บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

น้ำเวย์ (whey) คือ ของเหลวที่เหลือหลังจากแยกส่วนที่ตกตะกอนออกจากน้ำนม, ครีม หรือนมไขมันต่ำ ส่วนประกอบของน้ำเวย์แปรผันตามส่วนประกอบของน้ำนมที่นำมาใช้ทำเนยแข็ง น้ำเวย์ที่ได้จากการตกตะกอนน้ำนมโดยใช้เอนไซม์ โดยมีค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 5.6 เรียกว่า sweet whey และถ้าตกตะกอนน้ำนมด้วยกระบวนการปรับให้เป็นกรด (acidification) มีค่าความเป็นกรด-ด่างประมาณ 5.1 หรือต่ำกว่า เรียกว่า acid whey (Zadow, 1992) โดยส่วนประกอบของสารอาหารในน้ำเวย์นมมีปริมาณโปรตีนร้อยละ 0.6-0.8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ปริมาณน้ำตาลแลคโตสร้อยละ 4.5-5.0 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และมีปริมาณไขมันร้อยละ 0.2-0.8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร (Rosenthal, 1991)

.

การผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลา (Mozzarella Cheese) (เอกสารเผยแพร่บริษัท แดซีโซ่ จำกัด)

1. น้ำนมดิบร้อยละ 50 ผสมหางนมร้อยละ 50
2. เพิ่มอุณหภูมิน้ำนมให้เป็น 32 องศาเซลเซียส
3. เติมกรดร้อยละ 1 (กรดอะซีติกความเข้มข้นร้อยละ 5)
4. เติมเอนไซม์เรนเนต ร้อยละ 0.001 คนนาน 5 นาที ทิ้งไว้ 45-60 นาที
5. ตัดเคิร์ด ออกเป็นชิ้นเล็ก ๆ คนทุก 5 นาที เพิ่มอุณหภูมิเป็น 36-38 องศาเซลเซียส คนนาน 30-40 นาที
6. ปล่อยน้ำเวย์ทิ้งพักเคิร์ด
7. นำเคิร์ดไปแช่ในน้ำร้อน อุณหภูมิ 76-78 องศาเซลเซียส
8. นำเนยแข็งไปนวดใส่เกลือ แล้วนำไปใส่พิมพ์
9. นำเนยแข็งไปแช่เย็น 1 คืน
10. รอการจำหน่าย

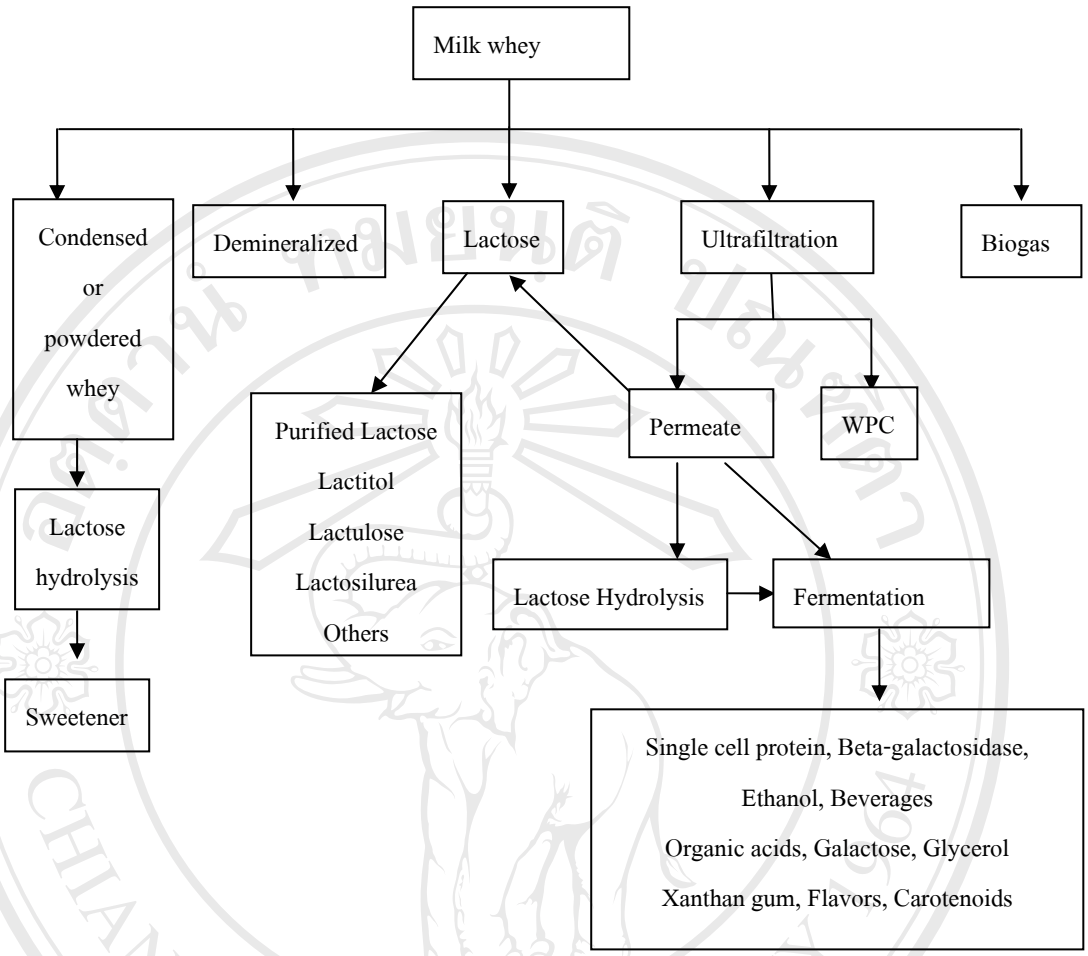
ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลา (Mozzarella Cheese) (เรณู และคณะ, 2544)

1. น้ำนมดิบไขมันร้อยละ 4.0-4.2 ที่อุณหภูมิต่ำกว่า 10 องศาเซลเซียส
2. เติมกรดอะซีติกร้อยละ 1 (กรดอะซีติกความเข้มข้นร้อยละ 10) กวนอย่างรวดเร็วนาน 2 นาที
3. ปรับอุณหภูมิเป็น 30 องศาเซลเซียส
4. เติมแคลเซียมคลอไรด์ร้อยละ 0.02 และเติมเอนไซม์เรนเนตร้อยละ 0.0025 กวน 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ 45 -60 นาที (อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส)
5. ตัดเคิร์ด (ขนาดประมาณ 4 -6 มิลลิเมตร) นาน 2 -3 นาที
6. กวนเคิร์ดนาน 25 นาที (อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส)
7. แยกน้ำเวย์
8. น้ำก้อนเคิร์ดล้างน้ำอุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียสนาน 5 นาที
9. แยกน้ำที่ใช้ล้างเคิร์ดทิ้ง
10. จัดก้อนเคิร์ดที่กระจายให้เป็นก้อนเดียวกัน
11. ตัดเคิร์ดให้เป็น 8 ส่วนเพื่อแยกน้ำเวย์ (แยกออกให้ได้มากที่สุด)
12. นำเคิร์ดวางซ้อนทับกันเพื่อให้น้ำเวย์แยกออกได้มากที่สุด
13. นำเคิร์ดมาต้มในน้ำเวย์อุณหภูมิ 80-90 องศาเซลเซียส
14. นำเคิร์ดมารีดแล้วพับสลับกัน 4 ครั้งในขณะร้อนอยู่โดยใช้ลูกกลิ้งเพื่อแยกน้ำเวย์ออกให้ได้มากที่สุด
15. ม้วนเคิร์ดที่รีดกำจัดน้ำเวย์ออกแล้วให้เป็นก้อนแล้วบรรจุลงพิมพ์
16. นำเนยแข็งออกจากพิมพ์แช่น้ำเกลือความเข้มข้นร้อยละ 10 นาน 2 ชั่วโมง
17. นำไปแช่เยือกแข็งอุณหภูมิ 0 องศาเซลเซียสเพื่อรอไว้ใช้งานต่อไป
18. บรรจุใส่ถุงโพลิเอทธิลีนปิดให้สนิท

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปัจจุบันมีการนำน้ำเวย์มาใช้ประโยชน์ประมาณร้อยละ 50 เป็นผลิตภัณฑ์อาหารหลายชนิด โดยพบว่า ร้อยละ 45 ถูกใช้ในรูปของเหลว ร้อยละ 30 ถูกใช้ในรูปเวย์ผง ร้อยละ 15 ถูกนำมาผลิตแลคโตส และผลิตภัณฑ์ที่มีการแยกแลคโตส ส่วนที่เหลือถูกนำมาผลิตโปรตีนเวย์เข้มข้น (Cheese whey protein concentrates) (Marwaha and Kennedy, 1984) มีงานวิจัยเกี่ยวกับการใช้เวย์อย่างต่อเนื่อง โดยมีผลิตภัณฑ์เวย์ที่หลากหลาย ดังแสดงในภาพที่ 2.1



ภาพที่ 2.1 แผนผังการใช้ประโยชน์น้ำเวย์ทางด้านการค้าและการศึกษาในปัจจุบัน
ที่มา : Siso M.I.G (1996)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ไบโอเซลลูโลส (Biocellulose)

ไบโอเซลลูโลส หรือแบคทีเรียเซลลูโลส (bacteria cellulose) เป็นเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรีย โดยส่วนใหญ่เป็นกลุ่ม *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* และ *Sarcina* ซึ่งมีลักษณะของโครงสร้างเซลลูโลสที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.1 แต่การผลิตเซลลูโลสที่มีประสิทธิภาพส่วนใหญ่มาจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* (Jonas and Farah, 1998)

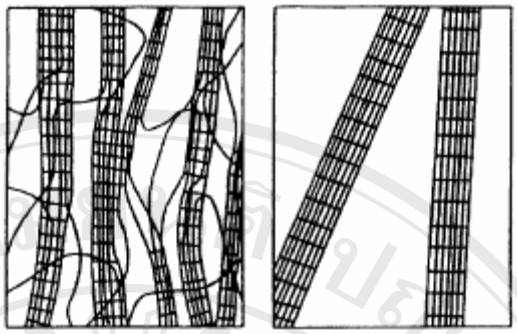
ตารางที่ 2.1 แบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างไบโอเซลลูโลส

Genus	**Cellulose structure**
Acetobacter	extracellular pellicle composed of ribbons
Achromobacter	fibrils
Aerobacter	fibrils
Agrobacterium	short fibrils
Alcaligenes	fibrils
Pseudomonas	no distinct fibrils
Rhizobium	short fibrils
Sarcina	amorphous cellulose
Zoogloca	not well defined

ที่มา : Jonas and Farah (1998)

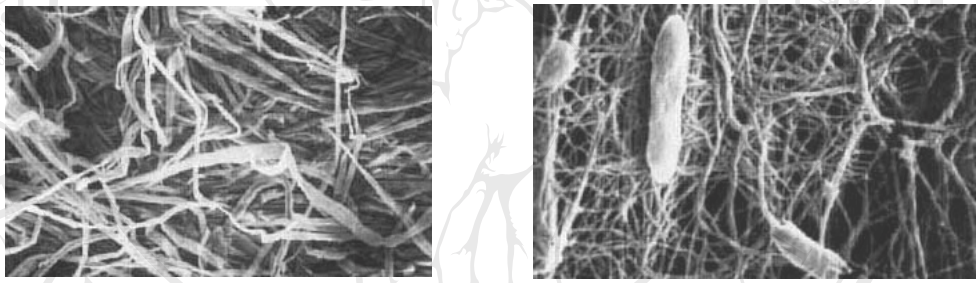
ไบโอเซลลูโลสมีโครงสร้างโพลีเมอร์ที่ไม่แตกกิ่งก้านสาขา ดังแสดงในภาพที่ 2.2 มีความเหมือนกับเซลลูโลสจากพืชในด้านของโครงสร้างทางเคมี แต่แตกต่างกันในด้านสมบัติทางด้านเคมีและกายภาพ ทั้งเซลลูโลส และไบโอเซลลูโลสมีโครงสร้างที่เหมือนกันคือมีการเชื่อมต่อโมโลกุลของกลูโคสด้วยพันธะไฮโดรเจนทั้งระหว่างและภายในโมเลกุลแบบ β-D-1,4 glucan แต่มี degree of polymerization ที่แตกต่างกันคือเซลลูโลสในพืชมีโมเลกุลของกลูโคสประมาณ 13,000–14,000 หน่วย และไบโอเซลลูโลสมีโมเลกุลของกลูโคส 2,000-6,000 หน่วยและเส้นผ่านศูนย์กลางไบโอเซลลูโลสมีขนาด 1/100 ของเส้นผ่านศูนย์กลางเส้นใยเซลลูโลสในพืชดังแสดงในภาพที่ 2.3 (Krystynowicz and Bielecki, 2001) โดยเอนไซม์ที่ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์ไบโอเซลลูโลส (Cellulose synthase) พบอยู่บริเวณ Cytoplasmic membrane ของเซลล์ (Saxena, 2003) ไบโอเซลลูโลสโดยปกติแล้วมีลักษณะโครงสร้างรูปผลึกที่ประกอบด้วย Micro-fibril cellulose ที่สร้างจาก Ribbon ที่มีความละเอียดนุ่มกว่าเซลลูโลสจากพืช (สมคิด, 2531 ; Cannon and Anderson, 1991)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างของไบโอเซลลูโลสไมโครไฟบริล (ขวา) เปรียบเทียบกับ Fringed micelles เซลลูโลสไฟบริลจากพืช (Plant cellulose) (ซ้าย)

ที่มา : Lguchi *et al.* (2000)



Plant cellulose (x 20,000) 2 μm

Bacterial cellulose (x 200) 200 μm

ภาพที่ 2.3 เส้นใยไบโอเซลลูโลส และเซลลูโลสจากพืช

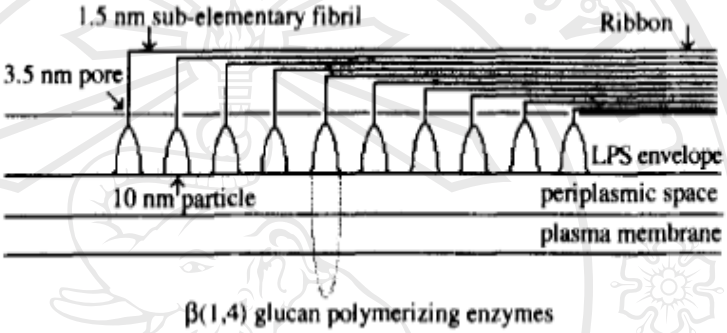
ที่มา : Shoda and Ano (2003)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

การสังเคราะห์ไบโอเซลลูโลส

การสังเคราะห์ไบโอเซลลูโลสเกิดขึ้นบริเวณผนังเซลล์ของเชื้อระหว่าง เยื่อหุ้มชั้นนอก และเยื่อหุ้มไซโตพลาสมา (Cytoplasma membrane) โดยกระบวนการสังเคราะห์เกิดขึ้นบริเวณผิวของแบคทีเรียและถูกขับออกมาภายนอกผ่านรูของเยื่อหุ้มเซลล์ เคลื่อนที่ออกมานอกเซลล์ (Brown *et al*, 1989) ดังแสดงในภาพที่ 2.4 การสังเคราะห์เซลลูโลสทั้งในพืชและเซลล์ Prokaryotes ถูกกระตุ้นโดยเอนไซม์ (UDP)-forming cellulose synthase ในกระบวนการทำงานของ 4-β-glycosyltransferase โดยทำการส่งผ่าน Glucopyranose ที่เหลือจาก UDPGlc (uridine

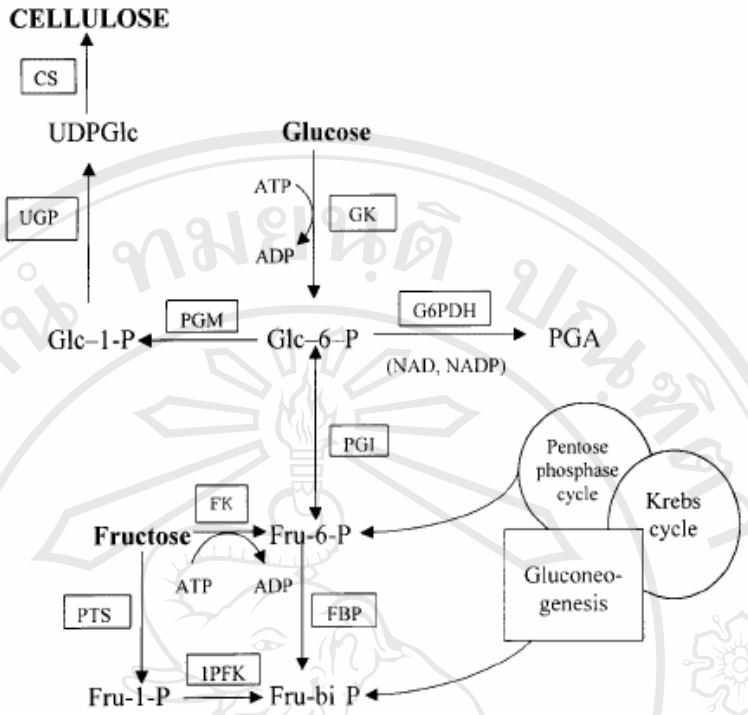
diphosphoglucose) สร้างโพลีแซคคาไรด์สายใหม่และทำหน้าที่เชื่อมภายในสายด้วย โดยเรียกว่า Oligomeric cellulose synthase complex ที่เรียกว่า Terminal complex ทำหน้าที่ในการสังเคราะห์สาย β-1, 4-glucan และทำหน้าที่ขับสาย β-1, 4-glucan ออกนอกเซลล์ ถ้า Terminal complex อยู่บริเวณไซโตพลาสซึมที่อยู่ติดกับพนังเซลล์ด้านใน



ภาพที่ 2.4 แบบจำลองการสร้าง Subfibrils cellulose ของเชื้อ *A. xylinum*
ที่มา : Jonas and Farah (1998)

กระบวนการทางชีวเคมีของการเปลี่ยนแปลงกลูโคสเป็นเซลลูโลสคือ เมื่อกลูโคสถูกนำเข้ากระบวนการสังเคราะห์ UDPGlc ในขั้นตอนแรกกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคส-6-ฟอสเฟต โดยอาศัยเอนไซม์กลูโคไคเนส (Glucokinase) จากนั้นเปลี่ยนเป็น กลูโคส-1-ฟอสเฟต โดยอาศัยเอนไซม์ ฟอสโฟกลูโคมูเตส (phosphoglucomutase) จากนั้นเปลี่ยนเป็น UDPGlc โดยอาศัยเอนไซม์ UDP-Glucose Pyrophosphorylase (UGP) จากนั้น เอนไซม์ Cellulose synthase จะเปลี่ยน UDPGlc ไปเป็น Cellulose (Jonas and Farah, 1998) ดังแสดงในภาพที่ 2.5

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved



ภาพที่ 2.5 วิถี carbon metabolism ของ *A. xylinum*

CS, cellulose synthase ; FBP, fructose-1,6-biphosphate phosphatase ; GK, glucokinase ; G6PDH, glucose-6-phosphate dehydrogenase ; PFK , fructose-1-phosphate kinase; PGI, phosphoglucoisomerase ; PMG, phosphoglucomutase ; PTS, system of phosphotransferase ; UGP, pyrophosphorylase; Fru-bi-P, fructose-1,6-bi-phosphate ; Fru-6-P, fructose-6-phosphate; Glc-6(1)-P, glucose-6(1)-phosphate ; PGA, phosphogluconic acid ; UDPGlc, uridine diphosphoglucose.

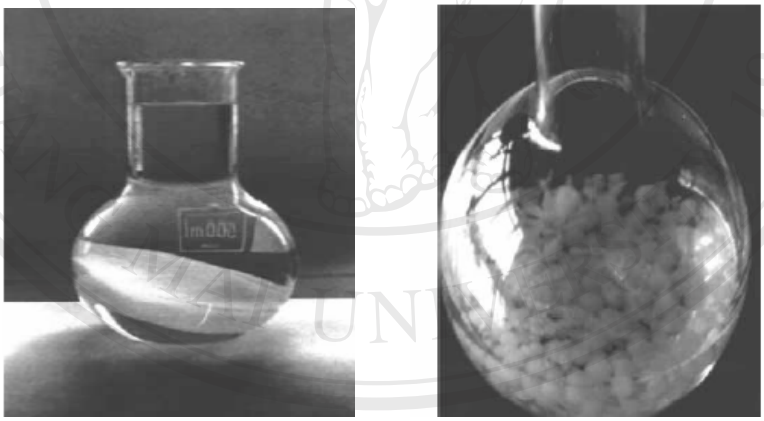
ที่มา : Vandamme *et al.* (2001)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

โดยพบสภาวะในการเลี้ยงมีความสำคัญต่อการสร้างเซลลูโลสสังเกตได้จากการศึกษาทางด้านสัณฐานวิทยาด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยการเลี้ยงในสภาวะนิ่ง และสภาวะเขย่าดังแสดงในภาพที่ 2.6 พบว่าการเลี้ยงในสภาวะนิ่งแบคทีเรียมีการสะสมและเพิ่มประมาณแผ่นเซลลูโลสบนบริเวณผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อเนื่องจากมีอากาศที่เชื้อต้องการในการเจริญ ซึ่งส่วนของเส้นใย (Subfibrils) ของเซลลูโลสถูกผลิตแล้วส่งออกมาบริเวณผิวนอกเซลล์ มีการสร้างและจัดเรียงที่ไม่เป็นระเบียบ (Jonas and Farah, 1998) การเลี้ยงในสภาวะนิ่ง มีการเชื่อมต่อของเส้นใยภายในน้อยกว่า สภาวะเขย่า ซึ่งโดยปกติแล้วสภาวะเขย่าไบโอเซลลูโลสสร้างในรูปร่างเม็ด รูปดาว ซึ่งเส้นใยมี

การกระจายตัวในอาหารได้ดีโดยสภาวะเขย่าไบโอเซลลูโลสมีรูปแบบการเรียงตัวภายในคล้ายตะแกรง มีการเรียงตัวตั้งฉากและเป็นการเรียงตัวของเส้นใยแบบหลวม ๆ

นอกจากนี้ยังพบความแตกต่างที่น่าสนใจเกี่ยวกับลักษณะโครงสร้างสามมิติภายในดูได้จาก scanning electron micrographs โดยลักษณะของไบโอเซลลูโลสในสภาวะการเลี้ยงแบบนิ่งเป็นเส้นใยที่มีการแผ่ขยายกว้างและทับถมกันอีกทั้งยังมีลักษณะการไขว้ไปมาคล้ายกากบาท ลักษณะของเส้นใยในสภาวะเขย่าเป็นเส้นใยที่มีการเกาะเกี่ยวกันและโค้ง มีขนาดตัดขวาง (Cross-sectional) กว้างกว่า (0.1-0.2 μm) ในขณะที่การเลี้ยงสภาวะนิ่งมีขนาดตัดขวางของเส้นใยกว้างเพียง (0.05-0.1 μm) โดยความแตกต่างทางด้านสัณฐานวิทยาของไบโอเซลลูโลสในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่าขึ้นอยู่กับการเปลี่ยนแปลงชั้นการเกิดผลึก (Degrees of crystallinity) และความแตกต่างของขนาดของผลึก และไบโอเซลลูโลสในสภาวะเขย่ามีดัชนีการเกิดผลึก ของเส้นใยเซลลูโลสน้อยกว่าและมีขนาดของผลึก (Crystalline) ที่เล็กกว่าเมื่อเทียบกับไบโอเซลลูโลสที่เลี้ยงในสภาวะนิ่ง (Jonas and Farah, 1998)



ภาพที่ 2.6 อนุภาคของไบโอเซลลูโลสที่เลี้ยงในสภาวะนิ่ง (ซ้าย) อนุภาคของไบโอเซลลูโลสที่เลี้ยงในสภาวะเขย่า
ที่มา : Vandamme *et al*. (2001)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สภาวะการเลี้ยงแบบเขย่าและแบบนิ่งมีระดับการเกิดโพลีเมอร์ (Degree of polymerization) 14,400 และ 10,900 ดัชนีการเกิดผลึก (Crystallinity index) 71 และ 63 มี Tensile strength จากค่า Yong's modulus 33.3 และ 28.3 ค่า Water holding capacity 45 และ 170 (g water/g biocellulose) และ Suspension viscosity 0.04 และ 0.52 Pa.s ตามลำดับ (Watanabe *et al*, 1998)

คุณสมบัติไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้มีดังนี้ (ปราโมทย์ และคณะ 2546)

มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีส่วนประกอบของ ลิกนิน และเพคตินเจือปน เส้นใยมีขนาดเล็ก เส้นใยมีความเป็น Hydrophilic สูงอุ้มน้ำได้ดี 60–700 เท่าของน้ำหนักแห้ง เส้นใยมีความยืดหยุ่น ทนต่อแรงดึง มีความสามารถในการกลับสู่สภาพเดิมสูง คุณสมบัติทางด้านเคมีกายภาพง่ายต่อการดัดต่อ มีประโยชน์ต่อสุขภาพ มีแคลอรี่ต่ำช่วยในการควบคุมน้ำหนัก ช่วยในการขับถ่าย ช่วยป้องกันมะเร็งในลำไส้ โดยไฟเบอร์ของไบโอเซลลูโลสอยู่ในรูปของเจล (gel form) ร่างกายสามารถนำไปใช้ประโยชน์ได้ง่ายกว่าไฟเบอร์จากพืชไม่มีความเป็นพิษ หรือก่อให้เกิดอาการระคายเคืองหรือทำให้เกิดอาการแพ้

การประยุกต์ใช้ไบโอเซลลูโลส

นำมาผลิตฟิล์มที่รับประทานได้ ใช้เพิ่มความหนืดในอาหาร สารปรุงแต่งอาหาร ใช้เป็นสารให้ความคงตัวของอิมัลชันในเครื่องสำอาง เช่นครีมบำรุงเล็บ หรือใช้เป็นส่วนประกอบของการทำเล็บเทียม ผลิตเส้นใย และกระดาษที่มีสมบัติพิเศษ เช่นผ้าอ้อมเด็ก ผ้าผันคอ ใช้ในงานวิจัยเกี่ยวกับการตรึงโปรตีน เทคนิคโครมาโตกราฟฟี และเป็นส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเนื้อเยื่อในหลอดทดลอง Cellulose film ที่ได้ยังสามารถนำมาพัฒนาเป็น Artificial skin เพื่อทดแทนผิวหนังเทียมที่ไหม้เกรียม เป็นแผลผุพอง หรือการสูญเสียเนื้อเยื่อจากการอักเสบ (Wound dressing) และอื่น ๆ อีก เนื่องจากมีความเหนียวแม้สภาวะเปียก และไม่ก่อให้เกิดอาการระคายเคือง มีการผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ทางการค้าจากไบโอเซลลูโลสที่ถูกนำมาประยุกต์ใช้อย่างกว้างขวางในการทำศัลยกรรม และการปลูกถ่ายฟันเช่น Biofill® Bioprocess® และ Gengiflex®เป็นต้น (Jonas and Farah, 1998)

จะเห็นได้ว่าไบโอเซลลูโลสสามารถนำมาประยุต์ใช้ประโยชน์ได้มากมายดังกล่าวไว้ข้างต้น จึงได้มีผู้วิจัยเกี่ยวกับการเพิ่มผลผลิตไบโอเซลลูโลสอย่างกว้างขวาง ดังแสดงในตารางที่ 2.2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากงานทดลองของรังสิมา (2538) พบว่าการทำเยื่อวุ้นมะพร้าวให้บริสุทธิ์โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ความเข้มข้นร้อยละ 2 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส นาน 1 ชั่วโมงพบว่าเยื่อวุ้นมะพร้าวให้ค่าดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุเพิ่มขึ้นร้อยละ 34 และมีค่าความสว่างเพิ่มขึ้นร้อยละ 24 และเมื่อทำการปรับสภาพเยื่อด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 1.25 ปริมาตรต่อปริมาตร ทำให้เยื่อที่ได้มีค่าแรงที่ใช้กระทำต่อการเปลี่ยนแปลงความยาว (Young's modulus) ความหนืด ดัชนีความต้านทางแรงดึง ดัชนีความต้านทางแรงฉีกขาด และดัชนีความต้านทานแรงดันทะลุน้อยกว่าฟิล์มที่ไม่ผ่านการปรับสภาพอยู่ร้อยละ 37, 46, 45, 58 และ 57 ตามลำดับ

ลักษณะของเชื้อ *Acetobacter xylinum*

A. xylinum (synomyms *A. aceti* ssp. *xylinum*, *A. xylinus*) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ ซึ่งมีลักษณะรูปร่างเซลล์เป็นท่อนสั้น ขนาด 0.7-0.8 ไมโครเมตร ยาว 1.0-3.0 ไมโครเมตร มักอยู่เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นเส้นสาย บางชนิดมีรูปร่างไม่แน่นอน เช่น ยาว กลม รูปถ้วย โค้ง หรือแตกสาขา บางพวกเคลื่อนที่ได้โดยใช้ Peritrichous flagella บางพวกเคลื่อนที่ไม่ได้ ไม่สร้างเอนโดสปอร์ เซลล์ที่ยังอ่อนอยู่ติดสีแกรมลบ ส่วนเซลล์ที่แก่ย้อมติดสีแกรมไม่แน่นอน *Acetobacter* สามารถออกซิไดส์สารอินทรีย์ไปเป็นกรดอินทรีย์ได้ เช่น เปลี่ยนเอทานอลไปเป็นกรดอะซีติก เปลี่ยนกลูโคสไปเป็น 5-ketogluconic acid และ Gluconic acid เปลี่ยนกลีเซอรอลและซอบิทอลให้เป็น Dihydroxyacetone นอกจากนี้ยังเปลี่ยนอะซิเตท และแลคเตทให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ (Holt *et al*, 1994) ลักษณะโคโลนีผิวไม่เรียบ (Rough-surface colony) มีความทนต่อเอนไซม์เซลลูเลส แต่มีความไวต่อด่าง เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต สามารถเจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ 4-42 องศาเซลเซียส

ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum*

ปริมาณกล้าเชื้อ

ปริมาณกล้าเชื้อมีความสำคัญต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* เนื่องจากแบคทีเรีย *A. xylinum* ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต การทำให้สภาวะในการหมักได้รับอากาศอาจทำให้เกิดการปนเปื้อนในระหว่างการหมักได้ ดังนั้นปริมาณกล้าเชื้อต้องมากพอที่จะเจริญแข่งขันกับเชื้อที่ปนเปื้อนได้ สมคิด (2531) ได้มีการศึกษาพบว่าปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมในการเจริญอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 โดยใช้อายุกล้าเชื้อ 3 วัน เช่นเดียวกับการทดลอง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

วราวุฒิ และคณะ (2536) แต่การทดลองของ Son *et al.* (2001) พบว่าปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 1-10 ไม่มีอิทธิพลต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสของเชื้อ

ค่าความเป็นกรด-ด่าง

โดยทั่วไปค่าความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรีย *A. xylinum* อยู่ในช่วง 4.0-7.0 (Jonas and Farah, 1998) เช่นเดียวกับการทดลองของ Son *et al.* (2001) ยังพบอีกว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 6.5 ในขณะที่การทดลองของ Masaoka *et al.* (1993) พบว่าช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลส คือ 4.0-6.0 และค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 7.7 นอกจากนี้ Vandamme *et al.* (1998) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่มีความเหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสคือ 5.5 สำหรับอุตสาหกรรมการผลิตไบโอเซลลูโลสทางการค้า Biofill® และ Gengiflex® พบว่าช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมคือ 4.0-4.5

อุณหภูมิ

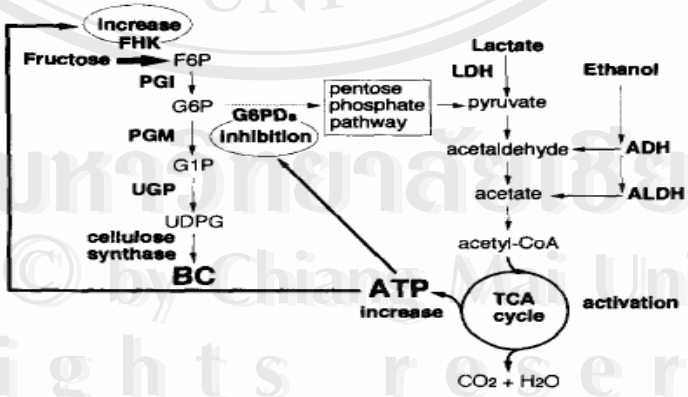
อุณหภูมิที่มีความเหมาะสมต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* อยู่ในช่วง 28-30 องศาเซลเซียส (Vandamme *et al*, 2001) Son *et al.* (2001) ทำการศึกษาอุณหภูมิช่วง 20-40 องศาเซลเซียส พบว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งให้ผลไม่แตกต่างกับ 25 องศาเซลเซียส เช่นเดียวกับ Jonas และ Farah (1998) ที่กล่าวว่าอุณหภูมิที่เหมาะสมในการสร้างไบโอเซลลูโลสคือ 25-30 องศาเซลเซียส

แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน

แหล่งคาร์บอนที่แบคทีเรีย *A. xylinum* สามารถนำมาใช้ในการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลส (BC) มีหลายชนิด ทั้งโมโนแซคคาไรด์ ไดแซคคาไรด์ และ โพลีแซคคาไรด์ แอลกอฮอล์ และกรดอินทรีย์ (Organic acid) แสดงในตารางที่ 2.2 จากการศึกษาของ Masaoka *et al.* (1993) ทำการเปรียบเทียบความสามารถในการใช้แหล่งคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโตเพื่อสร้างไบโอเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. xylinum* IFO 13693 พบว่าปริมาตรและความลึกของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีผลต่อการสร้างไบโอเซลลูโลส และพบว่าการผลิตไบโอเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มพื้นที่ผิวในการเลี้ยง สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมาตรฐานที่ประกอบด้วยเปบโตนร้อยละ 2, Yeast extract ร้อยละ 0.5, $Mg_2SO_4.7H_2O$ ร้อยละ 0.1, เอทานอลร้อยละ 0.2 , ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 6.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

และกล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสคือ 4.0-6.0 นอกจากนี้ Tonouchi *et al*. (1996) ทำการศึกษาการใช้กลูโคสและฟรุคโตส เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเพื่อสร้างเซลลูโลสพบว่าการใช้ฟรุคโตสให้ผลกระตุ้นกิจกรรมของเอนไซม์ Phosphoglucose isomerase และ UDP Glucose Pyrophosphorylase (UGP) ซึ่งส่งเสริมให้ได้เซลลูโลสเพิ่มขึ้น และพบว่า เอทานอลมีความสามารถกระตุ้นการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย สอดคล้องกับ Naritomi *et al*. (1998) พบว่า *A. xylinum* subsp. *sucrofermetans* BPR 3001A เลี้ยงในสภาวะต่อเนื่อง ให้อาหารที่มีฟรุคโตส พบว่าเอทานอลที่ร้อยละ 1 ช่วยเพิ่มผลผลิตของเซลลูโลส แต่ความเข้มข้นที่ ร้อยละ 1.5 ส่งผลจำกัดการสังเคราะห์โพลีเมอร์ ซึ่งให้ผลเช่นเดียวกันกับ Lactate โดยเอทานอลเป็นแหล่งสร้างพลังงานสะสม (สะสม ATP และเพิ่ม ATP) แต่ไม่ใช่สารตั้งต้นในการสร้างเซลลูโลส โดย ATP ที่ได้จะกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ Fructose kinase ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลฟรุคโตสเป็น Fructose 6-phosphate (F6P) จากนั้น F6P เปลี่ยนเป็น Glucose 6-phosphate (G6F) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิตไบโอเซลลูโลส โดย ATP ที่เพิ่มขึ้นยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ Glucose 6-phosphate dehydrogenases (G6PDs) ทำให้มี G6F ที่ใช้ในวิถีการผลิตไบโอเซลลูโลสมากขึ้น การผลิตไบโอเซลลูโลสจึงเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ Son *et al*. (2001) พบว่าการเติมเอทานอลที่ร้อยละ 1.4 ปริมาตร/ปริมาตร ช่วยเพิ่มการผลิตและสร้างไบโอเซลลูโลสของ *Acetobacter* sp. A9 ได้จากเดิม 2.2 กรัม/ลิตร เป็น 15.2 กรัม/ลิตร และยังพบอีกว่าการเติมเอทานอลไม่ให้เกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของแบคทีเรีย



ภาพที่ 2.7 กลไกการผลิตไบโอเซลลูโลส (BC) จากฟรุคโตสขณะที่มีเอทานอล หรือแลคเตท
ที่มา : Naritomi *et al*. (1998)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.3 ผลของแหล่งคาร์บอนต่อการผลิตเซลลูโลสโดย *A. xylinum*

แหล่งคาร์บอน	เซลลูโลส (cellulose yield) (%)
Monosaccharide	
D-Glucose	100
D-Fructose	92
D-Galactose	15
D-Xylose	11
L-Arabinose	14
L-Sorbose	11
Disaccharides	
Lactose	16
Maltose	7
Sucrose	33
Cellobiose	7-11
Polysaccharides	
Starch	18
Alcohol	
Ethanol	4
Ethylene glycol	1
Propylene glycol	8
Glycerol	93
Myo-inositol	17
D-Aribitol	62
D-Mannitol	38
Organic acids	
Citric acid	20
L-malic acid	15
Succinic acid	12
Other	
Glucono-lactone	62
O-methyl-glucose	0.5
No carbon source	2

ที่มา : Masaoka *et al*. (1993)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสมีความต้องการแหล่งไนโตรเจนที่มีความจำเพาะเจาะจง โดยไม่เฉพาะกรดอะมิโน แต่รวมหมายถึงวิตามินและเกลือแร่ด้วย โดยแหล่งไนโตรเจนที่พบเป็น Yeast extract , Corn sleep liquor และ Casein hydrolyzates ซึ่ง Yeast extract และ Peptone ถือเป็นแหล่งไนโตรเจนพื้นฐานที่ใช้ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin and Schramm ซึ่งเป็นแหล่งไนโตรเจนที่มีราคาแพง สามารถใช้ Corn steep liquor ทดแทนได้ อย่างไรก็ตามของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น โมลาสจากน้ำตาลบีท (Sugar beet molasses) ของเหลวที่เหลือจากการแยกน้ำตาลกลูโคสจากการไฮโดรไลซิสแป้ง (Starch hydrolyzates) น้ำเวย์ และของเสียจากอุตสาหกรรมการหมัก เช่น ของเหลวที่เหลือจากการตกตะกอนเดรกแตรน (Dextran) ด้วยเอทานอล ถือว่าเป็นแหล่งสารอาหารที่เหมาะสมได้ (Krystrynowicz *et al*, 2000) โดย Budhiono *et al.* (1999) ได้ทำการศึกษาพบว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการเจริญของ *A. xylinum* คือ ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต $(NH_4)_2HPO_4$ และแอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสไม่แตกต่างกัน โดย $(NH_4)_2HPO_4$ ให้ผลดีกว่า นอกจากนี้ สุเมธ และวราวุฒิ (2537) ได้ทำการศึกษาพบว่าสารประกอบไนโตรเจนที่ดีที่สุดในการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสคือ แอมโมเนียมซัลเฟต $(NH_4)_2SO_4$ Son *et al.* (2001) ศึกษาการเติมแหล่งไนโตรเจนต่อการเจริญของเชื้อ *Acetobacter* sp. A9 ในปริมาณร้อยละ 0.5 น้ำหนัก/ปริมาตร พบว่า Corn steep liquor, Polypeptone และ Yeast extract ให้ผลไม่แตกต่างกัน โดย Corn steep liquor ให้ผลดีที่สุดในอาหารเลี้ยงเชื้อ เช่นเดียวกันกับแบคทีเรีย *A. xylinum* subsp. *sucrofermentans* BPR2001 พบว่า Corn steep liquor เป็นแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมสำหรับการสร้างไบโอเซลลูโลส เนื่องจาก Lactate กระตุ้นการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลส

มีการศึกษาวิตามิน และสารเคมีบางชนิดในอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่า มีความสำคัญต่อการเจริญและการสร้างไบโอเซลลูโลส เช่น Pyridoxine, Nicotinic acid, *P*-aminobenzone และไบโอติน (Jonas and Farah, 1998) เช่นเดียวกับ การใช้ Methionine ของ Matsuoka *et al.* (1996) ซึ่งการเติมสารอาหารและสารเคมีต่าง ๆ เพื่อสร้างสิ่งแวดล้อมให้เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อมีหน้าที่แตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 2.3 และ 2.4

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.4 หน้าที่ของสารอาหารในอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเจริญของแบคทีเรีย

component	Function of component
Sucrose	C and energy source
Yeast extract	Source of vitamins and other growth factors
Peptone	Source of amino acids N S and P
Glucose	C and energy source
Agar	Inert solidifying agent
K_2HPO_4	pH buffer ; P and K source
KH_2PO_4	pH buffer ; P and K source
$(NH_4)_2HPO_4$	pH buffer ; N and P source
$MgSO_4$ $7H_2O$	S and Mg^{++} source
$FeSO_4$ $7H_20$	Fe^{++} source

ที่มา : Todar (2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.3 แสดงธาตุอาหารหลักและหน้าที่ในเซลล์แบคทีเรีย

Element	% of dry weight	Source	Function
Carbon	50	Organic compounds or CO_2	Main constituent of cellular material
Oxygen	20	H_2O, organic compound CO_2 and O_2	Constituent of cell material and cell water, O_2 is electron acceptor in aerobic respiration
Nitrogen	14	NH_3, NO_3, organic compounds, N_2	Constituent of amino acid, nucleic acids nucleotides, and coenzyme
Hydrogen	8	H_2O, organic compounds, H_2	Main constituent of organic compounds and cell water
Phosphorus	3	Inorganic phosphates (PO_4)	Constituent of nucleic acid, nucleotides, phospholipids, LPS, teichoic acids
Sulfur	1	SO_4, H_2S, So, organic sulfur compounds	Constituent of cysteine, methionine, glutathione, several coenzyme
Potassium	1	Potassium salts	Main cellular inorganic cation and cofactor for certain enzymatic reactions
Magnesium	0.5	Magnesium salts	Inorganic cellular cation, cofactor for certain enzymatic reactions
Calcium	0.5	Calcium salts	Inorganic cellular cation, cofactor for certain enzymes and component of endospores
Iron	0.2	Iron salts	Component of cytochromes and certain nonheme iron-proteins and a cofactor for some enzymatic reactions

ที่มา : Todar (2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปฏิกิริยาการไฮโดรไลซิสแลคโตส (Lactose hydrolysis) เป็นปฏิกิริยาการเปลี่ยนน้ำตาลแลคโตส (4-0-β-D-galactopyranosyl-D-glucose)ให้อยู่ในรูปของน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวคือ กลูโคส และกาแลคโตส วิธีการไฮโดรไลซีส มี 2 วิธีคือ การไฮโดรไลซีสด้วยกรด และอีกวิธีหนึ่งที่ได้รับความสนใจคือการไฮโดรไลซีส ด้วยเอนไซม์ แลคเตส (lactase) หรืออาจเรียกว่า β - galactosidase [EC 3.2.1.23] หรือ β - D - galactopyranosidase สำหรับในทางการค้าใช้เชื้อ Lactose fermentating yeast เช่น *K. fragilis* (*Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus*), *Sacchromyces lactis (K.lactis), Candida pseudotropicalis* และ *Zygosaccharomyces lactis* หรือเชื้อรา *Aspergillus niger* และ *Aspergillus oryzae* เอนไซม์แลคเตสที่ได้จากจุลินทรีย์ต่าง ๆ จะมีลักษณะการทำงานที่แตกต่างกัน เช่นเอนไซม์จากแบคทีเรียมี pH ที่เหมาะสม เท่ากับ 7 ส่วนของรามีเท่ากับ 5 และยีสต์เท่ากับ 6 (สาวิตรี, 2539 ; Siso, 1994) ยีสต์ที่มีความสามารถในการใช้แลคโตสเป็นแลคติกยีสต์ (Lactic yeast) โดยส่วนใหญ่เป็น *Kluyveromyces* (*Saccharomyces*) ในสายพันธ์ *fragilis* ซึ่งสามารถเจริญได้ดีและถือว่าเป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กที่มีความปลอดภัย (Castillo, 1990) โดยการเลี้ยงเชื้อที่สร้างกรดแลคติกในน้ำเวย์อาจมีการเติมสารอาหารต่าง ๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของอาหารให้มีความสมบูรณ์ โดยหลัก ๆ แล้วมีการเติมสารประกอบไนโตรเจน ฟอสฟอรัส ธาตุอาหารที่มีปริมาณน้อย (Trace elements) และวิตามิน ซึ่งจุลินทรีย์ที่สร้างกรดแลคติกมีความสามารถในการย่อยเฉพาะกรดอะมิโนอิสระที่มีอยู่ในน้ำเวย์เท่านั้นโดยไม่สามารถใช้เปบไทด์ และโปรตีน ดังนั้นยีสต์ชนิดนี้จึงมีความสามารถใช้ไนโตรเจนในน้ำเวย์ได้เพียงร้อยละ 25 ของไนโตรเจนทั้งหมดเท่านั้น ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลแลคโตสเพื่อเพิ่มผลผลิตเซลล์ควรเพิ่มในส่วนของไนโตรเจน โดยยีสต์ชนิดนี้ใช้ไนโตรเจนได้ดีในรูปของเกลือแอมโมเนียม ส่วนฟอสฟอรัสอาจมีเพียงพอต่อการเจริญอยู่แล้วหรือต้องใส่เพิ่มทั้งนี้ขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของน้ำเวย์ ยีสต์ และสภาวะในการเลี้ยงเชื้อ (Verachtert and Mot, 1990)

Kluyveromyces fragilis *(Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus)*

ลักษณะทั่วไปของยีสต์ใน Genus *Kluyveromyces* เป็นเซลล์ที่มีรูปร่างหลายแบบ เช่น ยาวรี (Elongate) รูปไข่ (Ellipsoidal) รูปทรงกระบอก (Cylindrical) มีการสืบพันธ์แบบแตกหน่อ อาจมีการสร้าง Pseudo mycelium ด้วยกระบวนการเมทาบอลิซึมของยีสต์ในจีนัสนี้ มีทั้งแบบ Fermentative และ Oxidative ไม่สามารถใช้ไนเตรทอาจมีการสร้างเม็ดสี สีแดง โคโลนีสีครีม หรือแดง พบได้ในอากาศ อุตสาหกรรมหมักไวน์ เบียร์ ในดิน ในพืช และอื่น ๆ สายพันธุ์ที่สามารถหมักน้ำตาลแลคโตสได้ (The lactose fermenting species) ได้แก่ *K. marxianus, K. fragilis* และ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

K. sociasi ซึ่งสามารถแยกได้จากนม และผลิตภัณฑ์นม ส่วน *K. marxianus* และ *K. fragilis* อาจจะพบได้จาก เสมหะหรืออุจจาระของมนุษย์ได้

K. fragilis เซลล์มีรูปร่างหลายแบบเช่น รูปร่างค่อนข้างกลม (Subglobose) รูปไข่ (Ellipsoidal) จนถึงรูปทรงกระบอกมีขนาด (2.0-0.6) × (3.5-10.0) μm ปรากฏเป็นเซลล์เดี่ยว เป็นคู่ หรือเป็นสายสั้น ๆ เมื่อเพาะเลี้ยงใน Malt extract ที่ 28 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เซลล์จะมีรูปร่างกลม รูปไข่ ทรงกระบอก มีขนาด (2.0-5.5) × (3.5-11.0) μm ปรากฏเป็นเซลล์เดี่ยวเป็นคู่หรือเป็นสายสั้น ๆ อาจสร้าง Pseudomycelium โคโลนีบนอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีลักษณะ Butyrous สีครีม จนถึงสีน้ำตาล ลักษณะเป็นมันวาว หรือทึบมักจะมีแผ่นแบน สืบพันธุ์โดยการสร้างแอสโคสปอร์ ใน 1 แอสคัสจะมี 1-4 แอสโคสปอร์ แอสโคสปอร์มีรูปร่างคล้ายเมล็ดถั่ว หรือค่อนข้างยาวมีปลายมน *K. fragilis* สามารถหมักน้ำตาล กลูโคส ซูโครส ราฟิโนส แลคโตส และย่อย β-glucoside ได้ โดยยีสต์ชนิดนี้โดยปกติพบในผลิตภัณฑ์นม (Van der Walt, 1970)

มีรายงานการวิจัยเกี่ยวกับการย่อยสลาย (hydrolysis) lactose โดย Berruge *et al*. (1998) พบว่าสายพันธ์ยีสต์ที่สามารถย่อยสลายแลคโตส โดยกิจกรรมของเอนไซม์แลคเตสคือ *Candida kefir* NCYC 143 และ *K. marxianus* NCYC 1548 ในน้ำเวย์นม นอกจากนี้ Grba *et al.* (2002) ศึกษาพบว่า *K. marxianus* VST44 และ ZIM 75 ทำการหมักในน้ำเวย์นมที่ผ่านการแยกโปรตีนออก (deproteinized หรือ Permeate) พบว่าสามารถผลิตเอทานอลได้ร้อยละ 7.31 ที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส ที่ pH 4.5 – 5.0 เช่นเดียวกับการศึกษาของ Schaefer *et al*. (1986) ศึกษาพบว่า *K. fragilis* มีความสามารถในการผลิตเอทานอล ได้ 5 กรัมต่อลิตรในระยะเวลา 1 ชั่วโมง ใน Whey permeate ที่ระดับความเข้มข้นของแลคโตสเริ่มต้น 46 กรัมต่อลิตร และมีการเติม Yeast extract ร้อยละ 0.375 pH 4.0 ณ อุณหภูมิ 38 องศาเซลเซียส ส่วน Marwaha และ Kennedy (1984) ทำการศึกษาพบว่า *K. marxianus* NCYC 179 มีความสามารถในการผลิตเอทานอลสูงสุด 42.6 กรัมต่อลิตร เมื่อมีปริมาณแลคโตสเริ่มต้น 98 กรัมต่อลิตร pH 5.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และจากรายงานการทดลองของ ภัททิยา (2530) ศึกษาพบว่า *K. fragilis* ทำการหมักในน้ำเวย์นมพบว่า ที่ pH 4 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ผลผลิตเอทานอล 2.50 ปริมาตรต่อปริมาตร และเมื่อทำการหมักที่ 37 องศาเซลเซียส ได้ผลผลิตของเอทานอล 3.16 ปริมาตรต่อปริมาตรซึ่งทำการเตรียมน้ำเวย์สำหรับการสำหรับหมักแอลกอฮอล์โดย นำน้ำเวย์มาปรับค่าความเป็นกรด-ด่างเป็น 4.4 ด้วยกรดไฮโดรคลอลิก จากนั้นนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส นาน 20 นาที ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องอย่างน้อย 16 ชั่วโมง เพื่อให้โปรตีนแยกตัว จากนั้นใช้วิธีกาลักน้ำเอาของเหลวส่วนบนออก นำไปพาสเจอร์ไรส์อีกครั้งที่อุณหภูมิ 61 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที จากนั้นนำไปเพาะเลี้ยง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ นอกจากนี้ Revillion *et al*. (2003) พบว่า *K. marxianus* CBS 6556 เจริญเติบโตในน้ำเวย์ สามารถสร้างสารสกัดจากยีสต์ (Nucleotide-rich yeast extracts) มีส่วนประกอบของโปรตีน 20 กรัมต่อลิตร โดยประกอบด้วย Crude protein ไขมัน เถ้า ความชื้น คาร์โบไฮเดรต 520, 5.4, 72, 54, และ348.6 มิลลิกรัม/กรัมตัวอย่าง ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 2.2 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ (BC)	อ้างอิง
1. Cellulose production by Acetic acid-Resistant A.xylinum *(A. xylinum* DA)	3.5-4.5	30	1) GPY medium Glucose 2 %, Polypeptone 0.5 % Yeast extract 0.5 % เตรียมโดยใช้ citric acid buffer ที่มี Na_2HPO_4 0.27% และ 0.115 % citric acid monohydrate 0.1 M acetate buffer used instead of the citric acid buffer 2) GPY medium เติมกรดอะซีติกร้อยละ 2 -การเติม กรดอื่น เช่น lactic gluconic succinic ไม่ทำให้เกิดการเพิ่มขึ้นของเซลลูโลส ในขณะที่การเติม pyruvic acid ยับยั้งการผลิตไบโอเซลลูโลส -การเพิ่มกรดอะซีติกร้อยละ 2 ช่วยเพิ่มการผลิตไบโอเซลลูโลสทีมีน้ำตาลกลูโคส และกลีเซอรอลได้ 3-4 เท่า และน้ำตาลฟรุคโตสและเมนนิทอล ได้ 2 เท่า - กาแลคโตส มีประสิทธิภาพต่ำในการผลิต BC - กรดอะซีติกส่งเสริมการผลิต BC จากกลูโคส แต่อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเฉพาะกรดอซิติกเป็นแหล่งคาร์บอนไม่พบการสร้าง BC -ไม่พบการสร้าง BC เมื่อมีเอทานอล และอะซิเตท เป็นแหล่งคาร์บอนเพียงชนิดเดียว	10 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าในขวดรูปชมพู่ 100 มล. ใส่อาหารเลี้ยงเชื้อ 30 มล.	1) 0.03 กรัม น้ำหนักแห้งต่อกรัมกลูโคส 2) 0.19 กรัม น้ำหนักแห้งต่อกรัมกลูโคส	Toda, K., A. Asakura., M. Fukaya., E. Entani and K. Kawamura. 1997. *J. Ferment. Bioeng*., 84 : 228-231. หมายเหตุ ใช้ *A. xylinum* สายพันธ์ที่มีความทนต่อกรดอะซีติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
			- กรดอะซีติกลดการสร้าง BC จากซูโครส ทั้งนี้อาจเนื่องจากกรดอะซีติกยับยั้งการทำงานของเอนไซม์ ซูเครส และยับยั้งกระบวนการขนส่งซูโครส				
2. Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in nata-de-coco culture system	4.5	28	<u>Coconut water medium (control oxygen supply)</u> Sucrose 5%, $(NH_4)_2HPO_4$ 0.4%, vitamin B - ปิดด้วยกระดาษที่มีรูพรุน (porous paper) -$(NH_4)_2HPO_4$ ให้ผลดีกว่า $(NH_4)_2SO_4$ เล็กน้อย (nitrogen source) -น้ำตาลซูโครสที่ลดลงในช่วงการหมักไม่พบน้ำตาลฟรุคโตสที่เกิดจากการ hydrolysis ซูโครส (sucrose=glucose+fructose) - ในงานทดลองนี้ อาหารสังเคราะห์ที่มีเฉพาะ น้ำตาลฟรุคโตส ไม่สามารถผลิต BC -*A. xylinum* ต้องการอากาศในการเจริญช่วงแรกเพื่อเพิ่มปริมาณเซลล์ และเมื่อมีการสร้างเซลลูโลสปกคลุมที่ผิวหน้าแล้ว ต้องการน้ำตาลในการเจริญ -แบคทีเรียนี้ไม่สมารถผลิต BC จากซูโครสโดยตรงได้ -saccharides เปลี่ยนเป็นสารประกอบอื่น 30-50% และเปลี่ยนเป็น BC สูงสุดได้เพียง 20%	3-14 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าในขวดที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 62.25 มม. สูง 130 มม. เส้นผ่านศูนย์กลางคอขวดด้านบนคือ 49.5 มม. ใส่น้ำหมักสูง 32 มม.	3.7 กรัม น้ำหนักแห้งต่อลิตร (12 วัน)	Budhiono, A., B. Rosidi and M. Iguchi. 1999. *Carbohydrate Polymers*., 40 : 137-143.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
3. Relationship of Growth of *Acetobacter xylinum* on Its Cellulosic Gel in Coconut Water and Synthetic Media.	4-5	32	1) Coconut water medium; coconut water, 6% sucrose , acetic acid 4% 2) YE medium; 5% sucrose, 0.5 % yeast extract, 0.5% , $(NH_2)SO_4$, 0.3 % KH_2PO_4, 0.005 %Mg_2SO_4 ,121 C 15 min - ใช้เชื้อสายพันธุ์ *A. xylinum* DK -เชื้อเริ่มต้นร้อยละ10	14 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่า ในถาดขนาด 16นิ้ว×18 นิ้ว ×16 นิ้ว ใส่น้ำมะพร้าว 4 ลิตร ปิดด้วยกระดาษ เก็บตัวอย่างทุก 24 ชั่วโมง	1) 600 กรัมน้ำหนักเปียกต่อลิตร (วุ้นที่ผลิตได้มีเซลลูโลสร้อยละ 5.10) 2) 425 กรัมน้ำหนักเปียกต่อลิตร (วุ้นที่ผลิตได้มีเซลลูโลสร้อยละ 4.95)	Krusong. W., Tantratian. S. 1996.
4. A cellulose gel producing strain with two distinctive types of colony for agitated cultivation *A. xylinum* DA	5	32	Sucrose 5%, yeast extract 0.5%, $MgSO_4$ 0.03 % (*Acetobacter xylinum* DK: cellulose production strain two Distinctive Types of colony for Agitated cultivaton.) - พบว่าการเลี้ยงในสภาวะเขย่าและสภาวะตั้งทิ้งไว้ให้ BC ไม่แตกต่างกัน - *A. xylinum* เป็น strictly aerobic microorganism	7-14 วัน	เขย่าที่ 100 rpm ใน stirred tank reactor ขนาด 5 ลิตรใส่น้ำหมัก 1 ลิตร	3 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร นาน 7 วัน	Krusong. W. Jindaprasert. A. and Yoshida. T. 2001.. *วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง* ปี 9 ฉบับ 2, 2544

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
5. Optimization of fermentation condition for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter* sp. A.9 in shaking cultures	6.5	30	1) improve media 4% glucose, 0.1% yeast extract, 0.7 % polypeptone, 0.8% $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, pH 6.0. 2) improve media เติม ethanol 1.4 % (v/v) 3) standard media glucose 2 %, yeast extract 0.5%, polypeptone 0.5%, $Na_2HPO_4$0.675 %, citric acid monohydrate 0.115% (pH 6.0) Culture 5% v/v - *Acetobacter* sp. A9 แยกจากแอปเปิ้ล - pH ที่เหมาะสมต่อการผลิต BC คือ 4.0-7.0 - pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิต BC คือ 6.5 - การเติม เอทานอลเป็นการทำไม่ให้เกิดกลายพันธุ์ตามธรรมชาติ (spontaneous mutation)ของเชื้อนี้ - ปริมาตรของเชื้อเริ่มต้น (inoculation volume) ร้อยละ 1-10 ไม่มีผลต่อการสร้าง BC ในสภาวะนี้ - อุณหภูมิที่เหมาะสมคือ 30 องศาเซลเซียส แต่ไม่แตกต่างกับ 25 องศาเซลเซียส - pH เริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิต BC คือ 6.5 - pH 4.0-7.0 เป็นช่วง pH ที่เหมาะสมต่อการผลิต BC	7 วัน	เขย่าที่ 200 rpm ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ใส่น้ำหมัก 75 มล.	1) 3.8 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร 2) 15.2 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร 3) 2.2 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร	Son, H. J., Heo, M.S., Kim, Y.G. and L, S.J. 2001.. *Biotecnol.Appl. Biochem.*33

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
			- เมื่อความเข้มข้นของ glucose เพิ่มขึ้นพบว่าการผลิต BC ลดลง -บางส่วนของ glucose ถูกออกซิไดซ์เป็น gluconic acid การสะสมของ gluconic acid ทำให้ยับยั้งการสร้าง BC -yeast extract เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดสำหรับการผลิต BC -Lactate เป็นตัวเร่ง TCA cycle ได้พลังงานมาใช้กระตุ้นการสังเคราะห์ BC - glucose เป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดในการผลิต BC - glucose เป็นสารตั้งต้นในการสร้างไบโอเซลลูโลส แต่ไม่สร้างพลังงานที่ใช้ในการเจริญ				
6. Development of an optimized, simple chemically defined medium for bacterial	6.5	30	1) Synthetic media 4.0% glucose, 0.2% $(NH_4)_2SO_4$, 0.25% KH_2PO_4, 0.3% $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, 0.05 % $Mg_2SO_4\ .7\ H_2O$, 0.0002% $FeSO_4.7\ H_2O$, 0.00025% H_3BO_3, 0.00006% nicotinamide, 0.00025% inositol and 1.4% ethanol, pH 6.5	9 วัน	เขย่า 200 rpm ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ใส่น้ำหมัก 75 มล.	1) 7.94 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร	Heo, M.S and Son, H. 2002. *Biotecnol.Appl. Biochem.* 36 : 41-45.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
cellulose production by *Acetobacter* sp A9 in shaking cultures			2) improve media (S-medium) 4% glucose, 0.1% yeast extract, 0.7 % polypeptone, 0.8% $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, 1.4 % ethanol, pH 6.0. 3) HS media 2% glucose, 0.5% yeast extract, 0.5% polypeptone, 0.675% $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, 0.115% citric acid monohydrate with pH 6.0 - *Acetobacter* sp A9 แยกได้จากแอปเปิ้ล -0.3 % $(NH_4)_2HPO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุด - แมกนีเซียม มีความสำคัญต่อเมทาบอลิซึมของเซลล์ -$FeSo_4$ มีผลในการเพิ่ม BC แต่น้อยมาก			2) 13.35 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร 3) 1.62 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร	
7. การผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ในน้ำหางนม	3.5-4.0	32	น้ำเวย์ที่เติมsucrose 7.5%, acetic acid 4%, starter culture 10% -อัตราการสร้างวุ้นที่ 7,10 และ 14 วัน ไม่แตกต่างทางสถิติ - น้ำหางนมที่เหมาะกับการสร้าง BC คือน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน (121 องศา 10 นาที)	7-14 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่า ในขวดหมักที่ใช้น้ำหมัก 150 มล.	1) 7 วันวุ้นหนา 0.5 ซม. มีน้ำหนักเปียก 35 กรัม 2) 14 วันวุ้นหนา 1.09 ซม.	วราวุฒิ ครูส่ง, กรวิกา สุขศรีวงศ์, ปนัดดา พวงเกษม.. *พระจอมเกล้าลาดกระบัง*. 2536.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
			- เตรียมกล้าเชื้อในน้ำมะพร้าวที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่ 121 องศา 15 นาที อายุเชื้อ 3 วัน -กล้าเชื้อ 10 % มีความเหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลส แต่ถ้า กล้าเชื้อมากเกินไปจะเกิดสภาวะแข่งขันการเจริญ ทำให้การสร้าง BC ลดลง -สำหรับงานทดลองนี้ไม่จำเป็นต้องเติมแอลกอฮอล์ แต่ถ้าเติมควรเติมไม่เกินร้อยละ 2 - การเติมแอลกอฮอล์มากกว่าร้อยละ 2 ทำให้ชิ้นวุ้นมีความหนาและน้ำหนักลดลง - BC ที่ผลิตได้มีความชื้นร้อยละ 95.4-96			มีน้ำหนักเปียก 67.66 กรัม	
8. Increased production of bacterial cellulose by *Acetobacter* sp. V6 in synthetic media under shaking culture	6.5	30	1) Synthetic media 1.5% glucose, 0.2% $(NH_4)_2SO_4$, 0.3%KH_2PO_4, 0.3% $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, 0.08 % $Mg_2SO_4\ .7\ H_2O$, 0.0005% $FeSO_4.7\ H_2O$, 0.0003% H_3BO_3, 0.00005% nicotinamide and 0.6% ethanol, pH 6.5 2) HS media 2 % glucose, 0.5 % yeast extract, 0.5 % polypeptone, 0.675 % $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, 0.115% citric acid monohydrate, pH 6.0	8 วัน	เขย่าที่ 200 rpm ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มล. ใส่น้ำหมัก 75 มล.	1) 4.16 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร 2) 1.58 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร	Son. H.J, Kim, H.G, Kim H.S, Kim, Y.G, Lee, S.J. 2003. *Biores. Techno*. 86, 215-219.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
conditions.			3) Reference media 1% glucose, 0.3 % $(NH_4)_2SO_4$, 0.1 % KH_2PO_4, 0.2 % Na_2HPO_4.12 H_2O, pH 6.5 - ปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้น 5 % v/v - ferrous ion เป็น co factor ของเอนไซม์ oxygenase และ respiratory chain proteins เช่น cytochromes			3) 0.22 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตร	
9. ผลของออกซิเจนและสารอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย	4.9	30	1)น้ำมะพร้าว เติม 5.7 % sucrose, pH 4.75 2)น้ำมะพร้าว เติม 4.98 % sucrose, pH 4.9 - ใช้เชื้อสายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 957 - การเขย่าที่ 100 rpm เหมาะสม ส่วนการเพิ่มการเขย่าเป็น 150 rpm พบว่าการสร้าง BC ลดลง - ออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมักเริ่มต้นไม่มีผลต่อการสร้าง BC	8 8	1) ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าในภาชนะที่ใส่น้ำหมักสูง 2.5 ซม. 2)เขย่าที่ 100 rpm	หนา 2.5 cm	อังคนา พันธ์ศรี. 2541. วิทยานิพนธ์, จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.
10. Effect of Ethanol on Biocellulose production form Fructose in Continuous culture	5.0	30	- ใช้เชื้อสายพันธุ์ *A. xylinum* subsp. *sucrofermentans* BPR 3001A - เลี้ยงในระบบต่อเนื่อง (Continuous condition) -เติม เอทานอล 10 กรัมต่อลิตร ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วยน้ำตาลฟรุคโตส 30 กรัมต่อลิตร เป็นแหล่งคาร์บอนหลักในการเจริญ	72 ชั่วโมง	เลี้ยงในระบบต่อเนื่อง ในภาชนะที่ใส่น้ำหมัก 1.44 L มีระบบการควบคุม pH	0.95 กรัมน้ำหนักแห้งต่อลิตรต่อชั่วโมง	Naritomi, T.,Kouda, T., Yano, H and Yoshinaga. F. 1998. *J. ferment bioeng*,.6 : 598-603

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
			- เอทานอลที่มากกว่าร้อยละ 1.5 ส่งผลให้อัตราการผลิต BC ลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจาก อะซิเตท ยับยั้งการเจริญเติบโตของเซลล์ - เอทานอลเป็นแหล่งคาร์บอน ทำหน้าที่เป็นแหล่งเก็บสะสมพลังงาน แต่ไม่ใช่สารตั้งต้นในการผลิต BC - G 6-phosphate dehydrogenases (G6PDs) สามารถยับยั้งการทำงานได้โดย ATP ซึ่งถ้า (G6PDs) ถูกยับยั้งมากจึงหลือ G6P ซึ่งเป็นสารตั้งต้นในการผลิต BC มาก		ควบคุมปริมาตรน้ำหมัก และปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำหมัก		
11. Improved production of bacterial cellulose and its application potential			-pentose phosphate cycle สำหรับปฏิกิริยา oxidation ของ carbohydrates - Krebs cycle สำหรับปฏิกิริยา oxidation ของ organic acids และ สารประกอบอื่น ๆ - UDPglc เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์เซลลูโลส -น้ำตาลกลูโคสที่มากเกินไปจะเปลี่ยนเป็นกรด gluconic ซึ่งส่งผลให้มีค่า pH ลดลง - *Acetobacter* spp. สามารถออกซิไดซ์กรดอะซีติก ได้คาร์บอนไดออกไซด์ และได้พลังงาน (ATP) ทำให้มีกลูโคสเหลือไปใช้ในการสังเคราะห์ BC มากขึ้น				Vandamme, E.J., Veate, S.D., Banbaelen, A., Joris, K. and Wulf P. D. 1998. *Polymer Degradation and stability* , 59 ; 93-99

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
12. Production and application of microbial cellulose	4.0-7.0	25-30	- *A. xylinum* สามารถออกซิไดซ์ แอลกอฮอล์ เป็นกรด และ ketone - BC ถูกกระตุ้นการผลิตได้โดยการเติม lactic acid, methionine, tea infusion และ corn steep liquor. - พื้นที่ผิวที่กว้างให้ประสิทธิภาพในการผลิตไบโอเซลลูโลสดีขึ้น -การสังเคราะห์ BCใน *A. xylinum* เกิดขึ้นระหว่าง outher membrane และ cytoplasma membrane โดย cellulose –synthesizing complex - pH ที่เหมาะสมต่อการผลิต BC อยู่ในช่วง 4.0-7.0 -แหล่งไนโตรเจนพื้นฐานในสูตรอาหาร HS คือ yeast extract และ peptone 0.5 % ซึ่งเป็นส่วนประกอบของกรดอะมิโน methionine และ glutamate				Jonas, R and Farah, L.F. 1998. *polymer degradation and stability* 59: 101-106

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
13. Production of cellulose from glucose by *A. xylinum*.	2.5-7.7	30	<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u>ประกอบด้วย 2 % peptone, 0.5 % yeast extract, 0.5 % D glucose, 0.1 % $MgSO_4$, 0.2 % ethanol. (pH 6.0) 1) ศึกษาปริมาตรน้ำหมักที่มีผลต่อการผลิต BC 2) ศึกษาพื้นที่ผิวที่มีผลต่อการผลิต BC -ใช้เชื้อสายพันธ์ *A. xylinum* IFO 13693 - พื้นที่ผิวมีผลต่อการสร้าง BC แต่ความลึก และปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ ไม่มีผลต่อการผลิต BC - pH เหมาะสมต่อการผลิต BC คือ 4.0-6.0,เริ่มต้น 7.7 -ปริมาณ BC ที่ผลิตได้ลดลงเมื่อปริมาณ glucose เริ่มต้นสูงขึ้น	5 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่า 1) ในภาชนะที่มีพื้นที่ผิว 100 cm^2 โดยใส่น้ำหมักในปริมาณแตกต่างกัน 2) ใส่น้ำหมักในปริมาตรเท่ากันคือ 300 cm^3	อัตราการผลิตเท่ากับ 36 กรัมน้ำหนักแห้ง/$d.m^2$	Masaoka, S., Ohe, T. and sakota, N. 1992. *J ferment Bieng*., 75 : 18-22
14. Effects pH and Dissolved oxygen on Cellulose roduction by *Acetobacter xylinum* BRC5 in	4.05-5.0	30	<u>อาหารเลี้ยงเชื้อ</u> ประกอบด้วย 8% CSL, 2% glucose, 0.27 % Na_2HPO_4, 0.115 % citric acid monohydrate. - กล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 v/v - pH 4.0 เป็นที่เหมาะสมสำหรับการ metabolizing glucose ไปเป็น gluconic acid ส่งผลทำให้ pH ลดลง และมีการผลิต BC อย่างช้า ๆ - acetan เป็น polysaccharide (BC) ที่ละลายน้ำได้	6 วัน	Jar fermentor ขนาด 5 ลิตรใส่น้ำหมัก 2 ลิตร	15 กรัม น้ำหนักแห้งต่อลิตร	Hwagn, J.w. et al. 1999. *J. Biosci. Bioeng*., 88 : 183-188.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
Agitated Culture			- Jar fermentor กวน 500 rpm ในช่วง lag phase และจากนั้น กวนที่ 1,000 rpm ตลอดการทดลอง				
15. Location and Limitation of Cellulose production by *Acetobacter xylinum* established from oxygen profiles	4.0-6.0	30	Coconut water sucrose; 2 % sucrose, 0.5 $(NH_4)_2HPO_4$, 0.05 % glacial acetic acid, -ในช่วงแรกออกซิเจนเป็นปัจจัยสำคัญ แต่ช่วงหลังเชื้อต้องการน้ำตาลเป็นปัจจัยสำคัญ -pH เริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 4.0 และ 5.0 และที่ pH 6.0 มีการผลิตที่ช้ากว่า แต่เท่ากันที่วันที่ 3	7 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่า	วัดในรูปเซลล์มีเซลล์อยู่ log 5-7 cfu/ml	Verschuran, P., Cardona, T.C., Nout, M.J.R., Gooijer, K.D.D. and Heuvel, J.C.V.D, 2000. *J. Biosci. Bioeng.,* 89 : 414-419.
16. การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวแก่	4.5	27-32	น้ำมะพร้าวแก่ต้มเดือด 5 นาที เติมซูโครส 5% ethanol 6%, $(NH_4)_2HPO_4$ 0.05%, Mg 0.03 % - pH เริ่มต้นที่เหมาะสมคือ 4.5 - ใช้เชื้อสายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 80	14 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าในขวดปากกว้างบรรจุน้ำหนัก 400 มล.	วุ้นหนา 2.5 ซม.	สมศรี ลีปิพัฒน วิทย์. 2531*อาหาร*., 18 (4) 239-249.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
17. การผลิตวุ้นมะพร้าว และการแปรรูป			-การเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นจะต้องใช้ปริมาณเชื้อที่มากพอให้สร้างวุ้นในช่วงแรกได้ทันกับเชื้อที่อาจปนเปื้อนมากับน้ำมะพร้าวหรือเชื้อปนเปื้อนในระหว่างการหมัก -ปริมาณกล้าเชื้อที่มีความเหมาะสมคือ 10-20 % v/v -ควรเลือกใช้ภาชนะเพาะเลี้ยงเชื้อที่มีพื้นผิวกว้าง -กรดอะซีติก เพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตวุ้นมะพร้าว -ควรเติมน้ำตาลซูโครส 5-8 % - $(NH_4)_2HPO_4$ เป็นแหล่งไนโตรเจนที่ดี ควรใช้ 0.5-0.6% -องค์ประกอบของวุ้นมะพร้าวคือ น้ำ 94.4 %, โปรตีน 0.18 %, ไขมัน 0.05 %, เถ้า 0.77 %, ไฟเบอร์ 1.10 %, คาร์โบไฮเดรต 3.00 %				สมคิด ธรรมรัตน์. 2531. *อาหาร*., 18 (4) 250-261. หมายเหตุ บทความวิชาการ
18. การผลิตเซลลูโลสจากน้ำมะพร้าว	3.5-4.5	32	สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ประกอบด้วย sucrose 6 %, acetic acid 1.5 %, $(NH_4)_2HPO_4$ 0.9 %, starter 40%, ในน้ำมะพร้าว - การเติมกรดอะซีติกเพื่อปรับสภาพความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 3.5-4.0 ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการผลิตวุ้น	7 - 14 วัน	ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าในขวดปากกว้างเส้นผ่านศูนย์กลาง 8 ซม. มีน้ำหมักขวดละ 150 มล.ปิดด้วยผ้าขาวบาง	- 7 วัน หนา 1.20 ซม. - 14 วัน หนา 1.60 cm	วราวุฒิ และคณะ. 2535. *วารสารพระจอมเกล้า*. 10 (4) ; 46 – 60

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
			- การเติมกรดอะซีติกมากกว่า 1.5 % ชิ้นวุ้นมีความหนาลดลง - อ้างใน Peter, 1995 ที่กล่าวว่า น้ำมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นจาก *A. xylinum* ต้องมีโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 0.4 หรือต้องมีสารอาหารอื่นที่คล้ายโปรตีนอยู่ - อัตราการสร้างวุ้นลดลงเรื่อย ๆ หลังจากหมัก 7 วัน				
19. การคัดเลือกสายพันธ์ *A. xylinum* เพื่อผลิตไบโอเซลลูโลส	6.0	30	HS media 2% glucose, 0.5% yeast extract, 0.5% polypeptone, 0.675% $Na_2HPO_4.12\ H_2O$, 0.115% citric acid monohydrate with pH 6.0 -ethanol oxidize ไปเป็น acetic acid แต่ไม่พบการสร้าง BC ถ้าไม่มีน้ำตาลกลูโคสในอาหาร -*A. xylinum* ไม่มีความสามารถเจริญในอาหารที่มีเอทานอลได้ ถ้าไม่เติมกรดอะซีติก หลืออะซิเตท และกลูโคส	7 วัน	ตั้งไว้โดยไม่เขย่า	หนา 1.2 ซม.	ยุวเรศ พวงมะลิ. 2541. ค้นคว้าอิสระ. บันทิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
			-อ้าง Yoshinaga et al. (1997) ว่าการผลิต BC จาก *A. xylinum* มีความแปรปรวนสูงบางครั้งหนาบางครั้งบาง และในบางครั้งสูญเสียความสมารถในการผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ทั้งนี้เนื่องจากเนื่องจากความไม่คงตัวของยีนที่ควบคุมการผลิตไบโอเซลลูโลส -กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดรองลงมาคือฟรุคโตส และแมนนิทอล				
19. จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนในกระบวนการหมักวุ้นน้ำมะพร้าวและผลของกรดอะซีติก แอลกอฮอล์ KMS ต่อ การเจริญของแบคทีเรียปนเปื้อน		35	<u>สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ</u> ประกอบด้วย น้ำมะพร้าว น้ำตาลซูโครส 5 %, $(NH_4)_2HPO_4$ 0.05 % กล้าเชื้อ 2.5 % (อายุ 3-4 วัน) -KMS คือ โซเดียมเมตาไบซัลไฟต์ -จุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนส่วนใหญ่เป็นยีสต์ และแบคทีเรีย ทำให้วุ้นไม่สร้าง (ไม่เกิดแผ่น) เนื้อวุ้นเป็นรู น้ำขุ่น น้ำเน่า วุ้นมีเมือก วุ้นเกิดแก๊สดันให้แผ่นโค้ง ไม่เรียบ วุ้นเป็นฝ้า -กรดอะซีติกที่ร้อยละ 2 ยับยั้งแบคทีเรียส่วนใหญ่ และไม่มีผลต่อการสร้างวุ้น แต่ต้องใช้เวลามากกว่า	72	เขย่าที่ 150 rpm	19.73 กรัมน้ำหนักเปียก/100 มล.	สุเนตร และคณะ. 2543. *อาหาร*., 30 (3) : 197-208

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ชื่อเรื่อง	pH	อุณหภูมิ (°C)	ส่วนประกอบของสูตรอาหาร และใจความสำคัญ	ระยะเวลาที่เลี้ยง	สภาวะ	ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้	อ้างอิง
			- แอลกอฮอล์มากกว่าร้อยละ 2 อัตราการเจริญและสร้างวุ้นจะลดลง แต่ 0-2% สร้างวุ้นได้ตามปกติแต่รูปร่างวุ้นไม่แน่นอน -KMS 150 ppm ยับยั้งแบคทีเรีย และยีสต์ส่วนใหญ่ได้โดยมีการสร้างวุ้นปกติ - ยีสต์ที่ปนเปื้อนส่วนใหญ่เป็น *Candida* spp. *Sacchromyces* spp. *Klockera* spp รองลงมาคือ แบคทีเรีย คือ ในวงศ์ *Micrococcaceae* และ *Enterobacteriacea.*				
20. Effect of sugars on gel Production of *Acetobacter xylinum.*		32	Coconut water medium; น้ำมะพร้าว, น้ำตาลซูโครส 6 % เติมอะซีติก 4-5% 1) ใช้เชื้อสายพันธุ์ *A. xylinum* AGR 60 2) ใช้เชื้อสายพันธุ์ *A. xylinum* DK 3) ใช้เชื้อสายพันธุ์ *A. xylinum* ST - การผลิต BC จากการใช้น้ำตาล ซูโครสให้ผลใกล้เคียงกับการใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน	14 วัน	-ตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่า - ในถาดขนาด 16นิ้ว×18 นิ้ว ×16 นิ้ว ใส่น้ำมะพร้าว 4 ลิตร ปิดด้วยกระดาษ	1) 11.29 กรัม น้ำหนักแห้งต่อลิตร 2) 42.94 กรัม น้ำหนักแห้งต่อลิตร 3) 45.5 กรัม น้ำหนักแห้งต่อลิตร	Suksriwong, K. Krusong, W. and Tantratian. S. 1996.

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved