell content ค่า Water holding capacity ค่าน้ำหนักวุ้น cellulose และค่า Cellulose สนิที่ผิวในการยึดเกาะมากกว่า สรุปได้ว่าขนาดไยบวบที่ใหญ่กว่าสามารถสร้าง cellulose ได้ดีกว่าเนื่องจาก *A. xylinum* ยึดเกาะกับไยบวบที่ใช้ในการทดลอง และขนาดไยบวบที่ใหญ่กว่ามีพื้นที่ในยึดเกาะได้ดีกว่า แต่ถ้ามมีพื้นที่ผิวมากเกินไปจะไม่พอดีกับอาหารเลี้ยงเชื้อ อาจทำให้สร้างเซลลูโลสได้ไม่ดึ้นัก ต่อไปเป็นการศึกษาค่าออกซิเจนละลายน้ำในสภาวะให้อากาศ มีอัตราการให้ปริมาณอากาศที่ 3 ระดับคือ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min ต่อการทดลอง 2 condition คือใส่ไยบวบและไม่ใส่ไยบวบ ทำการทดลองและเปรียบเทียบค่าออกซิเจนละลายน้ำที่ได้พบว่าอัตราการให้อากาศที่เหมาะสมต่อค่าออกซิเจนละลายน้ำ (DO) คืออัตราการให้อากาศ 30 ml/min ใน condition ที่ใส่ไยบวบ เปรียบเทียบได้จากผลของค่าออกซิเจนละลายน้ำที่ดีที่สุด ออกซิเจนที่ดีกว่าที่อัตราการให้อากาศ 15 ml/min และ 45 ml/min ซึ่งอาจจะมีผลจากการให้ปริมาณอากาศที่น้อยเกินไปและมากเกินไป จึงทำให้ค่าออกซิเจนละลายน้ำได้ผลที่ไม่ดีเท่าอัตราการให้อากาศที่ 30 ml/min สรุปได้ว่าขนาดไยบวบและปริมาณอัตราการให้อากาศ มีผลต่อการสร้าง cellulose จากนั้นได้ทำการศึกษจำนวนรอบของการสร้าง Bacterial cellulose ด้วย Bacterial cellulose-luffa คือการนำไยบวบขนาด 1.5 cm (ขนาดที่เหมาะสม) หมักในอาหารเลี้ยงเชื้อ Coconut water medium โดยการใช้ไยบวบเดิมที่แยกวุ้นออกในการหมักในครั้งต่อไป เพื่อศึกษาจำนวนรอบที่ได้มากกว่าที่สุด ในการทดลองได้ 7 รอบสรุปผลการทดลองได้ว่า สามารถใช้ไยบวบเดิมในการหมักในครั้งต่อไปได้ และมียังสร้าง cellulose เกิดขึ้นเรื่อยๆ

5.2 อภิปรายผลการทดลอง

จากการศึกษาการทดลองเรื่อง การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยไยบวบในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้ำเชื้อ โดยมีปัจจัยหลักสำคัญที่จะต้องทำการศึกษาคือ ขนาดไยบวบที่เหมาะสม ปริมาณการให้อากาศ และจำนวนรอบของการหมักโดยใช้ไยบวบเต็มที่แยกอุ่นออกแล้วนำไยบวบหมักในครั้งต่อไป เพื่อให้ได้จำนวนรอบที่มากที่สุด โดยไยบวบขนาด 1.5 cm ต่ออัตราการให้อากาศ 30 ml/min สามารถเกิดการสร้าง Cellulose ได้มีประสิทธิภาพมากกว่าขนาดไยบวบ 0.5 cm 1.0 cm และอัตราการให้อากาศ 15 ml/min 45 ml/min และการนำไยบวบเดิมไปใช้หมักต่อเนื่องได้ถึง 7 ครั้ง

5.3 ข้อเสนอแนะ

5.3.1 น้ำมะพร้าวที่ใช้ในการทดลองทุกครั้งต้องเป็นน้ำมะพร้าวที่สดใหม่ ที่ทำการเฉาะออกมาไม่เกิน 3 ชั่วโมง และน้ำมะพร้าวที่ใช้ต้องมาจากมะพร้าวแก่ น้ำมะพร้าวที่ดีควรมีลักษณะใส ไม่มีกลิ่นเหม็นบูด เพื่อให้ได้ประสิทธิภาพที่ดีในการสร้าง Cellulose

5.3.2 ไยบวบที่ใช้ในการทดลองทุกครั้งต้องมีการทำความสะอาดให้ดี เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นในการทดลอง ทำการตัดไยบวบก่อนนำไปทำความสะอาด และก่อนนำการใช้ทดลองควรนำไป Autoclave ก่อนนำไปใช้

5.2.3 ในการทดลองทุกครั้ง ต้องดำเนินแบบเทคนิคปลอดเชื้อ (aseptic technique) เพื่อป้องกันการเกิดการปนเปื้อนข้ามในขณะที่ทำการทดลอง

5.2.4 สามารถใช้ไยบวบเดิมในการหมักครั้งต่อไปจนกว่าจะไยบวบเดิมจะไม่ตรึงเซลล์ได้และไม่เกิดการสร้าง cellulose ต่อไป

บรรณานุกรม

- จรัญญา พูแฉ่น, วัลลภ อุ่นปิง, วิทยา แสงศรี และ กิตติ สัจจาวัฒนา. 2551. การศึกษาไกลโคและปัจจัยที่มีผลผลิตที่มีผลต่อการทำลายการพักตัวของเมล็ดบวบหอม. งานวิจัยสำนักวิชาเกษตรศาสตร์และทรัพยากรธรรมชาติ, มหาวิทยาลัยนเรศวร. แหล่งที่มา
http://www.turpif.or.th/project_reward/project_file/2551/1351D03050_Complete.pdf.
 12 มกราคม 2554.
- บุญเลิศ แซ่อ่อง. 2528. ปัญหาพิเศษ. การศึกษาผลผลิตก้อนขี้วันสวรรค์จากน้ำมะพร้าว. สงขลา : ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะทรัพยากรธรรมชาติ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.สงขลา.
- ปิยะ เฉลิมกลิ่น. 2538. รั้วกินได้. ไทยวัฒนาพานิช จำกัด, กรุงเทพฯ.
- มณชัย เดชสังกรานนท์. 2013. บทบาทของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial cellulose) ทางกายภาพ. สมศรี สปีพัฒนาวิทย์. 2530. ปัญหาพิเศษ.การทำสุรอาหารที่เหมาะสมสำหรับทำขี้วันสวรรค์จากน้ำมะพร้าวแก่. กรุงเทพฯ:ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. กรุงเทพฯ.
- สุภาพร สารศรี. 2544. การศึกษาลักษณะเบื้องต้นของบวบหอม. ปัญหาพิเศษปริญญาตรี, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- อนันต์ บุญปาน., สิริแข พงษ์สวัสดิ์., จีรพรรณ คำมา. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตขี้วันสวรรค์จากกากน้ำตาล A Study on the Optimum Condition for Nata Production from Molasses.
- อรัญ หันพงศ์กิติภูล. ๒๕๒๒. รายงานการวิจัย. การปรับปรุงการใช้ประโยชน์จากเนื้อและน้ำมะพร้าว.สงขลา: ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.สงขลา.
- Davis, J.M. and C.D. DeCourley. 1993. Luffa sponge gourds: a potential crop for small farms, p.560-561. In: J. Janick and J.E. Simon (eds.), New Crops, Wiley, New York.
- Erminda Tsouko., Constantina Kourmentza., Dimitrios Ladakis., Nikolaos Kopsahelis., Ioanna Mandala., Seraphim Papanikolaou., Fotis Paloukis., Vitor Alves., Apostolis Koutinas. 2015. Bacterial Cellulose Production from Industrial Waste and by-Product Streams. International Journal of Molecular Sciences. 16, 14832-14849
- Hiroshi Toyosaki., Takaaki NaRitomi., Akira Seto., Masanobu Matsuoka., Takayasu Tsuchida., Fumihiko yoshinaga. 1995. Screening of Bacterial Cellulose-producing Acetohacter Strains Suitable for Agitated Culture. Bioscience, Biotechnology, and Biochemistry. 59(8), 1498-1502.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Jung Wook Hwang., Young Kook Yang., Jae Kwan Hwang., Yu Ryang Pyun., Yu Sam Kim. 1999. Effects of pH and Dissolved Oxygen on Cellulose Production by *Acetobacter xylinum* BRC5 in Agitated Culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 88(2): 183-188.
- Porterfield, W.N. 1955. Loofah-the sponge gourd. *Econ. Bot.* 9: 211-223.
- Prashant R. Chawla, Ishwar B. Bajaj, Shrikant A. Survase and Rekha S. Singhal. 2008. Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications. 47(2): 107–124.
- Siti Mohainin Mohammad., Norliza Abd Rahman., Mohd Sahaid Khalil and Siti Rozaimah Sheikh Abdullah. 2014. *Advances in Biological Research*. 8(6): 307-313.
- Stanislaw Bielecki1., Alina Krystynowicz2., Marianna., Turkiewicz., Halina Kalinowska. n.d. (no date). 3:37-46.
- Tohru Kouda., Hisato yano., Fumihiro yoshinaga. 1997. Effect of Agitator Configuration on Bacterial Cellulose Productivity in Aerated and Agitated Culture. *Journal of Fermentation and Bioengineering*. 83(4): 371-376.
- Wei-Chih Huang., Shu-Jen Chen., Teh-Liang Chen. 2006. The role of dissolved oxygen and function of agitation in hyaluronic acid fermentation. *Biochemical Engineering Journal*. 32: 239–243.
- W. Scott Williams., Robert E. Cannon. 1989. Alternative Environmental Roles for Cellulose Produced by *Acetobacter xylinum*. *Applied and environment microbiology*. 55(10): 2448-2452.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

ก1. ค่าน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลส

นำวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการบ่มมาล้างด้วยน้ำสะอาดและคอยเปลี่ยนถ่ายน้ำจนกระทั่งวุ้นมีสีขาว ไม่มีกลิ่นของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นการเอาน้ำตาลออกจากวุ้นเซลลูโลส นำวุ้นที่ได้มาชั่งน้ำหนักบนเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง ยี่ห้อ BEC THAI รุ่น TP-1102 บริษัท BECTHAI Bangkok Equipment & Chemical ประเทศไทย

ก2. ค่าเซลลูโลสและปริมาณเซลล์ (Krusong et al.,2001)

นำเซลลูโลสได้จากการนำชิ้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้มาล้างน้ำสะอาดจนหมดน้ำตาล แล้วนำมาทรีตด้วยสารละลาย NaOH 2% ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที หลังการทรีตนำมาล้างน้ำสะอาดอีกครั้งและอบวุ้นเซลลูโลสข้ามคืน โดยใช้อุณหภูมิที่ 60 องศาเซลเซียส ใช้น้ำหนักที่ได้หลังจากการทิ้งไว้ให้เย็นหลังการอบที่อุณหภูมิห้อง มีหน่วยเป็นกรัมเซลลูโลส ของน้ำหนักแห้งต่อปริมาณอาหารเลี้ยงเชื้อ

ค่าเซลล์คอนเทนต์ได้จาก

$$\text{เซลล์คอนเทนต์} = \text{น้ำหนักเซลลูโลสก่อนทรีต NaOH} - \text{น้ำหนักเซลลูโลสหลังทรีต NaOH}$$

ก4. ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (Ranganna, 1986)

ใช้ Hand Refractometer วัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ โดยวิธีการวัดค่าทำได้โดยการหยดอาหารเลี้ยงเชื้อที่ต้องการวัดลงแผ่นปริซึมปิดด้วยแผ่นปิด โดยอาหารเลี้ยงเชื้อนั้นต้องทั่วแผ่นปริซึมจากนั้นทำการส่องมองผ่านช่องโนที่มีแสง อ่านสเกลที่ได้ผ่านทาง eyepiece โดยอ่านสเกลที่ได้ในสีที่ตัดกัน จากนั้นขีดทำความสะอาดแผ่นปริซึมด้วยกระดาษทิชชูชุบน้ำ

ก5. ค่าการอุ้มน้ำ (Water holding capacity) (Bradley, 2001)

Water holding capacity = Wet weight-Dry weight

โดยกำหนดให้

Wet weight คือ น้ำหนักวัชพืชเซลลูโลสที่ได้จากการบ่มหลังจากล้างน้ำสะอาดจนหมดน้ำตาล

Dry weight คือ น้ำหนักวัชพืชเซลลูโลสที่ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้องหลังจากทำการอบข้ามคืนที่

อุณหภูมิ 60-65 องศาเซลเซียส

ก6. ค่าปริมาณออกซิเจนในน้ำ (Dissoved Oxygen, DO)

วิธีการใช้งาน DO Meter

1. คลายเกลียวเมมเบรน เติมน้ำยาอิเล็กโทรไลต์ในเมมเบรน แล้วปิดให้สนิท เปิดเครื่องวัด DO วางทิ้งไว้ประมาณ 10 นาที เครื่องจะปิดเอง (สำหรับการใช้งานครั้งแรก)
2. เปิดเครื่อง กดปุ่ม “CAL” หลังจากนั้นค่าที่โชว์อุณหภูมิจะขึ้น “100” และกระพริบ วางเครื่องไว้หนึ่งๆ ห้ามเขย่า รอประมาณ 3-5 นาที ค่าจะนิ่ง แล้วกดปุ่ม “YES” เพื่อยืนยัน
(*การเติมน้ำยาในเมมเบรนไม่ควรทำในที่มืด)
3. จุ่มหัววัดลงไปในน้ำหมัก (ควรใช้หัววัดกวนน้ำหมักเล็กน้อย) รอค่าให้นิ่ง อ่านค่าและจดบันทึก
4. ในกรณีที่ไม่ได้ใช้เป็นเวลานาน ก่อนนำมาใช้ควรล้างหัววัดและเมมเบรนด้วยน้ำกลั่น ซับด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง
(*ในกรณีที่ไม่ได้ใช้เป็นเวลานานควรถอดแบตเตอรี่ออก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข1. อาหารเลี้ยงเชื้อน้ำมะพร้าว (วารวุฒิและคณะ, 2535)

1. น้ำตาลทราย 6% w/v
2. Acetic acid 1.5% v/v

ซึ่งส่วนผสมทั้งหมดรวมกันแล้วละลายในน้ำมะพร้าว จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีเตรียมสารเคมี

ค1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

1. NaOH 2% w/v

ชั่งน้ำหนัก NaOH 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น จากนั้นนำไปปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ข้อมูลผลการทดลอง

ตารางที่ ง.1 ข้อมูลผลการทดลอง การหมักแบบ batchระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบปริมาณ 5 กรัมตริงเซลล์ใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 3 สายยาง

Coconut water medium	ขนาดใยบวบ (cm.)								
	0.5 cm.			1 cm.			1.5cm.		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
น้ำหนักหลังเก็บเกี่ยว (g.)	71.03	103.33	86.89	142.13	105.76	110.3	165.31	93.4	104.7
น้ำหนักหลังทรีต (g.)	64	75.42	73.96	119.32	51.67	59.85	123.97	83.86	80.74
Cellulose (g.)	6.79	5.46	6.69	4.43	7.45	8.93	7.7	6.52	8.3
Cell content (g.)	7.03	27.91	12.93	18.16	21.90	29.56	45.99	41.73	44.85
Water Holding Capacity (g.)	59.57	67.97	65.03	112.53	46.21	53.16	116.20	77.34	72.44
Brix (°)	10.40	9.00	10.00	12.00	10.00	12.00	9.80	11.40	17.00
DO (น้ำหมัก) (ppm.)	1.47	0.22	0.67	2.26	2.05	2.05	3.17	2.25	1.73
DO (เนื้อ) (ppm.)	0.83	0.19	1.07	0.70	0.85	0.28	2.14	2.12	0.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.1.2 การสร้างเซลล์โลส ทำการหมักแบบ batch ให้อากาศปริมาณ 45 ml/min ระยะเวลา 7 วัน โดยใช้ 3 ขนาดใยบวบในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium

Size of Luffa spone (5%w/v)	Cellulose (g/l)	Cell content (g/l)
0.5cm	6.93 ^a ±2.29	15.95 ^a ±10.76
1.0cm	6.31 ^c ±0.74	23.21 ^b ±5.81
1.5 cm	7.59 ^b ±0.91	44.19 ^b ±2.21

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ
ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.2.1 ข้อมูลผลการทดลอง การหมักแบบ batch ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบัวปริมาณ 5 กรัมตริงเซลล์ใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 1 สายยาง

Coconut water medium	ขนาดใยบัว (cm.)								
	0.5 cm.			1 cm.			1.5cm.		
	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3	ซ้ำที่ 1	ซ้ำที่ 2	ซ้ำที่ 3
น้ำหนักหลังเก็บเกี่ยว (g.)	77.31	48.78	39.85	129.49	58.69	47.62	177.11	131.61	59.04
น้ำหนักหลังทรีต (g.)	73.98	40.97	29.57	147.55	30.2	28.6	171.7	114.17	49.35
Cellulose (g.)	4.44	6.44	3.93	10.75	6.41	4.72	8.41	7.82	0.08
Cell content (g.)	6.33	17.81	10.28	18.06	28.49	19.02	5.41	17.44	9.69
Water Holding Capacity (g.)	69.54	34.33	25.64	136.8	23.79	23.88	163.29	106.35	49.27
Brix (°)	10.8	6	7	9.1	4	7	10	10.2	12.4
DO (น้ำหมัก) (ppm.)	4.83	0.41	0.39	0.78	1.15	0.43	5.34	1.97	1.38
DO (เนื้อ) (ppm.)	5.87	0.39	0.41	0.37	0.4	4.5	3.64	1.87	1.63

ตารางที่ ง.2.2 การสร้างเซลล์ลูโลส ทำการหมักแบบ batch fermentation ให้อากาศปริมาณ 15 ml/min ระยะเวลา 7 วัน โดยใช้ 3 ขนาดใยบัวในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium

Size of Luffa spone (5%w/v)	Cellulose (g/l)	Cell content (g/l)
0.5cm	4.93 ^c ±1.32	11.47 ^a ±5.83
1.0cm	7.29 ^a ±3.11	19.25 ^c ±1.13
1.5 cm	9.56 ^b ±2.51	20.84 ^b ±9.71

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ
ร้อยละ 95 (p<0.05)
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.3 ข้อมูลผลการทดลองค่าการละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบ batch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/minระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน โดยใช้ขนาดใยบัว 0.5cmในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium ภายใต้ condition ที่กำหนด

Size of Luffa (5%w/v)	Date	Rate of Aeration (ml/min)	Dissolved oxygen (DO)ในน้ำ หมัก		Dissolved oxygen (DO)ใน เนื้อวุ้น	
			Condition		Condition	
			Luffa	Non - luffa	Luffa	Non - luffa
0.5cm	0	15 ml/min	2.33 ^c ±0.14	2.37 ^c ±0.43	2.34 ^c ±0.14	2.37 ^c ±0.43
		30 ml/min	2.17 ^a ±0.47	2.47 ^b ±0.46	2.17 ^a ±0.47	2.47 ^b ±0.46
		45 ml/min	2.01 ^b ±0.32	2.53 ^a ±0.59	2.10 ^b ±0.32	2.53 ^a ±0.59
1	1	15 ml/min	1.22 ^c ±0.27	1.32 ^c ±0.36	0.91 ^a ±0.74	1.32 ^c ±0.36
		30 ml/min	0.90 ^b ±0.45	1.05 ^a ±0.72	0.73 ^c ±0.58	1.06 ^a ±0.72
		45 ml/min	1.03 ^a ±0.62	0.97 ^b ±0.71	0.93 ^b ±0.65	0.97 ^b ±0.71
3	3	15 ml/min	0.83 ^a ±0.30	1.19 ^b ±0.25	0.89 ^c ±0.19	1.20 ^c ±0.25
		30 ml/min	0.70 ^b ±0.18	0.96 ^a ±0.43	0.73 ^a ±0.29	0.96 ^a ±0.43
		45 ml/min	0.90 ^c ±0.06	0.75 ^c ±0.07	0.91 ^b ±0.23	0.89 ^b ±0.31
5	5	15 ml/min	0.55 ^c ±0.26	0.45 ^c ±0.31	0.87 ^a ±0.53	0.45 ^c ±0.31
		30 ml/min	0.59 ^b ±0.30	0.64 ^a ±0.50	0.56 ^c ±0.13	0.66 ^a ±0.47
		45 ml/min	0.70 ^a ±0.49	0.79 ^b ±0.37	0.79 ^b ±0.46	0.76 ^b ±0.39
7	7	15 ml/min	3.64 ^a ±5.22	0.34 ^b ±0.20	0.42 ^b ±0.20	0.36 ^a ±0.21
		30 ml/min	0.74 ^b ±0.48	0.53 ^a ±0.33	0.47 ^a ±0.43	0.35 ^b ±0.16
		45 ml/min	0.48 ^c ±0.17	0.48 ^c ±0.07	0.40 ^c ±0.13	0.55 ^a ±0.21

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ
ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ๔.4 ข้อมูลผลการทดลองค่าการละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบ batch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/minระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน โดยใช้ขนาดใยบวบ 1.0cmในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium ภายใต้ condition ที่กำหนด

Size of Luffa (5%w/v)	Date	Rate of Aeration (ml/min)	Dissolved oxygen (DO)ในน้ำ หมัก		Dissolved oxygen (DO)ใน เนื้อวุ้น	
			Condition		Condition	
			Luffa	Non - luffa	Luffa	Non - luffa
1.0cm	0	15 ml/min	2.67 ^a ±0.34	2.57 ^c ±0.44	2.67 ^a ±0.34	2.57 ^c ±0.44
		30 ml/min	2.31 ^b ±0.15	2.35 ^a ±0.50	2.31 ^b ±0.15	2.35 ^a ±0.50
		45 ml/min	2.08 ^c ±0.07	2.54 ^b ±0.48	2.08 ^c ±0.07	2.54 ^b ±0.48
	1	15 ml/min	1.01 ^c ±0.32	1.49 ^c ±0.38	1.04 ^c ±0.13	1.49 ^c ±0.38
		30 ml/min	0.98 ^b ±0.36	1.48 ^a ±0.71	0.97 ^a ±0.36	1.48 ^a ±0.71
		45 ml/min	1.00 ^a ±0.42	1.24 ^b ±0.47	1.01 ^b ±0.25	1.24 ^b ±0.47
	3	15 ml/min	0.65 ^a ±0.34	1.08 ^a ±0.47	0.95 ^a ±0.68	1.08 ^a ±0.47
		30 ml/min	0.86 ^c ±0.28	0.98 ^c ±0.18	0.88 ^b ±0.38	0.98 ^b ±0.18
		45 ml/min	0.64 ^b ±0.30	1.10 ^b ±0.38	0.90 ^c ±0.25	1.10 ^a ±0.38
	5	15 ml/min	0.69 ^a ±0.28	1.31 ^c ±1.04	0.80 ^c ±0.04	0.98 ^b ±0.64
		30 ml/min	0.78 ^b ±0.24	0.97 ^a ±0.76	0.84 ^b ±0.49	0.97 ^a ±0.76
		45 ml/min	0.66 ^c ±0.23	0.71 ^b ±0.23	0.95 ^a ±0.62	0.78 ^c ±0.20
	7	15 ml/min	0.69 ^b ±0.29	0.67 ^c ±0.06	0.86±0.54	0.92 ^b ±0.44
		30 ml/min	0.65 ^a ±0.42	0.74 ^b ±0.09	0.77±0.30	0.92 ^a ±0.46
		45 ml/min	0.68 ^c ±0.10	0.65 ^a ±0.11	0.85±0.46	0.72 ^c ±0.27

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ
ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.5 ข้อมูลผลการทดลองค่าการละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบ batch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/minระยะเวลา 0 วัน, 1 วัน, 3 วัน, 5 วัน, 7 วัน โดยใช้ขนาดใยบวบ 1.5cmในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium ภายใต้ condition ที่กำหนด

Size of Luffaspone (5%w/v)	Date	Rate of Aeration (ml/min)	Dissolved oxygen (DO)ในน้ำหมัก		Dissolved oxygen (DO)ในเนื้อวุ้น	
			Condition		Condition	
			Luffa	Non - luffa	Luffa	Non - luffa
1.5cm	0	15 ml/min	2.56 ^c ±0.52	2.48 ^b ±0.72	2.24 ^c ±0.43	2.48 ^c ±0.72
		30 ml/min	2.60 ^a ±0.68	2.51 ^c ±0.63	2.50 ^a ±0.53	2.51 ^b ±0.63
		45 ml/min	2.61 ^b ±0.62	2.33 ^a ±0.80	2.49 ^b ±0.46	2.33 ^a ±0.80
	1	15 ml/min	1.2 ^b ±0.65	1.09 ^c ±0.12	1.19 ^b ±0.41	1.12 ^c ±0.08
		30 ml/min	1.24 ^c ±0.44	0.81 ^b ±0.24	1.26 ^c ±0.27	0.95 ^a ±0.35
		45 ml/min	1.25 ^a ±0.75	0.94 ^a ±0.30	1.22 ^a ±0.57	0.92 ^b ±0.32
	3	15 ml/min	0.71 ^c ±0.29	0.93 ^b ±0.22	0.87 ^c ±0.04	0.89 ^a ±0.85
		30 ml/min	0.99 ^a ±0.45	0.89 ^c ±0.03	0.86 ^b ±0.36	0.80 ^c ±0.28
		45 ml/min	0.95 ^b ±0.39	0.86 ^a ±0.27	1.08 ^a ±0.37	0.92 ^b ±0.34
	5	15 ml/min	1.00 ^a ±0.52	0.85 ^c ±0.09	0.83 ^a ±0.44	0.89 ^a ±0.85
		30 ml/min	1.28 ^c ±0.06	0.64 ^b ±0.19	0.81 ^b ±0.23	0.80 ^c ±0.28
		45 ml/min	1.28 ^b ±0.60	0.75 ^a ±0.33	0.84 ^c ±0.16	0.92 ^b ±0.34
	7	15 ml/min	0.67 ^a ±0.61	0.62 ^b ±0.34	0.74 ^c ±0.02	0.42 ^a ±0.41
		30 ml/min	0.74 ^c ±0.09	0.49 ^a ±0.35	0.58 ^a ±0.45	0.54 ^b ±0.33
		45 ml/min	0.65 ^b ±0.19	0.58 ^c ±0.30	0.81 ^b ±0.12	0.41 ^c ±0.31

หมายเหตุ ^{a-c} ตัวอักษรที่ต่างกันในแต่ละแถวเดียวกันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อ ร้อยละ 95 (p<0.05)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.6 ข้อมูลผลการทดลอง จำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัม ตริงเซลลีน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 15 mL/min

Coconut water medium	จำนวนรอบการหมัก						
	1	2	3	4	5	6	7
น้ำหนักหลังเก็บเกี่ยว (g.)	42.68	38.46	10.77	6.37	3.20	9.82	50.42
น้ำหนักหลังทรีต (g.)	38.50	13.40	9.69	4.75	1.57	3.36	31.64
Cellulose (g.)	1.20	0.27	0.65	2.99	0.33	0.18	13.13
Cell content (g.)	4.36	23.06	1.08	1.64	1.63	6.46	18.78
Water Holding Capacity (g.)	37.30	15.13	9.04	1.76	1.24	3.18	18.51
DO(น้ำหมัก)(ppm.)	0.45	0.60	0.68	0.87	0.63	0.57	0.55
DO (เนื้อ) (ppm.)	0.40	0.30	0.75	0.57	0.58	0.68	0.51

*** รอบที่ 7 สิ้นสุดการหมัก (น้ำหนักผลได้รวมใยบวบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ง.7 ข้อมูลผลการทดลอง จำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัม ตริงเซลล์ใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 30 mL/min

Coconut water medium	จำนวนรอบการหมัก						
	1	2	3	4	5	6	7
น้ำหนักหลังเก็บเกี่ยว (g.)	37.20	23.61	40.7	29.42	22.20	17.93	51.82
น้ำหนักหลังทรีต (g.)	26.54	27.47	31.4	17.95	20.50	9.01	23.08
Cellulose (g.)	1.65	0.47	2.01	2.23	4.99	0.26	6.22
Cell content (g.)	13.78	6.4	9.30	11.47	1.7	8.92	28.74
Water Holding Capacity (g.)	21.77	27.0	38.69	15.72	15.51	8.73	16.86
DO (น้ำหมัก(ppm.))	0.49	0.50	0.54	0.87	0.63	0.47	0.44
DO (เนื้อ) (ppm.)	0.47	0.25	0.59	0.59	0.58	0.48	0.46

*** รอบที่ 7 สิ้นสุดการหมัก (น้ำหนักผลได้รวมใยบวบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

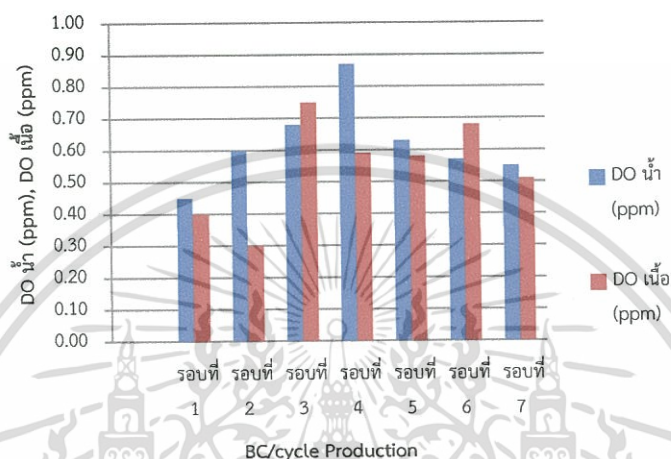
ตารางที่ ง.8 ข้อมูลผลการทดลอง จำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบวบขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัมตริงเซลล์ใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 45 mL/min

Coconut water medium	จำนวนรอบการหมัก						
	1	2	3	4	5	6	7
น้ำหนักหลังเก็บเกี่ยว (g.)	39.42	37.69	42.02	64.3	36.52	26.22	59.30
น้ำหนักหลังทรีต (g.)	23.42	22.05	29.67	21.2	31.9	19.12	28.67
Cellulose (g.)	3.07	0.40	1.08	0.36	6.68	0.65	6.60
Cell content (g.)	12.88	15.64	12.35	43.10	5.43	7.10	28.67
Water Holding Capacity (g.)	23.47	21.65	28.59	20.84	24.41	18.47	22.57
DO(น้ำหมัก)(ppm.)	0.62	0.41	0.56	1.08	0.86	0.56	0.57
DO (เนื้อ) (ppm.)	0.55	0.23	0.52	1.02	0.67	0.73	0.64

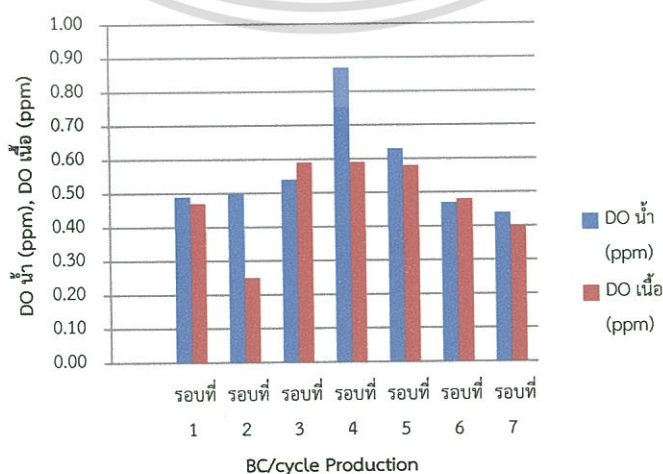
*** รอบที่ 7 สิ้นสุดการหมัก (น้ำหนักผลได้รวมใยบวบ)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ง.1 ข้อมูลผลการทดลองค่าการละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นของจำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบัวขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัมตริงเซลล์ใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 15 ml/min

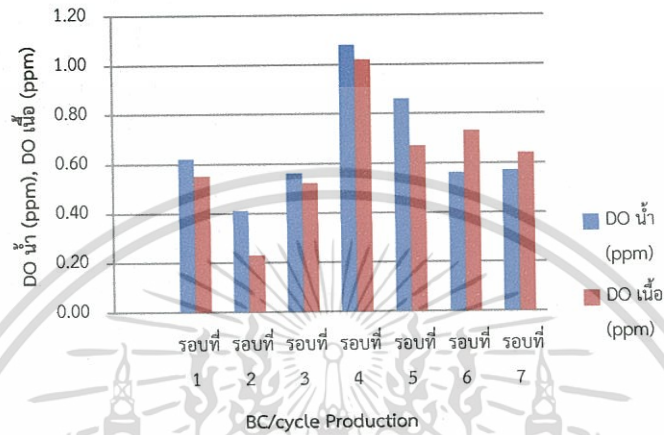


ภาพที่ ง.2 ข้อมูลผลการทดลองค่าการละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นของจำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบัวขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัมตริงเซลล์ใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 30 ml/min



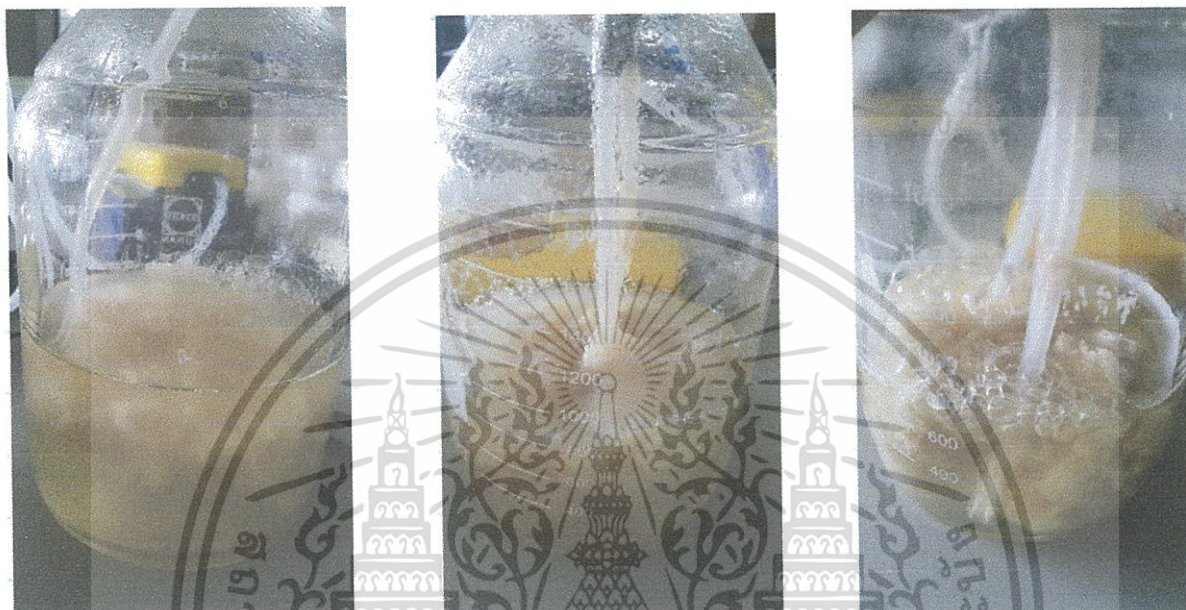
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ๓.3 ข้อมูลผลการทดลองค่าการละลายออกซิเจน(DO)ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นของจำนวนรอบการหมักแบบ Semi-batch fermentation ระยะเวลาการหมัก 7 วัน โดยใช้ใยบัวขนาด 1.5 cm ปริมาณ 5 กรัมตริงเซลลีใน Coconut water medium ใช้ปริมาณการให้อากาศ 45 ml/min



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ง.4 การละลายออกซิเจน (DO) ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบbatch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min โดยใช้ขนาดใยขาว 0.5cmในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium ภายใต้ condition ใส่ใยขาว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ ง.5 การละลายออกซิเจน (DO) ในน้ำหมักและเนื้อวุ้นทำการหมักแบบbatch ให้อากาศปริมาณ 15ml/min 30 ml/min และ 45 ml/min โดยใช้ขนาดใยบวบ 0.5cmในการตรึงเซลล์ใน Coconut water medium ภายใต้ condition ใส่ไม่ใยบวบ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	กัลยรัตน์ บุญเกื้อ
วัน เดือน ปี เกิด	4 ตุลาคม 2536
ประวัติการศึกษา	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สาขาวิชา อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร หลักสูตรวิทยาศาสตร์ บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงาน	บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) โรงงานอาหารแปรรูป สัตว์น้ำแกลง แผนกพัฒนาผลิตภัณฑ์
ผลงานวิจัย	การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยใยบวบ ในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้าเชื้อ
ชื่อ-นามสกุล	ณัฐดา โสภามาตร
วัน เดือน ปี เกิด	17 พฤศจิกายน 2536
ประวัติการศึกษา	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สาขาวิชา อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร หลักสูตรวิทยาศาสตร์ บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงาน	บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) โรงงานอาหารแปรรูป สัตว์น้ำแกลง แผนกพัฒนาผลิตภัณฑ์
ผลงานวิจัย	การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยใยบวบ ในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชื่อ-นามสกุล	ณัฐพร สายพรหม
วัน เดือน ปี เกิด	25 ตุลาคม 2536
ประวัติการศึกษา	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง สาขาวิชา อุตสาหกรรมเกษตร คณะอุตสาหกรรมเกษตร หลักสูตรวิทยาศาสตร บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
ประสบการณ์การทำงาน	บริษัท เจริญโภคภัณฑ์อาหาร จำกัด (มหาชน) โรงงานอาหารแปรรูป สัตว์น้ำแกลง แผนกพัฒนาผลิตภัณฑ์
ผลงานวิจัย	การสร้างแบคทีเรียเซลลูโลสโดยการตรึงเส้นใยเซลลูโลสด้วยไยบวบ ในระหว่างการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องแบบใช้กล้าเชื้อ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้