บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาคุณภาพทางเคมีของน้ำเวย์จากกระบวนการผลิตเนยแข็งมอซซาเรลลา

จากการหาค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณโปรตีนในน้ำเวย์ที่ผ่าน และไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนหลังจากให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที พบว่าน้ำเวย์ที่ผ่าน และไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเท่ากับร้อยละ 3.87±0.33 และ 3.95±0.03 ตามลำดับ และมีปริมาณโปรตีนเท่ากับร้อยละ 0.30±0.09 และ 0.67±0.06 น้ำหนัก/ปริมาตร ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และปริมาณโปรตีนของน้ำเวย์ที่ผ่าน และไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน

ตัวอย่างน้ำเวย์	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด (ร้อยละ)	โปรตีน (ร้อยละ)
ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน	3.87±0.33	0.30±0.09
ไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน	3.95±0.03	0.67±0.06

หมายเหตุ : ค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 4 ครั้ง ครั้งละ 2 ซ้ำ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

4.2 ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตได้จากน้ำเวย์ที่ผ่าน และไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน

พบว่าเมื่อทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* TISTR 107 (*A. xylinum* TISTR 107) ในน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน มีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ ร้อยละ 2.2310±0.12 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0913±0.01 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 3.19±0.18 และมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 14 วัน เท่ากับ 6.44±0.18 ส่วนน้ำเวย์ที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน มีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ร้อยละ 0.4168±0.27 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0242±0.02 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 3.12±0.18 และมีค่าความเป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

กรด-ด่างที่ 14 วัน เท่ากับ 6.75±0.13 ดังแสดงในตารางที่ 4.2 ดังนั้นสรุปได้ว่าน้ำเวย์ (น้ำหางนม) ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนภายหลังจากการให้ความร้อนที่ 121 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที มีความเหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum* TISTR 107 มากกว่าน้ำเวย์ที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน สอดคล้องกับงานวิจัยของวราวุฒิ และคณะ (2544) ที่กล่าวว่าน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนมีความเหมาะสมต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* มากกว่าน้ำเวย์ที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน และทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำเวย์ที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนมีปริมาณโปรตีนที่มากเกินไป ทำให้มีผลยับยั้งการผลิตไบโอเซลลูโลสของเชื้อ สอดคล้องกับ Peter (1995) ที่กล่าวว่าน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ต้องมีปริมาณโปรตีนอยู่ประมาณร้อยละ 0.4 หรือต้องมีสารอาหารอื่นที่คล้ายโปรตีนอยู่ อ้างโดย วราวุฒิ และคณะ (2535) จากการทดลองพบว่าน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนยังคงมีโปรตีนเหลืออยู่ร้อยละ 0.30±0.09 ซึ่งอาจเป็นปริมาณโปรตีนที่มีความเหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ในน้ำเวย์ได้มากกว่าน้ำเวย์ที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนที่มีโปรตีนอยู่ร้อยละ 0.67±0.06

ตารางที่ 4.2 ปริมาณไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น จากการเจริญของ *A. xylinum* TISTR 107 ที่เจริญในน้ำเวย์ที่ผ่าน และไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน

ตัวอย่างน้ำเวย์	ไบโอเซลลูโลส (น้ำหนักเปียก/ปริมาตร (ร้อยละ)	ไบโอเซลลูโลส (น้ำหนักแห้ง/ปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วัน (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง เริ่มต้น	ค่าความเป็นกรด-ด่าง วันที่ 14
ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน	2.2310±0.12	0.0913±0.01	3.75±0.18	3.19±0.32	5.57±0.01	6.44±0.18
ไม่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน	0.4168±0.27	0.0242±0.02	3.69±1.20	3.12±0.29	5.57±0.01	6.75±0.13

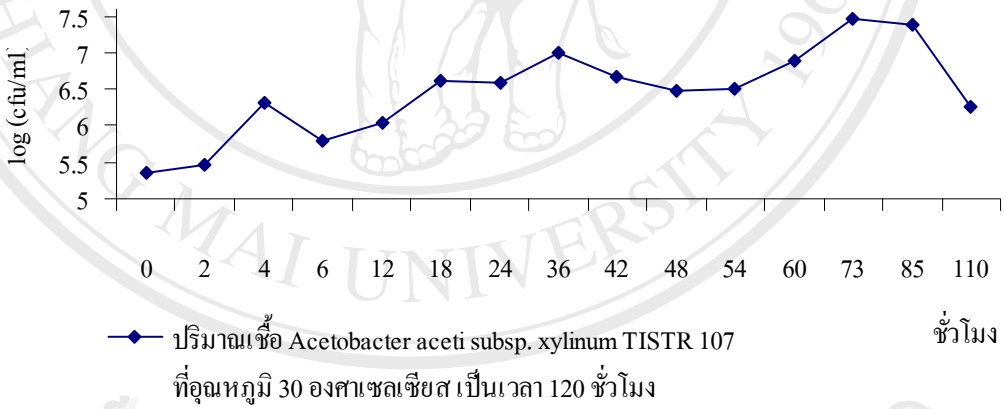
หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 ผลการเจริญเติบโตของ *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* TISTR 107 และ *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* TISTR 5695 ที่เจริญเติบโตในน้ำเวย์ที่ไม่มีการเติมสารอาหารอื่นใดเพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นในการทดลอง

4.3.1 ผลการเจริญของ *A. xylinum* TISTR 107 ในน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน และไม่เติมสารอาหารอื่นใด สำหรับใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น

ผลการศึกษาการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 สำหรับใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น ทำการทดลองในสภาวะตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 120 ชั่วโมง พบว่าการเจริญของ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ 66-72 ชั่วโมง เป็นเชื้อที่อยู่ในช่วงระยะเวลาที่อยู่ใกล้ช่วงที่มีปริมาณเซลล์สูงสุด คือมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 10^6 cfu/มิลลิลิตร จึงใช้ช่วงเวลานี้เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น ซึ่งเป็นช่วงที่มีการผลิตเซลลูโลสมากพอที่จะปกคลุมผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังแสดงในภาพที่ 4.1

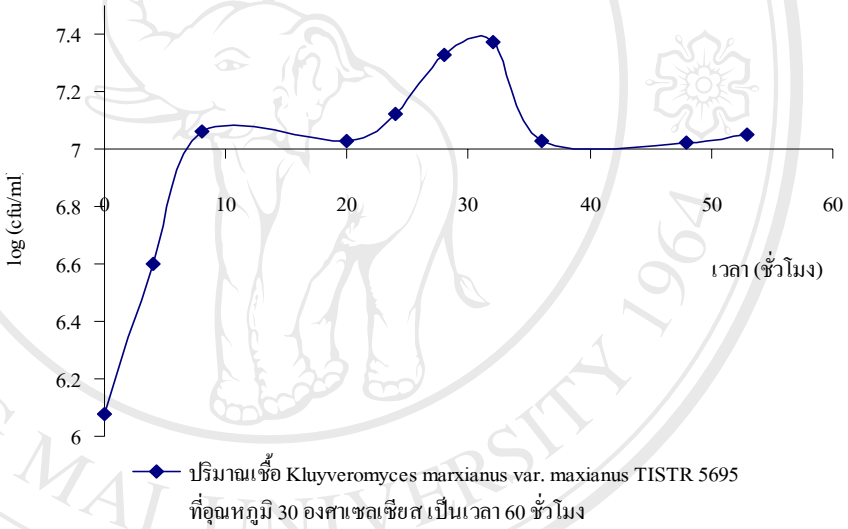


ภาพที่ 4.1 แนวโน้มการเจริญของ *A. xylinum* TISTR 10 ในน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน และไม่เติมสารอาหารอื่นใด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3.2 ผลการเจริญของ *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* TISTR 5695 ที่เจริญเติบโตในน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน และไม่เติมสารอาหารอื่นใด สำหรับใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* TISTR 5695 (*K. fragilis* TISTR 5695) สำหรับใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น โดยทำการทดลองในสภาวะตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 60 ชั่วโมง พบว่าการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* ที่ 24-28 เป็นเชื้อที่อยู่ในช่วงระยะเวลาที่อยู่ใกล้ช่วงที่มีปริมาณเซลล์สูงสุด คือมีจำนวนเซลล์เท่ากับ 10^7 cfu/มิลลิลิตร จึงใช้ช่วงเวลานี้เป็นระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อเริ่มต้น ดังแสดงในภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 แนวโน้มการเจริญของ *K. fragilis* TISTR 5695 ในน้ำเวย์ ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนและไม่เติมสารอาหารอื่นใด

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.3 ผลของสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ต่อการผลิตแอลกอฮอล์จากเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695

ผลของสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ต่อการผลิตแอลกอฮอล์ของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ศึกษาในสภาวะเขย่า 120 รอบ/นาที และวัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่เชื้อผลิตได้ที่ 12, 14 และ 16 ชั่วโมง โดยสารอาหารที่ใช้เติมได้แก่ น้ำตาลซูโครส $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4$ และปริมาณกล้าเชื้อที่มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 10^7 cfu/มิลลิลิตร แสดงปริมาณการเติมสารอาหารและกล้าเชื้อดังกล่าวแสดงในสูตรอาหารที่ 1-12 ในตารางที่ 3.3 โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 และ 14 เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม ซึ่งสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 และ 14 มีการเติมเฉพาะกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 2 และ ร้อยละ 6 ตามลำดับ พบว่าระยะเวลาในการเขย่าที่ 14 ชั่วโมงมีปริมาณแอลกอฮอล์จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่ประมาณร้อยละ 2 และชั่วโมงที่ 12 มีปริมาณแอลกอฮอล์จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่โดยประมาณต่ำกว่าร้อยละ 2 และ ที่ 16 ชั่วโมง มีปริมาณแอลกอฮอล์จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อส่วนใหญ่ประมาณสูงกว่าร้อยละ 2 แสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ผลิตได้ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)		
	เขย่านาน 12 ชั่วโมง	เขย่านาน 14 ชั่วโมง	เขย่านาน 16 ชั่วโมง
1	$1.22^{a} \pm 0.13$	$2.83^{a} \pm 0.26$	$3.23^{a} \pm 0.28$
2	$1.15^{b} \pm 0.10$	$3.05^{a} \pm 0.07$	$2.96^{ab} \pm 0.19$
3	$0.80^{cd} \pm 0.16$	$1.61^{cf} \pm 0.18$	$2.64^{cd} \pm 0.10$
4	$0.52^{e} \pm 0.08$	$1.58^{cf} \pm 0.16$	$2.25^{ef} \pm 0.21$
5	$0.54^{ed} \pm 0.07$	$1.61^{cf} \pm 0.11$	$2.09^{f} \pm 0.14$
6	$1.27^{ab} \pm 0.08$	$2.14^{bc} \pm 0.09$	$3.00^{a} \pm 0.23^{a}$
7	$0.62^{cde} \pm 0.11$	$1.61^{cf} \pm 0.00$	$2.28^{ef} \pm 0.13$
8	$1.35^{ab} \pm 0.09$	$2.31^{bc} \pm 0.06$	$2.63^{cd} \pm 0.11$
9	$1.46^{a} \pm 0.28$	$2.43^{b} \pm 0.20$	$2.68^{bc} \pm 0.12$
10	$0.61^{cde} \pm 0.21$	$1.35^{f} \pm 0.17$	$2.11^{f} \pm 0.18$
11	$1.32^{ab} \pm 0.08$	$2.42^{b} \pm 0.24$	$2.56^{cde} \pm 0.13$
12	$0.83^{c} \pm 0.09$	$1.78^{de} \pm 0.27$	$2.50^{cde} \pm 0.14$
13	$0.69^{cde} \pm 0.24$	$2.05^{cd} \pm 0.03$	$2.32^{def} \pm 0.21$
14	$1.35^{ab} \pm 0.09$	$2.25^{bc} \pm 0.15$	$2.53^{cde} \pm 0.12$

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

สำหรับงานทดลองตอนนี้ต้องการศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ที่เชื้อ *K. fragilis* ผลิตได้ที่อาจเอื้อต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* เมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะเชื้อผสมระหว่าง *A. xylinum* และ *K. fragilis* ในการทดลองตอนที่ 4.7 โดยสุเนตร และคณะ (2543) กล่าวว่าการเติมแอลกอฮอล์ที่ร้อยละ 2 สามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อปนเปื้อนได้โดยที่ *A. xylinum* ยังสามารถสร้างวุ้นได้ตามปกติ และ Son *et al.* (2001) พบว่าการเติมเอทานอลที่ร้อยละ 1.4 ปริมาตร/ปริมาตร ช่วยเพิ่มการผลิตและสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* A9 ได้จากเดิม 2.2 กรัมน้ำหนักแห้ง/ลิตร เป็น 15.2 กรัมน้ำหนักแห้ง/ลิตร และยังพบอีกว่าการเติมเอทานอลทำให้ไม่เกิดการกลายพันธุ์ตามธรรมชาติของแบคทีเรีย นอกจากนี้ วราวุฒิ และคณะ (2536) พบว่าการเลี้ยง *Acetobacter xylinum* ในน้ำเวย์เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 2 ชิ้นวุ้นเซลลูโลสที่สร้างจะมีความหนาและน้ำหนักลดลง ซึ่งสอดคล้องกับ Lapuz *et al.* (1967) กล่าวว่าไม่พบการสร้างเซลลูโลสของ *Acetobacter xylinum* เมื่อมีการเติมเอทานอลร้อยละ 3 และร้อยละ 5

นอกจากนี้ Janssens *et al.* (1984) พบว่าเมื่อมีน้ำตาลแลคโตสในน้ำเวย์ร้อยละ 5 เชื้อยีสต์ *K. fragilis* มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงสุดเท่ากับร้อยละ 2.76 และเมื่อมีปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นมากกว่าร้อยละ 2 จะส่งผลทำให้ อัตราเร็วในการเจริญเติบโตสูงสุด (maximum growth rate) และปริมาณเซลล์สูงสุดลดลงร้อยละ 25 ทั้งนี้อาจเนื่องจากเอทานอล อาจยับยั้งการทำงานของโปรตีนที่ทำหน้าที่ในการขนส่งน้ำตาลแลคโตสเข้าสู่เซลล์ยีสต์

ดังนั้นหลังจากเลี้ยงเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 เป็นระยะเวลานาน 14 ชั่วโมง จะสามารถผลิตแอลกอฮอล์ในแต่ละสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาณร้อยละ 2 ที่อาจเอื้อต่อการเจริญเพื่อสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อทำการทดลองเลี้ยงในสภาวะเชื้อผสมระหว่าง *K. fragilis* TISTR 5695 กับ *A. xylinum* TISTR 107 ในการทดลองตอนที่ 4.7

เมื่อพิจารณาระดับการเติมสารอาหารได้แก่ น้ำตาลซูโครส $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4$ และปริมาณกล้าเชื้อ ในระดับสูงและระดับต่ำ พบว่าปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีผลทำให้เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีความสามารถในการแอลกอฮอล์แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และ 4.5 โดยการเติมกล้าเชื้อที่ระดับสูงคือร้อยละ 6 และระดับต่ำร้อยละ 2 ที่ระยะเวลาในการเขย่านาน 12 ชั่วโมง ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 1.30 ± 0.11, 0.65 ± 0.13 ตามลำดับ ที่ระยะเวลาในการเขย่าที่ 14 ชั่วโมง ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 2.53 ± 0.34, 1.59 ± 0.14 ตามลำดับ และระยะเวลาในการเขย่าที่ 16 ชั่วโมง ให้ปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 2.84 ± 0.26, 2.31 ± 0.22 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

นอกจากนี้ พบว่าการเติม น้ำตาลซูโครส, $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4$ ที่ระดับสูงและระดับต่ำไม่มีผลต่อการผลิตแอลกอฮอล์ ณ เวลาเดียวกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p>0.05$) และพบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 ซึ่งมีการเติมเฉพาะกล้าเชื้อร้อยละ 2 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 14 ที่มีการเติมเฉพาะกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 6 เชื้อ *K. fragilis* สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้โดยประมาณใกล้เคียงกับแอลกอฮอล์ที่ได้จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1-12 ในระยะเวลาการเลี้ยงที่ 12, 14 และ 16 ชั่วโมง แสดงในตารางที่ 4.3

โดยยังพบอีกว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาลซูโครสร้อยละ 10, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.2, $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.1, $MgSO_4$ ร้อยละ 0.06 และปริมาณกล้าเชื้อร้อยละ 6 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 2 ที่ประกอบด้วยชนิดของสารอาหารเช่นเดียวกับสูตรอาหารที่ 1 โดยเติมในปริมาณร้อยละ 10, 0.1, 0.3, 0.06 และกล้าเชื้อร้อยละ 6 ตามลำดับ โดยเฉพาะในระยะเวลาการเขย่าที่ 14 ชั่วโมง มีปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้สูงกว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่นซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$) ดังนั้นจึงศึกษาหาปริมาณการเติมสารอาหารดังกล่าวในการทดลองในตอนที่ 4.5

จากการทดลองนี้กล่าวได้ว่าการเพาะเลี้ยงเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสภาวะเขย่าที่ 120 รอบ/นาที นาน 14 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เชื้อ *K. fragilis* สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้จากทุกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อโดยประมาณเท่ากับร้อยละ 2 ซึ่งเป็นปริมาณแอลกอฮอล์ที่อาจมีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* เพื่อผลิตเซลลูโลสเมื่อเจริญร่วมกันกับ *K. fragilis* ในการทดลองตอนที่ 4.7

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.4 ค่า t ที่วิเคราะห์จากผลของการเติมสารอาหารและกล้าเชื้อในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตแอลกอฮอล์จากการเจริญเติบโตของ เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695

Input Variable	Response Variable ปริมาณแอลกอฮอล์		
	เขย่านาน 12 ชั่วโมง	เขย่านาน 14 ชั่วโมง	เขย่านาน 16 ชั่วโมง
น้ำตาลซูโครส	3.531[e]	0.375	0.360
$(NH_4)_2HPO_4$	0.099	0.225	-0.031
$(NH_4)_2SO_4$	-0.627	-0.075	-0.649
$MgSO_4$	0.099	0.975	0.869
ปริมาณกล้าเชื้อ	12.705[e]	5.286[e]	3.285[e]

หมายเหตุ : ค่า Degree of freedom เท่ากับ 6

: อักษร e หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีค่า t-table เท่ากับ 2.447

ตารางที่ 4.5 ค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์จากการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารอาหารที่ระดับสูง-ต่ำ ในน้ำเวย์

สารอาหาร	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)					
	เขย่านาน 12 ชั่วโมง		เขย่านาน 14 ชั่วโมง		เขย่านาน 16 ชั่วโมง	
	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ
น้ำตาลซูโครส	0.89[c]±0.36	1.06[c]±0.35	2.09[ab]±0.71	2.03[b]±0.40	2.61[a]±0.51	2.55[ab] ±0.15
$(NH_4)_2HPO_4$	0.98[b]±0.41	0.97[b]±0.33	2.08[a]±0.55	2.04[a]±0.61	2.58[a]±0.40	2.58[a]±0.36
$(NH_4)_2SO_4$	0.96[c]±0.36	0.99[c]±0.38	2.05[b]±0.65	2.07[b]±0.49	2.53[ab]±0.30	2.63[a]±0.43
$MgSO_4$	0.98[c]±0.35	0.97[c]±0.39	2.15[ab]±0.72	1.97[b]±0.36	2.65[a]±0.42	2.51[ab]±0.32
ปริมาณกล้าเชื้อ	1.30[d]±0.11	0.65[c]±0.13	2.53[b]±0.34	1.59[c]±0.14	2.84[a]±0.26	2.31[b]±0.22

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 6 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในแถวเดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.5 ผลการกลั่นกรองคัดเลือกชนิด และปริมาณสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ต่อการผลิตแอลกอฮอล์ การใช้น้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695

ผลการกลั่นกรองคัดเลือกชนิด ปริมาณสารอาหารและกล้าเชื้อที่เติมในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 เพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ใช้น้ำตาล และเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อโดยเติมสารอาหารเช่นเดียวกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1-12 ในตารางที่ 3.3 สำหรับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 ถือเป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม เติมเฉพาะกล้าเชื้อร้อยละ 6 และไม่มีการเติมสารอาหารอื่นใด พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารอาหารและเติมกล้าเชื้อเริ่มต้นในระดับสูง คือร้อยละ 6 ได้แก่สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1, 2, 6, 8 และ 9 ซึ่งเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้เท่ากับร้อยละ 2.06$\pm$0.12, 2.13$\pm$0.10, 2.10$\pm$0.15, 2.10$\pm$0.15 และ 2.25$\pm$0.32 ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับสูตรอาหารที่ 13 ที่เติมเฉพาะกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 6 โดยไม่มีการเติมสารอาหารอื่นใดพบว่าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 2.14$\pm$0.09 ดังแสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.6 และภาพที่ ก-1 ดังนั้นแสดงว่าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 สามารถเจริญและสร้างแอลกอฮอล์ได้ในน้ำเวย์ โดยอาจไม่จำเป็นต้องเติมน้ำตาลซูโครส $(NH_4)_2HPO_4$, $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4$ เนื่องจากน้ำเวย์มีความอุดมสมบูรณ์และมีสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญของ *K. fragilis* TISTR 5695 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ O'Leary *et al.* (1977) ที่ได้กล่าวว่า *K. fragilis* มีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ได้โดยประมาณร้อยละ 2 ในน้ำเวย์ที่ไม่มีการเติมสารอาหารอื่นใด

เนื่องจากการทดลองตอนนี้ต้องการศึกษาความเป็นไปได้ต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเจริญร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในน้ำเวย์ ดังนั้นจึงมีความจำเป็นต้องมีปริมาณน้ำตาลที่เหลือมาก ค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสคืออยู่ในช่วง 4.0-6.0 (Masaoka *et al*, 1992) ทั้งนี้ไพโรจน์ และอรัญ (2534) ได้กล่าวไว้ว่าการหมักวุ้นมะพร้าวด้วยเอทิลแอลกอฮอล์เพียงอย่างเดียว พบว่าหัวเชื้อ *A. xylinum* ไม่สามารถสร้างวุ้นได้ โดยจะมีการสร้างเฉพาะกรดเท่านั้น แสดงให้เห็นว่าหัวเชื้อจะสร้างวุ้นได้ต้องมีน้ำตาลเป็นส่วนประกอบในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Naritomi *et al.* (1998) ที่กล่าวว่า เอทานอลถือว่าเป็นแหล่งสะสมพลังงาน (สะสม ATP และเพิ่ม ATP) และไม่ใช่สารตั้งต้นในการสร้างไบโอเซลลูโลส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากผลการทดลอง พบว่าการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.2 และการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 0.04 ทำให้เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ผลิตกรดได้ค่าความเป็นกรด-ด่างเข้าใกล้ระดับกึ่งกลางของช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลส (pH 4.0-6.0) มากกว่าการเติม$(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับต่ำ และการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับสูง และพบว่าการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ที่ระดับต่ำให้ทำให้เชื้อ *K. fragilis* มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้เข้าใกล้ร้อยละ 2 มากกว่าการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับสูง ตารางผลในตารางที่ 4.8

ดังนั้นการศึกษาในตอนที่ 4.5.1 จึงกำหนดให้ใช้ปริมาณน้ำตาลซูโครสเริ่มต้นและ $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 10 และ 0.2 และ $(NH_4)_2SO_4$, $MgSO_4$ ในระดับต่ำคือร้อยละ 0.1 และ 0.04 ตามลำดับ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.5.1 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติจากการวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติจากการวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman (N=12) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นตั้งแต่ร้อยละ 85 ขึ้นไป ที่เกี่ยวข้องกับอิทธิพลของชนิด ปริมาณสารอาหาร และกล้าเชื้อของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการเจริญเติบโตของ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1-12 เพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่า 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง เพื่อศึกษาความสามารถของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในการผลิตแอลกอฮอล์ การใช้น้ำตาล และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในน้ำเวย์ที่มีการเติมสารอาหาร โดยกำหนดค่าตอบสนองจากการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 คือ ต้องการให้มีปริมาณน้ำตาลที่เหลือมาก มีปริมาณแอลกอฮอล์โดยประมาณร้อยละ 2 และมีค่าความเป็นกรด-ด่างอยู่ในช่วง 4.0-6.0 ทั้งนี้เนื่องจากต้องการศึกษาความเป็นไปได้ในการเจริญร่วมกันที่ส่งผลให้เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากขึ้นเมื่อเจริญร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในการศึกษาทดลองในตอนที่ 4.7

จากผลการทดลองตามตารางที่ 4.7 สามารถแบ่งปัจจัยได้ 2 แบบ คือ

1. ปัจจัยหลัก (Major factors) ซึ่งมี 1 ปัจจัยคือ ปริมาณกล้าเชื้อเพราะเป็นปัจจัยที่มีผลมากที่สุดในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 เนื่องจาก พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อทำให้เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีความสามารถในการใช้น้ำตาลได้เพิ่มขึ้นส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือลดลง สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้เพิ่มขึ้น และอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรด-ด่างลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นตั้งแต่ร้อยละ 85 ขึ้นไป ($p \leq 0.15$)

ปัจจัยหลักจะทำการทดลองหาระดับที่เหมาะสมต่อไป โดยผันแปรช่วงระดับที่ทดลองเป็นดังนี้

- ปริมาณกล้าเชื้อ ช่วงระดับที่ทดลองเดิมคือร้อยละ 2 - 6
  กำหนดใหม่เป็นร้อยละ 2, 4, 5 และ 6

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ปัจจัยรอง (Minor factors) เป็นปัจจัยที่มีผลน้อยต่อการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในการผลิตแอลกอฮอล์ การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในอาหารเลี้ยงเชื้อ 12 สูตร มีทั้งหมด 4 ปัจจัย ได้แก่

- น้ำตาลซูโครส พบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณแอลกอฮอล์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- $(NH_4)_2HPO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ทำให้เพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่างของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือและปริมาณแอลกอฮอล์ ($p > 0.15$)
- $(NH_4)_2SO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ ทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- $MgSO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และปริมาณแอลกอฮอล์ ($p > 0.15$)

ปัจจัยรองสามารถกำหนดระดับการใช้ได้ดังนี้

- น้ำตาลซูโครส ใช้ระดับสูง คือร้อยละ 10
- $(NH_4)_2HPO_4$ ใช้ระดับสูง คือร้อยละ 0.2
- $(NH_4)_2SO_4$ ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 0.1
- $MgSO_4$ ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 0.0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.7 ค่า t ที่วิเคราะห์จากผลของการเติมสารอาหารและกล้าเชื้อในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ แอลกอฮอล์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญเติบโตของ *K. fragilis* TISTR 5695

Input Variable	Response Variable		
	น้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ	แอลกอฮอล์	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
น้ำตาลซูโครส	43.728[e]	-1.224	-0.512
$(NH_4)_2HPO_4$	-0.749	0.045	2.498[e]
$(NH_4)_2SO_4$	0.307	-2.313[d]	0.320
$MgSO_4$	0.390	-0.500	-1.858[c]
ปริมาณกล้าเชื้อ	-4.590[e]	7.826[e]	-1.666[c]

หมายเหตุ : ค่า Degree of freedom เท่ากับ 6

: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงถึงระดับความมีนัยสำคัญดังนี้

c หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 85 มีค่า t-table เท่ากับ 1.650

d หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 90 มีค่า t-table เท่ากับ 1.943

e หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีค่า t-table เท่ากับ 2.447

ตารางที่ 4.8 ค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ปริมาณแอลกอฮอล์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในน้ำเวย์ที่มีการเติมสารอาหารที่ระดับสูง-ต่ำ

สารอาหาร	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ (ร้อยละ)		ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)		ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	
	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ
น้ำตาลซูโครส	9.32±0.64	1.41±0.37	1.75±0.40	1.82±0.31	4.44±0.15	4.46±0.08
$(NH_4)_2HPO_4$	5.30±4.41	5.44±4.31	1.77±0.34	1.79±0.39	4.51+0.12	4.38±0.08
$(NH_4)_2SO_4$	5.40±4.55	5.34±4.17	1.71±0.38	1.85+0.32	4.46±0.14	4.44±0.11
$MgSO_4$	5.40±4.28	5.33±4.44	1.77±0.43	1.79±0.28	4.40±0.07	4.50±0.14
ปริมาณกล้าเชื้อ	4.95±4.24	5.78±4.43	2.08±0.13	1.48±0.16	4.41±0.12	4.49±0.10

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 6 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลของสารอาหารที่ใช้เติมในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 12 สูตร ที่มีผลต่อเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในการใช้น้ำตาล การผลิตแอลกอฮอล์ และการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด-ด่าง ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออธิบายผลจากตารางที่ 4.7 และ 4.8 ได้ดังต่อไปนี้

น้ำตาลซูโครส ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณแอลกอฮอล์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$) จะเห็นได้ว่าปริมาณน้ำตาลซูโครสระดับสูงคือร้อยละ 10 ทำให้มีปริมาณน้ำตาลเหลืออยู่มากในอาหารเลี้ยงเชื้อ มีค่าเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 9.32 ± 0.64 ซึ่งระดับต่ำคือไม่มีการเติมน้ำตาลซูโครสพบว่ามีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 1.41 ± 0.37 เนื่องจากต้องการให้ปริมาณน้ำตาลเหลือมากพอเพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะเจริญร่วมกันของ *K. fragilis* TISTR 5695 และ *A. xylinum* TISTR 107 ในการทดลองตอนต่อไป ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ระดับสูง คือร้อยละ 10

$(NH_4)_2HPO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ทำให้เพิ่มค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และปริมาณแอลกอฮอล์ ($p > 0.15$) จะเห็นได้ว่าการใช้ $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูง ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ยของสูตรอาหารเท่ากับ 4.51 ± 0.12 เนื่องจากต้องการให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเข้าใกล้กึ่งกลางของช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมที่เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ดี คือ 4.0-6.0 (Masaoka, *et al*, 1992) ซึ่งการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูงให้ค่าความเป็นกรดด่างเฉลี่ยเท่ากับ 4.51 ± 0.12 ซึ่งให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเข้าใกล้กึ่งกลางของช่วงค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมมากกว่าการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับต่ำที่มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.38 ± 0.08 ดังนั้นการทดลองตอนต่อไป จึงเลือกใช้ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูง คือร้อยละ 0.2

$(NH_4)_2SO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ ทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์ลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$) โดยการใช้ปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.3 ส่งผลให้เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 1.71 ± 0.38 และการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ที่ระดับต่ำให้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 1.85 ± 0.32 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากการเติม $(NH_4)_2SO_4$ ที่ระดับสูงอาจส่งผลให้เชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ถูกยับยั้งการเจริญเติบโตทำให้ผลิตแอลกอฮอล์ลดลง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณ $(NH_4)_2SO_4$ ที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 0.1

$MgSO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ทำให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และปริมาณแอลกอฮอล์ ($p > 0.15$)โดยพบว่าการใช้ $MgSO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.06 และที่ระดับต่ำคือร้อยละ 0.04 ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเฉลี่ยเท่ากับ 4.40$\pm$0.07 และ 4.50+0.14 ตามลำดับ เนื่องจากต้องการให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเข้าใกล้ช่วงระดับกึ่งกลางของค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม (4.0-6.0) ต่อการผลิตไบเซลลูโลสของ *A. xylinum* เมื่อศึกษาในสภาวะการเจริญร่วมกับเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการทดลองตอนที่4.7 ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณ $MgSO_4$ ที่ระดับต่ำ คือไม่เติม $MgSO_4$

ปริมาณกล้าเชื้อ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือลดลง เชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ผลิตแอลกอฮอล์ได้เพิ่มขึ้น และค่าความเป็นกรด-ด่างของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อลดลง ($p \leq 0.15$) โดยเมื่อเติมกล้าเชื้อที่ระดับสูงคือร้อยละ 6 มีค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ปริมาณแอลกอฮอล์ เฉลี่ยเท่ากับ ร้อยละ 4.95$\pm$4.24, 2.08$\pm$0.13 และค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.41$\pm$0.12 ตามลำดับ และการเติมกล้าเชื้อที่ระดับต่ำคือร้อยละ 2 พบว่าให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณแอลกอฮอล์เฉลี่ยเท่ากับร้อยละ 5.78$\pm$4.43, 1.48$\pm$0.16 และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง เฉลี่ยเท่ากับ 4.19$\pm$0.10 ($p \leq 0.15$) เนื่องจากการเพิ่มปริมาณเชื้อเริ่มต้นให้ผลไปในทางลบเป็นส่วนใหญ่ และต้องการให้ค่าปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลืออยู่มาก ค่าปริมาณแอลกอฮอล์ และ ค่าความเป็นกรด-ด่างเหมาะสมเพื่อใช้ในการศึกษาสภาวะเจริญร่วมกันของ *K. fragilis* TISTR 5695 และ *A. xylinum* TISTR 107 ในการทดลองตอนที่ 4.7 ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณกล้าเชื้ออยู่ในระดับต่ำ คือร้อยละ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.5.2 ผลการทดลองหาปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ที่เหมาะสมต่อการผลิตแอลกอฮอล์

จากผลการกลั่นกรองคัดเลือกปัจจัยทดลองทำให้ทราบว่ามีปัจจัยทดลองหลัก 1 ปัจจัยที่มีความสำคัญต่อการเจริญของเชื้อ ได้แก่ ปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 เริ่มต้น ดังนั้นจึงจำเป็นต้องหาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตแอลกอฮอล์ โดยวางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Rang Test โดยกำหนดปริมาณกล้าเชื้อที่ใช้เติมในสูตรอาหารเป็นร้อยละ 2, 4, 5 และ 6

ผลของปริมาณกล้าเชื้อที่เติมต่อการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในน้ำเวย์ที่มีการเติมสารอาหารได้แก่ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 10, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.2, $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.1 และ $MgSO_4$ ร้อยละ 0.04 เติมปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 2, 4, 5 และ 6 ในสภาวะเขย่า 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 ชั่วโมง จำนวนเซลล์กล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 เริ่มต้นเท่ากับ 10^7 cfu/ml จากการทดลองพบว่าปริมาณกล้าเชื้อที่สูงขึ้นทำทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือมีแนวโน้มลดลง เชื้อผลิตแอลกอฮอล์ได้เพิ่มขึ้น และค่าความเป็นกรด-ด่างในอาหารเลี้ยงเชื้อลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยการเติมกล้าเชื้อที่ร้อยละ 2, 4, 5 และ 6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเท่ากับร้อยละ 9.52$\pm$0.59, 8.46$\pm$0.54, 7.57$\pm$0.32 และ 7.62$\pm$0.25 ตามลำดับ ให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.48$\pm$0.10, 4.44$\pm$0.05, 4.34$\pm$0.04 และ 4.28$\pm$0.02 ตามลำดับ และเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ร้อยละ 1.84$\pm$0.15, 2.45$\pm$0.34, 2.74$\pm$0.03, 3.02$\pm$0.05 ตามลำดับ ดังแสดงในตารางที่ 4.9

ดังนั้นกล่าวได้ว่าการเติมปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 4 มีปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ร้อยละ 2.45 ซึ่งคาดว่าจะเป็นปริมาณแอลกอฮอล์และค่าความเป็นกรด-ด่างที่อาจเอื้อต่อเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่สามารถเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสเมื่อทำการเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในการทดลองตอนที่ 4.7

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ปริมาณแอลกอฮอล์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695

ปริมาณกล้าเชื้อ (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ (ร้อยละ)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	ความเป็นกรด – ด่าง (pH)
2	$9.52^{a}\pm0.59$	$1.84^{c}\pm0.15$	$4.48^{a}\pm0.10$
4	$8.46^{b}\pm0.54$	$2.45^{b}\pm0.34$	$4.44^{ab}\pm0.05$
5	$7.57^{c}\pm0.32$	$2.74^{ab}\pm0.03$	$4.34^{bc}\pm0.04$
6	$7.62^{c}\pm0.25$	$3.02^{a}\pm0.05$	$4.28^{c}\pm0.02$

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3ซ้ำ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6 ผลการศึกษาเพื่อกลั่นกรองชนิด และปริมาณสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ ที่มีผลต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* TISTR 107

4.6.1 ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อคัดเลือกชนิด และปริมาณสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ที่มีผลต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107

ผลของสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ ที่มีผลต่อเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการผลิตไบโอเซลลูโลส ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 13 สูตร โดยเติมสารอาหารได้แก่ น้ำตาลซูโครส กรดอะซีติก เอทานอล, $(NH_4)_2HPO_4$, KH_2PO_4, $MgSO_4$, $FeSO_4$ และ ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 10^6 cfu/มิลลิลิตร แสดงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1-12 ในตารางที่ 3.5 โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 เป็นสูตรอาหารชุดควบคุมที่เติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 เพาะเลี้ยงในสภาวะตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน

พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 12 มีผลทำให้เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตไบโอเซลลูโลสได้สูงสุดเท่ากับ ร้อยละ2.3248 ± 0.65 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร ($p\leq0.05$) แต่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ กับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 ที่มีปริมาณไบโอเซลลูโลสร้อยละ 2.2201 ± 1.43 และ ร้อยละ1.7639 ± 0.04 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร ตามลำดับ ซึ่งสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7 ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครสร้อยละ 4 กรดอะซีติกร้อยละ 2 เอทานอลร้อยละ 1, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.25 KH_2PO_4 ร้อยละ 0.04 $MgSO_4$ ร้อยละ 0.05 และปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 เติมเฉพาะกล้าเชื้อร้อยละ 10 โดยไม่มีการเติมสารอาหารอื่นใด แต่เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งพบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 12 มีไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้สูงสุดคือร้อยละ 0.0906 ± 0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหารที่ 7, 13 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่น ($p\leq0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 12 อาจมีปริมาณสารอาหารที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลส อีกทั้งจะเห็นว่า ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตจากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อนี้มีปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 96.90 ซึ่งน้อยกว่าปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7 และ 13 ซึ่งมีค่าเท่ากับร้อยละ 97.65 และร้อยละ 98.34 ทั้งนี้อาจเนื่องจากเซลลูโลสที่ผลิตได้ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื่อที่ 12 มีการก่อผลึกที่แน่นกว่าจึงมีความสมารถในการดูดซับน้ำได้ต่ำกว่า แสดงผลในตารางที่ 4.10 และภาพที่ ก-2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ดังนั้นจากการทดลองพบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 12 ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 4 กรดอะซีติกร้อยละ 2, เอทานอลร้อยละ 1, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.25, KH_2PO_4 ร้อยละ 0.02 และปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 5 เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมที่ทำให้เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้สูงสุด จากการกำหนดสารอาหารที่ระดับสูง-ต่ำในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 13 สูตร ดังกล่าวข้างต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติจากการวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติจากการวางแผนการทดลองแบบ Plackett and Burman (N=12) ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติจากอิทธิพลของชนิด ปริมาณสารอาหาร และกล้าเชื้อของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 12 สูตร ในน้ำเวย์ที่มีการเติมสารอาหารเช่นเดียวกับข้อ 4.6.1 ศึกษาในสภาวะตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน

จากผลการทดลองตามตารางที่ 4.11 สามารถแบ่งปัจจัยได้ 2 แบบ คือ

1. ปัจจัยหลัก (Major factors) เป็นปัจจัยที่มีผลมากที่สุดต่อเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการผลิตไบโอเซลลูโลส การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยให้ความสำคัญกับปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้เป็นหลัก ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นตั้งแต่ร้อยละ 85 ขึ้นไป ($p \leq 0.15$)มี 2 ปัจจัยได้แก่

- ปริมาณน้ำตาลซูโครส พบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่งผลให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ลดลง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- ปริมาณกรดอะซีติก พบว่าการเพิ่มปริมาณกรดอะซีติกทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ผลิตได้ และค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ($p > 0.15$)

ปัจจัยหลักจะทำการทดลองหาระดับที่เหมาะสมต่อไป โดยผันแปรช่วงระดับสารอาหารที่ทดลองเป็นดังนี้

- ปริมาณน้ำตาลซูโครส — ช่วงระดับทดลองเดิมคือร้อยละ 4-10 กำหนดใหม่เป็นร้อยละ 1, 3, 5 และ 7
- ปริมาณกรดอะซีติก — ช่วงระดับทดลองเดิมคือร้อยละ 2-4 กำหนดใหม่เป็นร้อยละ 0, 2 และ 3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ปัจจัยรอง (Minor factors) เป็นปัจจัยที่มีผลน้อยต่อต่อเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการผลิตไบโอเซลลูโลส การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่างในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ มี 6 ปัจจัยได้แก่

- ปริมาณเอทานอล พบว่าการเพิ่มปริมาณเอทานอลทำให้การผลิตไบโอเซลลูโลสลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- ปริมาณกล้าเชื้อ พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตได้ ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ที่เหลือและค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- ปริมาณ KH_2PO_4 พบว่าการเพิ่มปริมาณ KH_2PO_4 ทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- ปริมาณ $MgSO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)
- ปริมาณ $FeSO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $FeSO_4$ ทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสลดลง ($p \leq 0.15$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$)

ดังนั้นสามารถกำหนดระดับการใช้ได้ดังนี้

- เอทานอล ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 1
- ปริมาณกล้าเชื้อ ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 5
- ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 0.25
- ปริมาณ KH_2PO_4 ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 0.02
- ปริมาณ $MgSO_4$ ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 0
- ปริมาณ $FeSO_4$ ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.11 ค่า t ที่วิเคราะห์ผลการเติมสารอาหารและกล้าเชื้อในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อปริมาณไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง หลังจากเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107

Input Variable	Response Variable		
	ไบโอเซลลูโลส	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
น้ำตาลซูโครส	-4.572[e]	4.391[e]	-0.158
กรดอะซีติก	-6.960[e]	-0.710	-2.731[d]
เอทานอล	-5.587[e]	-0.223	0.248
ปริมาณกล้าเชื้อ	-1.012	-0.518	-1.286
$(NH_4)_2HPO_4$	-4.723[e]	0.659	1.828
KH_2PO_4	-2.499[d]	0.181	0.564
$MgSO_4$	-1.232	1.189	-0.564
$FeSO_4$	-5.836[e]	-1.231	0.925

หมายเหตุ : ค่า Degree of freedom เท่ากับ 3

: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงถึงระดับความมีนัยสำคัญดังนี้

c หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 85 มีค่า t-table เท่ากับ 1.924

d หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 90 มีค่า t-table เท่ากับ 2.353

e หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีค่า t-table เท่ากับ 3.182

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลของการเติมสารอาหารในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 12 สูตร ต่อการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการผลิตไบโอเซลลูโลส การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่าง ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อธิบายผลจากตารางที่ 4.11 และ 4.12 ดังต่อไปนี้

น้ำตาลซูโครส ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อส่งผลให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ลดลง ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.15$) โดยการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับสูงคือร้อยละ 10 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ0.2479 ± 0.32 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0059 ± 0.78 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเท่ากับร้อยละ 10.31 ± 1.25 การเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่ำคือร้อยละ 4 เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.7855 ± 1.15 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นเท่ากับร้อยละ 0.0255 ± 0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือร้อยละ 6.17 ± 1.28 ดังแสดงในตารางที่ 4.12 จะเห็นว่าการเติมน้ำตาลในระดับต่ำทำให้ได้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ส่งผลให้เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 มีความสามารถในการผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติมน้ำตาลที่ระดับสูง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณน้ำตาลในระดับต่ำ คือร้อยละ 4

กรดอะซีติก ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณกรดอะซีติกทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตได้ และค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ($p \leq 0.15$) การเติมกรดอะซีติกที่ระดับสูงคือร้อยละ 4 เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.0404 ± 0.03 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0007 ± 0.00 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.61 ± 0.14 และพบว่าการเติมกรดอะซีติกที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 2 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ร้อยละ 0.9929 ± 1.03 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็น ร้อยละ 0.0306 ± 0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.82 ± 0.11 ดังแสดงในตารางที่ 4.12 เมื่อพิจารณาปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้เป็นหลัก พบว่าการเติมกรดอะซีติกในระดับต่ำ ส่งผลให้เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 สามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติมกรดอะซีติกที่ระดับสูง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณกรดอะซีติกในระดับต่ำ คือร้อยละ 2

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เอทานอล ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณเอทานอลทำให้การผลิตไบโอเซลลูโลสลดลง ($p \leq 0.15$) จะเห็นว่าการเติมเอทานอลในระดับสูงคือร้อยละ 3 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ร้อยละ 0.1572$\pm$0.27 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0037$\pm$0.01 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และพบว่าการเติมเอทานอลที่ระดับต่ำคือร้อยละ 1 เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ร้อยละ 0.8761$\pm$1.11กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0276$\pm$0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร ดังแสดงในตารางที่ 4.12 ดังนั้นการเติม เอทานอลที่ระดับต่ำเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติมเอทานอลที่ระดับสูง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณเอทานอล ในระดับต่ำ คือร้อยละ 1

ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.15$) การเติมปริมาณกล้าเชื้อระดับสูงคือร้อยละ 10 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ร้อยละ 0.5275$\pm$0.87 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0135$\pm$0.02 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือร้อยละ 8.09$\pm$3.01 และค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.67$\pm$0.15 และพบว่าการเติมกล้าเชื้อที่ระดับต่ำคือร้อยละ 5 เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ร้อยละ 0.5058$\pm$0.92 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0178$\pm$0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือร้อยละ 8.39$\pm$2.09 และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.76$\pm$0.17 ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และเมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของไบโอเซลลูโลสพบว่าการเติมกล้าเชื้อที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 5 เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติมกล้าเชื้อที่ระดับสูงดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 5

$(NH_4)_2HPO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ลดลง ($p \leq 0.15$) ซึ่งการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.5 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ร้อยละ 0.2346$\pm$0.33 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็น ร้อยละ 0.0055$\pm$0.01 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ระดับต่ำคือร้อยละ 0.25 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ ร้อยละ 0.7987$\pm$1.14 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร และคิดเป็น ร้อยละ 0.0258$\pm$0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร ดังแสดงในตารางที่ 4.12 เนื่องจากพบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ในระดับต่ำคือร้อยละ 0.25

KH_2PO_4 ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ KH_2PO_4 ทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ลดลง ($p \leq 0.15$) ซึ่งการเติม KH_2PO_4 ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.04 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.3924$\pm$0.90 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0103$\pm$0.02 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และการเติม KH_2PO_4 ระดับต่ำคือร้อยละ 0.02 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.6409$\pm$0.87 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0210$\pm$0.03 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร ดังแสดงในตารางที่ เนื่องจากพบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติม KH_2PO_4 ที่ระดับสูง 4.12 ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณ KH_2PO_4 ในระดับต่ำ

$MgSO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p>0.15$) ซึ่งการเติม $MgSO_4$ระดับสูงคือร้อยละ 0.05 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.5109$\pm$0.87 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0130$\pm$0.02 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือร้อยละ 8.86$\pm$2.36 และค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.69$\pm$0.14 และเมื่อเติม $MgSO_4$ ที่ระดับต่ำคือไม่เติม $MgSO_4$ พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.5224$\pm$0.92 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0183$\pm$0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือร้อยละ 7.62$\pm$2.65 และค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.74$\pm$0.19 ดังแสดงในตารางที่ 4.12 และเมื่อพิจารณาปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้พบว่าการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับต่ำคือไม่เติม $MgSO_4$ ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ พบว่าให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้สูงกว่าการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับสูง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับต่ำ

$FeSO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $FeSO_4$ ทำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสลดลง ($p \leq 0.15$) โดยพบว่าการเติม $FeSO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.0002 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.1475$\pm$0.23 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0031$\pm$0.01 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และพบว่าการเติม $FeSO_4$ระดับต่ำร้อยละ 0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 0.8859±1.11 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0282±0.04 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร ดังแสดงในตารางที่ 4.12 เนื่องจากการเติม $FeSO_4$ ที่ระดับต่ำพบว่าเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติม $FeSO_4$ ที่ระดับสูง ดังนั้นการทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณการเติม $FeSO_4$ ที่ระดับต่ำ คือไม่เติม $FeSO_4$

4.6.3 ผลการศึกษาหาปริมาณสารอาหารที่เป็นปัจจัยหลัก คือ น้ำตาลซูโครส และกรดอะซีติกต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107

ผลการทดลองศึกษาหาปริมาณน้ำตาลซูโครส กรดอะซีติก เอทานอล ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 $(NH_4)_2HPO_4$ และ KH_2PO_4 ที่เหมาะสมหลังจากทำการกลั่นกรองสารอาหารในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจากการใช้แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman 12 ได้ปัจจัยหลักคือ น้ำตาลซูโครส และ กรดอะซีติก ทำการศึกษาหาปริมาณน้ำตาลซูโครส กรดอะซีติก ที่เหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 โดยวางแผนการทดลองแบบ 4×3 Factorial in CRD (Factorial Completely Randomized Design) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) มีปริมาณน้ำตาลซูโครสที่ 4 ระดับคือร้อยละ 1, 3, 5 และ 7 และปริมาณกรดอะซีติกที่ 3 ระดับคือ ร้อยละ 0, 2 และ 3 โดยกำหนดปัจจัยรอง ได้แก่ เอทานอล ,$(NH_4)_2HPO_4$, KH_2PO_4 และปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เลือกเติมที่ระดับต่ำคือร้อยละ 1, 0.25, 0.02 ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 10^6 cfu/มิลลิลิตร ร้อยละ 5 ตามลำดับ ศึกษาทดลองในสภาวะตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 14 วัน

มีสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อทั้งหมด 13 สูตร ดังแสดงในตารางที่ 4.13 โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 เป็นสูตรอาหารชุดควบคุมที่เติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.13 ปริมาณสารอาหารในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการศึกษาปริมาณน้ำตาลซูโครส และ กรดอะซีติก ที่เหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสจาก *A. xylinum* TISTR 107

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณการเติม (ร้อยละ)					
	น้ำตาลซูโครส	กรดอะซีติก	เอทานอล	ปริมาณกล้าเชื้อ	$(NH_4)_2HPO_4$	KH_2PO_4
1	1	0	1	5	0.25	0.02
2	3	0	1	5	0.25	0.02
3	5	0	1	5	0.25	0.02
4	7	0	1	5	0.25	0.02
5	1	2	1	5	0.25	0.02
6	3	2	1	5	0.25	0.02
7	5	2	1	5	0.25	0.02
8	7	2	1	5	0.25	0.02
9	1	3	1	5	0.25	0.02
10	3	3	1	5	0.25	0.02
11	5	3	1	5	0.25	0.02
12	7	3	1	5	0.25	0.02
13	0	0	0	10	0	0

ผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ และค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ 14 วัน พบว่าไม่พบการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมกรดอะซีติกร้อยละ 2 และ 3 โดยพบว่า การเติมกรดอะซีติกที่ร้อยละ 2 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 3.82 และการเติมกรดอะซีติกร้อยละ 3 ให้ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.65-3.68 ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเติมกรดอะซีติกที่ระดับดังกล่าวส่งผลให้อาหารเลี้ยงเชื้อมีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นไม่เหมาะสมต่อการเจริญสอดคล้องกับการศึกษาของ Jonas และ Farah (1998) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญคือ 6.5 และ 7.7 (Masaoka *et al*, 1992) และอาจเนื่องจาก การเติมกรดอะซีติกอาจยับยั้งกิจกรรมของเอนไซม์ซูเคส (sucrase) ในระบบการ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เคลื่อนย้ายซูโครส (Toda *et al*, 1997) ส่งผลให้เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 มีความสามารถในการใช้น้ำตาลซูโครสเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตเพื่อสร้างไบโอเซลลูโลสได้ลดลง

จากการทดลองพบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 และ 13 มีปริมาณโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้มากที่สุดร้อยละ 1.4405±0.62 และ 1.6822±0.29 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร ตามลำดับ แตกต่างกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ร้อยละ 1 เอทานอล ร้อยละ 1, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.25, KH_2PO_4 ร้อยละ 0.02 และปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 5 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ 13 เติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 และเมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 0.0966±0.00 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร แตกต่างกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำเวย์มีสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสโดยไม่จำเป็นต้องเติมสารอาหารอื่นใด แสดงผลในตารางที่ 4.14 และภาพที่ ก-3

นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณน้ำตาลที่เพิ่มขึ้นอาจมีแนวโน้มทำให้เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้ลดลง สอดคล้องกับงานวิจัยของ Masaoka *et al.* (1992) กล่าวว่าการผลิตไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* จะลดลงเมื่อมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นเพิ่มขึ้น จากปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมสารอาหาร 12 สูตรแสดงในตารางที่ 4.13 พบว่ามีปริมาณน้อยกว่าเมื่อเทียบกับสูตรอาหารที่มีการเติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 ดังนั้นอาจกล่าวได้ว่าการกำหนดช่วงระดับสูง-ต่ำในการเติมสารอาหารอาจไม่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 ในน้ำเวย์ และพบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 เพิ่มจาก 5.5 เป็น 6.72 ทั้งนี้เนื่องจากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไม่มีการเติมสารอาหารอื่น ดังนั้นแหล่งคาร์บอนที่เชื้อใช้ในการเจริญจึงมีเพียงน้ำตาลแลคโตสในน้ำเวย์ ซึ่ง *A. xylinum* มีความสามารถในการใช้น้ำตาลแลคโตสเพื่อผลิตไบโอเซลลูโลสได้น้อย คือถ้าเทียบการผลิตไบโอเซลลูโลสจากน้ำตาลกลูโคสได้ร้อยละ 100 เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถใช้น้ำตาลแลคโตสผลิตไบโอเซลลูโลสได้เพียงร้อยละ 16 เท่านั้น (Jonas and Farah, 1998) ดังนั้นเมื่อมีแหล่งคาร์บอนไม่เพียงพอต่อการเจริญเชื้อจึงใช้แหล่งไนโตรเจนแทน (Madigan *et al*, 2000) โดยเชื้อ *A. xylinum* ใช้โปรตีน และกรดอะมิโนที่มีอยู่ในน้ำเวย์โดยกระบวนการไฮโดรไลซีสเกิดสารประกอบสุดท้ายคือแอมโมเนียม (NH_3) (Sarles *et al*, 1951) ซึ่งจะส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.6.4 ผลการศึกษาชนิดและปริมาณสารอาหารที่มีผลกระทบต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107

จากผลของการเติมสารอาหารในน้ำเวย์ในตอนที่ 4.6.3 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสในปริมาณน้อยมากเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 12 ในตอนที่ 4.6.1 ซึ่งเป็นผลจากการกลั่นกรองปัจจัยที่ใช้แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 12 ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครส ร้อยละ 7 กรดอะซีติกร้อยละ 2 เอทานอลร้อยละ1 ปริมาณเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เริ่มต้นร้อยละ 5, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.25 และ KH_2PO_4 ร้อยละ 0.02 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้สูงสุด 0.3169±0.14 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร การทดลองในตอนนี้จึงทำการทดลองโดยกำหนดปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่มีจำนวนเซลล์เท่ากับ 10^6 cfu/มิลลิลิตร เติมในปริมาณร้อยละ 5 เท่ากันในทุกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ และปริมาณน้ำตาลซูโครส กรดอะซีติก เอทานอล $(NH_4)_2HPO_4$ และ KH_2PO_4 เติมแตกต่างกันในแต่ละสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 6 เติมชนิดและปริมาณสารอาหารเหมือนกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 12 ในตอนที่ 4.6.1 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7 เติมชนิดและปริมาณสารอาหารเหมือนกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7 ในตอนที่ 4.6.1 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 8 เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุมเติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 5 ดังแสดงในตารางที่ 4.15

ตารางที่ 4.15 ปริมาณสารอาหารในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อศึกษาผลของการเติมสารอาหารและกล้าเชื้อที่มีผลต่อเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการผลิตไบโอเซลลูโลส

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณการเติม (ร้อยละ)						
	น้ำตาลซูโครส	กรดอะซิติก	เอทานอล	ปริมาณกล้าเชื้อ	$(NH4)_2HPO_4$	KH_2PO_4	$MgSO_4$
1	7	0	0	5	0	0	0
2	0	2	0	5	0	0	0
3	0	0	1	5	0	0	0
4	0	0	0	5	0.25	0	0
5	0	0	0	5	0	0.02	0
6	4	2	1	5	0.25	0.02	0
7	4	2	1	10	0.25	0.04	0.05
8	0	0	0	5	0	0	0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 ที่เติมสารอาหารในน้ำเวย์ได้แก่ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 7 และปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 5 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น เท่ากับ 5.57 ส่งผลให้เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตไบโอเซลลูโลสได้สูงสุดร้อยละ 3.1110$\pm$0.56 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับสูตรอาหารที่ 3, 4 และ 8 คือมีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ร้อยละ 2.3883$\pm$0.81, 2.7559$\pm$1.10 และ 2.2310$\pm$0.33 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร ตามลำดับ แต่เมื่อพิจารณาน้ำหนักแห้งของปริมาณไบโอเซลลูโลส พบว่า สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 0.1689$\pm$0.06 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร แตกต่างกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 3, 4, 8 และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แสดงผลในตารางที่ 4.16 และภาพที่ ก-4

ทั้งนี้เนื่องจากการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 7 เป็นปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลส ใกล้เคียงกับงานวิจัยของ วราวุฒิ และคณะ (2536) กล่าวว่าการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 7.5 ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสในน้ำเวย์ได้สูงสุดทั้งนี้เนื่องจาก *A. xylinum* มีความต้องการน้ำตาลซูโครสเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลส (Jonas and Farah, 1998) แต่ไม่ต้องการสารอาหารแร่ธาตุประเภทอื่นเนื่องจากน้ำเวย์มีแร่ธาตุอาหารที่เพียงพอต่อการผลิตไบโอเซลลูโลส นอกจากนี้อาจเป็นผลมาจากค่าความเป็นกรดด่างเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vandamme *et al*. (1998) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสคือ 5.5 และยังพบอีกว่าไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 มีปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 94.65 ซึ่งน้อยกว่าปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลสที่ผลิตจากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 3, 4 และ 8 ที่มีปริมาณความชื้นร้อยละ 96.58, 97.25 และ 95.97 ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเส้นใยเซลลูโลสที่ผลิตได้จากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1 มีการรวมตัวก่อผลึกแน่นทำให้มีความสามารถในการอุ้มน้ำได้ต่ำ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.7 ผลของชนิด ปริมาณสารอาหารต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter aceti* subsp. *xylinum* TISTR 107 เมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *Kluyveromyces marxianus* var. *marxianus* TISTR 5695 ในน้ำเวย์

4.7.1 ผลของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเจริญร่วมกับ *K. fragilis* TISTR 5695

ผลการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เพื่อผลิตไบโอเซลลูโลสเมื่อเพาะเลี้ยงร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในน้ำเวย์ที่เติมสารอาหาร 5 ชนิดได้แก่ น้ำตาลซูโครส กล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 กล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695, $(NH_4)_2HPO_4$ และ $MgSO_4$ ใช้แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman (N=12) แสดงสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1-12 ในตารางที่ 3.7 โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 และ 14 เป็นสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อชุดควบคุม โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 13 เติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 5 และ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 2 ไม่มีการเติมสารอาหารอื่น และสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 14 เติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 และ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 6 และไม่มีการเติมสารอาหารอื่นใด ศึกษาทดลองที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะเขย่า 120 รอบ/นาที นาน 14 ชั่วโมง จากนั้นตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่า นาน 14 วัน

พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 5 ที่ประกอบด้วยน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10 ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 ปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 2 และ $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.1 มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้น 5.94$\pm$0.01 เมื่อสิ้นสุดการเลี้ยงเชื้อที่ 14 วัน เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสสูงสุดร้อยละ 7.7355$\pm$0.87 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.3675$\pm$0.12 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่น มีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.50$\pm$1.02 ดังแสดงในตารางที่ 4.17 และภาพที่ ก-4 ทั้งนี้อาจเนื่องจากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 5 นี้มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 สอดคล้องกับการศึกษาของ Masaoka *et al.* (1992) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสคือ 4.0-6.0 และการเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 ซึ่งเป็นปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลส โดย วราวุฒิ และคณะ (2536) ได้กล่าวว่าการเติมปริมาณเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 มีความเหมาะสมต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสในน้ำเวย์ และทั้งนี้การ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

เติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 10 อาจเป็นปริมาณกล้าเชื้อเริ่มต้นที่มากพอในการเจริญแข่งขัน กับ *K. fragilis* TISTR 5695 ที่เติมในปริมาณต่ำคือร้อยละ 2 และพบว่าการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.1 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อทำหน้าที่เป็นแหล่งไนโตเจน แหล่งฟอสฟอรัส และทำหน้าที่เป็นสารละลายบัฟเฟอร์ (pH buffer) รักษาสมดุลของค่าความเป็นกรด-ด่าง (Todar, 2000) ที่อาจเหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลส สอดคล้องกับ Budhiono *et al.* (1999) ที่กล่าวว่า $(NH_4)_2HPO_4$ ปริมาณร้อยละ 0.1 เป็นสารประกอบไนโตรเจนส่งผลให้มีการผลิตไบโอเซลลูโลสสูงสุดในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ อีกทั้งเชื้อ *A. xylinum* อาจใช้สารอาหารจากการย่อยสลายเซลล์ตามธรรมชาติ (autolysis) ของยีสต์ ซึ่งส่วนใหญ่เป็นสารประกอบจำพวกวิตามินบี ช่วยส่งเสริมให้เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้เพิ่มขึ้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

4.7.2 ผลการวิเคราะห์ทางสถิติจากการใช้แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman

ผลการวิเคราะห์ทางสถิติจากการใช้แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman ที่ระดับนัยสำคัญทางสถิติตั้งแต่ร้อยละ 75 ขึ้นไปของอิทธิพล จากชนิด ปริมาณสารอาหารและปริมาณกล้าเชื้อของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 12 สูตร ที่ประกอบด้วยสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์เช่นเดียวกับสูตรอาหารที่ 1-12 ในข้อที่ 4.7.1 ต่อการสร้างไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยพิจารณาปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตได้เป็นหลักจากการเลี้ยงเชื้อร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695

จากผลการทดลองตามตารางที่ 4.18 สามารถแบ่งปัจจัยได้ 2 แบบ คือ

1. ปัจจัยหลัก (Major factors) เป็นปัจจัยที่มีผลมากต่อเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการผลิตไบโอเซลลูโลส การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเจริญร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมี 2 ปัจจัยได้แก่

- ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และปริมาณไบโอเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.25$)
- ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือและปริมาณไบโอเซลลูโลสลดลง และมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.25$)

ปัจจัยหลักจะทำการทดลองหาระดับที่เหมาะสมต่อไป โดยผันแปรช่วงระดับที่ทดลองเป็นดังนี้

- ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107
  ช่วงระดับทดลองเดิมคือร้อยละ 5-10
  กำหนดใหม่เป็นร้อยละ 7, 10 และ 15
- ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$
  ช่วงระดับทดลองเดิมคือร้อยละ 0.1-0.5
  กำหนดใหม่เป็นร้อยละ 0, 0.1 และ 0.3

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

2. ปัจจัยรอง (Minor factors) เป็นปัจจัยที่มีผลน้อยต่อต่อเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในการผลิตไบโอเซลลูโลส การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อเจริญร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งมี 3 ปัจจัยได้แก่

- ปริมาณน้ำตาลซูโครส พบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครส ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.25$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณไบโอเซลลูโลส และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.25$)
- ปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ($p \leq 0.25$) แต่ไม่มีผลต่อปริมาณไบโอเซลลูโลส ($p > 0.25$)
- ปริมาณ $MgSO_4$ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ ไม่มีผลกระทบต่อค่าปริมาณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ และค่าความเป็นกรด-ด่าง ($p > 0.25$)

สามารถกำหนดระดับการใช้ได้ดังนี้

- ปริมาณน้ำตาลซูโครส ใช้ระดับสูง คือร้อยละ 10
- กล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 2
- ปริมาณ $MgSO_4$ ใช้ระดับต่ำ คือร้อยละ 0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.18 ค่า t จากการผลการเติมสารอาหาร และปริมาณกล้าเชื้อในน้ำเวย์ของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ต่อปริมาณไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่างจากการเจริญร่วมกันระหว่าง *A. xylinum* TISTR 107 และ *K. fragilis* TISTR 5695

Input Variable	Response Variable		
	ไบโอเซลลูโลส	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ	ค่าความเป็นกรด-ด่าง
น้ำตาลซูโครส	0.728	6.993[e]	-0.106
A. xylinum TISTR 107	1.361[a]	2.966[e]	-0.769
K. fragilis TISTR 5695	-0.652	-2.827[e]	-1.833[c]
$(NH_4)_2HPO_4$	-1.452[b]	-3479[e]	6.492[e]
$MgSO_4$	-0.708	0.173	-0.840

หมายเหตุ : ค่า Degree of freedom เท่ากับ 6

: ตัวอักษรภาษาอังกฤษแสดงถึงระดับความมีนัยสำคัญดังนี้

a หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 75 มีค่า t-table เท่ากับ 1.273

b หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 80 มีค่า t-table เท่ากับ 1.440

c หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 85 มีค่า t-table เท่ากับ 1.650

d หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 90 มีค่า t-table เท่ากับ 1.943

e หมายถึงมีระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 มีค่า t-table เท่ากับ 2.447

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ผลของปัจจัยทดลอง ต่อการผลิตไบโอเซลลูโลส การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่าง เมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะเชื้อผสมระหว่างเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 และ *K. fragilis* TISTR 5695 อธิบายผลจากตารางที่ 4.18 และ 4.19 ได้ดังต่อไปนี้

น้ำตาลซูโครส ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครส ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.25$) ดังนั้นการเติมน้ำตาลที่ระดับสูงคือร้อยละ 10 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 1.4257$\pm$0.93 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0671$\pm$0.15 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเฉลี่ยที่ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 5.38$\pm$0.07 ค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย 5.02$\pm$0.40 และการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่ำคือร้อยละ 0 (ไม่เติมน้ำตาลซูโครส) พบว่าเชื้อ *A. xylinum* ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 0.5857$\pm$0.15 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็น ร้อยละ 0.0228$\pm$0.05 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตรมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเฉลี่ยที่ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 0.34$\pm$0.03 และค่าความเป็นกรด-ด่างเฉลี่ย 5.04$\pm$0.68 ดังแสดงในตารางที่ 4.19 เนื่องจาก*A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่ำ ดังนั้นการทดลองในตอนต่อไปจึงเลือกน้ำตาลซูโครสที่ระดับสูงคือร้อยละ 10

ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และปริมาณไบโอเซลลูโลสเพิ่มขึ้น ($p \leq 0.25$) ผลการทดลองพบว่าเมื่อเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ระดับสูงคือร้อยละ 10 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* สามารถผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 1.9363$\pm$3.09 น้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0036$\pm$0.00 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเฉลี่ยที่ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 3.93$\pm$3.92 และการเติมน้ำตาลซูโครสที่ระดับต่ำคือร้อยละ 5 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* สามารถผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 0.0762 $\pm$0.09 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0036$\pm$0.00 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเฉลี่ยที่ 14 วัน ร้อยละ 1.79$\pm$2.83 และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.97$\pm$0.67, 5.09$\pm$0.39 ดังแสดงในตารางที่ 4.19 จะเห็นว่าการเติมปริมาณกล้าเชื้อที่ระดับสูงคือร้อยละ 10 เชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากกว่าการเติมกล้าเชื้อที่ระดับต่ำ ดังนั้นการทดลองในตอนต่อไปจึงเลือกให้ใช้ปริมาณเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ระดับสูง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่างลดลง ($p \leq 0.25$) การใช้ปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ที่ระดับสูงคือร้อยละ 6 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 6419$\pm$1.26 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0251$\pm$0.05 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตรมีปริมาณ มีน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเฉลี่ยที่ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 1.84$\pm$2.31 และค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.90$\pm$0.59 และเมื่อเติมกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ระดับต่ำคือร้อยละ 2 มีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้เฉลี่ย 1.3706$\pm$3.12 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0647$\pm$0.15 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือเฉลี่ยที่ 14 วัน เท่ากับร้อยละ 3.88$\pm$4.28 และค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.16$\pm$0.49 ดังแสดงในตารางที่ 4.19 เมื่อพิจารณาปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้พบว่าการเติมกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 2 เนื่องจากเชื้อ *A. xylinum* มีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้สูงกว่าการเติมกล้าเชื้อ *K. fragilis* ที่ระดับสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจากการเติมกล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ระดับสูง ร้อยละ 6 ทำให้เชื้อสามารถเจริญเติบโตและใช้สารอาหารได้อย่างรวดเร็ว ส่งผลให้อาจมีการสร้างแอลกอออล์ในปริมาณที่สูงจนอาจชะงักและยับยั้งการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 ได้ ดังนั้นการทดลองตอนต่อไปจึงเลือกให้ใช้ปริมาณเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 2

$(NH_4)_2HPO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ทำให้ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือและปริมาณไบโอเซลลูโลสลดลง และมีค่าความเป็นกรด-ด่างที่เพิ่มขึ้น ($p \leq 0.25$) พบว่าการใช้ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.5 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 0.0259$\pm$0.05 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0008$\pm$0.00 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วันเฉลี่ยร้อยละ 1.61$\pm$2.39 และค่าความเป็นกรด-ด่าง 5.49$\pm$0.16 และการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับต่ำคือร้อยละ 0.1 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 1.9866$\pm$3.05 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็น 0.0891$\pm$0.14 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วันเฉลี่ยร้อยละ 4.11$\pm$4.08 และค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.57$\pm$0.32 ดังแสดงในตารางที่ 4.19 เมื่อพิจารณาปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ เป็นหลัก พบว่าการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับต่ำให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ สูงกว่าการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูง ทั้งนี้อาจเนื่องจากเมื่อเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับต่ำส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเฉลี่ยเท่ากับ 5.92$\pm$0.04 ซึ่งเป็น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ค่าความเป็นกรด-ด่างที่ใกล้เคียงกับค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมโดย Jonas และ Farah (1998) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *Acetobacter xylinum* คือ 6.5 และพบว่าการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับสูงส่งผลให้ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเฉลี่ย 8.74±0.03 ซึ่งเป็นค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่ไม่เหมาะสมต่อการสร้างไบโอเซลลูโลส ดังนั้นการทดลองในตอนต่อไปจึงเลือกใช้ปริมาณ $(NH_4)_2HPO_4$ ที่ระดับต่ำ คือร้อยละ 0.1

$MgSO_4$ ที่ใช้เติมมีผลกระทบคือ พบว่าการเพิ่มปริมาณ $MgSO_4$ ไม่มีผลกระทบต่อค่าปริมาณปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ และค่าความเป็นกรดด่าง ($p>0.25$) โดยพบว่าการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับสูงคือร้อยละ 0.05 พบว่าเชื้อ *A. xylinum* ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ 0.6021±1.27 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็น 0.02354±0.05 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร มีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วันเฉลี่ย ร้อยละ 2.92±3.06 และมีค่าความเป็นกรด-ด่าง 4.97±0.62 และการเติม $MgSO_4$ระดับต่ำคือไม่เติม $MgSO_4$ พบว่าเชื้อ *A. xylinum* ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้เฉลี่ยร้อยละ1.4104±3.11 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0664±0.15 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตรมีปริมาณ น้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วันเฉลี่ยร้อยละ 2.80±4.10 ตามลำดับ และมีค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 5.09±0.48 ดังแสดงในตารางที่ 4.19 เมื่อพิจารณาปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้พบว่าการเติม $MgSO_4$ ที่ระดับต่ำ คือไม่เติม $MgSO_4$ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ปริมาณสูงกว่าการเติมที่ระดับสูง ดังนั้นการทดลองในตอนต่อไปจึงเลือก $MgSO_4$ ที่ระดับต่ำ คือไม่เติม $MgSO_4$

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

จากการกลั่นกรองปัจจัยโดยใช้แผนการทดลองแบบ Plackett and Burman ในตอนที่ 4.7.2 ได้ปัจจัยหลักคือ ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 และ$(NH_4)_2HPO_4$ จากนั้นทำการศึกษาหาปริมาณการเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ที่ 3 ระดับคือร้อยละ 7, 10 และ 15 และ เติม $(NH_4)_2HPO_4$ 3 ระดับคือ ร้อยละ 0, 0.1 และ 0.3 วางแผนการทดลองแบบ 3×3 Factorial in CRD (Factorial Completely Randomized Design) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT) โดยเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10 และเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ร้อยละ 2 เท่ากันในทุกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ส่วนประกอบของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 1-9 ดังแสดงในตารางที่ 4.20 โดยสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 10-18 เป็นสูตรอาหารชุดควบคุม

ตารางที่ 4.20 สูตรอาหารในน้ำเวย์ เพื่อศึกษาผลของการเติมปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 และ $(NH_4)_2HPO_4$ ต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเจริญร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณการเติม (ร้อยละ)			
	A. xylinum TISTR 107	$(NH_4)_2HPO_4$	น้ำตาลซูโครส	*K. fragilis* TISTR 5695
1	7	0	10	2
2	7	0.1	10	2
3	7	0.3	10	2
4	10	0	10	2
5	10	0.1	10	2
6	10	0.3	10	2
7	15	0	10	2
8	15	0.1	10	2
9	15	0.3	10	2
10	10	0	0	2
11	10	0	0	6
12	5	0	0	2
13	5	0	0	6
14	15	0	0	6
15	7	0	0	0
16	10	0	0	0
17	15	0	0	0
18	0	0	0	0

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

พบว่าการเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เริ่มต้นที่ร้อยละ 7, 10 และ 15 มีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ร้อยละ 8.1011±10.59, 10.2068±9.91 และ 13.8382±10.79 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.0916±0.11, 0.1314±0.11 และ 0.1717±0.14 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร ตามลำดับ ดังนั้นจะเห็นได้ว่าการเติมกล้าเชื้อร้อยละ 15 ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสน้ำหนักแห้งสูงสุด แต่ไม่แตกต่างกับการเติมกล้าเชื้อ ร้อยละ 10 ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาน้ำหนักเปียกของไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ พบว่าการเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เริ่มต้นที่ร้อยละ 15 ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสสูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) สอดคล้องกับสมคิด (2531) กล่าวว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสคือร้อยละ 10-20

เมื่อพิจารณาการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0, 0.1 และ 0.3 มีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ร้อยละ 23.3850±7.49, 6.4173±5.90 และ 2.3439±2.73 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.2977±0.10, 0.0669±0.05 และ 0.0300±0.02 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตรตามลำดับ จะเห็นได้ว่าการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0 (ไม่เติม $(NH_4)_2HPO_4$ ลงในน้ำเวย์) มีผลให้ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตไบโอเซลลูโลสได้สูงสุดแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.1 และ 0.3 ($p \leq 0.05$) ทั้งนี้อาจเนื่องจากน้ำเวย์มีสารอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญ อีกทั้งการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ในปริมาณร้อยละ 0.1 และ 0.3 อาจเอื้อต่อ การเจริญของ *K. fragilis* TISTR 5695 ทำให้เจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้ *A. xylinum* TISTR 107 ไม่สามารถเจริญแข่งขันได้ ซึ่งอาจมีผลต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107

เมื่อพิจารณาปฏิสัมพันธ์ระหว่างการเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 กับการเติม $(NH_4)_2HPO_4$ ต่อการสร้างไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 พบว่าการเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ร้อยละ 15 และไม่เติม $(NH_4)_2HPO_4$ ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตได้สูงสุดร้อยละ 28.1477±2.75 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.4052±1.47 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตรแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) กับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่น แสดงผลการทดลองในตารางที่ 4.18

การทดลองนี้แสดงว่า การเติม น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 10, กล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 เริ่มต้นร้อยละ 2 และกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เริ่มต้นร้อยละ 15 ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ให้ปริมาณการผลิตไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107 สูงสุด ($p \leq 0.05$) เท่ากับ 28.1477±2.75 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร คิดเป็นร้อยละ 0.4052±1.47 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้มีปริมาณความชื้นเท่ากับร้อยละ 98.55 จะเห็นได้ว่าไบโอเซลลูโลสที่ผลิตจากการ *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเลี้ยงในสภาวะเชื้อผสมกับเชื้อ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

K. fragilis TISTR 5695 สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่แสดงในตารางที่ 4.17 มีปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลสเฉลี่ยในปริมาณสูงคือร้อยละ 98.59 ซึ่งเป็นปริมาณความชื้นที่สูงเมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้จาก *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเลี้ยงในสภาวะเชื้อเดี่ยวจากผลการทดลองในตอนที่ 4.6.1 ที่มีปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลสเฉลี่ยคือร้อยละ 97.60 ทั้งนี้อาจเนื่องจาก ไบโอเซลลูโลสที่ผลิตจาก *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเลี้ยงในสภาวะเชื้อผสมกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 มีการผลิตไบโอเซลลูโลสอย่างรวดเร็ว ส่งผลให้เส้นใยเซลลูโลสที่ผลิตได้มีการก่อผลึกได้อย่างหลวม ๆ เกิดเป็นรูและโพรงภายในโครงสร้าง (Cannon *et al*, 1989) ดังนั้นไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้จึงอาจมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้สูง

จากการทดลองตอนนี้พบว่า *A. xylinum* TISTR 107 สามารถผลิตไบโอเซลลูโลสได้มากที่สุดในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีการเติมเฉพาะน้ำตาลซูโครส และกล้าเชื้อเท่านั้น โดยไม่มีความจำเป็นต้องเติมสารอาหารแร่ธาตุอื่น ทั้งนี้อาจเนื่องจาก น้ำเวย์มีแร่ธาตุอาหารที่เพียงพอต่อการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลส นอกจากนี้พบว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่ 6.5 มีความเหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ β-galactosidase ที่ผลิตได้จากเชื้อ *K. fragilis* สอดคล้องกับ Szczodrak (2000) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมต่อกิจกรรมของเอนไซม์ β-galactosidase คือ 6.0-7.0 ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้มีความสามารถไฮโดรไลซิสน้ำตาลแลคโตส เป็นน้ำตาลกลูโคส และ กาแลคโตส (Castillo, 1990) เนื่องจากแหล่งคาร์บอนที่เชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้ผลิตไบโอเซลลูโลสที่ได้ดีที่สุด คือน้ำตาลกลูโคส (Masaoka, 1993) ดังนั้นอาจมีความเป็นไปได้ที่ *A. xylinum* TISTR 107 สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสได้อีกทางหนึ่ง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

และเมื่อทำการเปรียบเทียบปริมาณไบโอเซลลูโลส ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด และค่าความเป็นกรด- ด่างจากสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 1-18 ดังแสดงในตารางที่ 4.20 วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) เปรียบเทียบความแตกต่างโดยใช้ Duncan's New Multiple Range Test (DMRT)

พบว่าสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7 มีส่วนประกอบที่เติมในน้ำเวย์ได้แก่ กล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เริ่มต้นร้อยละ 15 กล้าเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 เริ่มต้นร้อยละ 2 น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 10 และ มีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 ให้ปริมาณไบโอเซลลูโลสที่เชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ผลิตได้สูงสุดเท่ากับ 28.1747$\pm$2.75 กรัมของน้ำหนักเปียก/100มิลลิลิตร คิดเป็น 0.4052$\pm$1.47 กรัมของน้ำหนักแห้ง/100มิลลิลิตรแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) แต่เมื่อพิจารณาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 15, 16 และ 17 ที่มีการเติมเฉพาะปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เริ่มต้นที่ร้อยละ 7, 10 และ15 ตามลำดับ และมีค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นประมาณ 6.5 มีการผลิตไบโอเซลลูโลสเท่ากับ 0.6555$\pm$0.05, 2.3411$\pm$0.97 และ 0.0290$\pm$0.05 กรัมน้ำหนักเปียก/ 100 มิลลิลิตร แสดงในตารางที่ 4.22 และในภาพ ก-5 ซึ่งเป็นปริมาณไบโอเซลลูโลสที่น้อยมากเมื่อเทียบกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ 7 ทั้งนี้อาจเนื่องจากค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นไม่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xylinum* TISTR 107 ที่เป็นการเจริญแบบเชื้อเดี่ยว สอดคล้องกับงานวิจัยของ Vandamme *et al.* (1998) กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* คือ 5.5 ซึ่งค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นในการทดลองนี้เท่ากับ 6.5 อาจมีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อปนเปื้อนต่าง ๆ เช่นแบคทีเรีย เนื่องจากการทดลองทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในสภาวะเปิด คือมีการใช้เพียงกระดาษปิดปากขวด สังเกตการปนเปื้อนได้จากสูตรอาหารที่ 18 ซึ่งเป็นสูตรอาหารชุดควบคุม คือไม่มีการเติมกล้าเชื้อ ไม่เติมน้ำตาลหรือสารอาหารอื่น และทำการเลี้ยงในสภาวะเช่นเดียวกับสูตรอาหารเลี้ยงเชื้ออื่น พบว่าที่ 14 วันมีปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือลดลง มีค่าความเป็นกรด-ด่างเพิ่มขึ้น และเมื่อสังเกตลักษณะของน้ำเวย์ พบว่ามีความขุ่น และมีเมือกรวมอยู่ที่ก้นขวดแสดงว่ามีการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ในการกระบวนการหมัก ซึ่งสอดคล้องกับ Banwart (1981) ที่กล่าวว่าค่าความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสมในการเจริญของแบคทีเรียโดยทั่วไปมีค่าอยู่ในช่วง 6.5-7.5

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

และเมื่อทำการศึกษาค่า Biochemical oxygen Demand (BOD) พบว่า น้ำเวย์ที่ไม่ผ่านการเลี้ยงเชื้อมีค่า BOD เท่ากับ 602,000 ppm และเมื่อผ่านการเลี้ยงเชื้อผสมโดยมีเชื้อ *A. xylinum* เริ่มต้นร้อยละ 10 และ *K. fragilis* เริ่มขึ้นร้อยละ 2 ในน้ำเวย์ที่ไม่มีการเติมสารอาหารพบว่ามีค่า BOD เท่ากับ 713,000 ppm และน้ำเวย์ที่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* เริ่มต้นร้อยละ 10 เพียงชนิดเดียวในน้ำเวย์ที่ไม่เติมสารอาหารมีค่า BOD เท่ากับ 698,000 ppm

เมื่อพิจารณาน้ำเวย์ที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10 และไม่ผ่านการเลี้ยงเชื้อมีค่า BOD เท่ากับ 702,000 ppm และน้ำเวย์ที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ0.1 เติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 และ *K. fragilis* ร้อยละ 2 มีค่า BOD เท่ากับ 782,000 ppm

จะเห็นว่าในทุกสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีค่า BOD สูงกว่าก่อนทำการเพาะเลี้ยงเชื้อ ทั้งนี้เนื่องจาก ค่า BOD เป็นการวิเคราะห์เพื่อให้ทราบถึงความสกปรกของน้ำ โดยเปรียบเทียบในรูปของปริมาณออกซิเจนที่จุลินทรีย์ต้องการใช้ในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (ธงชัย, 2535) โดยการทดลองนี้วัดจากปริมาณออกซิเจนที่ถูกใช้หมดไปในเวลา 5 วัน ในตู้ควบคุมอุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เนื่องจากมีปริมาณสารอินทรีย์ที่สูง ค่า BOD ที่ตรวจวัดได้จึงมีปริมาณมาก อีกทั้งในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อมีการเติมแร่ธาตุอาหารและน้ำตาล ส่งผลให้มีการเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนเซลล์มากขึ้น จึงมีปริมาณสารอินทรีย์ละลายอยู่ในน้ำเวย์เพิ่มมากขึ้น และเนื่องจากเชื้อ *A. xylinum* และ *K. fragilis* สร้างสารอินทรีย์เพิ่มขึ้น ส่งผลให้ค่า BOD ที่ตรวจวัดได้มีค่าเพิ่มขึ้น

อย่างไรก็ตามการนำน้ำเวย์มาเป็นวัตถุดิบในการผลิตไบโอเซลลูโลสถือว่าเป็นการนำน้ำเวย์มาใช้ประโยชน์และลดปริมาณของเสียที่ปล่อยทิ้งลงสู่สิ่งแวดล้อม อีกทั้งไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้สามารถเพิ่มรายได้ให้กับผู้ประกอบการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งผู้ประกอบการในอุตสกรรมผลิตเนยแข็ง

ตารางที่ 4.23 ค่า Biochemical oxygen demand (BOD) ในน้ำเวย์

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	BOD (ppm)
1) น้ำเวย์ที่ไม่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ	602,000
2) น้ำเวย์ที่เติมเฉพาะกล้าเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10	698,000
3) น้ำเวย์ที่เติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 และ *K. fragilis* ร้อยละ 2	713,000
4) น้ำเวย์เติมน้ำตาลร้อยละ 10 และไม่ผ่านการเลี้ยงเชื้อ	702,000
5) น้ำเวย์ที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10, $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 0.1 เติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 และ *K. fragilis* ร้อยละ 2	782,000

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

งานทดลองนี้พบว่าปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้สูงสุดมีปริมาณเท่ากับร้อยละ 0.41 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร หรือคิดเป็นร้อยละ 28.15 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร เมื่อทำการเลี้ยงในสภาวะเชื้อผสมระหว่าง *A. xylinum* ร้อยละ 15 และ *K. fragilis* ร้อยละ 2ในน้ำเวย์ที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10 ใช้เวลาในการเลี้ยง 14 วันซึ่งถือว่ามีปริมาณใกล้เคียงกับงานทดลองของ Budhiono *et al.* (1999) ที่ทำการเลี้ยงในน้ำมะพร้าวที่เติม น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 $(NH_4)_2HPO_4$ ร้อยละ 4 และมีการเติมวิตามินบี ได้ปริมาณไบโอเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 0.37 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตรในการเลี้ยง 12 วัน เช่นเดียวกับ Krusong *et al.* (2001) ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 Yeast extract ร้อยละ 0.5, $MgSO_4$ ร้อยละ 0.03 ได้ไบโอเซลลูโลสเท่ากับ 0.3 กรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร ในระยะเวลา 7 วัน และ Son *et al*. (2001) พบว่าในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่ประกอบด้วย น้ำตาล กลูโครสร้อยละ 4, Yeast extract ร้อยละ 0.1, polypeptone ร้อยละ 0.7, Na_2PO_4 ร้อยละ 0.8 พบว่าเพาะเลี้ยงที่ 7 วันมีปริมาณไบโอเซลลูโลสเท่ากับร้อยละ 0.38 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร และเมื่อเติมเอทานอลร้อยละ 1.4 ในอาหารเลี้ยงเชื้อนี้พบว่ามีเพิ่มปริมาณไบโอเซลลูโลสเป็นร้อยละ 0.16 น้ำหนักเปียก/ปริมาตร และ Son *et al*. (2003) พบว่าสูตรอาหารสังเคราะห์ที่เติม กลูโคสร้อยละ 1.5 $(NH_4)_2SO_4$ ร้อยละ 0.2, KH_2PO_4 ร้อยละ0.3, $Na_2HPO_4.12\ H_2O$ ร้อยละ 0.3, $Mg_2SO_4\ .7\ H_2O$ ร้อยละ0.08, $FeSO_4.7\ H_2O$ ร้อยละ 0.0005, H_3BO_3 ร้อยละ 0.0003%, nicotinamide ร้อยละ0.00005 และเติม เอทานอลร้อยละ 0.6 pH 6.5 มีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้ร้อยละ 0.42 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร

นอกจากนี้ยังพบว่ามีงานวิจัยที่สามารถเพิ่มผลผลิตไบโอเซลลูโลสได้ในปริมาณที่สูง เช่นงานวิจัยของ Krusong *et al.* (1996) ศึกษาในน้ำมะพร้าวที่เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 6 และเติมกรดอะซิติกร้อย 4 มีปริมาณไบโอเซลลูโลสร้อยละ 60 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร โดยใช้เชื้อสายพันธ์ *A. xylinum* DK และ Suksriwong *et al.* (1996) ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อสายพันธุ์เดียวกันนี้ในน้ำมะพร้าวที่เติมสารอาหารเช่นเดียวกันมีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้เท่ากับร้อยละ 29.16 กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากใช้สายพันธุ์ *A. xylinum* ที่มีความทนต่อกรดอะซิติก และทำการเลี้ยงในถาด ซึ่งเป็นการเพิ่มพื้นที่ผิวในการสร้างไบโอเซลลูโลส จึงได้ผลผลิตที่สูง และวราวุฒิ และคณะ (2536) ทำการเลี้ยงเชื้อ *A. xylinum* ในน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนและเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 7.5 กรดอะซีติกร้อยละ 4 และกล้าเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 เพาะเลี้ยงในสภาวะตั้งทิ้งไว้โดยไม่เขย่าในขวด ที่ 14 วันพบว่าไบโอเซลลูโลสได้ร้อยละ 45.11 น้ำหนักเปียก/ปริมาตร ซึ่งเมื่อทำการเปรียบเทียบกับงานทดลองนี้ซึ่งมีปริมาณไบโอเซลลูโลสที่ผลิตได้สูงสุดร้อยละ 28.15 กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตรถือว่าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ยังมีความสามารถผลิตไบโอเซลลูโลส

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ได้น้อยกว่า ทั้งนี้อาจเนื่องจากการทดลองของวราวุฒิมีการเติมกรดอะซิติกที่ร้อยละ 4 ซึ่งส่งเสริมให้เชื้อ *A. xylinum* ซึ่งอาจเป็นสายพันธุ์ที่มีความทนกรดและใช้กรดอะซิติกเป็นแหล่งพลังงานสำหรับการเจริญผลิตไบโอเซลลูโลส อีกทั้งภาชนะที่ใช้เป็นขวดที่อาจมีพื้นที่ผิวในการรับอากาศได้มาก ส่งผลให้เชื้อมีพื้นที่ผิวในการเจริญและสร้างไบโอเซลลูโลสมากขึ้น สังเกตได้จากเมื่อเปรียบเทียบความหนาของวุ้นที่ผลิตได้ โดยงานวิจัยของ วราวุฒิ พบว่าที่ 7 และ 14 วันวุ้นมีความหนาเท่ากับ 0.5 และ 1.09 เซนติเมตร ตามลำดับซึ่งมีความหนาใกล้เคียงกับงานทดลองนี้โดยพบว่าเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อที่ 7 และ 14 วันมีความหนาของวุ้นประมาณ 0.5 และ 1.3 เซนติเมตรในพื้นที่ผิว 15.85 ตารางเซนติเมตร ดังนั้นจะเห็นได้ว่าพื้นที่ผิวมีความสำคัญต่อความสามารถของเชื้อ *A. xylinum* ในการผลิตเซลลูโลส ซึ่งสอดคล้องกับ Masaoka *et al.* (1998) ที่กล่าวว่าพื้นที่ผิวมีผลต่อการผลิตไบโอเซลลูโลส แต่ความลึกและปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อไม่มีผลต่อการผลิตไบโอเซลลูโลส

งานทดลองที่ได้กล่าวมาข้างต้นจะเห็นได้ว่ามีการศึกษาการปรับปรุงสารอาหารในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อเพื่อเพิ่มผลผลิตไบโอเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ซึ่งส่วนใหญ่เติมสารอาหารและแร่ธาตุอาหารต่าง ๆ ซึ่งมีราคาแพงทำให้มีต้นทุนในการผลิตสูง ดังนั้นการผลิตไบโอเซลลูโลสจากน้ำเวย์ที่มีการเติมเฉพาะน้ำตาลซูโครส และกล้าเชื้อ *A. xylinum* และ *K. fragilis* ซึ่งมีต้นทุนในการผลิตที่ต่ำ ถือเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการใช้ประโยชน์ และเพิ่มมูลค่าน้ำเวย์ซึ่งถูกปล่อยทิ้งในกระบวนการผลิตเนยแข็ง อีกทั้งยังช่วยลดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมที่เกิดจากน้ำเวย์

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ แอลกอฮอล์ และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญของเชื้อ *K. fragilis* TISIR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจากการกลั่นกรองปัจจัยที่เติมในระดับสูง-ต่ำในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ที่ 14 ชั่วโมง (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ (ร้อยละ)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้น	ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) ที่ 14 ชั่วโมง	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น
1	$12.05^{a}\pm0.08$	$8.56^{b}\pm0.54$	3.49	$2.06^{ab}\pm0.12$	$5.76^{c}\pm0.23$	$4.36^{cd}\pm0.1$	1.4
2	$11.97^{a}\pm0.17$	$9.16^{ab}\pm0.3$	2.81	$2.13^{ab}\pm0.10$	$5.58^{d}\pm0.05$	$4.29^{cd}\pm0.05$	1.29
3	$3.51^{b}\pm0.03$	$1.65^{c}\pm0.03$	1.86	$1.45^{de}\pm0.11$	$5.94^{b}\pm0.06$	$4.38^{bcd}\pm0.35$	1.56
4	$12.03^{a}\pm0.04$	$9.32^{ab}\pm0.89$	2.71	$1.52^{cde}\pm0.22$	$5.92^{bc}\pm0.03$	$4.65^{a}\pm0.06$	1.27
5	$11.96^{a}\pm0.7$	$10.02^{a}\pm1.04$	1.94	$1.48^{de}\pm0.14$	$5.75^{c}\pm0.11$	$4.59^{ab}\pm0.1$	1.16
6	$12.06^{a}\pm0.07$	$8.75^{b}\pm0.36$	3.31	$2.10^{ab}\pm0.15$	$5.35^{e}\pm0.04$	$4.29^{cd}\pm0.06$	1.06
7	$3.49^{b}\pm0.11$	$1.80^{c}\pm0.04$	1.69	$1.57^{cd}\pm0.07$	$5.39^{e}\pm0.03$	$4.44^{abc}\pm0.03$	0.95
8	$3.55^{b}\pm0.09$	$1.01^{c}\pm0.05$	2.54	$2.10^{ab}\pm0.15$	$5.44^{de}\pm0.03$	$4.39^{bcd}\pm0.04$	1.05
9	$3.53^{b}\pm0.08$	$1.13^{c}\pm0.25$	2.4	$2.25^{a}\pm0.32$	$6.25^{a}\pm0.01$	$4.50^{abc}\pm0.08$	1.75
10	$12.08^{a}\pm0.09$	$10.12^{a}\pm1.54$	1.96	$1.18^{e}\pm0.2$	$5.87^{bc}\pm0.03$	$4.43^{abcd}\pm0.04$	1.44
11	$3.50^{b}\pm0.11$	$1.11^{c}\pm0.13$	2.39	$1.86^{bc}\pm0.33$	$6.30^{a}\pm0.01$	$4.60^{ab}\pm0.06$	1.7
12	$3.55^{b}\pm0.06$	$1.78^{c}\pm0.02$	1.77	$1.66^{cd}\pm0.32$	$5.88^{bc}\pm0.02$	$4.46^{abc}\pm0.11$	1.42
13	$3.52^{b}\pm0.10$	$1.04^{c}\pm0.04$	2.48	$2.14^{ab}\pm0.09$	$5.43^{de}\pm0.18$	$4.21^{d}\pm0.03$	1.22

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่4.10 ปริมาณไบโอเซลลูโลส ความชื้นของไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมด การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรด-ด่างของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการกลั่นกรองสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ต่อการผลิตไบโอเซลลูโลสของ *A. xylinum* TISTR 107

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณเซลลูโลส กรัมน้ำหนักเปียกต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณเซลลูโลส กรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ที่ 14 วัน (ร้อยละ)	การใช้น้ำตาล (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด – ด่างเริ่มต้น (pH)	ค่าความเป็นกรด – ด่างที่ 14 วัน (pH)	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น
1	0.0097 ^{b} ±0.01	0.0002 ^{c} ±0.00	97.48	13.23 ^{a} ±0.08	11.17 ^{a} ±0.53	1.40	3.62 ^{i} ±0.00	3.52 ^{e} ±1.58	0.10
2	0.0639 ^{b} ±0.08	0.0172 ^{c} ±0.00	97.49	13.19 ^{a} ±0.13	9.62 ^{bc} ±0.45	3.57	3.93 ^{d} ±0.03	3.91 ^{b} ±0.01	0.03
3	0.0833 ^{b} ±0.03	0.0014 ^{c} ±0.00	98.33	7.22 ^{b} ±0.06	3.59 ^{e} ±0.30	3.63	3.59 ^{j} ±0.02	3.51 ^{e} ±0.07	0.08
4	0.0571 ^{b} ±0.05	0.0014 ^{c} ±0.00	97.99	13.29 ^{a} ±0.08	11.41 ^{ab} ±0.37	1.88	3.57 ^{i} ±0.01	3.46 ^{e} ±0.01	0.11
5	0.0155 ^{b} ±0.01	0.0002 ^{c} ±0.00	98.86	13.23 ^{a} ±0.01	8.11 ^{cd} ±3.17	5.13	3.88 ^{ef} ±0.02	3.76 ^{cd} ±0.01	0.12
6	0.3894 ^{b} ±0.05	0.0144 ^{c} ±0.01	97.92	13.20 ^{a} ±0.04	10.54 ^{ab} ±1.17	2.66	3.89 ^{f} ±0.06	3.87 ^{bc} ±0.01	0.02
7	2.2201 ^{a} ±1.43	0.0594 ^{b} ±0.03	97.65	7.26 ^{b} ±0.07	6.45 ^{d} ±0.20	0.80	3.74 ^{h} ±0.01	3.67 ^{d} ±0.00	0.07
8	0.0076 ^{b} ±0.01	0.0002 ^{c} ±0.00	95.50	7.30 ^{b} ±0.09	6.66 ^{d} ±1.00	0.64	4.03 ^{b} ±0.00	3.96 ^{b} ±0.01	0.07
9	0.0671 ^{b} ±0.05	0.0010 ^{c} ±0.00	98.60	7.29 ^{a} ±0.02	6.70 ^{d} ±1.26	0.59	3.80 ^{g} ±0.00	3.66 ^{d} ±0.01	0.15
10	0.0915 ^{b} ±0.13	0.0016 ^{c} ±0.00	96.97	13.24 ^{b} ±0.03	11.02 ^{ab} ±0.61	2.22	3.94 ^{cd} ±0.01	3.73 ^{d} ±0.01	0.21
11	0.0099 ^{b} ±0.01	0.0002 ^{c} ±0.00	97.62	7.29 ^{b} ±0.08	7.05 ^{d} ±0.20	0.15	3.89 ^{e} ±0.01	3.77 ^{cd} ±0.15	0.13
12	2.3248 ^{a} ±0.65	0.0906 ^{a} ±0.04	96.90	7.25 ^{b} ±0.04	6.59 ^{cd} ±0.82	0.66	3.96 ^{c} ±0.01	3.75 ^{cd} ±0.01	0.21
13	1.7639 ^{a} ±0.04	0.0639 ^{b} ±0.02	97.43	3.52 ^{c} ±0.05	2.76 ^{e} ±1.71	0.14	5.43 ^{a} ±0.00	4.45 ^{a} ±0.10	0.98

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.12 ค่าเฉลี่ยปริมาณไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อที่เติมสารอาหารในน้ำเวย์ ที่ระดับสูง-ต่ำ

สารอาหารที่เติมในน้ำเวย์	ไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร (ร้อยละ)		ไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร (ร้อยละ)		ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ที่ 14 วัน (ร้อยละ)		ความเป็นกรด-ด่าง (pH)	
	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ
น้ำตาลซูโครส	0.2479±0.32	0.7855±1.15	0.0059±0.78	0.0255±0.04	10.31±1.25	6.17±1.28	3.71±0.18	3.72±0.15
กรดอะซีติก	0.0404±0.03	0.9929±1.03	0.0007±0.00	0.0306±0.04	8.01±2.96	8.48±2.14	3.61±0.14	3.82±0.11
เอทานอล	0.1572±0.27	0.8761±1.11	0.0037±0.01	0.0276±0.04	8.23±3.01	8.26±2.11	3.72±0.20	3.71±0.12
ปริมาณกล้าเชื้อ	0.5275±0.87	0.5058±0.92	0.0135±0.02	0.0178±0.04	8.09±3.01	8.39±2.09	3.67±0.15	3.76±0.17
$(NH_4)_2HPO_4$	0.2346±0.33	0.7987±1.14	0.0055±0.01	0.0258±0.04	8.62±2.06	7.86±2.98	3.78±0.17	3.65±0.13
KH_2PO_4	0.3924±0.90	0.6409±0.87	0.0103±0.02	0.0210±0.03	8.41±2.16	8.08±2.96	3.74±0.14	3.69±0.18
$MgSO_4$	0.5109±0.87	0.5224±0.92	0.0130±0.02	0.0183±0.04	8.86±2.36	7.62±2.65	3.69±0.14	3.74±0.19
$FeSO_4$	0.1475±0.23	0.8859±1.11	0.0031±0.01	0.0282±0.04	7.77±2.76	8.72±2.30	3.75±0.16	3.68±0.17

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 6 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.14 ปริมาณไบโอเซลลูโลส ความชื้นของไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมด การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ หลังทำการกลั่นกรองสารอาหาร ได้ปัจจัยหลักเป็น ปริมาณน้ำตาลซูโครส และ กรดอะซีติก

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณไบโอเซลลูโลสกรัมน้ำหนักเปียกต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณไบโอเซลลูโลสกรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วัน (ร้อยละ)	การใช้น้ำตาล (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) เริ่มต้น	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่ 14 วัน	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น
1	1.4405 ^{a}±0.62	0.0206 ^{b}±0.01	98.62	4.52 ^{e}±0.09	4.18 ^{de}±0.18	0.34	6.06 ^{a}±0.01	4.92 ^{d}±0.19	1.14
2	0.3220 ^{c}±0.43	0.0075 ^{c}±0.01	64.16	6.53 ^{d}±0.24	5.72 ^{c}±1.40	0.81	6.01± ^{b}0.01	5.30 ^{bc}±0.30	0.71
3	0.7782 ^{b}±0.30	0.0177 ^{b}±0.00	97.52	8.31 ^{c}±0.29	7.97 ^{b}±0.49	0.34	6.01 ^{b}±0.01	5.09 ^{cd}±0.06	0.92
4	0.2933 ^{c}±0.26	0.0081 ^{c}±0.01	94.44	9.62 ^{a}±0.12	9.09 ^{a}±0.27	0.53	6.00 ^{b}±0.01	5.42 ^{b}±0.22	0.59
5	ND	ND	ND	4.51 ^{e}±0.03	4.07 ^{d}±0.18	0.07	3.82 ^{d}±0.00	3.82 ^{c}±0.00	0.04
6	ND	ND	ND	6.51 ^{d}±0.06	5.93 ^{c}±0.72	0.12	3.82 ^{d}±0.00	3.82 ^{c} ±0.00	0.07
7	ND	ND	ND	8.29 ^{c}±0.11	8.19 ^{b}±0.07	0.10	3.82 ^{d}±0.00	3.82 ^{c}±0.00	0.05
8	ND	ND	ND	9.49 ^{ab}±0.37	9.49 ^{a}±0.38	0.09	3.82 ^{d}±0.00	3.82 ^{c}±0.00	0.04
9	ND	ND	ND	4.35 ^{e}±0.14	4.18 ^{de}±0.12	0.15	3.68 ^{e}±0.00	3.68 ^{c}±0.00	0.04
10	ND	ND	ND	6.35 ^{d}±0.07	6.15 ^{c}±0.09	0.06	3.65 ^{f}±0.01	3.65 ^{c}±0.00	0.08
11	ND	ND	ND	8.20 ^{c}±0.11	8.01 ^{b}±0.45	0.08	3.66 ^{f}±0.01	3.66 ^{c}±0.00	0.05
12	ND	ND	ND	9.30 ^{b}±0.11	9.39 ^{a}±0.82	0.11	3.68 ^{e}±0.01	3.68 ^{c}±0.00	0.09
13	1.6822 ^{a}±1.01	0.0960 ^{a}±0.00	96.74	3.67 ^{f}±0.04	3.47 ^{e}±0.18	0.17	5.57 ^{c}±0.01	6.72 ^{a}±0.17 ^{a}	-1.12

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

: ND คือ ไม่สามารถตรวจพบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.16 ปริมาณไบโอเซลลูโลส ความชื้นของไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมด การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 ในของสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักเปียกต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ ที่ 14 วัน (ร้อยละ)	การใช้น้ำตาล (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) เริ่มต้น	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่ 14 วัน	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น
1	$3.1110^{a}\pm0.56$	$0.1689^{a}\pm0.06$	94.65	$9.17^{a}\pm0.00$	$8.252^{a}\pm1.03$	0.91	$5.57^{b}\pm0.01$	$4.80^{c}\pm0.05$	0.77
2	$0.0111^{d}\pm0.01$	$0.0005^{c}\pm0.00$	95.88	$3.66^{c}\pm0.07$	$3.482^{b}\pm0.16$	0.17	$3.80^{f}\pm0.00$	$3.78^{f}\pm0.01$	0.03
3	$2.3883^{ab}\pm0.81$	$0.0842^{b}\pm0.04$	96.58	$3.63^{c}\pm0.04$	$3.513^{b}\pm0.07$	0.12	$5.20^{c}\pm0.00$	$4.28^{d}\pm0.02$	0.93
4	$2.7559^{ab}\pm1.10$	$0.0792^{b}\pm0.05$	97.25	$3.61^{c}\pm0.01$	$3.442^{b}\pm0.09$	0.17	$5.99^{a}\pm0.00^{a}$	$6.30^{b}\pm0.06$	-0.31
5	$1.6405^{bc}\pm0.46$	$0.0512^{bc}\pm0.01$	96.83	$3.61^{c}\pm0.02$	$3.434^{b}\pm0.09$	0.18	$5.17^{c}\pm0.01$	$6.29^{b}\pm0.04$	-1.13
6	$0.0007^{d}\pm0.00$	$0.0004^{c}\pm0.00$	44.44	$8.71^{b}\pm0.34$	$7.664^{a}\pm1.73$	1.05	$4.07^{e}\pm0.09$	$3.95^{e}\pm0.02$	0.13
7	$0.0549^{d}\pm0.01$	$0.0019^{c}\pm0.00$	96.56	$8.64^{b}\pm0.08$	$6.266^{a}\pm1.58$	2.38	$4.22^{d}\pm0.00$	$3.98^{e}\pm0.02$	0.25
8	$2.2310^{ab}\pm0.33$	$0.0913^{b}\pm0.03$	95.97	$3.59^{c}\pm0.02$	$3.187^{b}\pm0.32$	0.40	$5.57^{b}\pm0.01$	$6.44^{b}\pm0.18$	-0.87

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 2 ซ้ำ $\pm$ ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p\leq0.05$)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.17 ปริมาณไบโอเซลลูโลส ความชื้นของไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมด การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญเพื่อผลิตไบโอเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเจริญร่วมกันกับเชื้อ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ จากการกลั่นกรองสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ที่ดับสูง-ต่ำ

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักเปียกต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วัน (ร้อยละ)	การใช้น้ำตาล (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) เริ่มต้น	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่ 14 วัน	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น
1	0.1354 ^{c}±0.23	0.0037 ^{c}±0.01	97.31	12.15 ^{a}±0.23	6.09 ^{c}±0.16	6.07	8.76 ^{a}±0.03	5.52 ^{a}±0.04	3.24
2	ND	ND	ND	12.01 ^{ab}±0.31	2.53 ^{d}±0.20	9.22	8.76 ^{a}±0.08	5.26 ^{ab}±0.13	3.51
3	ND	ND	ND	3.64 ^{c}±0.06	0.14 ^{g}±0.02	3.51	8.77 ^{a}±0.04	5.56 ^{a}±0.05	3.21
4	0.5398 ^{c}±0.49	0.0231 ^{c}±0.02	95.64	11.93 ^{b}±0.07	6.18 ^{c}±0.22	5.74	5.95 ^{c}±0.01	4.68 ^{c}±0.12	1.27
5	7.7355 ^{a}±0.89	0.3675 ^{a}±0.12	95.32	12.02 ^{ab}±0.10	9.60 ^{a}±1.89	1.13	5.94 ^{c}±0.01	4.50 ^{c}±1.02	1.44
6	0.1456 ^{c}±0.07	0.0080 ^{c}±0.00	93.21	12.09 ^{ab}±0.03	7.24 ^{b}±0.47	4.83	5.90 ^{c}±0.04	4.85 ^{c}±0.04	1.06
7	ND	ND	ND	3.72 ^{c}±0.04	0.11 ^{g}±0.00	3.60	8.72 ^{ab}±0.00	5.64 ^{a}±0.06	3.09
8	0.1245 ^{c}±0.01	0.0055 ^{c}±0.00	95.64	3.70 ^{c}±0.00	0.11 ^{g}±0.00	3.58	5.84 ^{d}±0.05	4.60 ^{c}±0.09	1.24
9	0.0201 ^{c}±0.03	0.0013 ^{c}±0.00	93.63	3.70 ^{c}±0.00	0.12 ^{g}±0.00	3.57	8.68 ^{b}±0.06	5.62 ^{a}±0.06	3.06
10	ND	ND	ND	12.05 ^{ab}±0.05	0.64 ^{f}±0.20	11.25	8.73 ^{ab}±0.01	5.33 ^{ab}±0.09	3.40
11	3.1870 ^{b}±2.72	0.1221 ^{b}±0.11	95.87	3.70 ^{c}±0.01	1.44 ^{e}±0.51	2.14	5.95 ^{c}±0.01	3.98 ^{d}±0.22	1.97
12	0.1870 ^{c}±0.1	0.0079 ^{c}±0.00	95.06	3.72 ^{c}±0.03	0.11 ^{g}±0.00	3.59	5.92 ^{c}±0.01	4.83 ^{c}±0.01	1.10
13	3.3507 ^{b}±0.66	0.1184 ^{b}±0.03	94.75	3.69 ^{c}±0.01	0.13 ^{g}±0.01	3.56	5.24 ^{e}±0.01	4.49 ^{c}±0.03	0.75
14	3.5412 ^{b}±0.62	0.1179 ^{b}±0.06	96.61	3.68 ^{c}±0.03	0.12 ^{g}±0.02	3.56	5.24 ^{c}±0.01	4.52 ^{c} ±0.09	0.72

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) : ND คือ ไม่สามารถตรวจพบ

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.19 ค่าเฉลี่ยปริมาณไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญเพื่อผลิตไบโอเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 เมื่อเจริญร่วมกับเชื้อ *K. fragilis* TISIR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ เพื่อกลั่นกรองคัดเลือกสารอาหารที่เติมในน้ำเวย์ที่ระดับสูง-ต่ำ

สารอาหาร	ไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักเปียก/ปริมาตร (ร้อยละ)		ไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักแห้ง/ปริมาตร (ร้อยละ)		ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือ (ร้อยละ)		ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH)	
	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ	ระดับสูง	ระดับต่ำ
น้ำตาลซูโครส	1.4257±0.93	0.5857±0.15	0.0671±0.15	0.0228±0.05	5.38±0.07	0.34±0.03	5.02±0.40	5.04±0.68
ปริมาณกล้าเชื้อ *A. xylinum*	1.9363±3.09	0.0762±0.09	0.0863±0.15	0.0036±0.00	3.93±3.92	1.79±2.83	4.97±0.67	5.09±0.39
ปริมาณกล้าเชื้อ *K. fragilis*	0.6419±1.26	1.3706±3.12	0.0251±0.05	0.0647±0.15	1.84±2.31	3.88±4.28	4.90±0.59	5.16±0.49
$(NH_4)_2HPO_4$	0.0259±0.05	1.9866±3.05	0.0008±0.00	0.0891±0.14	1.61±2.39	4.11±4.08	5.49±0.16	4.57±0.32
$MgSO_4$	0.6021±1.27	1.4104±3.11	0.0234±0.05	0.0664±0.15	2.92±3.06	2.80±4.10	4.97±0.62	5.09±0.48

หมายเหตุ : ค่าของข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 6 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.21 ปริมาณไบโอเซลลูโลส ความชื้นของไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมด การใช้น้ำตาล และค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญร่วมกันของ *A. xylinum* TISTR107 และ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยศึกษาผลของปัจจัยหลักคือ ปริมาณการเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 และ $(NH_4)_2HPO_4$

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณไบโอเซลลูโลส (กรัมน้ำหนัก-เปียก) ต่อ 350 มิลลิลิตร	ปริมาณไบโอเซลลูโลส (กรัมน้ำหนัก-แห้ง) ต่อ 350 มิลลิลิตร	ปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วัน (ร้อยละ)	การใช้น้ำตาล (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) เริ่มต้น (ns)	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่ 14 วัน	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น	ปริมาณกรดทั้งหมด* (ร้อยละ) ที่ 14 วัน
1	21.2923 ^{ab}±7.54	0.2198 ^{b}±0.14	98.99	12.18±0.11	7.53±0.66	4.65	6.49±0.01	3.50±0.25	2.99	1.64±0.56
2	1.6865 ^{cd}±0.3	0.0310 ^{e}±0.00	98.12	11.61±0.02	9.60±1.34	2.01	6.50±0.00	4.85±0.04	1.65	0.32±0.04
3	1.3247 ^{d}±0.20	0.0239 ^{e}±0.00	98.19	11.17±0.13	2.77±0.60	8.40	6.51±0.00	5.08±0.08	1.43	0.40±0.03
4	20.6879 ^{ab}±10.4	0.2681 ^{b}±0.12	98.40	11.71±0.08	7.14±0.18	4.57	6.49±0.01	3.42±0.13	3.07	1.76±0.06
5	5.9207 ^{cd}±3.44	0.0807 ^{c}±0.06	98.66	12.29±0.12	4.78±1.02	7.51	6.48±0.01	4.06±0.47	2.42	1.75±1.18
6	4.0118 ^{cd}±4.79	0.0453 ^{c}±0.04	98.51	11.68±0.10	5.60±0.72	6.08	6.52±0.00	4.66±0.64	1.86	1.10±1.26
7	28.1477 ^{a}±2.75	0.4052 ^{a}±0.09	98.55	12.20±0.16	6.84±0.15	5.36	6.51±0.01	3.40±0.0	3.11	1.63±0.18
8	11.6447 ^{bc}±7.23	0.0891 ^{c}±0.03	99.14	12.04±0.12	6.40±1.96	5.64	6.48±0.01	3.64±0.15	2.84	0.84±0.88
9	1.6951 ^{cd}±0.69	0.0209 ^{e}±0.01	98.73	12.36±0.09	0.87±0.07	11.49	6.52±0.01	5.00±0.07	1.52	0.38±0.05

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

: ns คือ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

: * ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ในรูปกรดอะซีติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.22 ปริมาณไบโอเซลลูโลส ความชื้นของไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมด การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญร่วมกันของเชื้อผสมระหว่าง *A. xylinum* TISTR107 และ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาผลของปัจจัยหลักคือ กล้าเชื้อ *A. xylinum* TISTR 107 และ $(NH_4)_2HPO_4$ เปรียบเทียบกับตัวอย่างชุดควบคุม

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนัก-เปียกต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด เริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมด ที่เหลือที่ 14 วัน (ร้อยละ)	การใช้น้ำตาล (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) เริ่มต้น	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่ 14 วัน	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น	ปริมาณกรดทั้งหมด* ที่ 14 วัน (ร้อยละ)
1	21.2923 ^{b}±7.54	0.2198 ^{b}±0.14	98.99	12.18 ^{a}±0.11	7.53 ^{b}±0.66	4.65	6.49±0.01	3.50 ^{de}±0.25	2.99	1.64 ^{a}±0.56
2	1.6865 ^{d}±0.3	0.0310 ^{de}±0.00	98.12	11.61 ^{a}±0.02	9.60 ^{a}±1.34	2.01	6.50±0.00	4.85 ^{c}±0.04	1.65	0.32 ^{bc}±0.04
3	1.3247 ^{d}±0.20	0.0239 ^{de}±0.00	98.19	11.17 ^{a}±0.13	2.77 ^{f}±0.60	8.40	6.51±0.00	5.08 ^{c}±0.08	1.43	0.40 ^{bc}±0.03
4	20.6879 ^{b}±10.4	0.2681 ^{b}±0.12	98.40	11.71 ^{a}±0.08	7.14 ^{b}±0.18	4.57	6.49±0.01	3.42 ^{e}±0.13	3.07	1.76 ^{a}±0.06
5	5.9207 ^{cd}±3.44	0.0807 ^{cd}±0.06	98.66	12.29 ^{a}±0.12	4.78 ^{de}±1.02	7.51	6.48±0.01	4.06 ^{d}±0.47	2.42	1.75 ^{a}±1.18
6	4.0118 ^{d}±4.79	0.0453 ^{cde}±0.04	98.51	11.68 ^{a}±0.10	5.60 ^{cd}±0.72	6.08	6.52±0.00	4.66 ^{c}±0.64	1.86	1.10 ^{ab}±1.26
7	28.1477 ^{a}±2.75	0.4052 ^{a}±0.09	98.55	12.20 ^{a}±0.16	6.84 ^{b}±0.15	5.36	6.51±0.01	3.40 ^{e}±0.01	3.11	1.63 ^{a}±0.18
8	11.6447 ^{c}±7.23	0.0891 ^{c}±0.03	99.14	12.04 ^{a}±0.12	6.40 ^{bc}±1.96	5.64	6.48±0.01	3.64 ^{de}±0.15	2.84	0.84 ^{abc}±0.88
9	1.6951 ^{d}±0.69	0.0209 ^{e}±0.01	98.73	12.36 ^{a}±0.09	0.87 ^{g}±0.0	11.49	6.52±0.01	5.00 ^{c}±0.07	1.52	0.38 ^{bc}±0.05

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

: ns คือ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

: * ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ในรูปกรดอะซีติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

ตารางที่ 4.22 (ต่อ) ปริมาณไบโอเซลลูโลส ความชื้นของไบโอเซลลูโลส น้ำตาลทั้งหมด การใช้น้ำตาล ค่าความเป็นกรด-ด่าง จากการเจริญร่วมกันของเชื้อผสมระหว่าง *A. xylinum* TISTR107 และ *K. fragilis* TISTR 5695 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาผลของปัจจัยหลักคือ กล้าเชื้อ *A.xylinum* TISTR 107 และ $(NH_4)_2HPO_4$ เปรียบเทียบกับตัวอย่างชุดควบคุม

สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนัก-เปียกต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณไบโอเซลลูโลส กรัมน้ำหนักแห้งต่อปริมาตร (ร้อยละ)	ปริมาณความชื้นของไบโอเซลลูโลส (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดเริ่มต้น (ร้อยละ)	ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดที่เหลือที่ 14 วัน (ร้อยละ)	การใช้น้ำตาล (ร้อยละ)	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) เริ่มต้น[ns]	ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ที่ 14 วัน	ค่า pH ที่เพิ่มขึ้นจากเริ่มต้น	ปริมาณกรดทั้งหมด* ที่ 14 วัน (ร้อยละ)
10	1.9270±0.49^{d}	0.0280±0.01^{de}	98.53	3.49±0.12^{a}	1.18±0.11^{g}	2.31	6.50±0.01	5.08±0.48^{c}	1.42	0.42±0.04^{bc}
11	1.3099±0.55^{d}	0.0192±0.00^{e}	98.27	3.49±0.11^{a}	<0.13	>3.36	6.49±0.01	5.14±0.36^{c}	1.35	0.21±0.07^{bc}
12	0.5825±0.62^{d}	0.0066±0.00^{e}	98.47	3.52±0.07^{a}	<0.13	>3.39	6.51±0.00	5.23±0.29^{c}	1.28	0.20±0.05^{bc}
13	0.9178±1.17^{d}	0.0119±0.01^{e}	98.03	3.49±0.17^{a}	<0.13	>3.36	6.49±0.01	4.69±0.68^{c}	1.80	0.68±0.83^{bc}
14	1.8545±0.64^{d}	0.0178±0.01^{e}	99.05	3.65±0.16^{a}	<0.13	>3.52	6.50±0.00	5.21±0.54	1.29	0.28±0.03^{bc}
15	0.6555±0.05^{d}	0.0154±0.02^{e}	97.62	3.51±0.07^{a}	2.9±0.28^{f}	0.61	6.51±0.00	5.94±0.11^{b}	0.57	0.64±0.52^{bc}
16	2.3411±0.97^{d}	0.0522±0.03^{cde}	97.78	3.63±0.06^{a}	2.75±0.37^{f}	0.88	6.49±.0.10	5.19±0.18^{c}	1.30	0.22±0.13^{bc}
17	0.0290±0.05^{d}	0.0006±0.00^{d}	97.94	3.76±0.12^{a}	3.32±0.04^{f}	0.44	6.52±.01	6.33±0.28^{b}	0.19	0.04±0.05^{c}
18	ND	ND	0	3.79±0.11^{a}	3.69±0.13^{ef}	0.10	6.53±0.02	7.72±0.17^{a}	-1.19	ND

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ยจากการทดลอง 3 ซ้ำ ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

: อักษรภาษาอังกฤษที่แตกต่างกันในสดมภ์เดียวกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$)

: ns คือ ไม่พบความแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น ร้อยละ 95 ($p \leq 0.05$)

: ND คือไม่สามารถตรวจพบ ; * ปริมาณกรดทั้งหมดที่ไตเตรทได้ในรูปกรดอะซีติก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved