175526

ธัญญารัตน์ พงศ์ทรางกูร: ผลของภาวะการเลี้ยง *Acetobacter* สายพันธุ์ Agr 60 และ TISTR 975 ต่อสมบัติทางกายภาพของแผ่นวุ้นเซลลูโลส (EFFECTS OF CULTURE CONDITIONS ON PHYSICAL PROPERTIES OF CELLULOSE PELLICLE PRODUCED BY *Acetobacter* spp. strain Agr 60 and TISTR 975) อาจารย์ที่ปรึกษา: ผศ.ดร. สุเมธ ตันตระเธียร, อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม: ผศ.ดร. พาสวดี ประทีปะเสน; 113 หน้า. ISBN 974-13-0569-9

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อ 1) พัฒนาวิธีการสำหรับใช้ในการวัดและประเมินคุณภาพทางลักษณะเนื้อสัมผัสของแผ่นวุ้นเซลลูโลสที่ผลิตจากเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* sp. และ 2) ศึกษาอิทธิพลของปริมาณแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนในอาหารน้ำมะพร้าวต่อสมบัติต่างๆ ได้แก่ ลักษณะเนื้อสัมผัส องค์ประกอบและโครงสร้างร่างแหเซลลูโลสของแผ่นวุ้นเซลลูโลสที่สร้างจากเชื้อสายพันธุ์ Agr 60 และ TISTR 975 ผลการทดลองพบว่าวิธีที่ง่ายและเหมาะสมสำหรับการวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของแผ่นวุ้นเซลลูโลส คือการวัดค่าแรงเจาะที่ความเร็ว 1 มม/ วินาที โดยค่าแรงเจาะสำหรับวุ้นเนื้อนิ่ม เนื้อแน่นและเนื้อแข็งมีค่าเท่ากับ 40.4 ± 1.7, 71.0 ± 9.8 และ 101.5 ± 7.6 นิวตัน ตามลำดับ ปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียก (%cellulose content) ของแผ่นวุ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเซลล์แบคทีเรียต่อน้ำหนักเปียก (%cell content) ในอัตราส่วน 3.6:1 แต่เป็นสัดส่วนผกผันกับปริมาณน้ำต่อกรัมเซลลูโลส โดยแผ่นวุ้นชนิดนิ่มซึ่งมีปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียกต่ำที่สุดมีค่าของปริมาณน้ำต่อกรัมเซลลูโลสสูงที่สุดและมีค่าเท่ากับ 219 กรัมต่อกรัมเซลลูโลส ซึ่งสูงเป็น 1.5 และ 1.9 เท่าของค่าจากแผ่นวุ้นชนิดแน่นและชนิดแข็ง ตามลำดับ ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราดแสดงว่าแผ่นวุ้นทั้ง 3 ชนิดมีขนาดโดยเฉลี่ยของเส้นใยใกล้เคียงกันเท่ากับ 60 นาโนเมตร แต่แผ่นวุ้นชนิดแข็งมีการรวมกลุ่มของเส้นใยเซลลูโลสเกิดเป็นกลุ่มของเส้นใยขนาดใหญ่ถึง 300 นาโนเมตร เมื่อปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นมีค่าสูงขึ้นนั้นร่างแหเซลลูโลสมีความหนาแน่นของการสานกันสูงขึ้น แต่มีขนาดของรูโพรงและช่องว่างสำหรับกักเก็บน้ำในโครงสร้างน้อยลง โดยแผ่นวุ้นชนิดนิ่มมีขนาดของรูโพรงใหญ่ที่สุดและมีค่าเท่ากับ 0.6 ไมครอน รองลงมาคือแผ่นวุ้นชนิดแข็งและชนิดแน่นซึ่งมีขนาดรูโพรงประมาณ 0.3 และ 0.2 ไมครอน ตามลำดับ ผลการศึกษาอิทธิพลของปริมาณแหล่งคาร์บอนในอาหารน้ำมะพร้าวพบว่า เชื้อ Agr 60 สร้างแผ่นวุ้นที่มีความหนาและน้ำหนักเปียกสูงกว่าเชื้อ TISTR 975 ถึง 1.4 เท่า โดยการเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสจาก 5 เป็น 10% ส่งผลให้ปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียกและปริมาณเซลลูโลสที่สร้างได้ทั้งหมดของ Agr 60 สูงขึ้นถึง 1.5 เท่า และมีค่าเท่ากับ 8.24 กรัม/ ลิตรเมื่อปริมาณน้ำตาลซูโครสเท่ากับ 10% นอกจากนี้การเพิ่มปริมาณน้ำตาลซูโครสจาก 5 เป็น 10% ยังส่งผลให้แผ่นวุ้นที่สร้างจากเชื้อ Agr 60 มีค่าแรงเจาะและค่า Hardness สูงขึ้น 1.8 และ 1.4 เท่า ตามลำดับ การเพิ่มปริมาณแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารน้ำมะพร้าวส่งผลให้เชื้อทั้งสองสายพันธุ์เจริญได้ดีขึ้นและมีปริมาณเซลล์แบคทีเรียทั้งหมดในแผ่นวุ้นเพิ่มขึ้นถึง 2 เท่า การเติมแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตในปริมาณ 0.1% ส่งผลให้เชื้อ Agr 60 สร้างแผ่นวุ้นที่มีความหนาและน้ำหนักเปียกสูงขึ้นถึง 1.3 และ 1.5 เท่า และแผ่นวุ้นที่ได้มีค่าแรงเจาะและค่า Hardness ลดลงเหลือเพียง 40 และ 64% ตามลำดับ นอกจากนี้การเติมแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟตในปริมาณ 0.1% ยังส่งผลให้เชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์สร้างเซลลูโลสได้สูงขึ้นถึง 1.3 เท่า โดยเชื้อ Agr 60 สร้างเซลลูโลสได้สูงกว่า TISTR 975 ประมาณ 1.2 เท่าและสร้างเซลลูโลสได้ถึง 6.3 กรัม/ ลิตร อัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนในอาหารน้ำมะพร้าวมีความสัมพันธ์เป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียก ค่าแรงเจาะและค่า Hardness ของแผ่นวุ้น โดยการเพิ่มอัตราส่วนของคาร์บอนต่อไนโตรเจนจาก 20:1 เป็น 80:1 ส่งผลให้ปริมาณเซลลูโลสต่อน้ำหนักเปียก ค่าแรงเจาะและค่า Hardness ของแผ่นวุ้นที่สร้างจาก Agr 60 เพิ่มขึ้นเป็น 1.4, 3.1 และ 1.7 เท่า ตามลำดับ ในขณะเดียวกันก็ส่งผลให้ปริมาณน้ำต่อกรัมเซลลูโลสลดลงจาก 130 เป็น 90 กรัมต่อกรัมเซลลูโลส

ภาควิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
สาขาวิชา เทคโนโลยีทางชีวภาพ
ปีการศึกษา 2543

ลายมือชื่อนิสิต.....ธัญญารัตน์ พงศ์ทรางกูร.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา.....
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม.....พาสวดี ประทีปะเสน.....

4072272323: MAJOR BIOTECHNOLOGY

175526

KEY WORD: *Acetobacter* / BACTERIAL CELLULOSE / PHYSICAL PROPERTIES / CELLULOSE NETWORK STRUCTURE / NATA DE COCO

THUNYARAT PONGTHARANGKUL: THESIS TITLE. EFFECTS OF CULTURE CONDITIONS ON PHYSICAL PROPERTIES OF CELLULOSE PELLICLE PRODUCED BY *Acetobacter* spp. strain Agr 60 and TISTR 975. THESIS ADVISOR: ASST. PROF. SUMATE TANTRATIAN, Ph.D., THESIS COADVISOR: ASST. PROF. PASAWADEE PRADIPASENA, Sc.D., 113 pp. ISBN 974-13-0569-9

This research aims at 1) development of scientific methods for measuring texture qualities and 2) determination of the relationship of strain, carbon source and nitrogen source concentration to chemical compositions, cellulose network structure and physical properties of cellulose pellicle produced by *Acetobacter* spp strain Agr 60 and TISTR 975. The results indicate that measuring of puncture force at 1 mm/sec is an easy and suitable method for classifying texture quality of cellulose pellicle. Puncture forces are 40.4 ± 1.7, 71.0 ± 9.8 and 101.5 ± 7.6 N for soft, firm and hard cellulose pellicle, respectively. The cellulose content of pellicle is a linear function of the cell content, but is inversely proportional to water content. The increasing of 1% of cell content causes linearly increasing of 3.6% of cellulose content. Soft pellicle, which has the highest water content of 219 g-water per g-cellulose, has the lowest cellulose network density with 0.6 micron pore size while firm pellicle, which has the lowest water content of 120 g-water per g-cellulose, has the highest cellulose network density with 0.2 micron pore size. Even though an average size of cellulose fibril is around 60 nm for all three types, cellulose fibril bundle of the hard one is the largest of 300 nm, which results in its highest hardness and water lose during compression. Study on effects of addition of sucrose to the coconut medium shows that Agr 60 gives 1.4 times higher thickness and wet weight of pellicle than TISTR 975. In Agr 60, the increasing of sucrose concentration from 5 to 10% results in 1.5 times higher %cellulose content and cellulose yield (8.24 g/l). It also results in increasing of puncture force and hardness of about 1.8 and 1.4 times, respectively. The addition of ammonium dihydrogen phosphate, as a nitrogen source, enhances growth in both strains and results in 2 times higher %cell content. In Agr 60, the addition of 0.1% ammonium dihydrogen phosphate increases thickness and wet weight of 1.3 and 1.5 times, but decreases puncture force and hardness about 40 and 64%, respectively. The addition of 0.1% ammonium dihydrogen phosphate results in 1.3 times higher cellulose yield in both strain, but Agr 60 gives 1.2 times higher cellulose yield (6.3 g/l) than TISTR 975. For Agr 60 as the higher the C/N ratio of medium is increased, the higher the %cellulose content, puncture force and hardness are detected. The increasing of C/N ratio from 20:1 to 80:1 increases %cellulose content, puncture force and hardness about 1.4, 3.1 and 1.7 times, respectively, but decreases water content of pellicle from 130 to 90 g-water per g-cellulose.

Department Biotechnology
Field of study Biotechnology
Academic year 2000

Student's signature Thunyarat Pongtharangkul.
Advisor's signature
Co-advisor's signature Pasawadee Pradipasena