หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

บทที่ 3

ผลการทดลอง

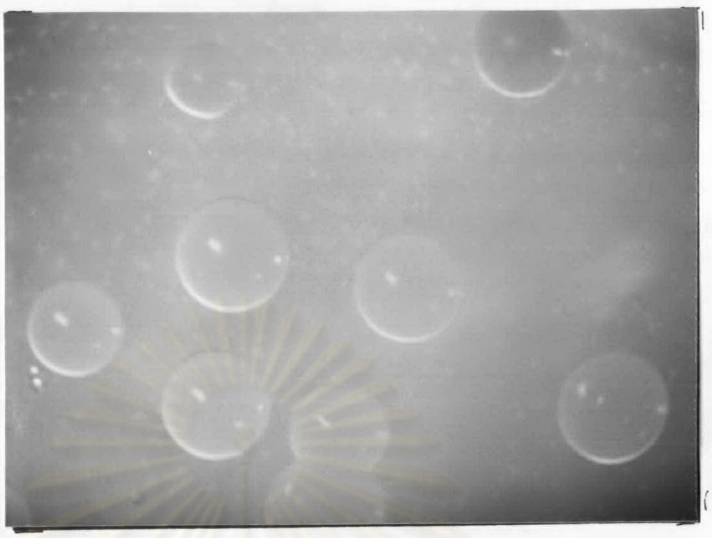
3.1 การคัดเลือกเชื้อ *Xanthomonas campestris* ที่ผลิตกัมได้สูง

ลักษณะโดยทั่วไปของเชื้อ *X. campestris* ที่ได้จากสถาบัน NRRL ที่เลี้ยงในอาหาร Wakimoto agar (ข้อ 2.3.1) พบว่ามีโคโลนีขึ้นปนกัน 2 ชนิด ชนิดแรกเป็นโคโลนีสีขาว มัน มีรูปร่างกลม นูน ขอบเรียบ (รูปที่ 6.1,6.2) อีกชนิดหนึ่งเป็นโคโลนีที่มีสีเหลือง มัน รูปร่างกลมนูน ขอบเรียบแบบเดียวกัน (รูปที่ 7.1,7.2) จึงนำมาศึกษาด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 400 เท่า พบว่าเซลล์ทั้ง 2 ชนิด มีรูปร่างเป็นแท่งสั้นและติดสี แกรมลบ

นำโคโลนีทั้ง 2ชนิดมาเลี้ยงในอาหารสร้างแซนแทน (ข้อ 2.3.3) พบว่าแบคทีเรียที่มีโคโลนีสีขาวไม่สามารถผลิตสารที่มีความหนืดและกัมในอาหารเพาะเลี้ยงมาตราฐานได้ ในขณะที่แบคทีเรียที่มีโคโลนีสีเหลืองที่เพาะเลี้ยงในอาหารมาตราฐาน สามารถสังเคราะห์สารให้ความหนืดและกัมได้ จึงคัดเลือกเฉพาะโคโลนีสีเหลืองมาทำการศึกษาการผลิตแซนแทนต่อไป

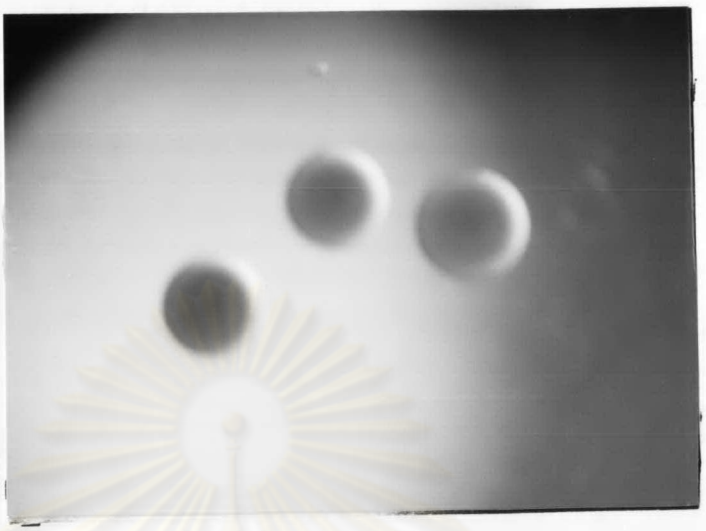
สำหรับโคโลนีสีเหลืองเมื่อนำมาเพาะเลี้ยงแล้วถ่ายเชื้อ(subculture) ทุกๆ 14 วัน เป็นเวลานาน 3-4 เดือน สังเกตพบว่าขนาดของโคโลนีที่ได้ไม่เท่ากันสามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ขนาดคือ ขนาดใหญ่ ขนาดกลางและขนาดเล็ก ซึ่งมีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.65 , 0.56, 0.48 เซนติเมตรตามลำดับ (รูปที่ 8) จึงได้นำมาศึกษาการเจริญและผลิตกัมเมื่อเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกัน

จากการทดลองพบว่า *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีใหญ่จะมีอัตราเจริญสูงกว่าโคโลนีขนาดกลางและเล็ก ตามลำดับ เมื่อหาค่าความเจริญของเซลล์ด้วยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร และในการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (รูปที่ 9ก และ 9ค) เมื่อเริ่มทำการเลี้ยงเซลล์พบว่ามีการเจริญสูงขึ้นอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 72 จะมีการเจริญเติบโตสูงที่สุด โดยให้ค่าความขุ่นของเซลล์และน้ำหนักแห้งของเซลล์เรียงจากมากไปหาน้อยตามลำดับจากขนาดโคโลนีใหญ่ไปเล็ก และมีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตที่ชั่วโมง 96 ใกล้เคียงกันคือ $25x10^{12}$, $23x10^{12}$, $20x10^{12}$ เซลล์ ต่อมล. สำหรับเซลล์ทั้ง 3 ขนาด (รูปที่ 9ข) เมื่อหาค่า pH ของอาหารเลี้ยงเซลล์ (รูปที่ 9ง) พบว่าจะลดลงอย่างสม่ำเสมอเมื่อระยะเวลาในการเลี้ยงเชื้อมากขึ้น โดยสังเกตเห็นว่าการลด pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อของเซลล์โคโลนีใหญ่จะลดลงค่อนข้างเร็ว และตกถึงประมาณ 5.15 แล้วจึงมีค่าคงที่หลังจากที่ผลิตกัมสูงสุดแล้ว เช่นเดียวกับปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เหลือ (รูปที่ 9จ) ซึ่งเป็นสัดส่วนกับความหนืด และปริมาณกัมที่เพิ่มขึ้น สำหรับผลผลิตกัมหาจากค่าความหนืด (viscosity) และปริมาณกัมที่ได้ต่อลิตรของอาหารเลี้ยงเซลล์ พบว่าผลผลิตกัมจะเพิ่มขึ้นสอดคล้องกับการเจริญของเซลล์ โดยเชื้อที่มี



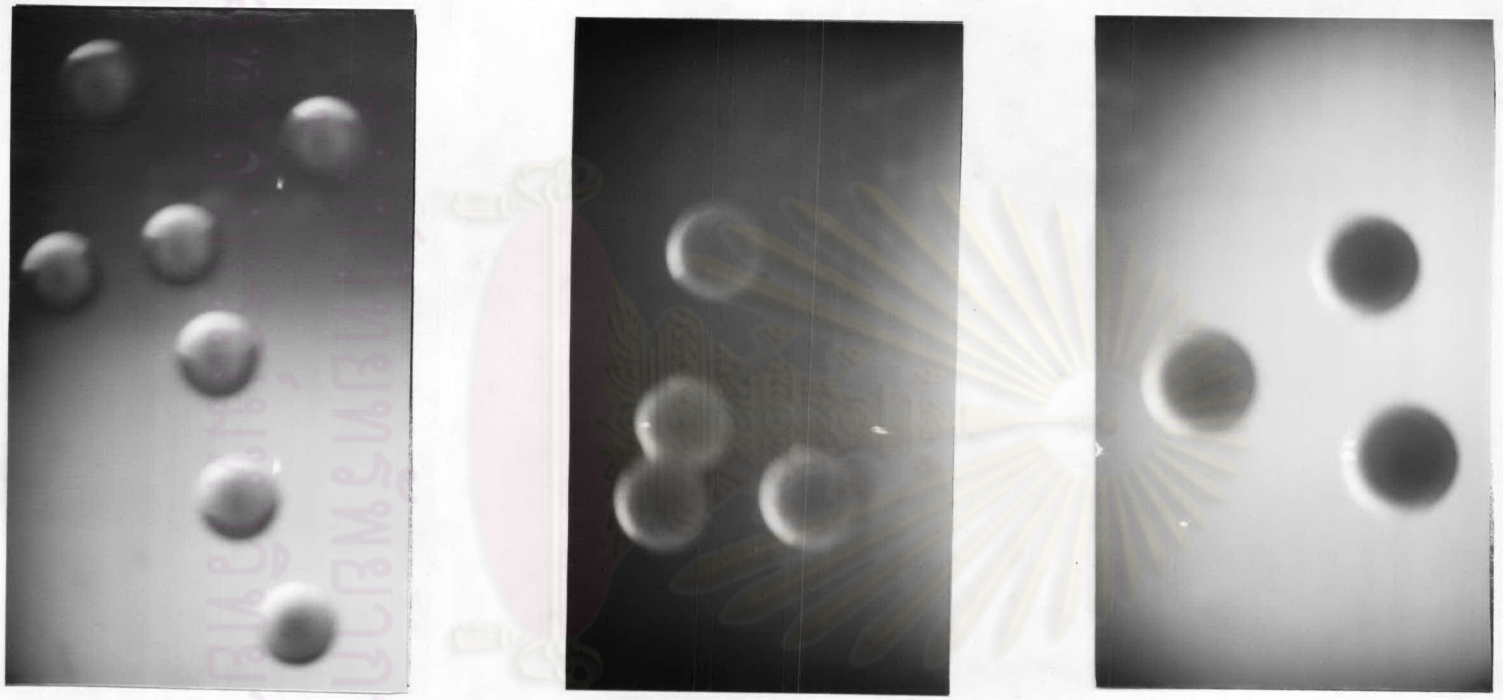
รูปที่ 6.1 ภาพแสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีขาวเมื่อถ่ายจากด้านบน (กำลังขยาย 2.5 x 1)

รูปที่ 6.2 ภาพแสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีขาวเมื่อถ่ายจากด้านข้าง (กำลังขยายเท่ากัน)



รูปที่ 7.1 ภาพแสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีเหลืองเมื่อถ่ายจากด้านบน (กำลังขยาย 2.5 x 1)

รูปที่ 7.2 ภาพแสดงลักษณะโคโลนี *X. campestris* สีเหลืองเมื่อถ่ายจากด้านข้าง (กำลังขยาย 2.5 x 1)



(1) (2) (3)

รูปที่ 8 แสดงขนาดของโคโลนี *X. campestris* 3 ขนาด (กำลังขยาย 2.5 x 1)

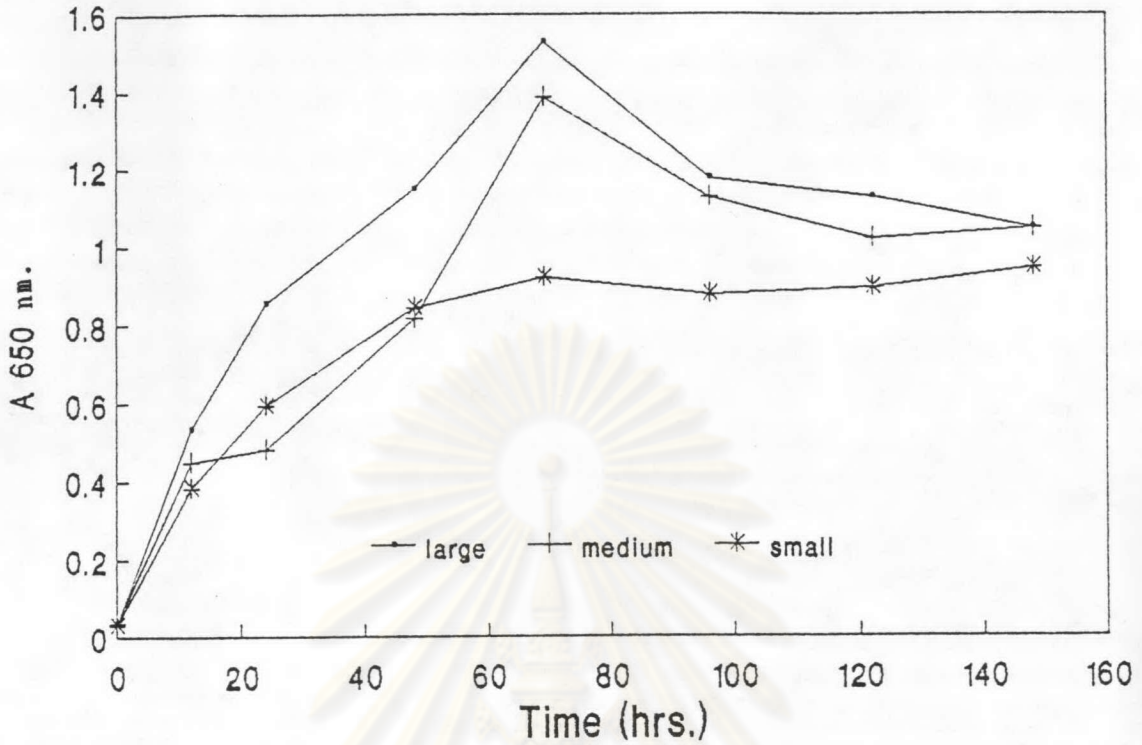
(1) ขนาดเล็ก มีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.48 เซนติเมตร

(2) ขนาดกลาง มีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.56 เซนติเมตร

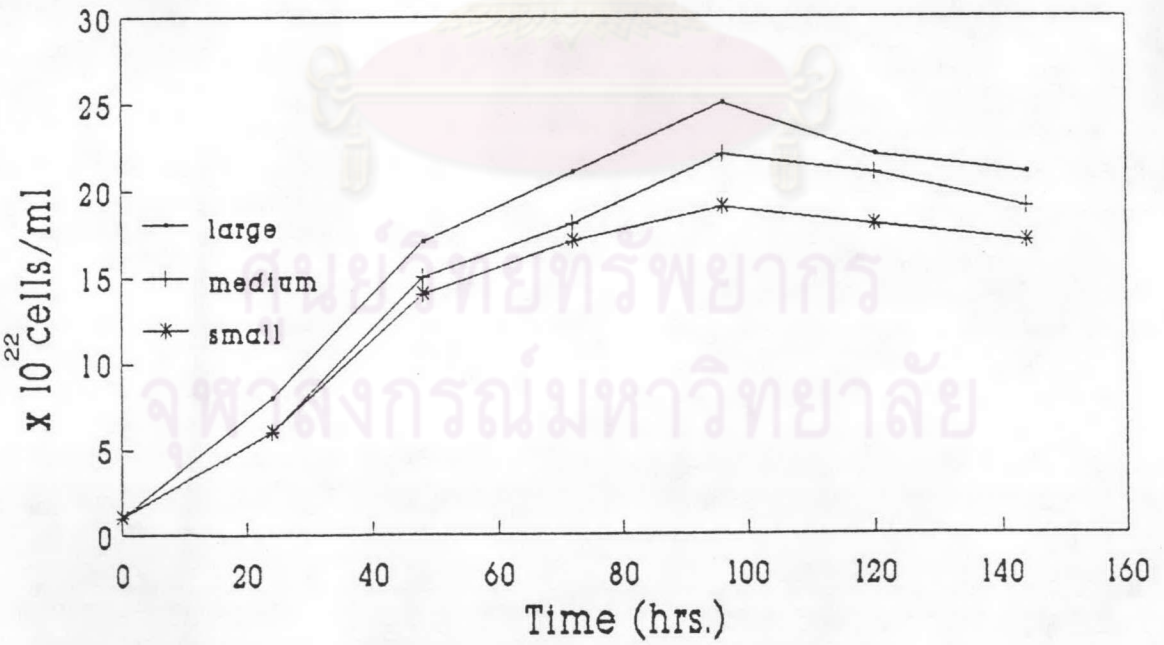
(3) ขนาดใหญ่ มีเส้นผ่าศูนย์กลางเฉลี่ยประมาณ 0.65 เซนติเมตร

ขนาดโคโลนีใหญ่จะให้ผลผลิตสูงสุดที่ทุกระยะเวลาที่ทำการสังเคราะห์ โดยเลี้ยงเชื้อไปได้ 96 ชั่วโมง วัดความหนืดได้ประมาณ 150 เซนติพอยซ์ ปริมาณกัม 38 กรัมต่อลิตร ส่วนเชื้อที่มีโคโลนีขนาดกลางและเล็กจะให้ผลผลิตกัมต่ำลงตามลำดับ (รูปที่ 9ฉ และ 9ช) สำหรับปริมาณกรดไพรูวิกที่วัดได้ ก็มีค่าสอดคล้องกับขนาดโคโลนีของแบคทีเรียที่ทดสอบ คือมีค่าสูงในสายพันธุ์ที่มีขนาดโคโลนีใหญ่ กลาง เล็กตามลำดับ (รูป 9ช) เมื่อพิจารณาปริมาณกรดไพรูวิคต่อน้ำหนักเซลล์ก็จะได้ผลเช่นเดียวกันโดยแนวโน้มของค่าเพิ่มขึ้น จนเกือบจะคงที่ในชั่วโมงท้ายของการหมัก และเป็นไปตามปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) แสดงว่าการผลิตไพรูวิกในแต่ละชั่วโมงมีคุณภาพของกัมไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก

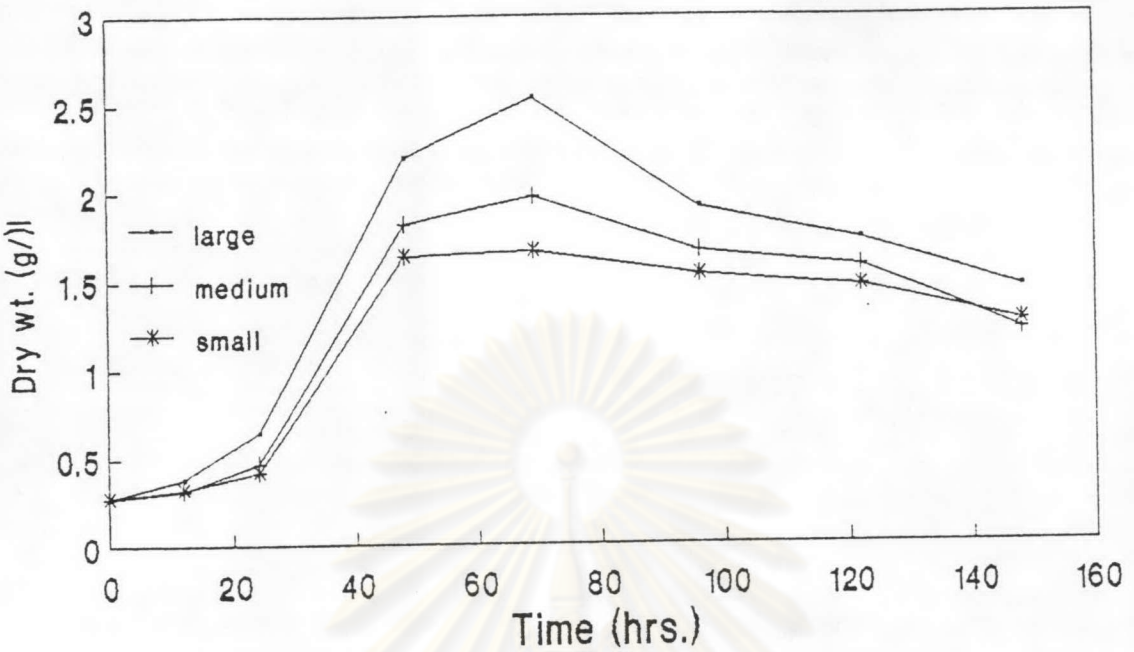
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



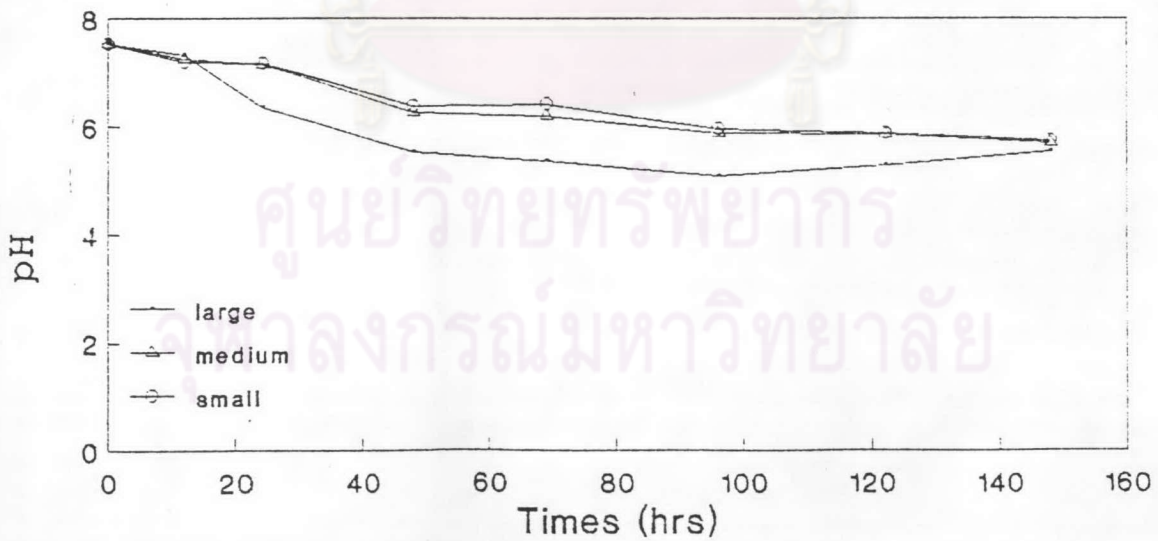
รูปที่ 9ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกันโดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร ในช่วงเวลา 156 ชั่วโมงเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน



รูปที่ 9ข เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกันเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารเพาะเลี้ยง โดยเริ่มต้นที่จำนวนเซลล์เท่ากันเป็นเวลานาน 156 ชั่วโมง ในสภาวะเดียวกัน

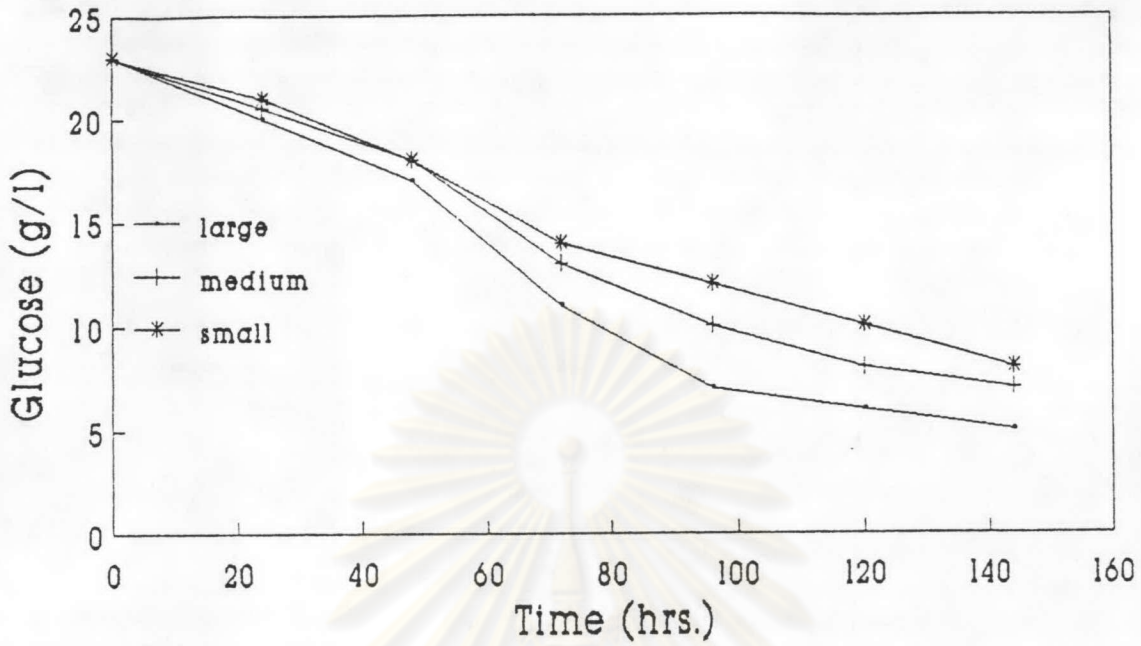


รูปที่ 9ค เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน เมื่อเจริญในอาหารเพาะเลี้ยงที่สภาวะเดียวกัน เป็นเวลานาน 156 ชั่วโมงและมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์

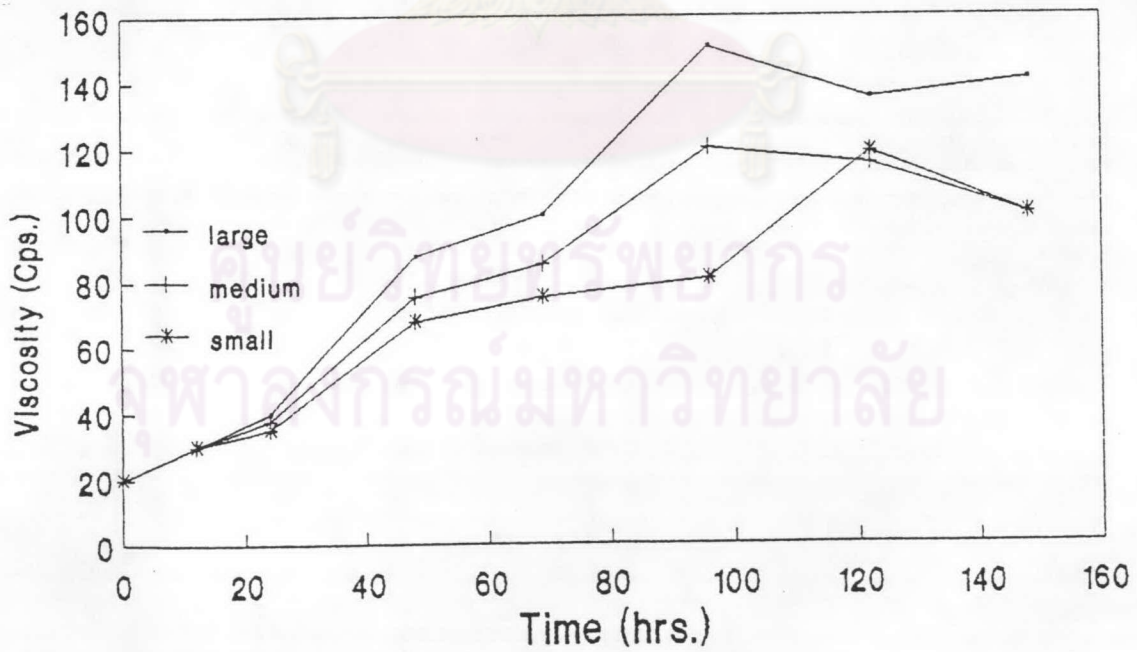


รูปที่ 9ง เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน ในอาหารเพาะเลี้ยง โดยเริ่มต้นที่จำนวนเซลล์เท่ากันเป็นเวลานาน 156 ชั่วโมง ในสภาวะเดียวกัน

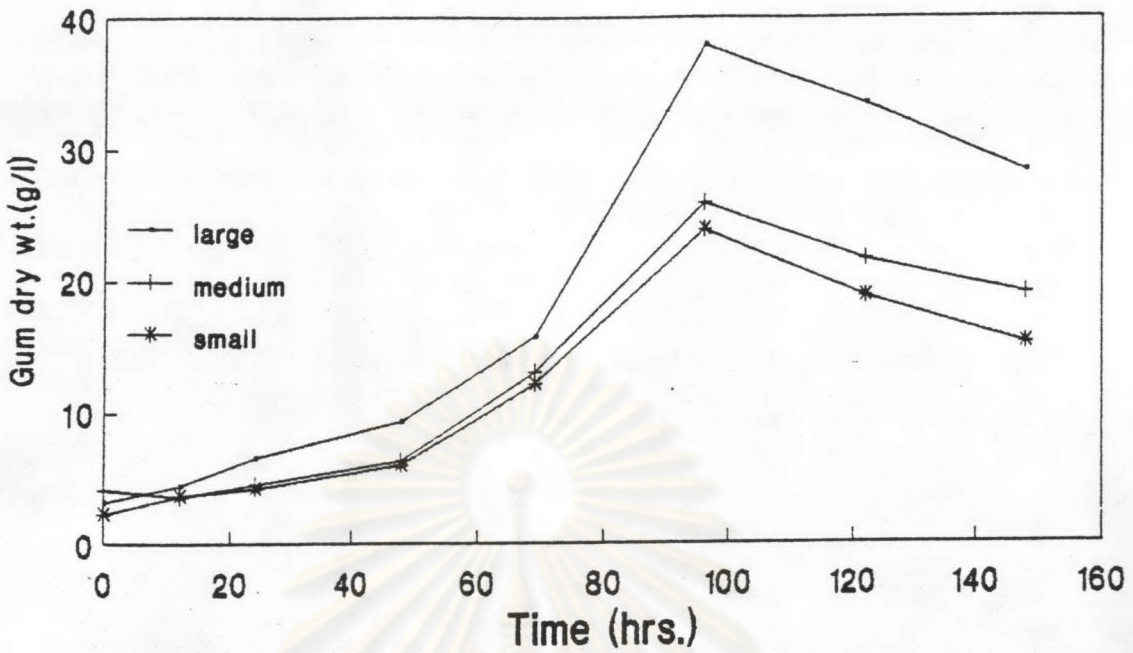
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



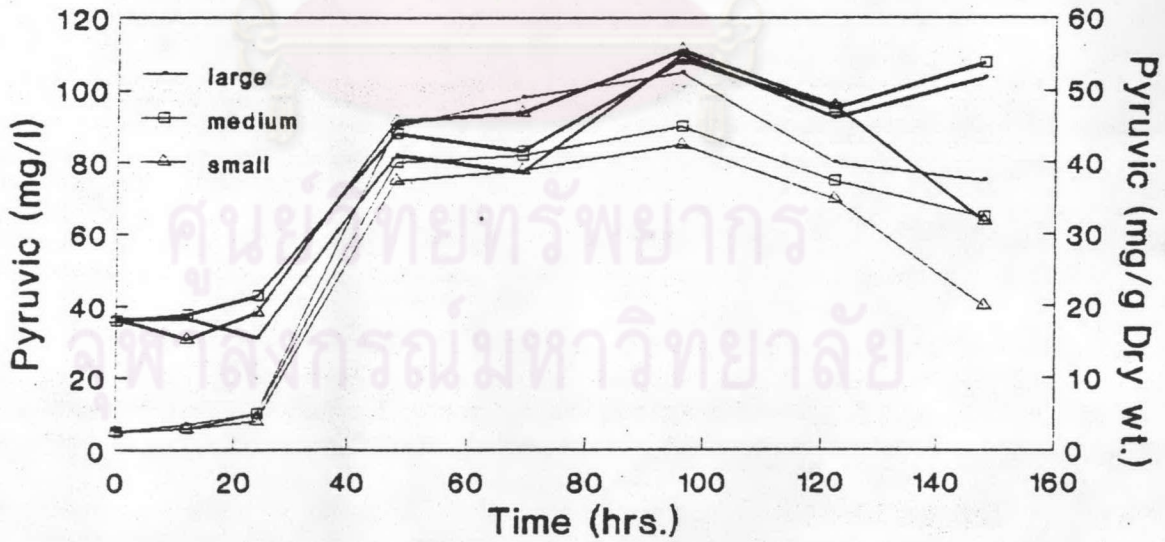
รูปที่ 9จ เปรียบเทียบปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ในอาหารเลี้ยง *X. campestris* ของโคโลนีขนาดต่างๆเมื่อเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลานาน 156 ชั่วโมง



รูปที่ 9ฉ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน โดยการวัดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter ในช่วงเวลา 156 ชั่วโมง เมื่อเลี้ยงในสภาวะเดียวกันโดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน



รูปที่ 9ช เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร)ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ*X. campestris* ที่มีขนาดโคโลนีต่างกัน จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากันและเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน



รูปที่ 9ช เปรียบเทียบปริมาณไพรูวิกที่วิเคราะห์ในแซนแทน กัม ที่ผลิตโดย*X. campestris* เมื่อเลี้ยงในสภาวะเดียวกันโดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน

3.2 ความเสถียรของสายพันธุ์ *X. campestris* ในการเจริญและผลิตแซนแทน

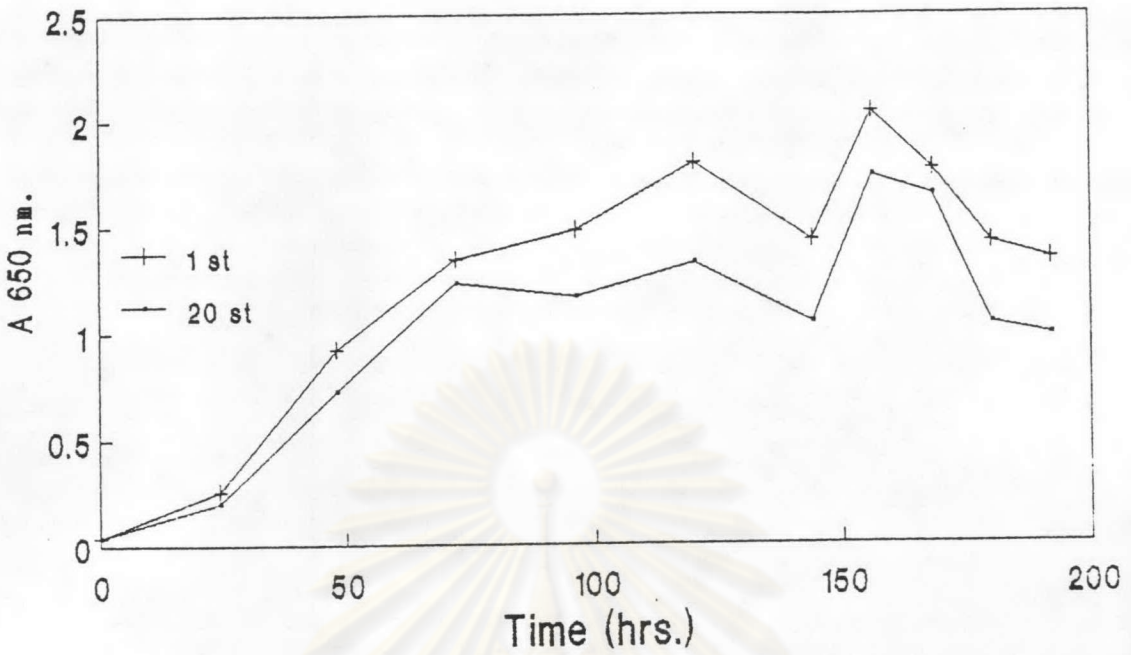
เมื่อทำการทดลองเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* อย่างต่อเนื่อง โดยทำการถ่ายเชื้อหลายๆครั้ง จะสังเกตพบปริมาณเซลล์และผลผลิตกัมลดลง จากผลการทดลองที่ได้ศึกษาเปรียบเทียบโดยใช้เชื้อที่มีขนาดโคโลนีใหญ่จากการเพาะเลี้ยงครั้งแรก แล้วทำการถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่องจำนวน 20 ครั้ง (ทุก 14 วัน) ผลการเจริญเติบโตของเซลล์ (รูปที่ 10 ก และ ค) พบว่าเชื้อที่ได้จากการถ่ายเชื้อเริ่มต้นครั้งแรก จะเจริญได้ดีกว่าเชื้อที่ได้จากการถ่ายเชื้อจำนวน 20 ครั้ง อย่างสม่ำเสมอตลอดระยะเวลาของการเพาะเลี้ยงนาน 160 ชั่วโมง โดยการเจริญเติบโตของเซลล์จะสูงขึ้นอย่างสม่ำเสมอจนถึงชั่วโมงที่ 72 จะมีปริมาณเซลล์สูงสุด ได้ปริมาณเซลล์ 2.7 กรัมต่อลิตร (A_{650} 1.4) ในขณะที่เซลล์ซึ่งผ่านการถ่ายเชื้อในอาหารที่ใช้ 20 ครั้ง (ทุก 14 วัน) เมื่อให้เซลล์เริ่มต้นเท่ากันได้ปริมาณเซลล์ลดลงเหลือเพียง 1.7 กรัมต่อลิตร (A_{650} 1.2)

เมื่อนับจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของการถ่ายเชื้อครั้งแรกได้ค่าเฉลี่ยประมาณ $45x10^{12}$ เซลล์ต่อมล. และการถ่ายเชื้อครั้งที่ 20 ได้ค่าเฉลี่ยเพียง $30x10^{12}$ เซลล์ต่อมล.(รูปที่ 10 ข)

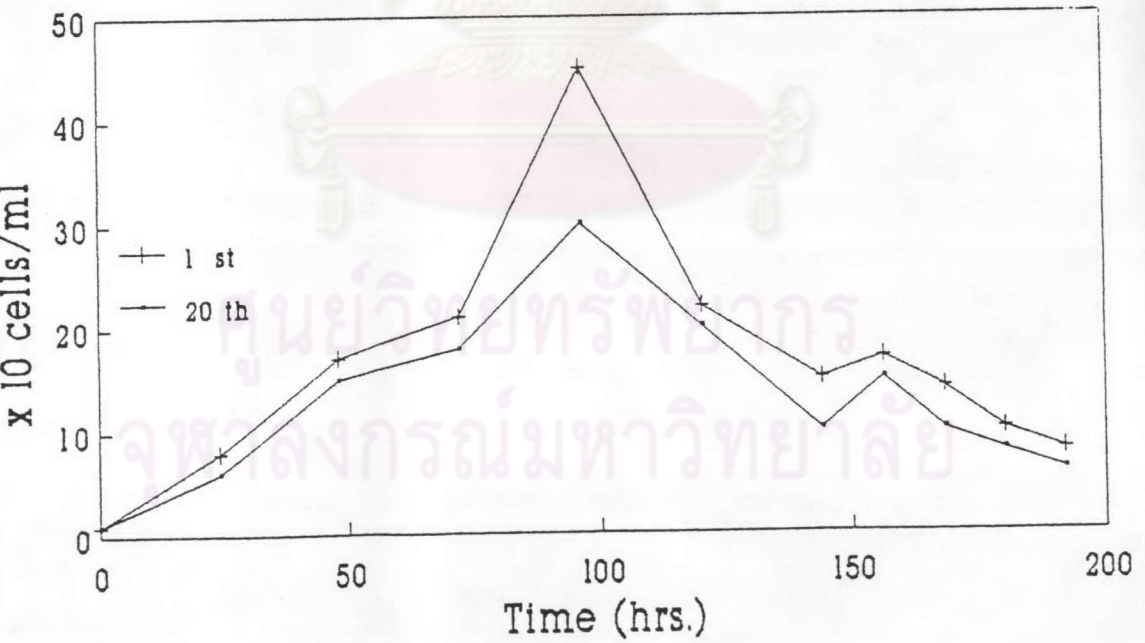
เมื่อศึกษาเปรียบเทียบอัตราการผลิตกัม และค่าความหนืดจะมีผลสอดคล้องกับอัตราการเจริญโดยผลผลิตกัมจะเพิ่มขึ้นอย่างสม่ำเสมอตลอดช่วงของการเพาะเลี้ยง โดยจะให้ผลผลิตสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 สำหรับจุลินทรีย์ที่ถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 ได้ค่าเฉลี่ยของปริมาณกัม 32 กรัมต่อลิตร ความหนืด 450 เซนติพอยซ์ หลังจากเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่อง 20 ครั้ง จะได้ *X. campestris* ที่ผลิตปริมาณกัมลดลงเหลือเพียง 22กรัมต่อลิตร ความหนืด 380 เซนติพอยซ์ ที่ชั่วโมงที่ 96 ของการเจริญ (รูปที่ 10 ฉและ 10 ช)

ในการศึกษาเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในอาหารเลี้ยงเชื้อ จะเห็นว่า pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะลดลงเมื่อเวลาการเพาะเลี้ยงนานขึ้น (รูปที่ 10ง) แต่ pH ของอาหารเลี้ยงเซลล์ที่ถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 จะลดลงเร็วและมากกว่า โดยจะพบการลดของ pH เหลือประมาณ 5.2 ถึง 5.4 และสามารถผลิตกัมสูงสุดที่ pH ยังเริ่มสูงได้อีกครั้งหนึ่งและมีค่าใกล้เคียงกับ *X. campestris* ทั้ง 2 แหล่ง

เมื่อทำการวิเคราะห์เปรียบเทียบอัตราการใช้กลูโคส พบว่าปริมาณกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 2 แหล่ง จะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึงชั่วโมงที่ 72 และ 96 ของการเลี้ยงเชื้อที่ถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และต่อเนื่อง 20 ครั้ง หลังจากนั้นอัตราการใช้กลูโคสจะต่ำมาก เป็นที่น่าสังเกตว่า *X. campestris* สามารถใช้กลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพจนเหลือประมาณ 4 ถึง 5 % ที่เวลาการสังเคราะห์กัมสูงสุด (96 ชั่วโมง) ซึ่งสอดคล้องกับการเจริญของเซลล์และ

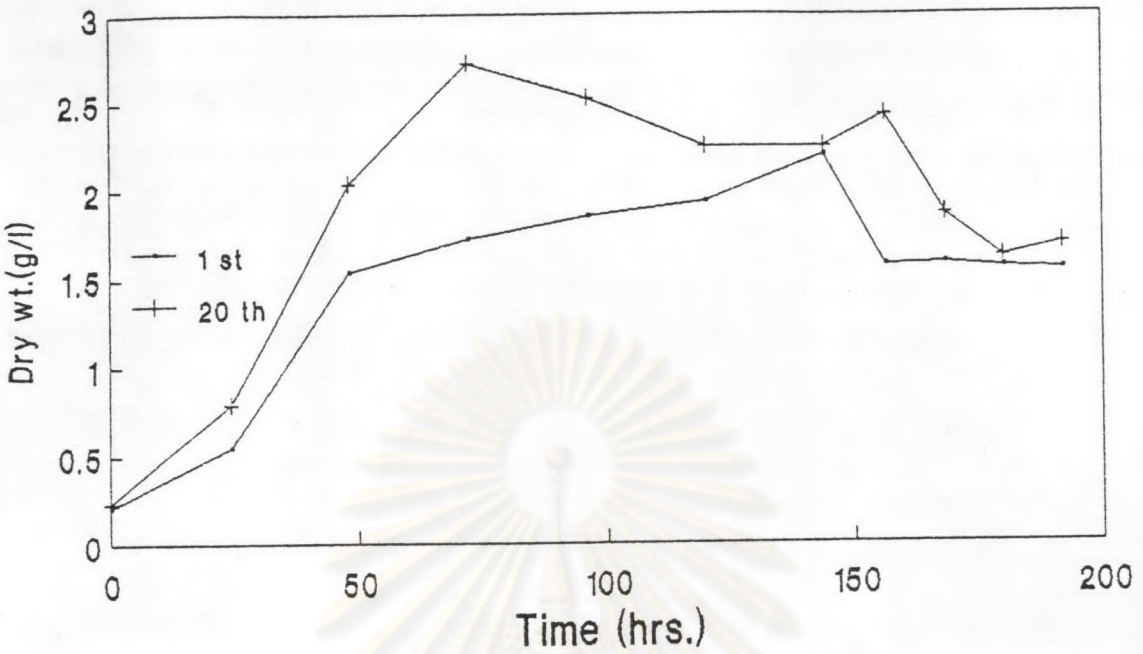


รูปที่ 10ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และหลังจากถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง 20 ครั้ง (ทุก 14วัน) เมื่อเลี้ยงในสภาวะเดียวกันและมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลา 192 ชั่วโมง โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร

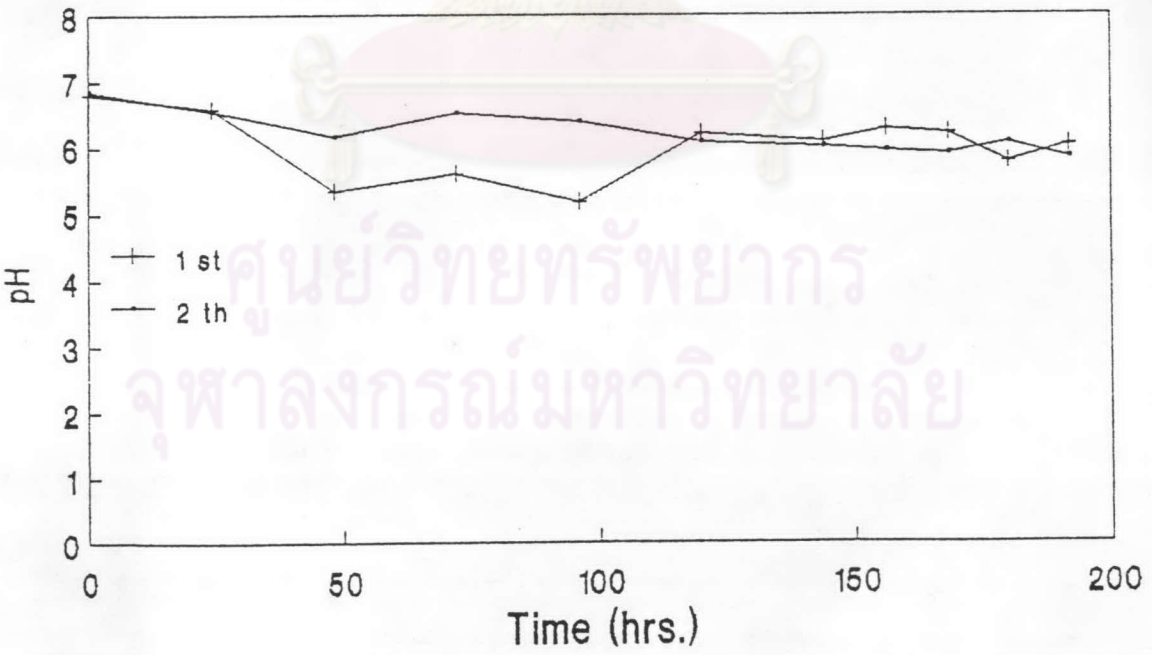


รูปที่ 10ข เปรียบเทียบจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *X. campestris* ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และหลังจากถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง 20 ครั้ง (ทุกๆ 14 วัน) แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกัน โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

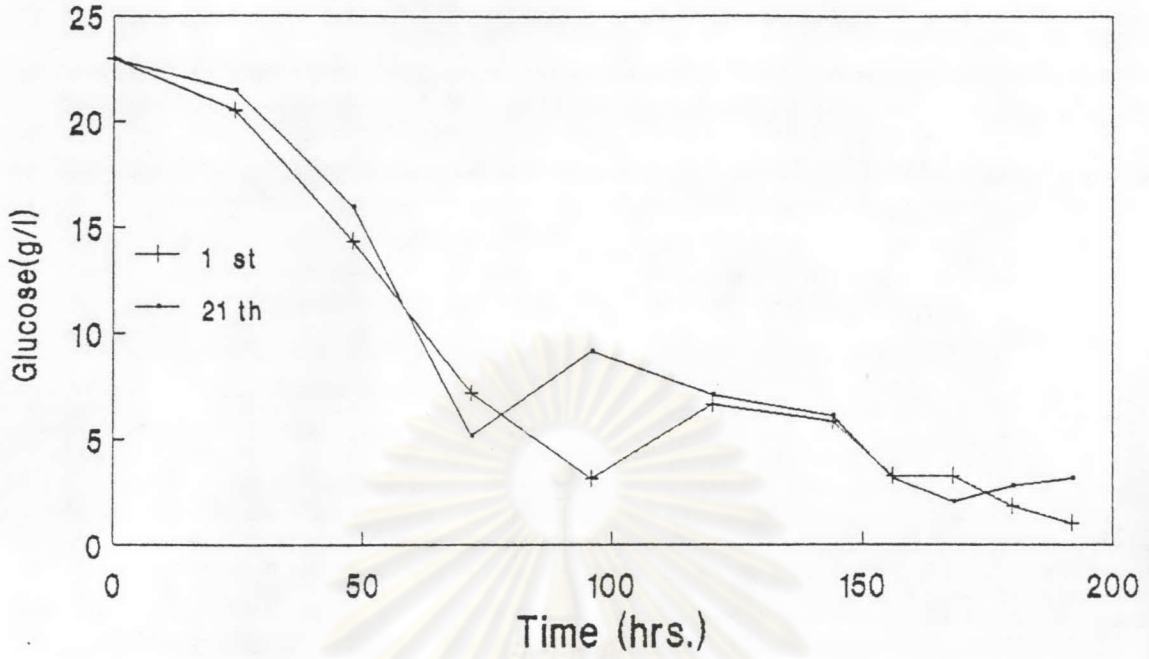


รูปที่ 10ค เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และหลังจากการถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง 20 ครั้ง (ทุกๆ14วัน) แล้วนำไปเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันและมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลา 192 ชั่วโมง โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)

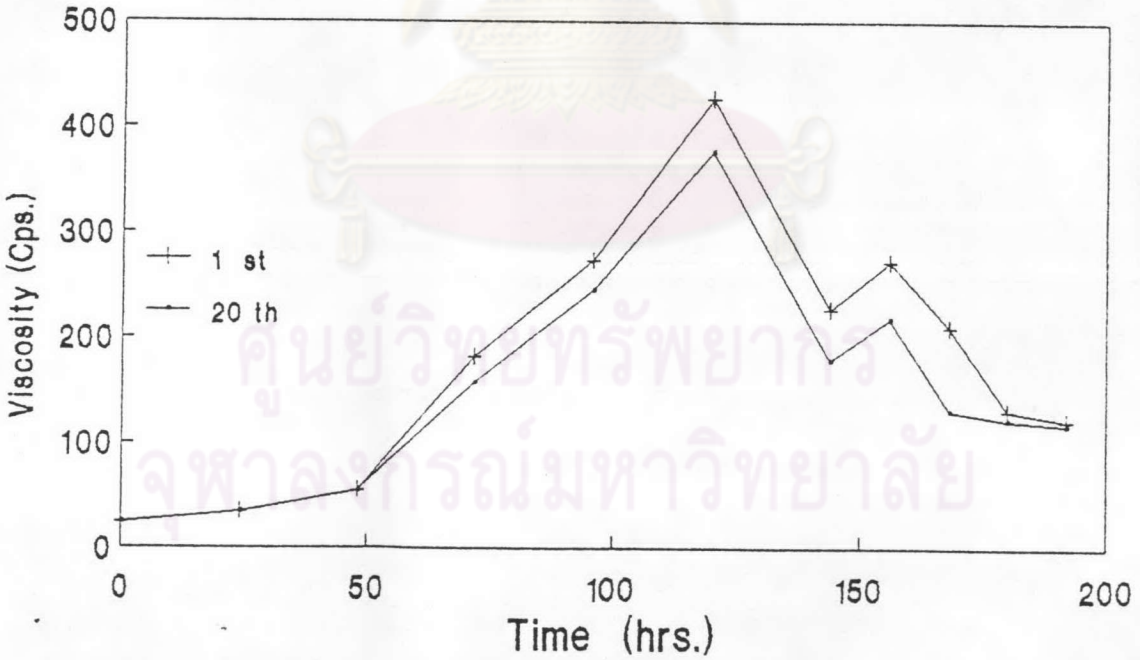


รูปที่ 10ง เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง20 ครั้ง (ทุก 14 วัน) เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันโดยจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10จ เปรียบเทียบความสามารถในการใช้กลูโคส (กรัมต่อลิตร) ในอาหารเลี้ยง *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อ ครั้งที่ 1 และ ถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง 20ครั้ง (ทุก 14 วัน) เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันโดยจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน



รูปที่ 10ฉ เปรียบเทียบความหนืด (เซนติพอยซ์) ของอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และ ถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง20 ครั้ง(ทุก 14 วัน) โดยการวัดหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันโดยจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

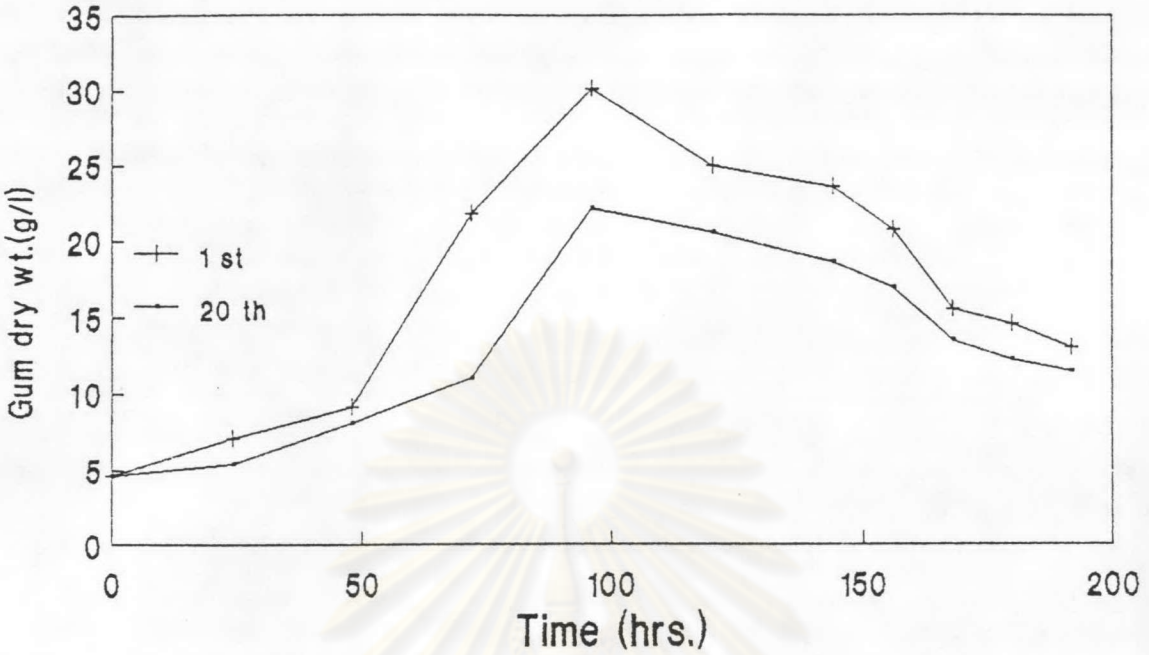
การผลิตแซนแทน กัม (รูปที่ 10 จ)

การศึกษาองค์ประกอบของกลุ่มไพรูวิกในกัม โดยวิเคราะห์ปริมาณไพรูวิกในกัมที่แยกได้ ก็เป็นการศึกษาถึงอัตราการลดลงของประสิทธิภาพของการผลิตกัมของ *X. campestris* ไปเป็นเวลานาน คือ พบว่าค่าปริมาณกรดไพรูวิกต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อในระยะเริ่มต้นจะมีค่าสูงและลดลงเมื่อถ่ายเชื้อไปเป็นเวลานาน คือมีค่า 222.5 และ 150 กรัมต่อลิตรตามลำดับที่ ชั่วโมง 96 (รูปที่ 10ช) อย่างไรก็ตาม เมื่อวิเคราะห์ค่าไพรูวิกต่อน้ำหนักแห้งของกัมที่แยกได้จะพบว่ามีค่าไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก (เกือบคงที่)(รูป 10ช) แสดงให้เห็นถึงว่าคุณภาพของกัมที่ได้ไม่น่าจะมีการเปลี่ยนแปลงไปจากเดิมมากนัก เมื่อเพาะเลี้ยงแบบต่อเนื่องไปเป็นเวลานาน

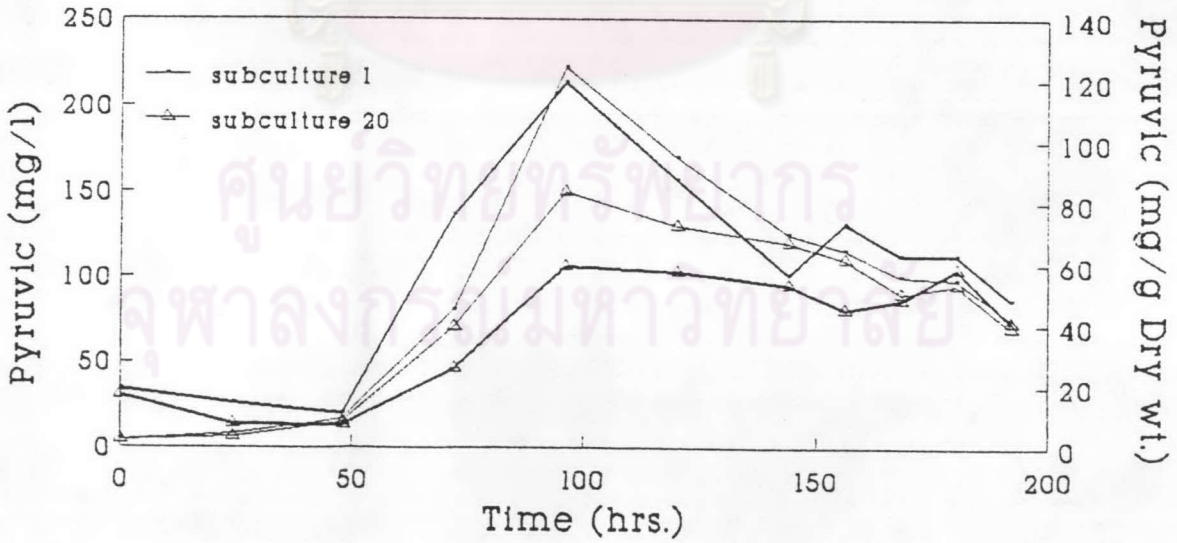
จากผลการศึกษาทั้งหมดข้างต้นแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *X. campestris* ที่ใช้ในการทดลองศึกษาการเจริญและการผลิตกัมแต่ละครั้งจะมีการแปรเปลี่ยนประสิทธิภาพของการเจริญการผลิตกัมเมื่อเพาะเลี้ยงเชื้ออย่างต่อเนื่องเป็นเวลานาน ดังนั้นจึงไม่ควรนำเอาเชื้อที่ผ่านการเพาะเลี้ยงอย่างต่อเนื่องมาหลายครั้ง หากเป็นไปได้ควรใช้เชื้อจาก stock เริ่มต้นที่มีการศึกษาคุณสมบัติ ประสิทธิภาพการผลิต และมีการเก็บรักษาไว้เป็นอย่างดี

เมื่อคัดเลือกเชื้อที่สามารถผลิตแซนแทนได้สูงสุดแล้ว จึงมาทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแซนแทน กัมต่อไป

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 10ช เปรียบเทียบ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร)ที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง*X. campestris* โคโลนีขนาดใหญ่ที่ได้จากการถ่ายเชื้อครั้งที่ 1 และถ่ายเชื้ออย่างต่อเนื่อง (ทุก14วัน) โดยเพาะเลี้ยงในสภาวะเดียวกันและจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน



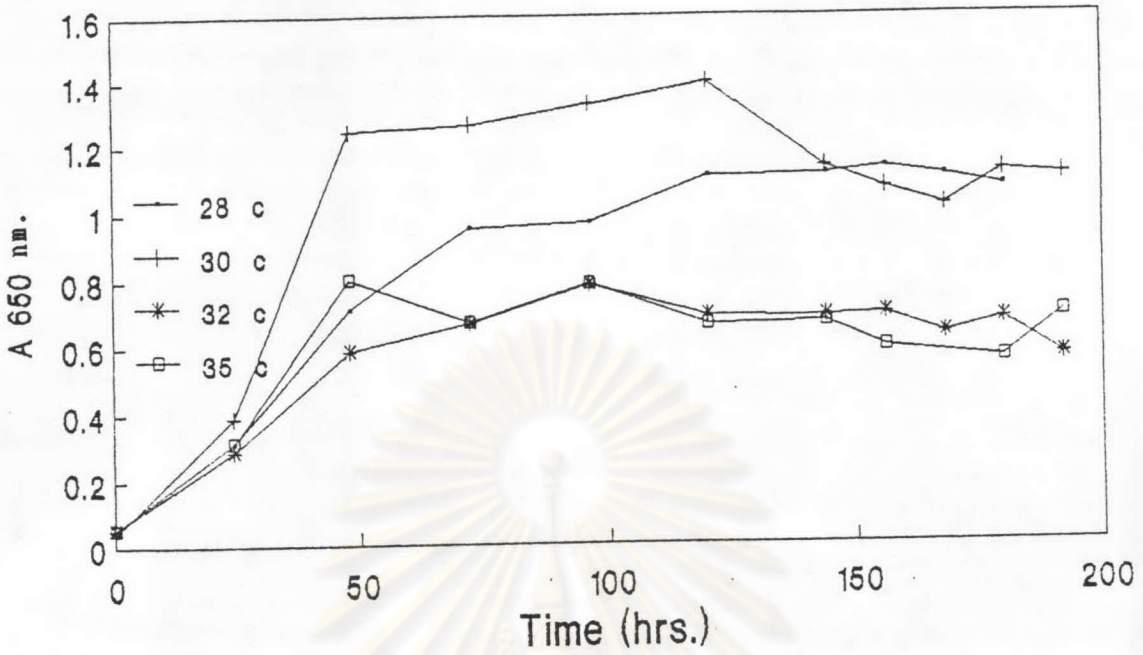
รูปที่ 10ช ปริมาณไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่ได้จากการ subculture ครั้งที่ 1และครั้งที่ 20

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

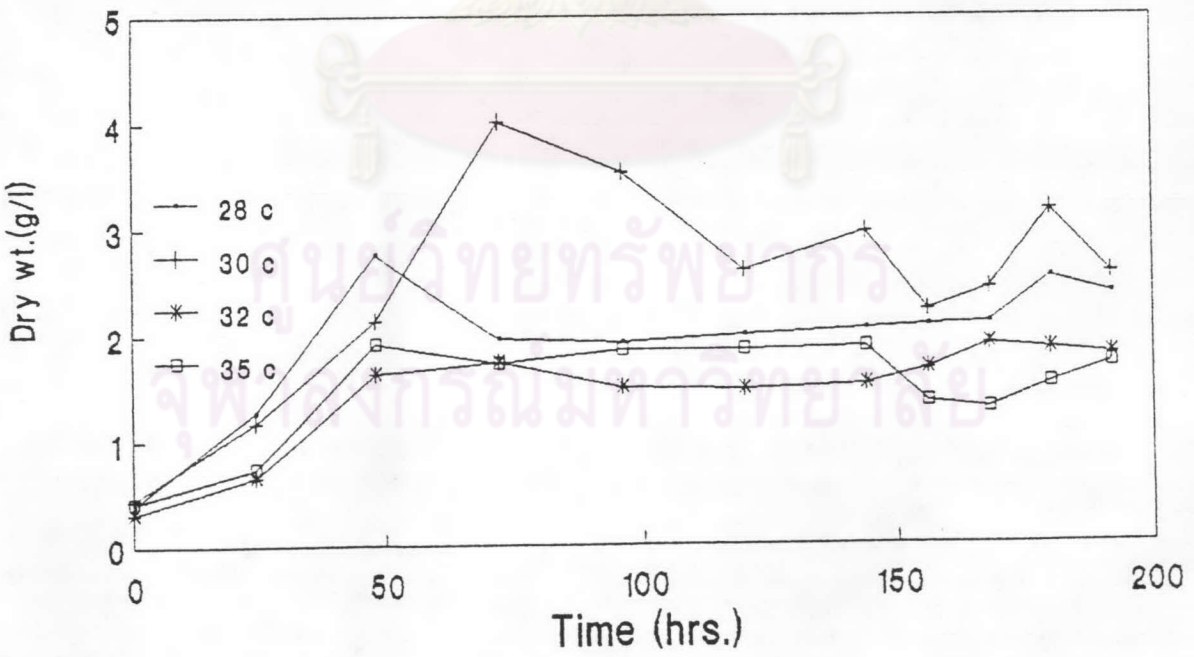
3.3 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตแซนแทน กัม

เลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ในอาหารที่สร้างแซนแทน (2.3.3) ที่อุณหภูมิ 28°, 30°, 32°, 35°ซ เป็นเวลา 192 ชั่วโมง จากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 11ก และข แสดงถึงการเจริญโดยแสดงด้วยค่าวัดจากความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ พบว่าที่อุณหภูมิ 30°ซ มีการเจริญของแบคทีเรียดีที่สุด รองลงมาคือที่ 28°ซ ที่อุณหภูมิ 32°ซ และ 35°ซ มีการเจริญที่ใกล้เคียงกันและมีค่าต่ำที่สุดต่ำกว่าที่อุณหภูมิ 30 °ซ ประมาณเท่าตัว การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ (รูป 11ค) จะลดลงใกล้เคียงกันตั้งแต่ 7 ลงมาถึง 6 ในชั่วโมงเริ่มต้นจนถึงสิ้นสุดการทดลอง และเนื่องจากที่อุณหภูมิ 30° และ 28°ซ มีการเจริญสูงจึงมีการใช้กลูโคสมากกว่าที่อุณหภูมิ 32°ซ และ 35°ซ อย่างชัดเจน จากกราฟจะเห็นได้ว่าอัตราการใช้กลูโคสของ *X. campestris* จะมีค่าค่อนข้างสม่ำเสมอและประสิทธิภาพของการใช้กลูโคสที่อุณหภูมิ 28 ถึง 30 °ซ จะมีค่าสูงจนกระทั่งเหลือกลูโคสประมาณ 2 ถึง 3 กรัมต่อลิตร ภายในเวลา 192 ชั่วโมง ในขณะที่ค่ากลูโคสเมื่อเจริญเซลล์ที่ 32 ถึง 35 °ซ จะยังคงมีเหลือถึง 10 ถึง 12 กรัมต่อลิตรที่เวลาเดียวกัน (รูปที่ 11ง) ซึ่งการเจริญของเซลล์ที่ดีมีผลทำให้มีการผลิตกัมซึ่งวัดได้จากค่าความหนืดและน้ำหนักกัม เมื่อเจริญเซลล์ที่ 30 °ซ จะมีค่าสูงสุดตามด้วยที่ 28 °ซ อย่างกับที่ทุกช่วงของการเจริญ โดยสามารถผลิตสารให้ความหนืดสูงสุดที่ชั่วโมง 140 ของอาหารเพาะเลี้ยง ซึ่งสูงกว่าชั่วโมงที่ 96 เกือบ 50 % และปริมาณกัมสูงสุดที่ระยะเดียวกันสูงประมาณ 40 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 11จ และ 11ฉ)

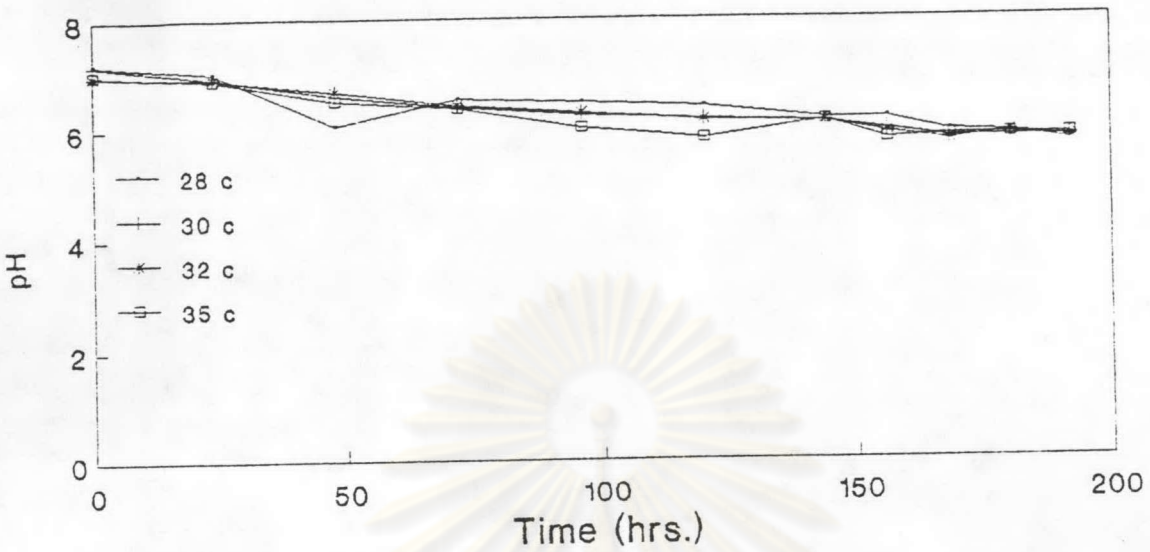
สำหรับปริมาณกรดไพรูวิกที่วิเคราะห์จากปริมาณกัมที่แยกได้มีค่าสูงสุดที่ชั่วโมง 96 คือ 150 กรัมต่อลิตรที่ 30°ซ และค่าไพรูวิกต่อน้ำหนักแห้งมีค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 67.5 กรัมต่อลิตรที่ 28°ซ (รูปที่ 11ช)



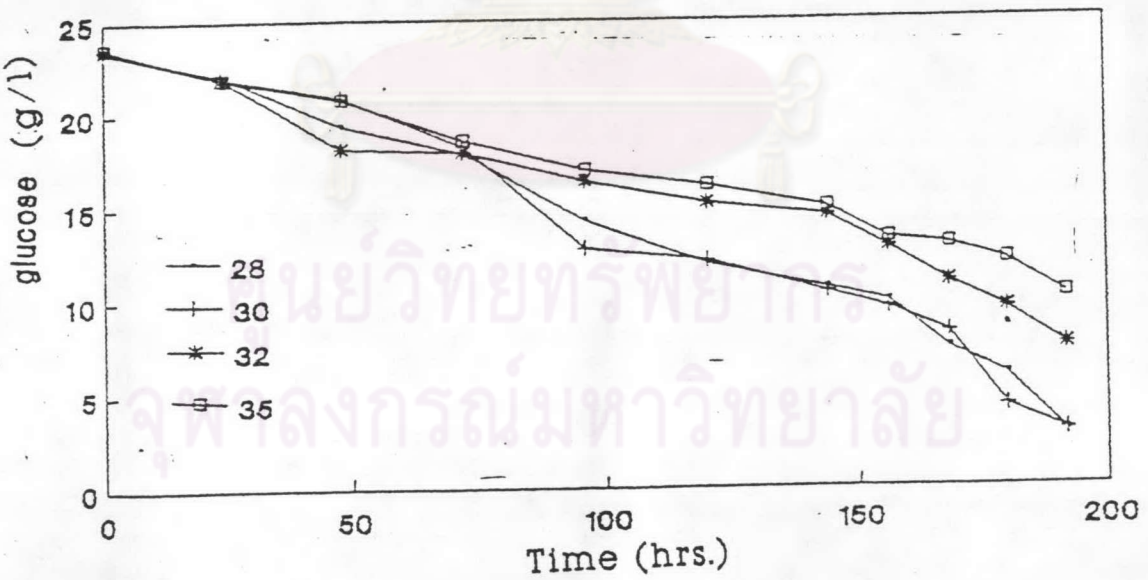
รูปที่ 11ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆในอาหารเพาะเลี้ยงมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร



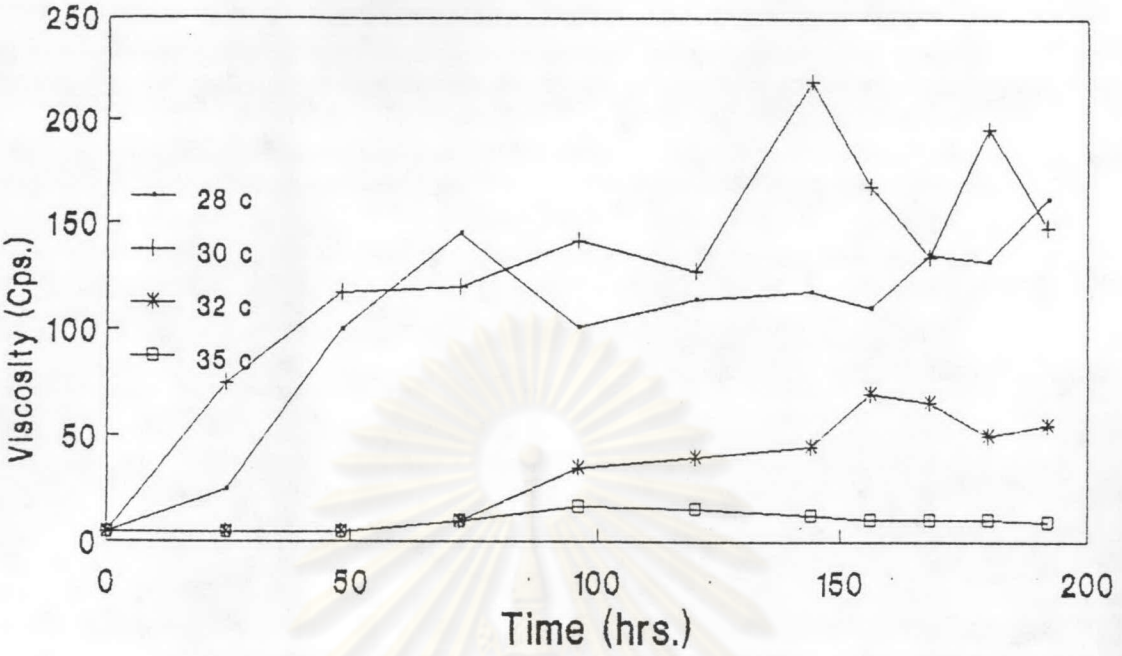
รูปที่ 11ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆในอาหารเพาะเลี้ยงมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)



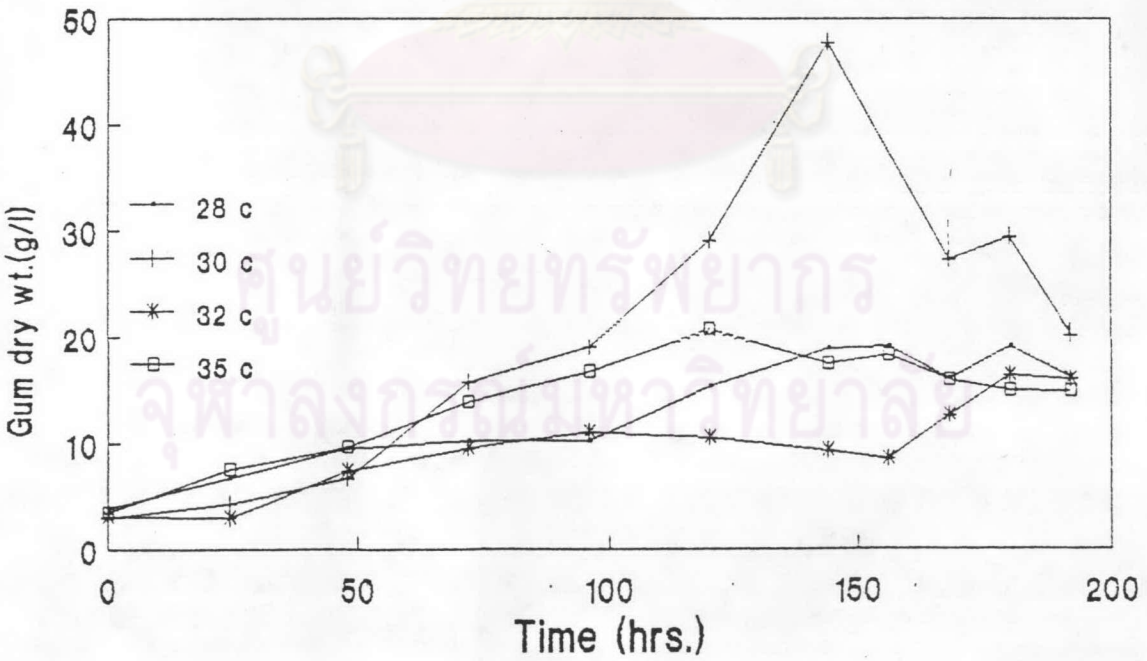
รูปที่ 11ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆ ในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



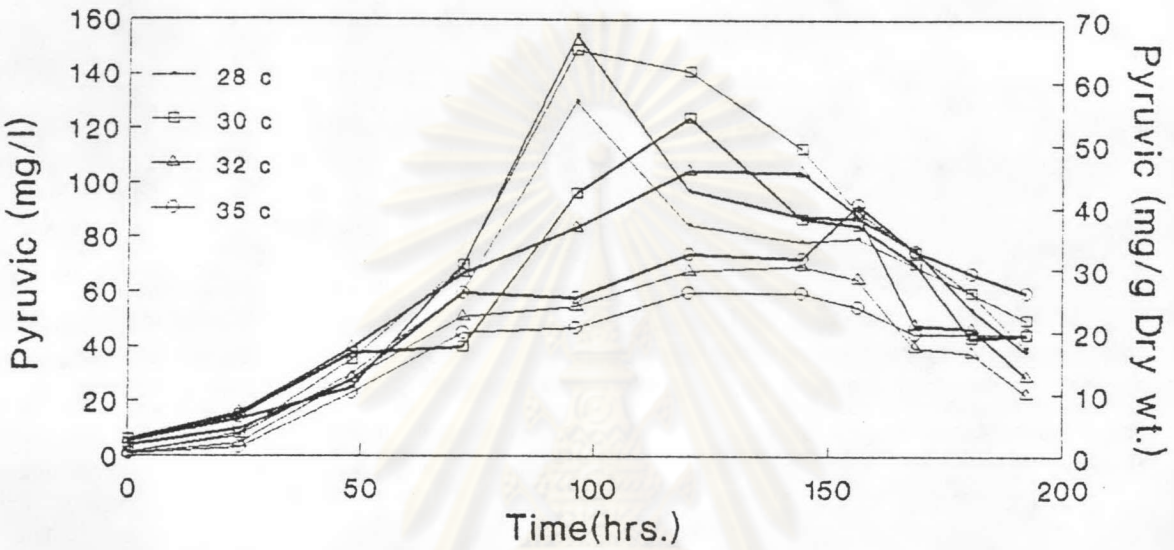
รูปที่ 11ง เปรียบเทียบการลดลงของกลูโคส (กรัมต่อลิตร) ในอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆในอาหารเพาะเลี้ยงที่มีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากันเป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



รูปที่ 11จ เปรียบเทียบ**ความหนืด** (เซนติพอยซ์) ของอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากันเป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง โดยการวัดหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter



รูปที่ 11ฉ เปรียบเทียบปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร)ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



รูปที่ 11ช ปริมาณกรดไพรูวิก ที่วิเคราะห์จากกัมซึ่งแยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X. campestris* ที่อุณหภูมิต่างๆซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.4 การศึกษาความเร็วรอบของการเขย่าที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตแซนแทน

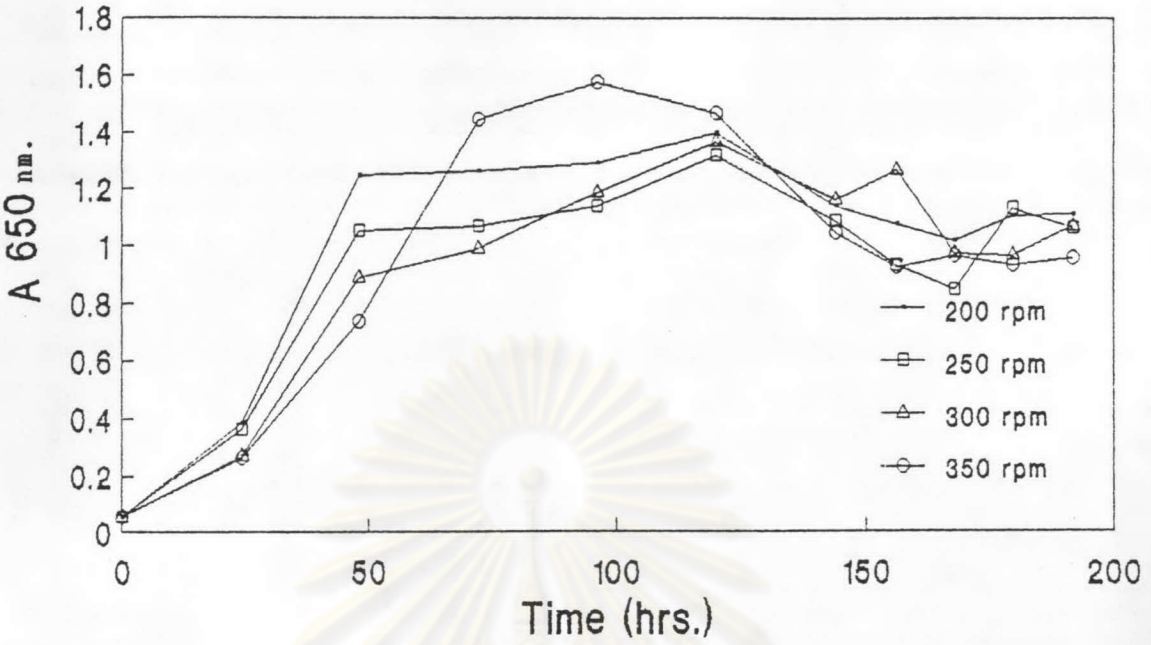
ทำการแปรผันความเร็วรอบในการเขย่าขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีอาหารในการสร้างแซนแทนบรรจุอยู่ 50 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงใน Psychrotherm ที่ความเร็วรอบตั้งแต่ 200, 250, 300 และ 350 รอบต่อนาที จากรูปที่ 12ก และ 12ข ที่ความเร็วรอบการเขย่า 200 ถึง 300 รอบต่อนาที จะมีการเจริญและน้ำหนักแห้งของเซลล์ไม่แตกต่างกันอย่างชัดเจนมากนัก แต่ที่ความเร็วรอบการเขย่าที่ 350 รอบต่อนาที จะมีการเจริญและน้ำหนักแห้งของเซลล์สูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 (3.8 กรัมต่อลิตร, A_{650} 1.6)

pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะไม่เปลี่ยนแปลงมากนัก โดยจะลดลงจนถึงประมาณ 6.2 ยกเว้นที่ความเร็วรอบของการเขย่าที่ 300 รอบต่อนาที ที่มีการลดลงของ pH ถึงประมาณ 5.8 ในช่วงชั่วโมงท้ายของการหมัก แต่จะมีค่าคงที่ประมาณชั่วโมงที่ 96 (รูปที่ 12ค)

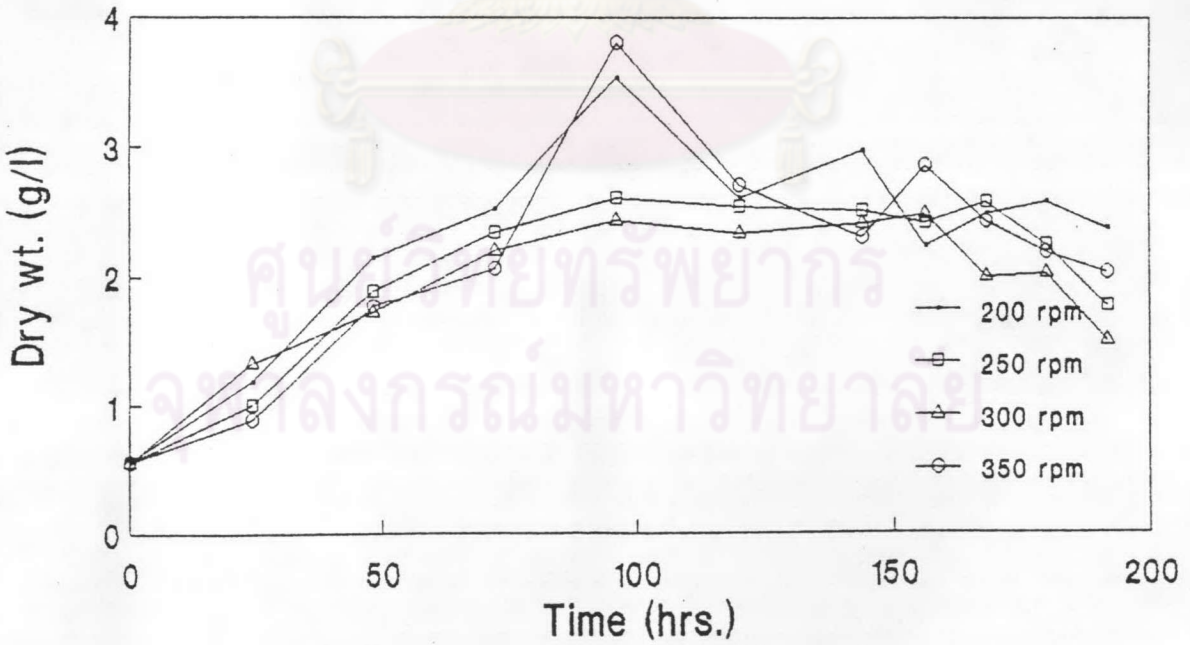
ปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งแสดงถึงประสิทธิภาพของการเจริญเซลล์ใช้กลูโคสอย่างสม่ำเสมอจนเหลือประมาณ 3 ถึง 4 % จะมีค่าใกล้เคียงกัน (รูป 12 ง)

สำหรับความสามารถในการผลิตกัมซึ่งขัดกับค่าความหนืดและปริมาณกัม พบว่าที่ความเร็วรอบการเขย่า 250 รอบต่อนาที จะให้ค่าความหนืดสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 คือ ได้ความหนืดเฉลี่ยประมาณ 900 เซนติพอยซ์ การเขย่าที่ความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาทีจะให้ค่าความหนืดของอาหารเพาะเลี้ยงรองลงมาคือสูงสุดที่ประมาณ 600 เซนติพอยซ์ แต่เมื่อวิเคราะห์ค่าน้ำหนักแห้งของกัมที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ค่าน้ำหนักแห้งของกัมจะสูงสุดที่ชั่วโมง 96 เมื่อเทียบกับความเร็วรอบ 300 รอบต่อนาที (ค่าเฉลี่ยประมาณ 23 กรัมต่อลิตร) โดยอัตราการเขย่าที่ 250 รอบต่อนาทีจะให้น้ำหนักกัมสูงสุดที่ชั่วโมง 172 เทียบกับค่าการเขย่าอื่นๆ (รูปที่ 12จ และ 12ฉ) ที่ความเร็วรอบการเขย่า 250 รอบต่อนาที จะให้ค่าเฉลี่ยไพรูวิกสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 144 เท่ากับ 130 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูป 12ช) และเมื่อดูปริมาณไพรูวิกต่อน้ำหนักแห้ง ก็พบว่าได้ค่าสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 144 ที่ความเร็วรอบการเขย่า 250 รอบต่อนาทีเช่นกัน แสดงให้เห็นว่าที่ความเร็วรอบการเขย่า 250 รอบต่อนาที นอกจากจะให้ผลผลิตกัมที่มีไพรูวิกสูงแล้วไพรูวิกที่ได้ยังมีคุณภาพสูงกว่าที่ความเร็วรอบการเขย่าอื่นๆ อีกด้วย

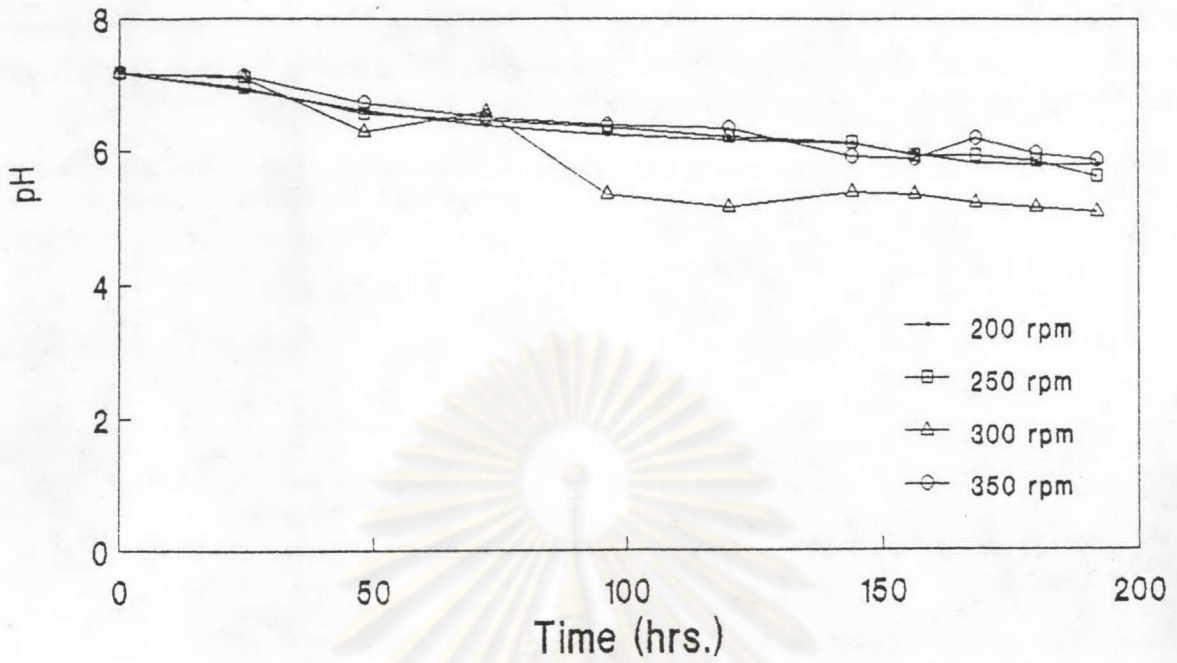
การทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ความเร็วรอบของการเขย่าเท่ากับ 250 รอบต่อนาที ซึ่งเหมาะสมสำหรับการผลิตแซนแทนและให้ค่าความหนืดสูงสุด โดยการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตแซนแทน กัม



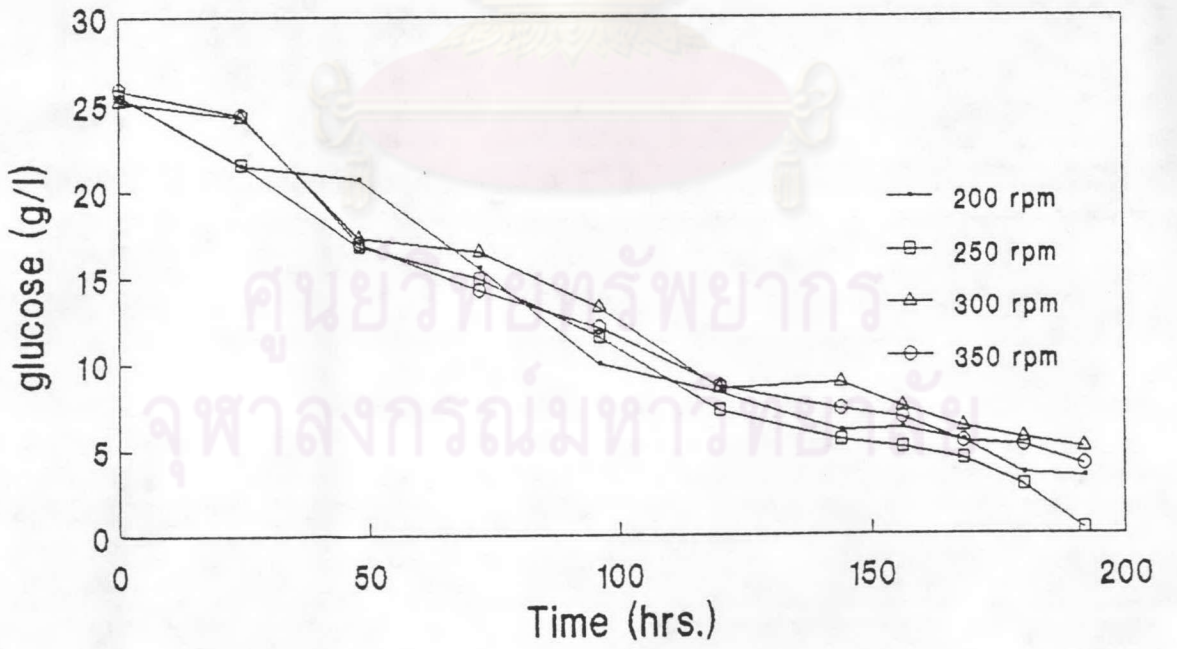
รูปที่ 12ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบของการเขย่าที่อัตราต่างๆ ซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



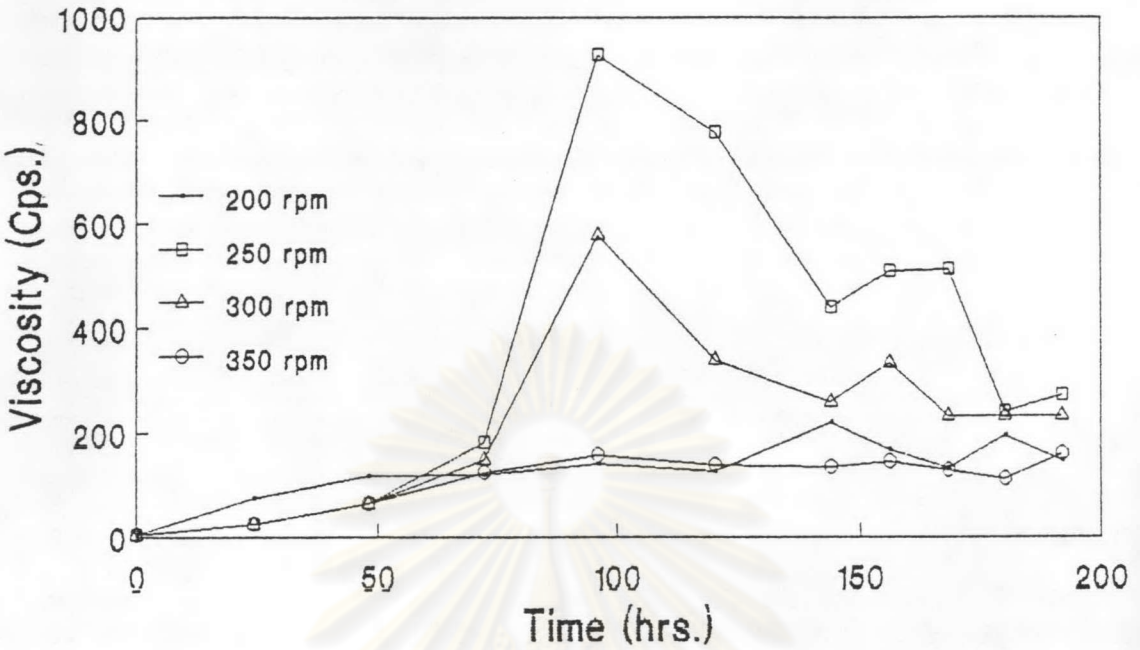
รูปที่ 12ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบการเขย่าที่อัตราต่างๆ ซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร) เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



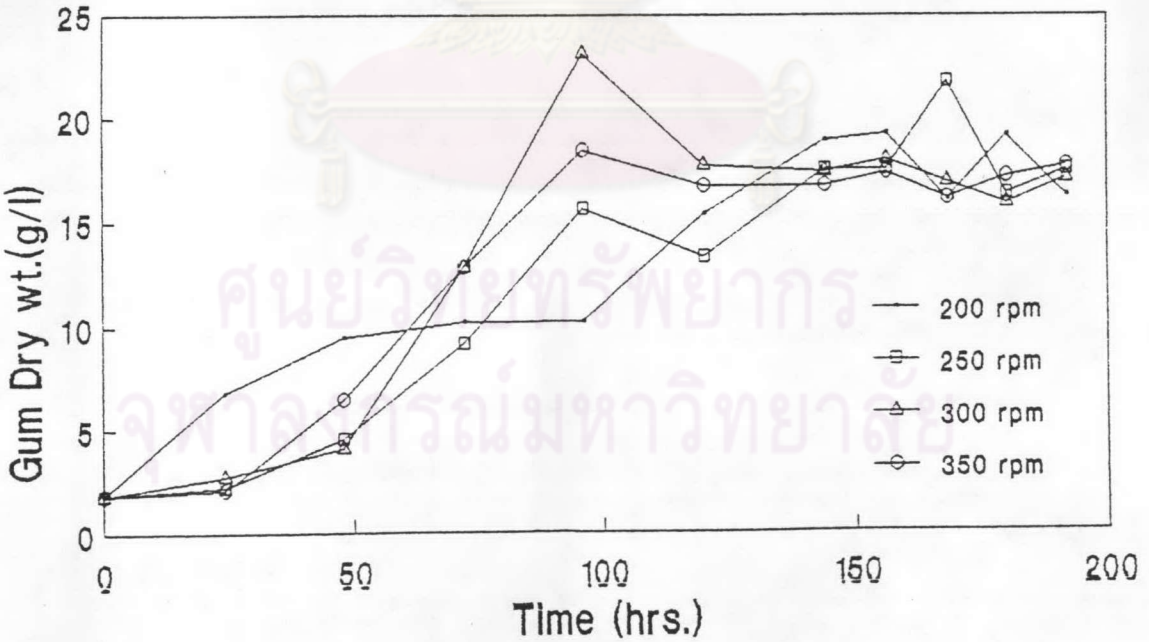
รูปที่ 12ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ด้วยความเร็วรอบการเขย่าที่อัตราต่างๆเป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



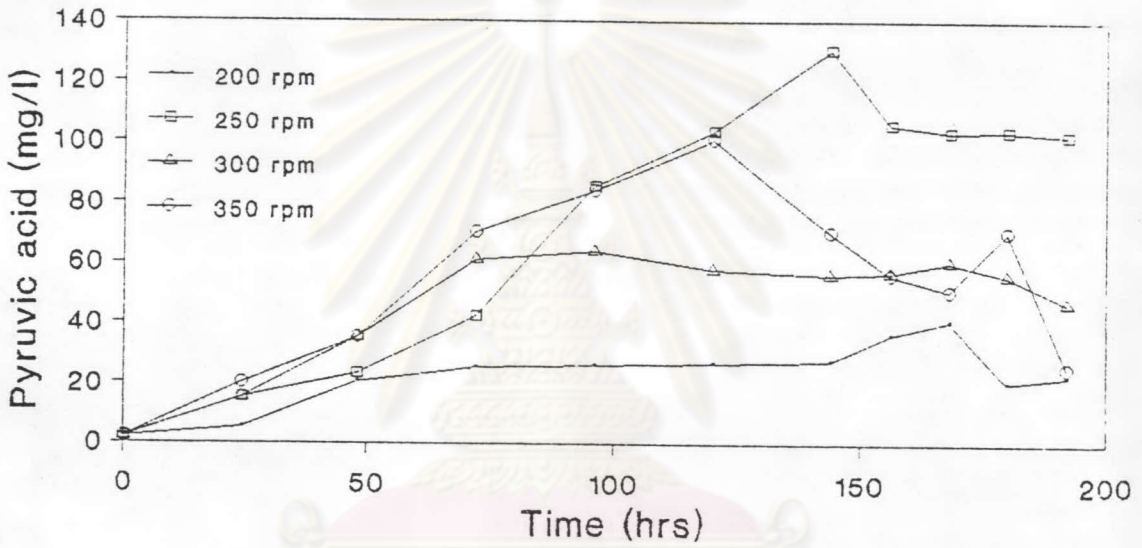
รูปที่ 12ง เปรียบเทียบปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)ในอาหารเพาะเลี้ยง*X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเร็วรอบของการเขย่าต่างๆ เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



รูปที่ 12จ เปรียบเทียบความหนืด(เซนติพอยซ์) ของอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris*ที่เพาะเลี้ยงในอาหารและเขย่าด้วยความเร็วรอบการเขย่าที่อัตราต่างๆโดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



รูปที่ 12ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร)ที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง ของ *X. campestris* ที่เพาะเลี้ยงในอาหารและเขย่าด้วยความเร็วรอบการเขย่าที่อัตราต่างๆ เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



รูปที่ 12ช ปริมาณกรดไพรูวิคที่วิเคราะห์จาก กัม ซึ่งแยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยงของ*X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีความเร็วรอบของการเขย่าต่างๆ เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.5 การศึกษาชนิดและปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการผลิตแซนแทน กัม

เลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ในอาหารสร้างแซนแทนที่มีน้ำตาลซูโครสและกลูโคสปริมาณ 2.25 % ในสภาวะและเชลล์เริ่มต้นปริมาณเดียวกัน จากรูป 13ก และ 13ข แสดงถึงการเจริญโดยวัดจากความขุ่นเชลล์ที่การดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 650 นาโนเมตร และโดยการชั่งน้ำหนักแห้งของเชลล์ พบว่าอาหารที่มีกลูโคสสามารถให้การเจริญเป็น 2 เท่าของอาหารที่มีซูโครสเป็นส่วนประกอบ และอาหารที่ใช้กลูโคสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอนยังมีการลดลงของ pH จะมีค่าต่ำกว่าอาหารที่เติมซูโครส (รูปที่ 13ค) (จากรูป 13-1ง และ13-2ง การลดลงของน้ำตาลในอาหารที่มีกลูโคสจะมากกว่าในอาหารที่มีซูโครสเป็นส่วนประกอบ)

สำหรับความหนืด (รูปที่ 13จ) ในอาหารที่มีกลูโคสเป็นส่วนประกอบจะให้ค่าความหนืดสูงกว่าอาหารที่มีซูโครสเป็นส่วนประกอบถึง 11 เท่า โดยมีค่าเท่ากับ 550 เซนติพอยซ์ ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกัมที่มีค่าสูงกว่าด้วย (7 กรัมต่อลิตร) (รูปที่ 13 ฉ) และมีปริมาณกรดไพรูวิกประมาณ 85 มิลลิกรัมต่อลิตร ในขณะที่อาหารที่มีซูโครสจะมีปริมาณกรดไพรูวิกประมาณ 25 มิลลิกรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 96 ดังนั้นจากการทดลองนี้จึงได้เลือกกลูโคสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน

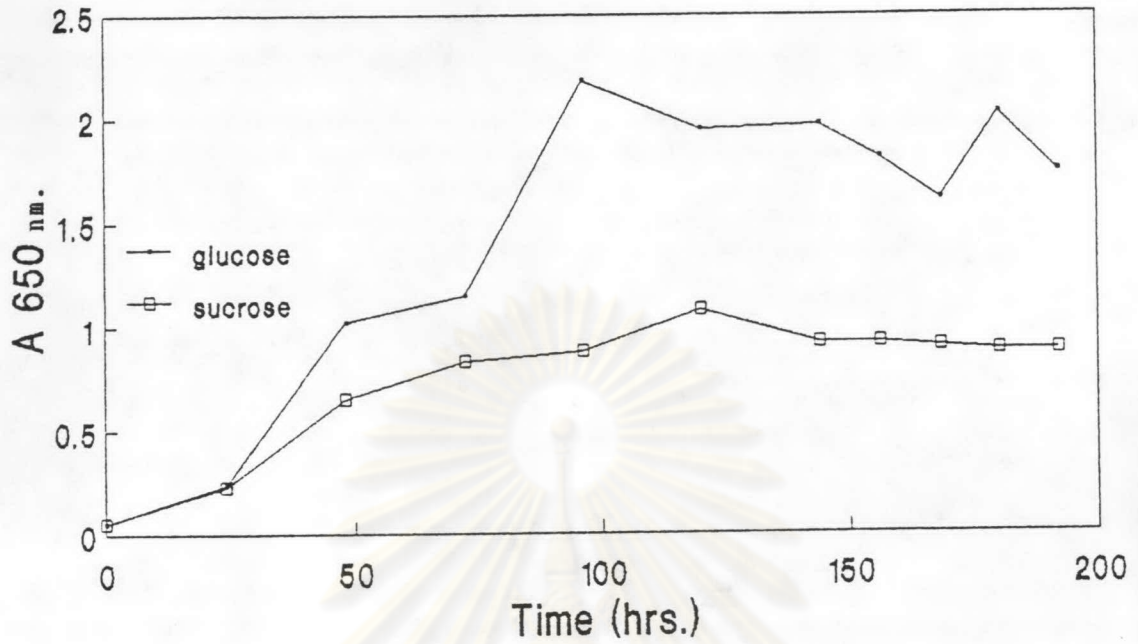
เมื่อคัดเลือกชนิดของน้ำตาลที่เหมาะสม คือกลูโคสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอนในการสร้างแซนแทนแล้ว จึงได้ศึกษาหาปริมาณกลูโคสที่เหมาะสมในการผลิตแซนแทน กัม โดยการทดลองแปรผันปริมาณ (เปอร์เซนต์) น้ำตาลกลูโคสที่ใช้ ตั้งแต่ 2 ถึง 5 % (ปกติใช้ 2.25 %) ในเวลาเลี้ยงเชื้อ 96 ชั่วโมง เพราะจากการทดลองที่ผ่านมาสรุปได้ว่าที่ชั่วโมงที่ 96 เชื้อสามารถให้การเจริญ ความหนืดและการผลิตแซนแทนสูงสุด(รูปที่ 14ก และ14ข) แสดงการเจริญและน้ำหนักเชลล์แห้งของเชื้อ พบว่าที่ความเข้มข้น(เปอร์เซนต์) ของกลูโคสต่างๆ มีค่าไม่ต่างกันมากนัก โดยสังเกตพบว่าที่ความเข้มข้น 3 % สามารถให้การเจริญที่ดีกว่าความเข้มข้นอื่นเล็กน้อย อย่างไรก็ตามเชลล์จะเข้าสู่การเจริญ (A_{650}) และน้ำหนักแห้งสูงที่สุดที่ชั่วโมงที่ 72 หลังจากนั้นก็จะหยุดการเจริญ

ในขณะที่การติดตามค่า pH (รูป 14ค) มีการลดลงที่ใกล้เคียงกัน คือไม่ต่ำกว่า pH 6

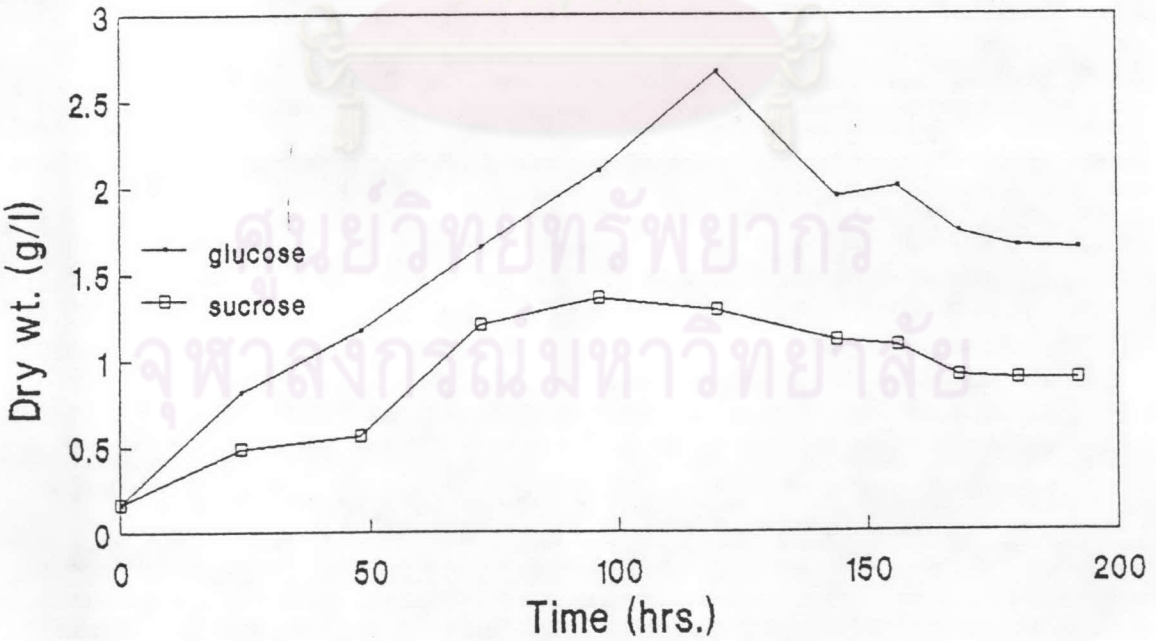
สำหรับปริมาณกลูโคสที่วัดได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่แสดงถึงประสิทธิภาพของการเจริญ (รูปที่ 14ง) พบว่าจะลดลงเป็นสัดส่วนกับปริมาณกลูโคสที่ใช้เป็นแหล่งต้นตอคาร์บอนโดยที่เชลล์สามารถใช้กลูโคสได้อย่างมีประสิทธิภาพ และที่ชั่วโมงที่ 96 จะยังมีปริมาณกลูโคสเหลืออยู่ต่ำกว่า 50 % ของความเข้มข้นที่ให้

เมื่อวัดความหนืดด้วยเครื่องมือวัดความหนืดพบว่าที่กลูโคส 2.25 และ 3 % จะให้ความหนืดสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 72 มีค่าเท่ากับ 220 เซนติพอยซ์ และที่ความเข้มข้นกลูโคส 3 %นี้ จะให้ปริมาณกัมเฉลี่ยประมาณ 18 กรัมต่อลิตร (รูปที่ 14ฉ) โดยมีปริมาณไพรูวิค 250 มิลลิกรัมต่อลิตรที่ชั่วโมงที่ 96 (รูปที่ 14ช) และมีปริมาณไพรูวิคต่อกรัมน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 61 ที่ชั่วโมงที่ 96 เช่นกัน

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

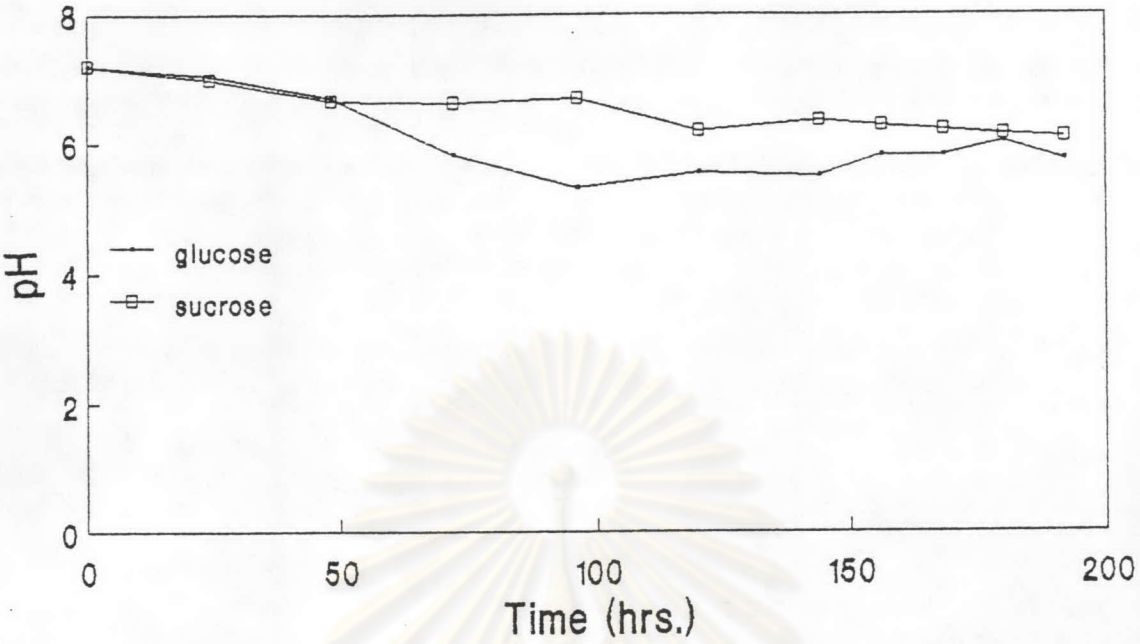


รูปที่ 13ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นคาร์บอนมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง

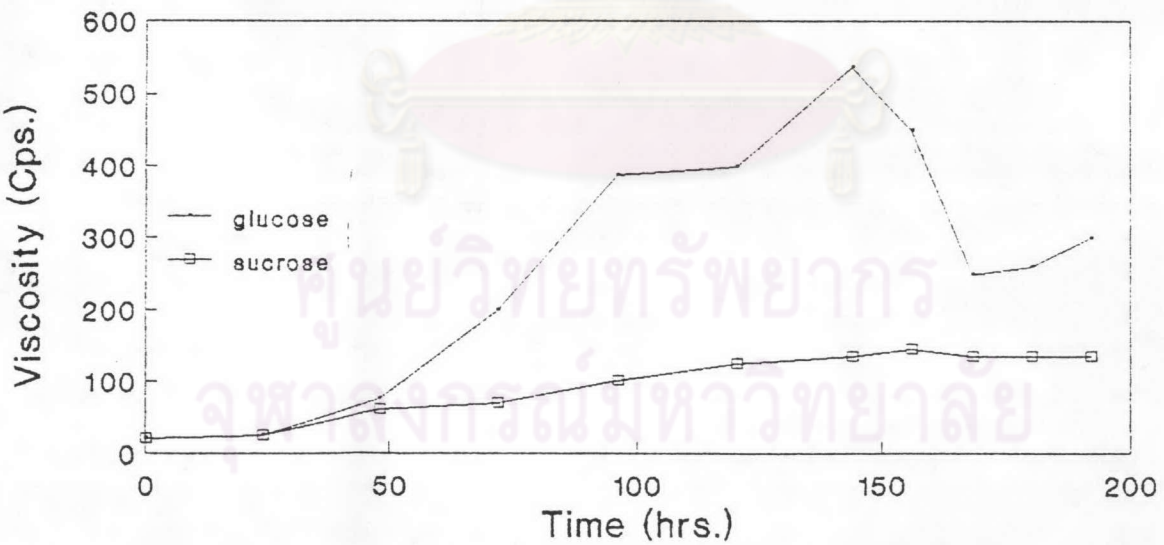


รูปที่ 13ข เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25%กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นคาร์บอนซึ่งมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร) เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

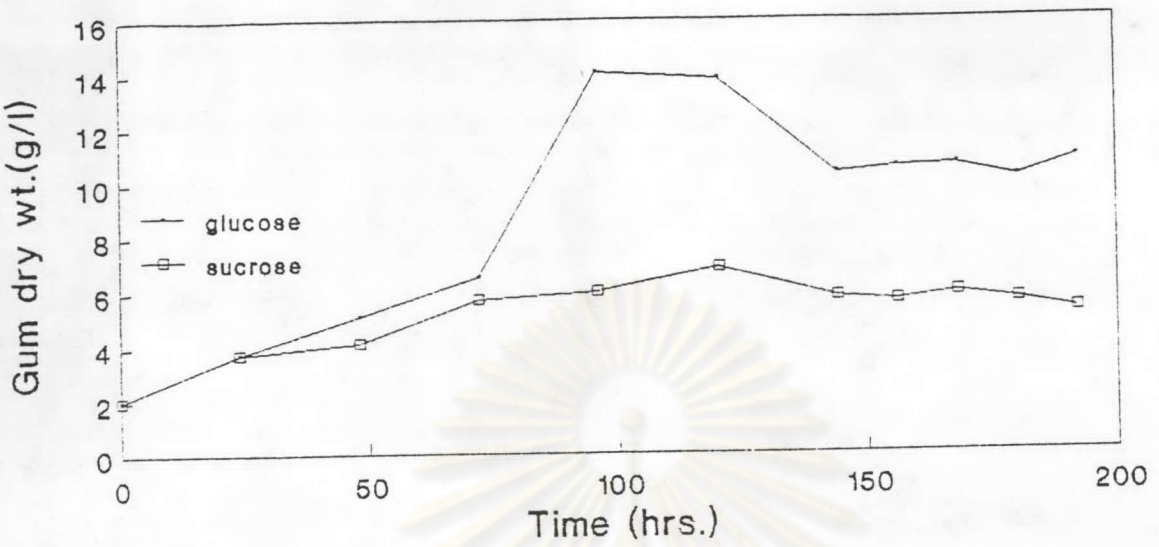


รูปที่ 13ค เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นคาร์บอน เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง

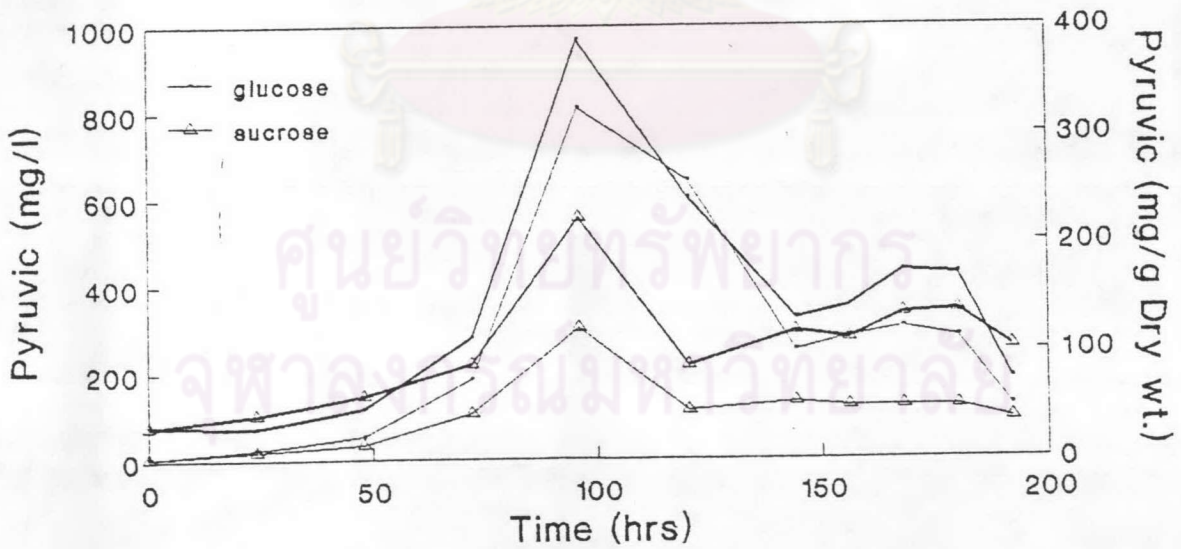


รูปที่ 13ง ความหนืด (เซนติพอยซ์) ของอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นคาร์บอน โดยวิธีการหาความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง

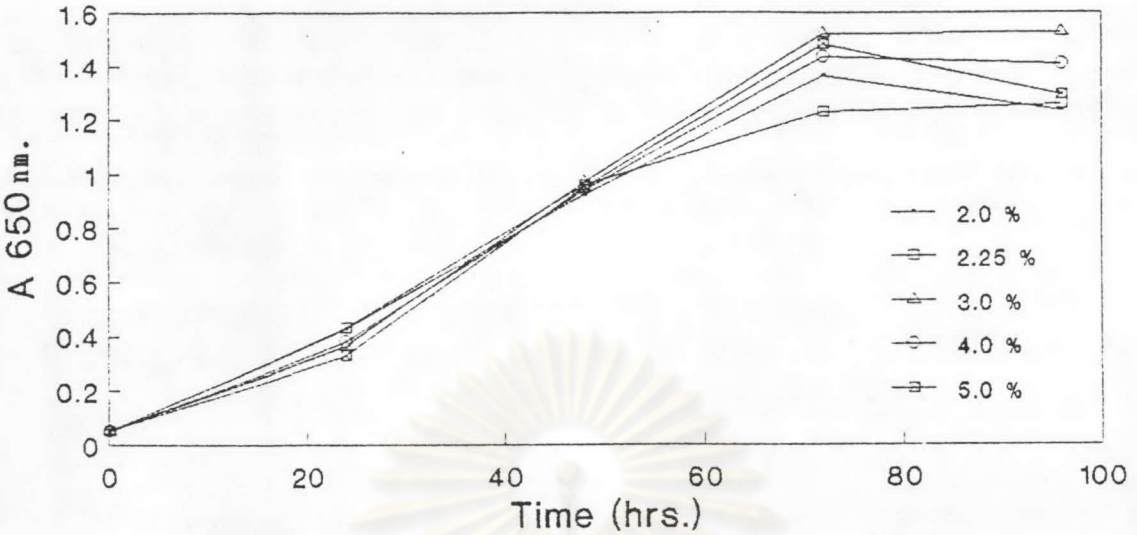
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



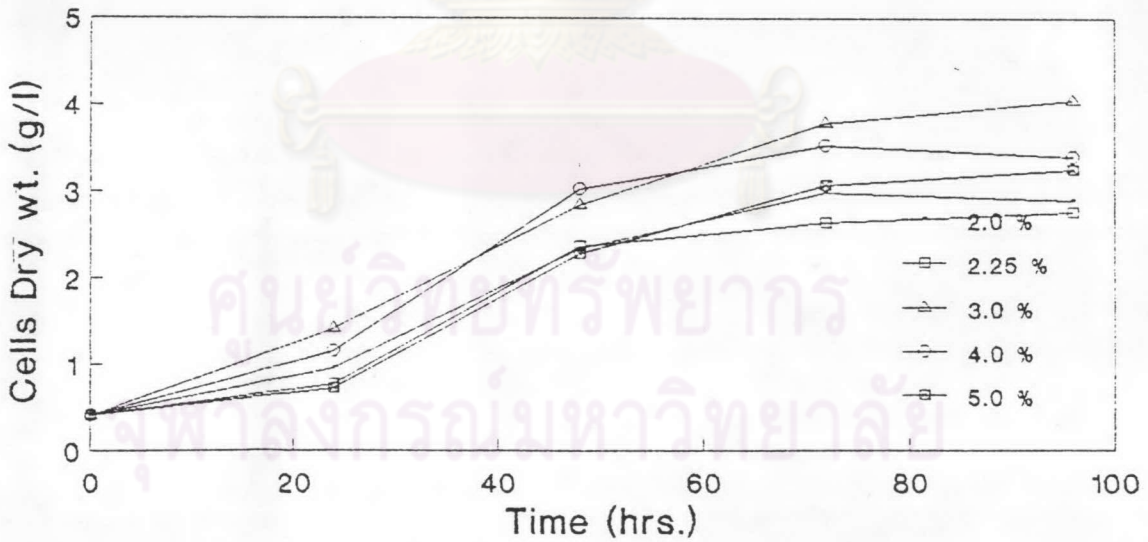
รูปที่ 13จ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร)ที่แยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



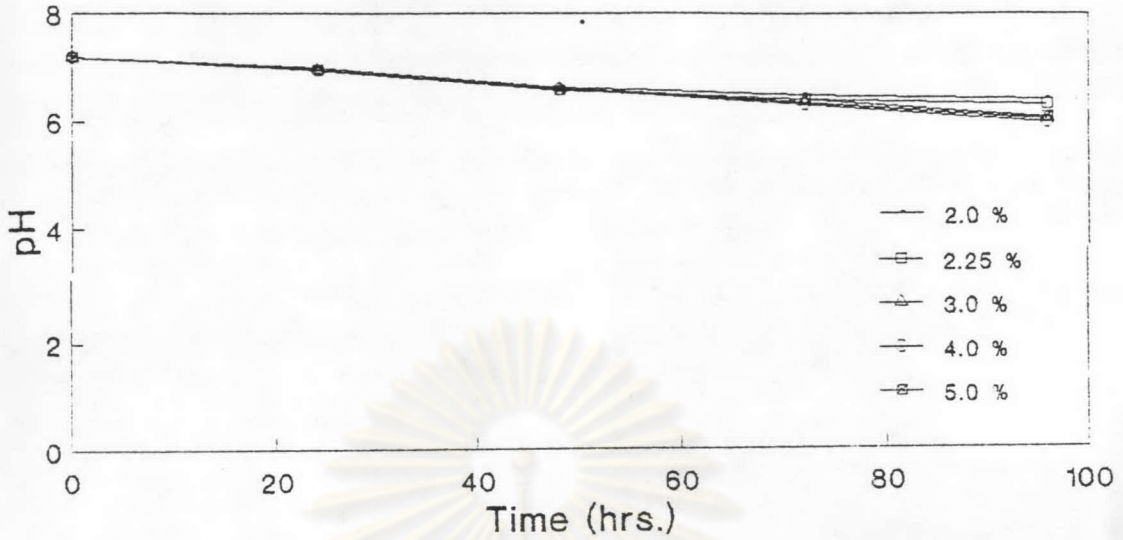
รูปที่ 13ฉ ปริมาณกรดไพรูวิกที่วิเคราะห์จากกัมซึ่งแยกได้จากอาหารเพาะเลี้ยง *X. campestris* ที่มี 2.25% กลูโคสและซูโครสเป็นแหล่งต้นตอคาร์บอน เป็นเวลานาน 192 ชั่วโมง



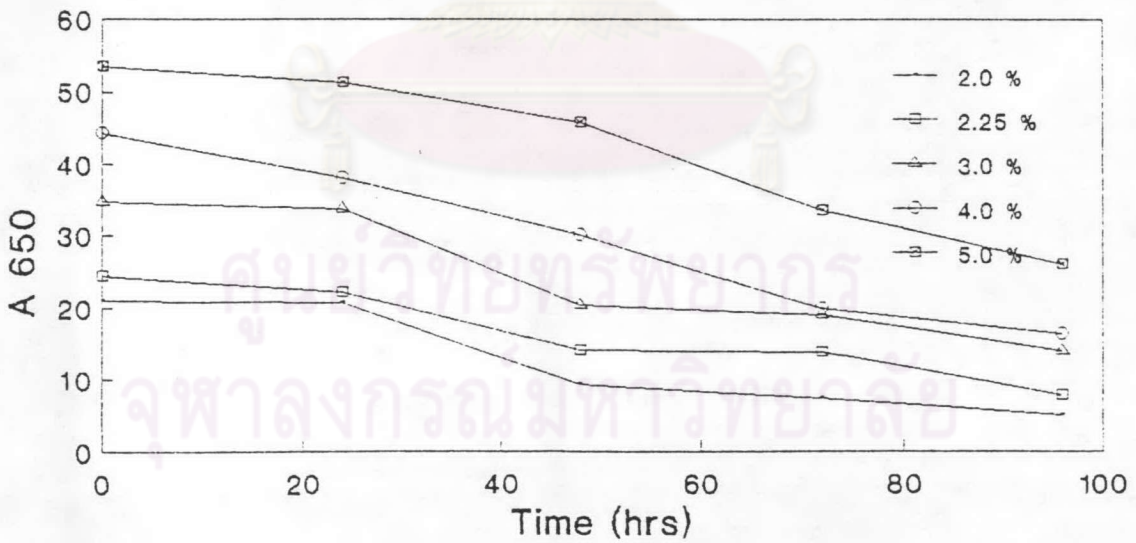
รูปที่ 14ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร



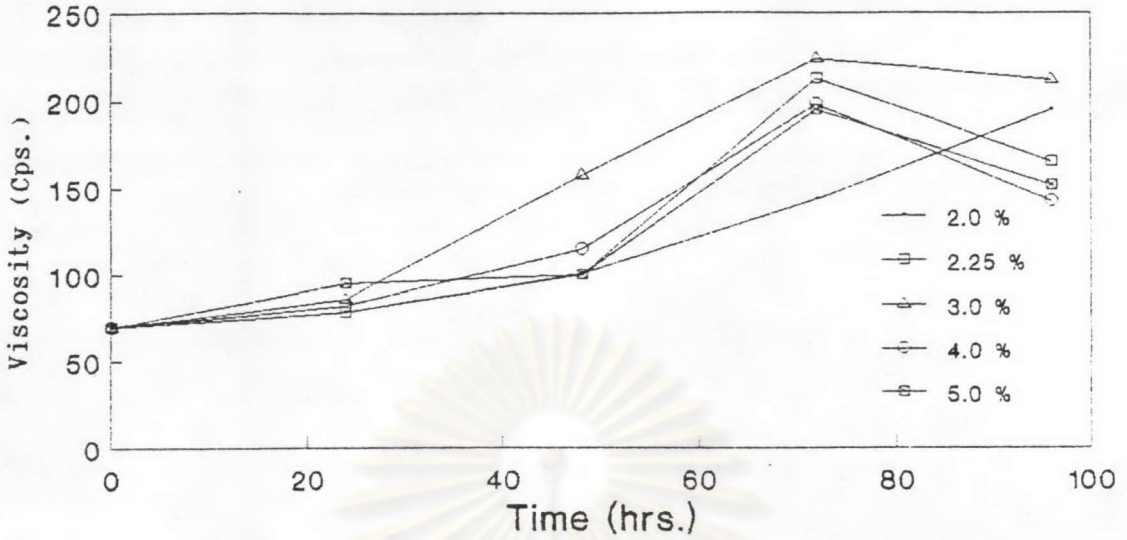
รูปที่ 14ข การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)



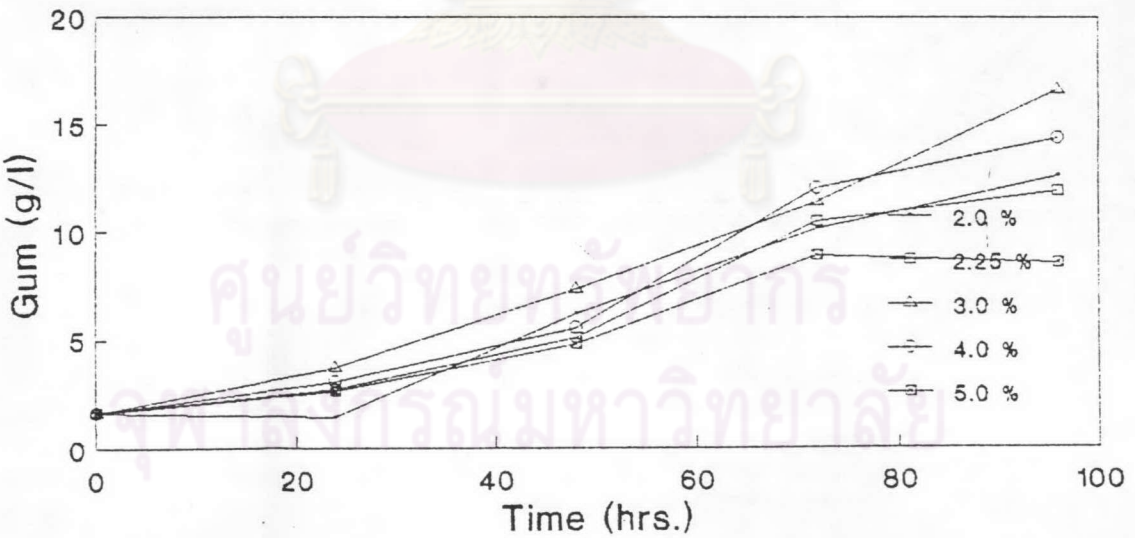
รูปที่ 14ค การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)



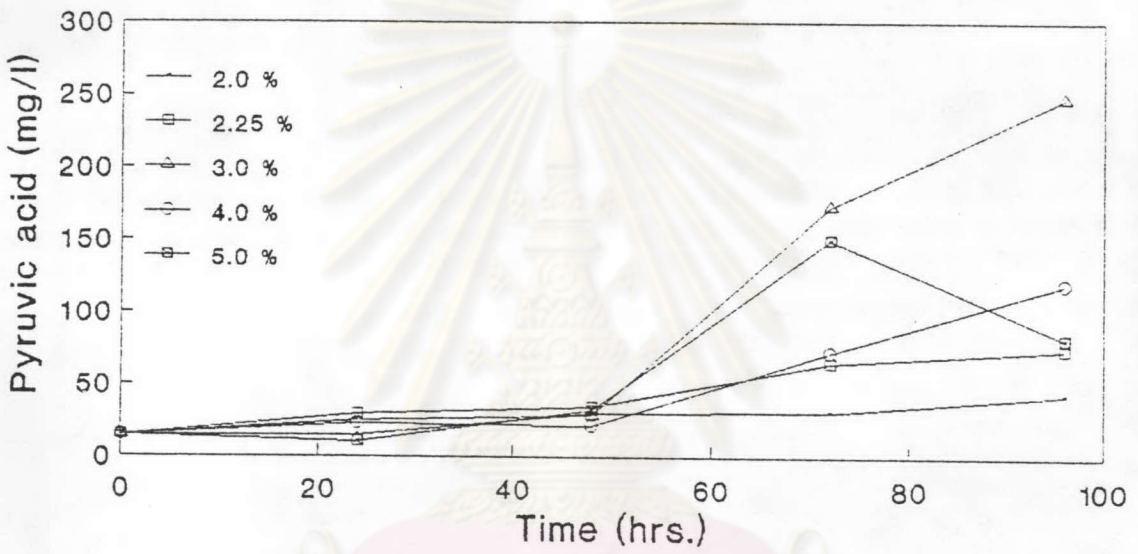
รูปที่ 14ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(กรัมต่อลิตร)ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่ใช้กลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)



รูปที่ 14 จ. แสดงความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)โดยวัดด้วยเครื่องBrookfield viscosimeter



รูปที่ 14ฉ ปริมาณกัม(กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)



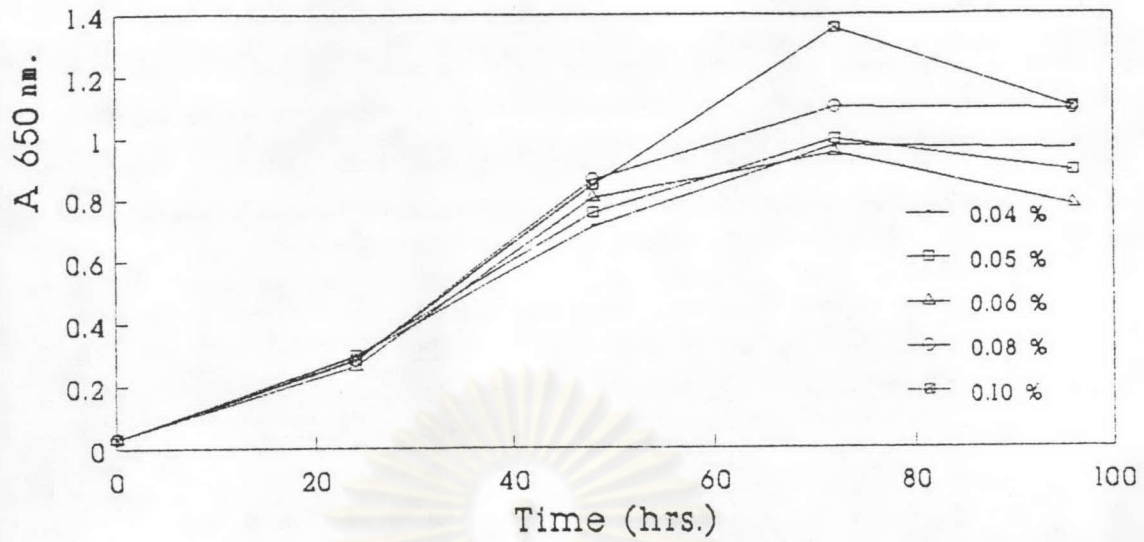
รูปที่ 14ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ที่วิเคราะห์ได้จากกัมที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีกลูโคสปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.6 การศึกษาปริมาณสารอาหารไนโตรเจนในการผลิตแซนแทน กัม

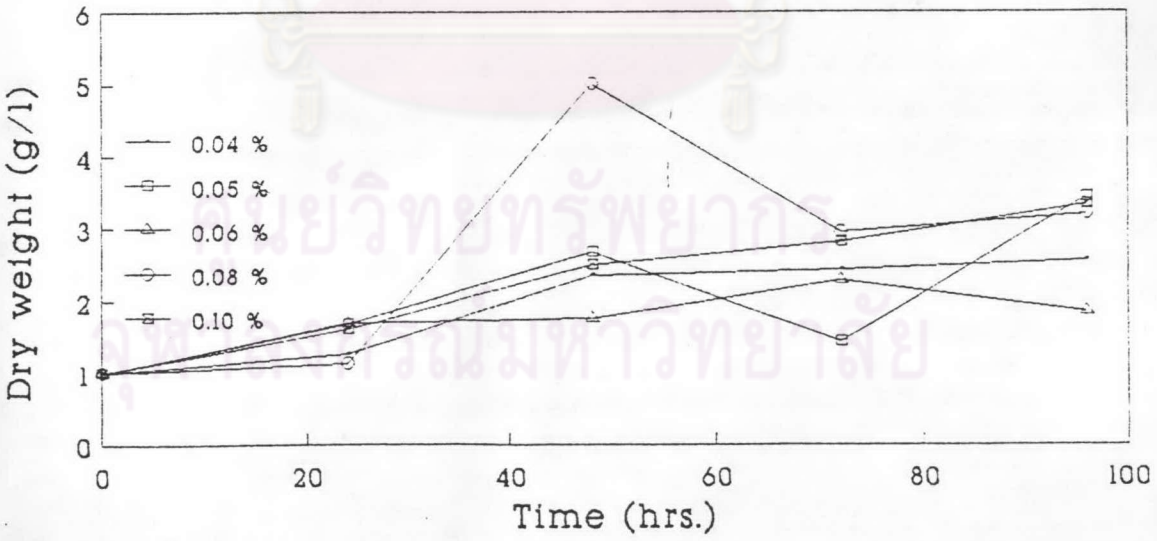
ทำการแปรผันแอมโมเนียมไนเตรต ซึ่งใช้เป็นแหล่งต้นตอไนโตรเจนตั้งแต่ 0.04 ถึง 0.1 เปอร์เซนต์ (ในสูตรอาหารเดิมใช้ 0.06 เปอร์เซนต์) จากรูป 15ก และ 15ข แสดงถึงการเจริญและน้ำหนักเซลล์แห้งของเชื้อ พบว่าที่ 0.08 และ 0.1 เปอร์เซนต์ของแอมโมเนียมไนเตรต จะให้การเจริญใกล้เคียงกัน แต่ที่ 0.1 เปอร์เซนต์แอมโมเนียมไนเตรตชั่วโมงที่ 72 จะให้การเจริญสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับน้ำหนักแห้งของเซลล์ สำหรับการศึกษา pH (รูป 15ค) pH จะลดลงใกล้เคียงกัน แต่ที่ 0.1 เปอร์เซนต์ pH จะลดลงมากที่สุด รูป 15ง แสดงให้เห็นถึงปริมาณกลูโคสที่เหลือซึ่งสอดคล้องกับการเจริญ สำหรับความหนืดที่วัดด้วยเครื่อง Brookfield พบว่าที่ 0.08 เปอร์เซนต์แอมโมเนียมไนเตรตจะมีความหนืดสูงสุดเท่ากับ 130 เซนติพอยซ์ที่ชั่วโมงที่ 72 ให้ปริมาณกัมสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 14 กรัมต่อลิตร (รูป 15 ฉ) ปริมาณไพรูวิกเท่ากับ 100 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูป 15 ช) และให้ปริมาณไพรูวิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 57

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

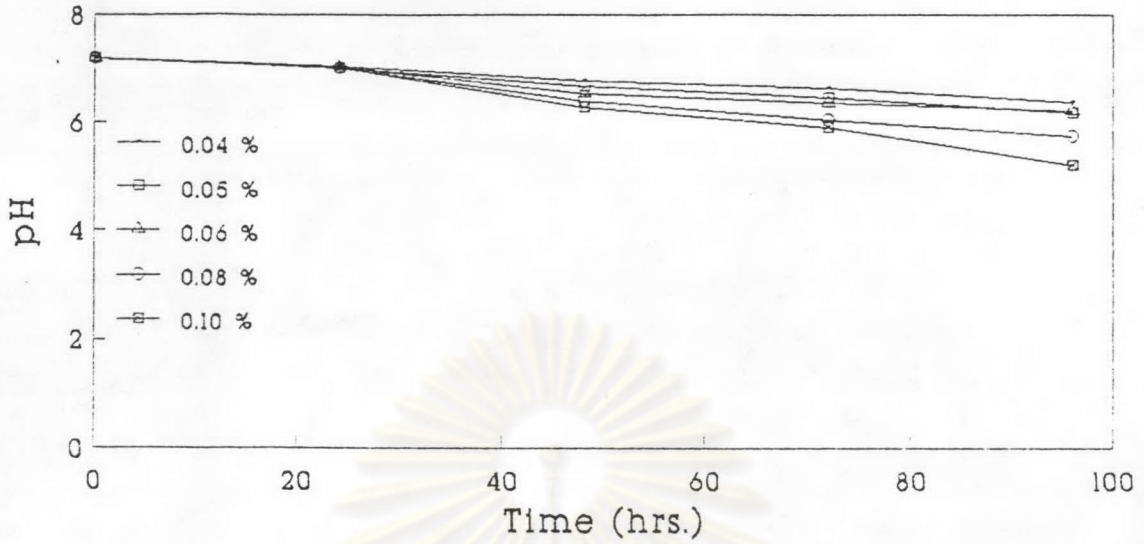


รูปที่ 15ก การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร

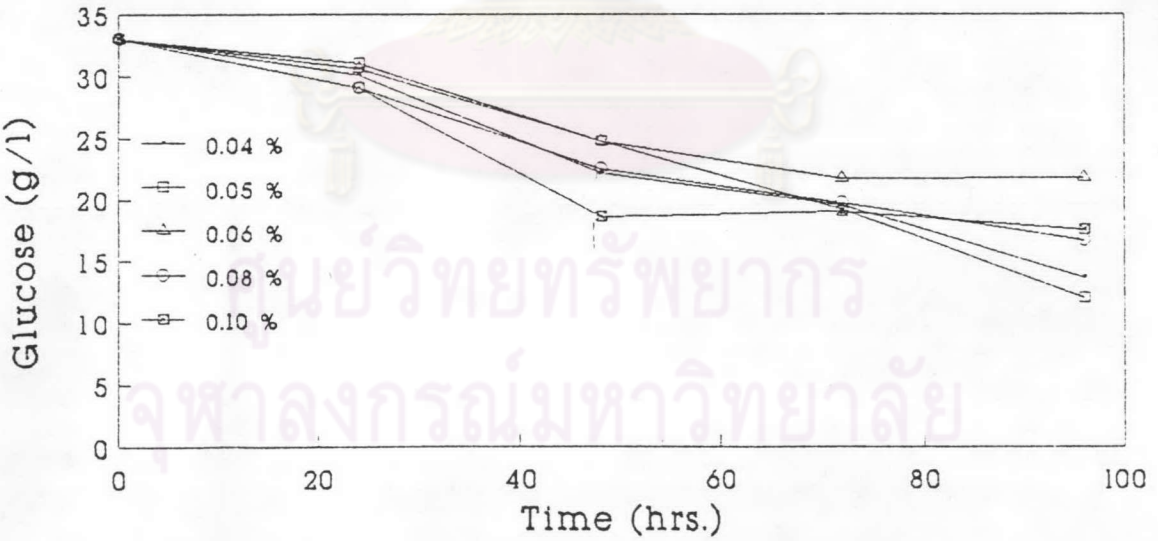
หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 15ข การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)

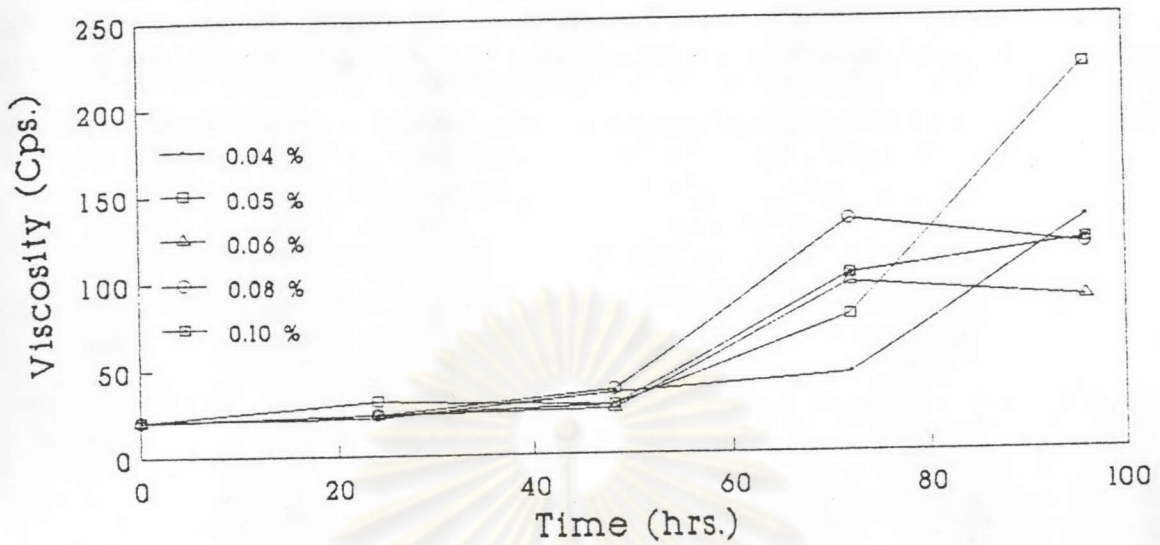


รูปที่ 15ค การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

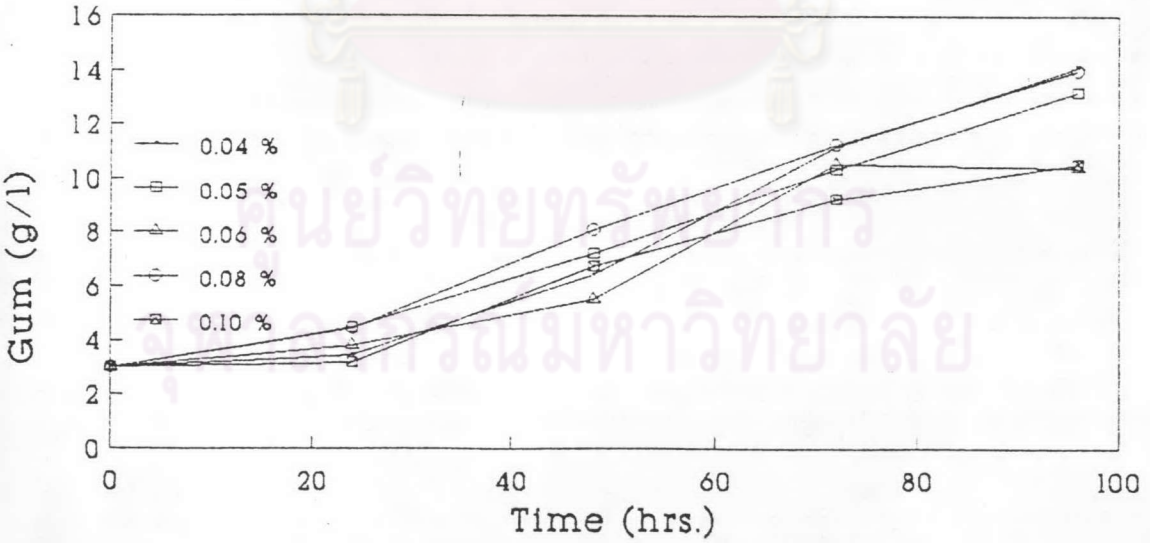


รูปที่ 15ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(กรัมต่อลิตร)ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

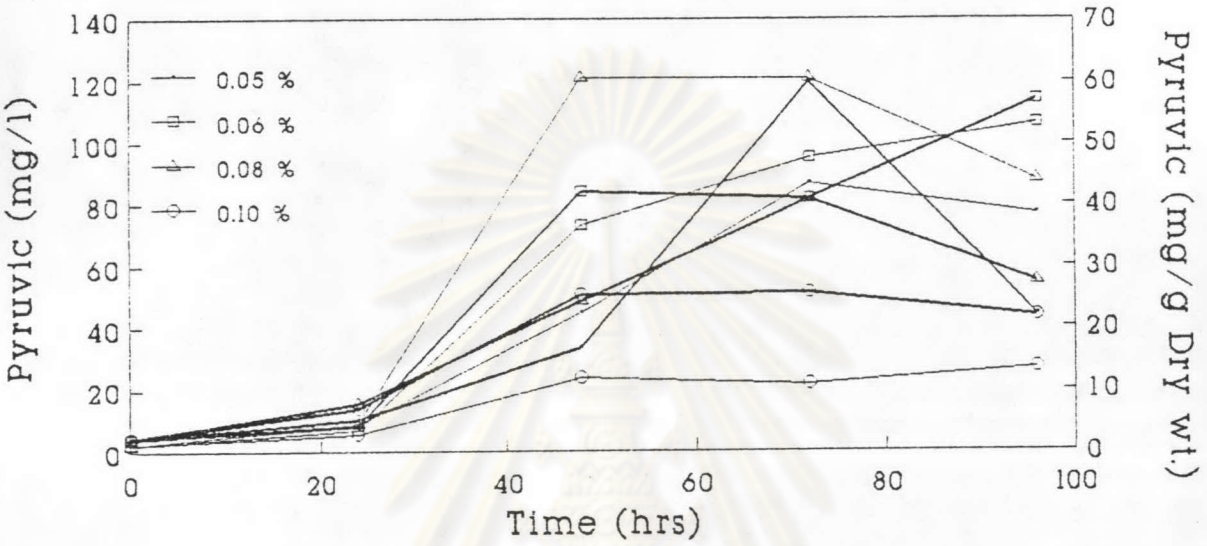
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 15จ. แสดงความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวัดด้วยเครื่อง Brookfield viscosimeter



รูปที่ 15ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแอมโมเนียมไนเตรทปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)



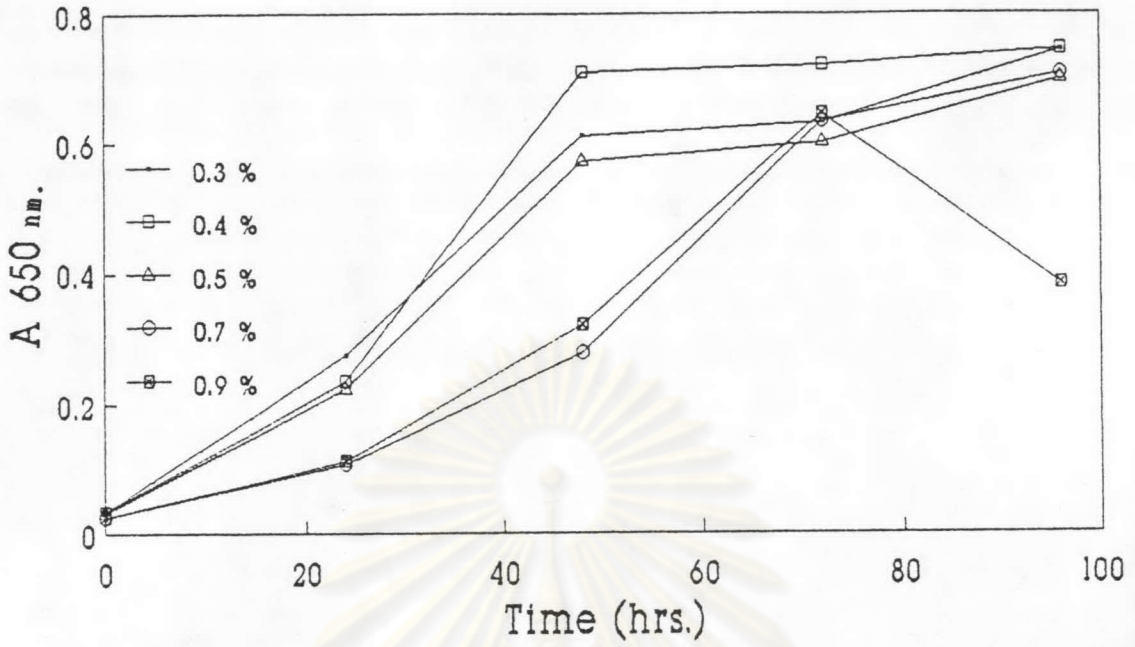
รูปที่ 15ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีแอมโมเนียมไนเตรตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

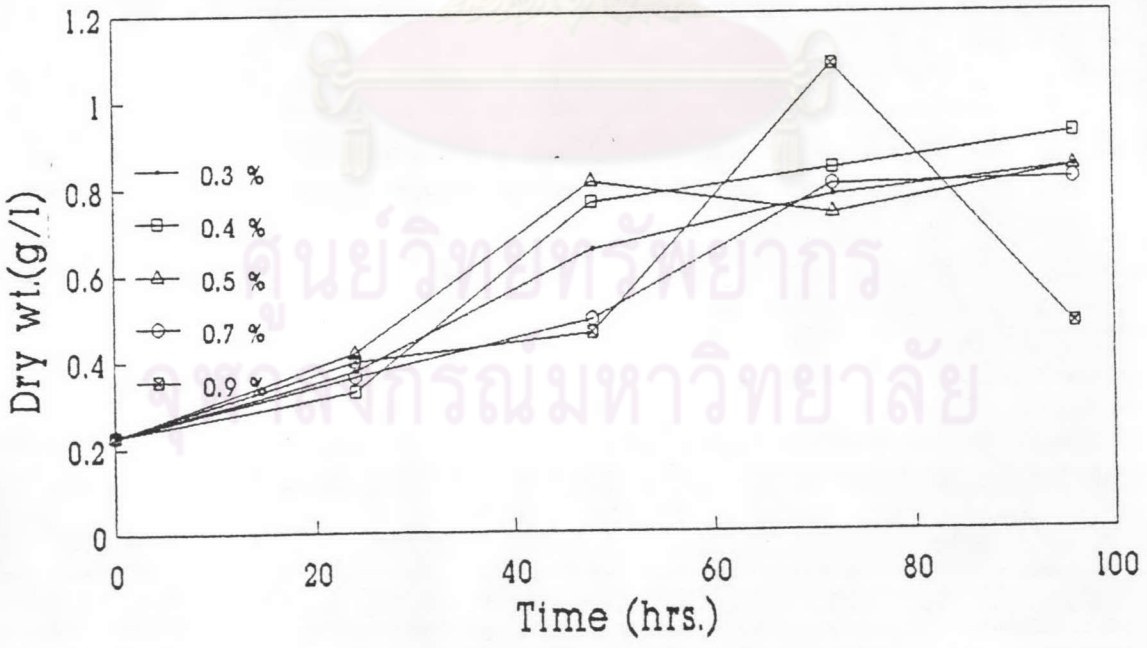
3.7 การศึกษาปริมาณฟอสเฟตที่มีผลต่อการผลิตแซนแทน กัม

ทำการแปรผันปริมาณไดโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต (K_2HPO_4) ตั้งแต่ 0.3 ถึง 0.9 เปอร์เซนต์ (อาหารสูตรสร้างแซนแทนเดิมมีฟอสเฟตเท่ากับ 0.5 เปอร์เซนต์) จากรูป 16ก และ 16ข พบว่าที่ฟอสเฟตปริมาณ 0.4 เปอร์เซนต์จะให้การเจริญและน้ำหนักแห้งของเซลล์สูงสุด pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อจะมีการลดลงใกล้เคียงกัน (รูป 16ค) เมื่อวัดปริมาณกลูโคสที่เหลือ พบว่ามีการลดลงที่ใกล้เคียงกัน (รูป 16ง) ทำการวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield พบว่าฟอสเฟตปริมาณ 0.4 เปอร์เซนต์ จะให้ความหนืดสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96ได้ความหนืดสูงสุดเท่ากับ 50 เซนติพอยซ์ (รูปที่ 16จ) ปริมาณกัมสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 6.7 กรัมต่อลิตร ที่ปริมาณฟอสเฟต 0.7 (รูป 16ฉ) ได้ปริมาณไพรูวิกสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 17 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูป 16ช) และได้ปริมาณไพรูวิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งเท่ากับ 21

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

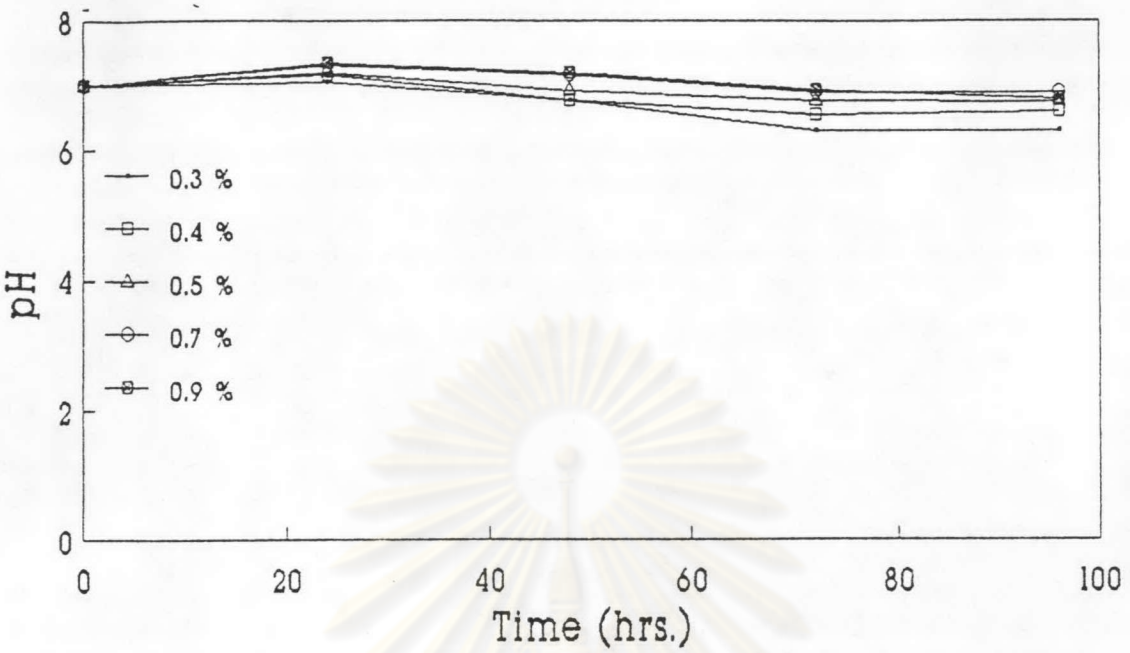


รูปที่ 16ก การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร

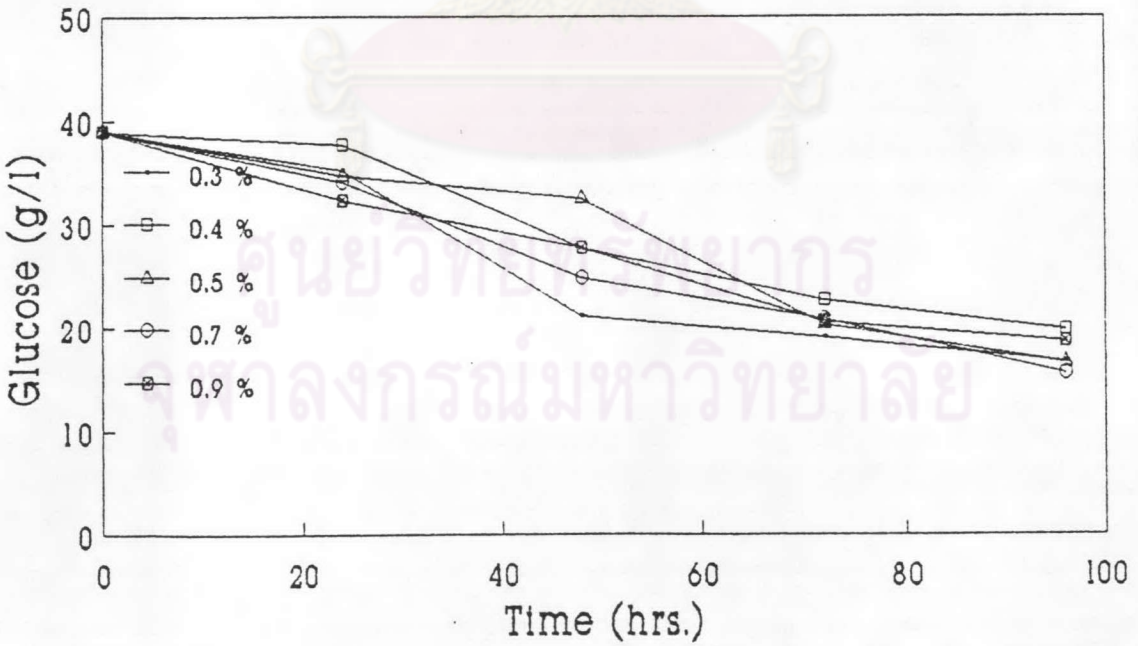


รูปที่ 16ข การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต ปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

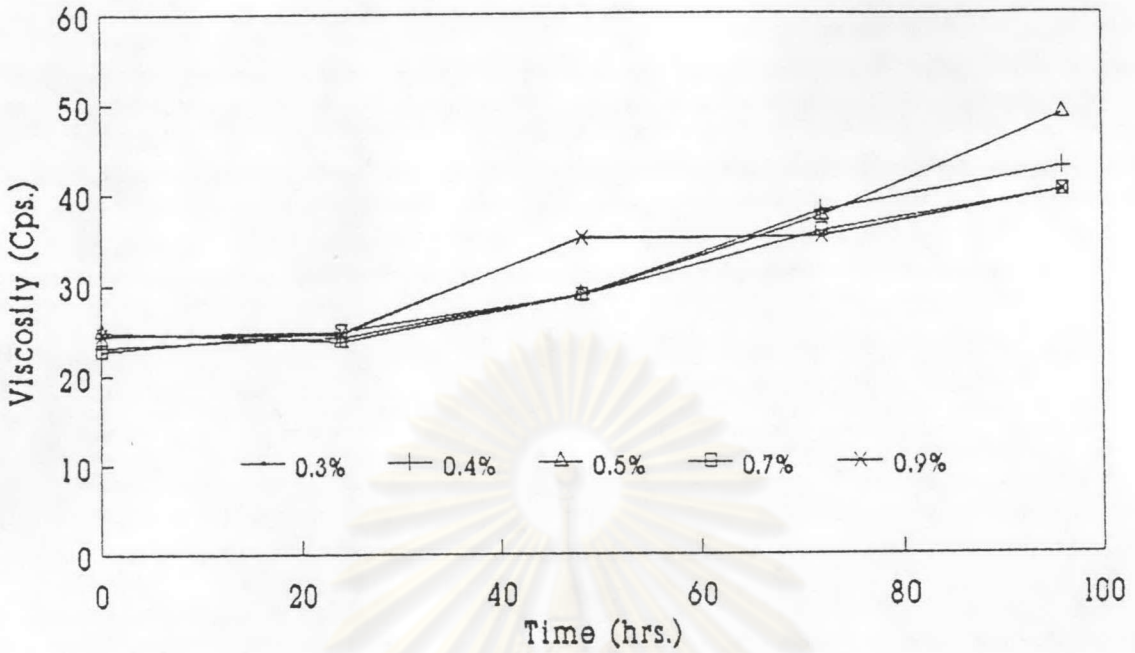


รูปที่ 16ค การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

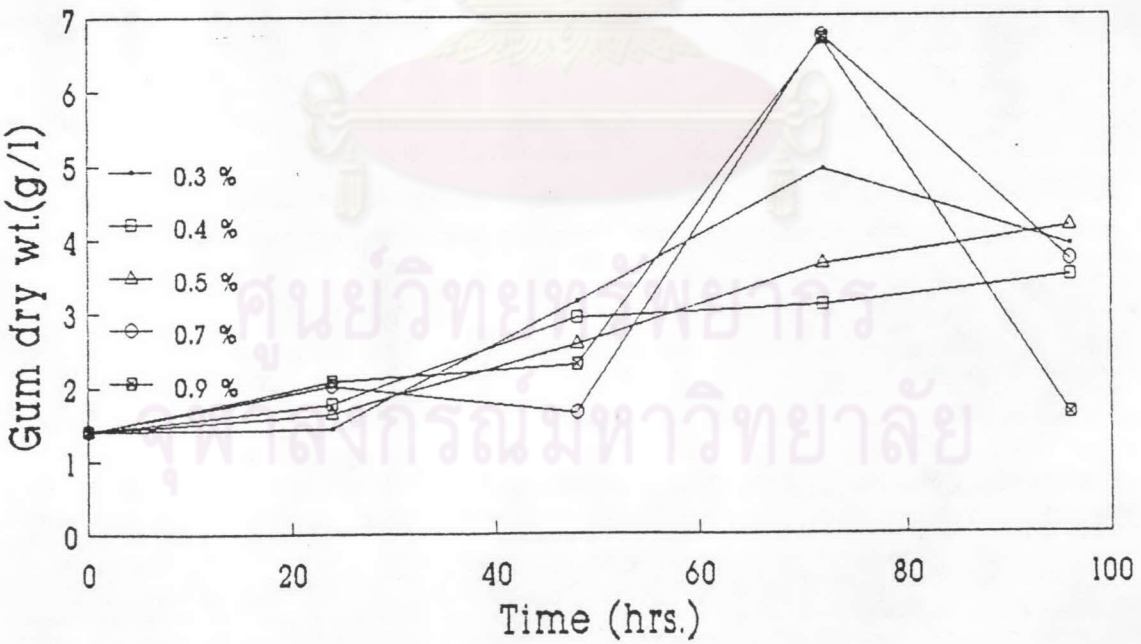


รูปที่ 16ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(กรัมต่อลิตร)ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่ใช้โปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

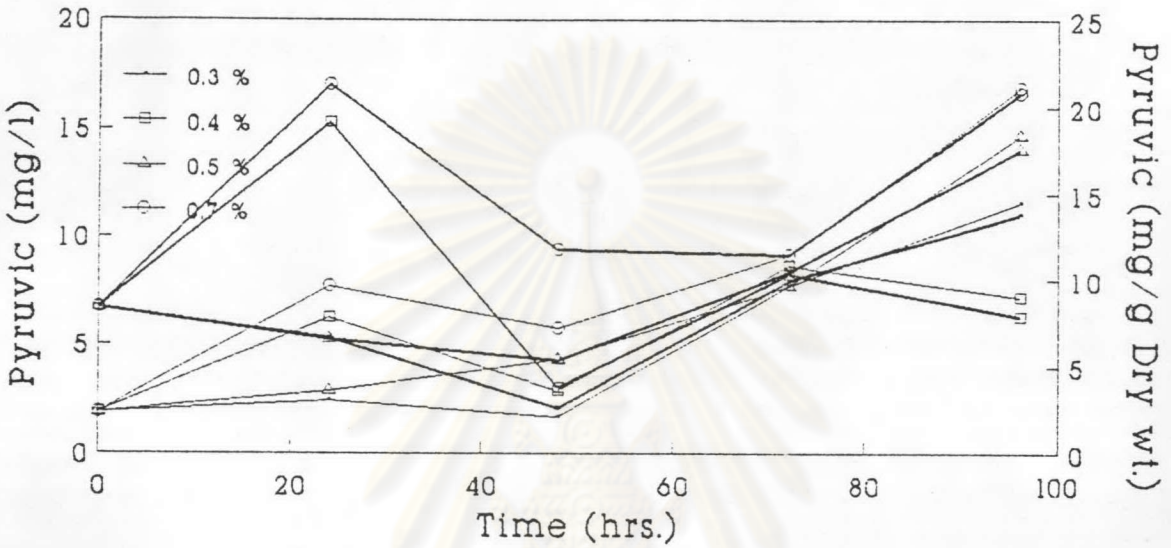
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 16จ แสดงความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวัดด้วยเครื่อง Brookfield viscosimeter



รูปที่ 16ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)



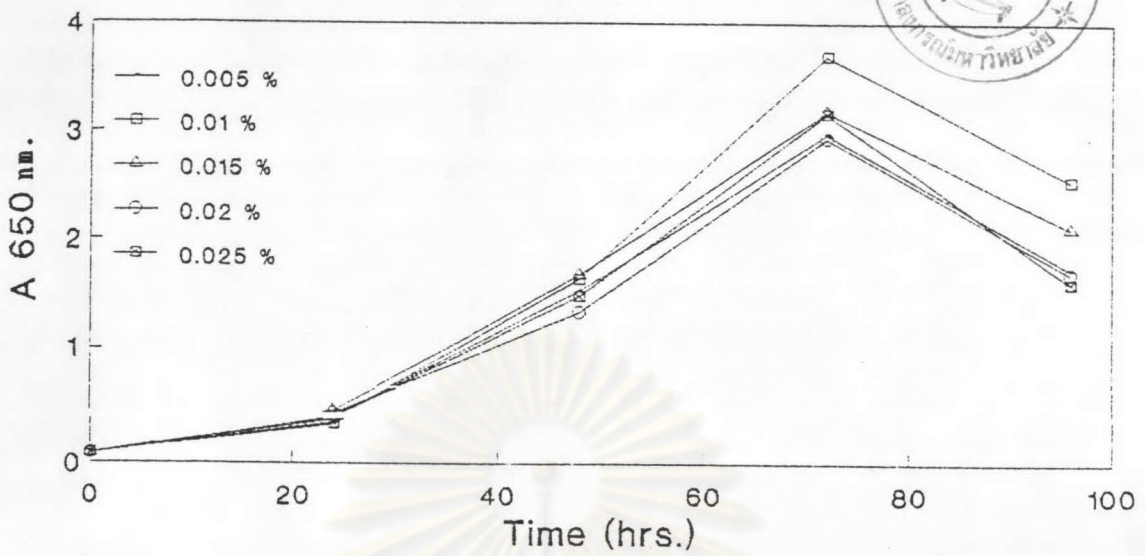
รูปที่ 16ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีโปแตสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟตปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

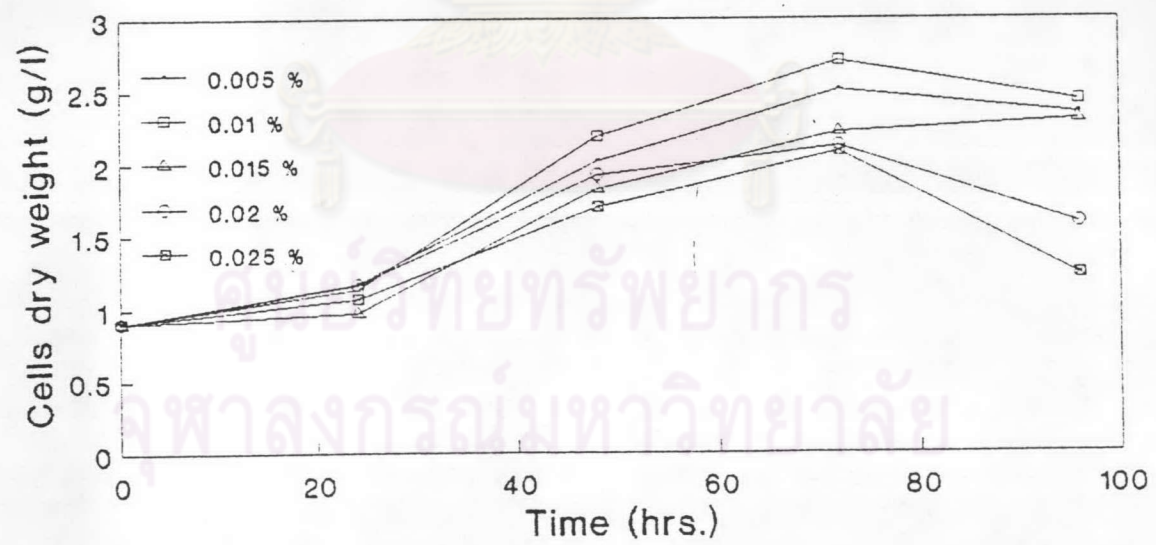
3.8 การศึกษาปริมาณแมกนีเซียมที่มีผลต่อการผลิตแซนแทน กัม

ได้ทำการแปรผันปริมาณแมกนีเซียมที่ใช้ตั้งแต่ 0.05 ถึง 0.025 เปอร์เซนต์ (ในสูตรอาหารสร้างแซนแทนเดิมใช้ 0.01 เปอร์เซนต์) รูปที่ 17ก และ 17ข แสดงให้เห็นการเจริญและน้ำหนักเซลล์แห้งสูงสุดที่ปริมาณแมกนีเซียมเท่ากับ 0.01 เปอร์เซนต์ มีการลดลงของ pH ตลอดการทดลองใกล้เคียงกัน (รูป 17ค) เมื่อวัดความหนืดด้วยเครื่อง Brookfield พบว่าแมกนีเซียมที่ปริมาณ 0.01 เปอร์เซนต์ จะให้ความหนืดสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 96 มีค่า 250 เซนติพอยซ์ ให้ปริมาณกัม 13 กรัมต่อลิตร (รูป 17ฉ) มีปริมาณไพรูวิก 350 มิลลิกรัมต่อลิตร (รูป 17ช) และมีค่าไพรูวิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งสูงสุดเท่ากับ 150 ที่ปริมาณแมกนีเซียม 0.02 เปอร์เซนต์

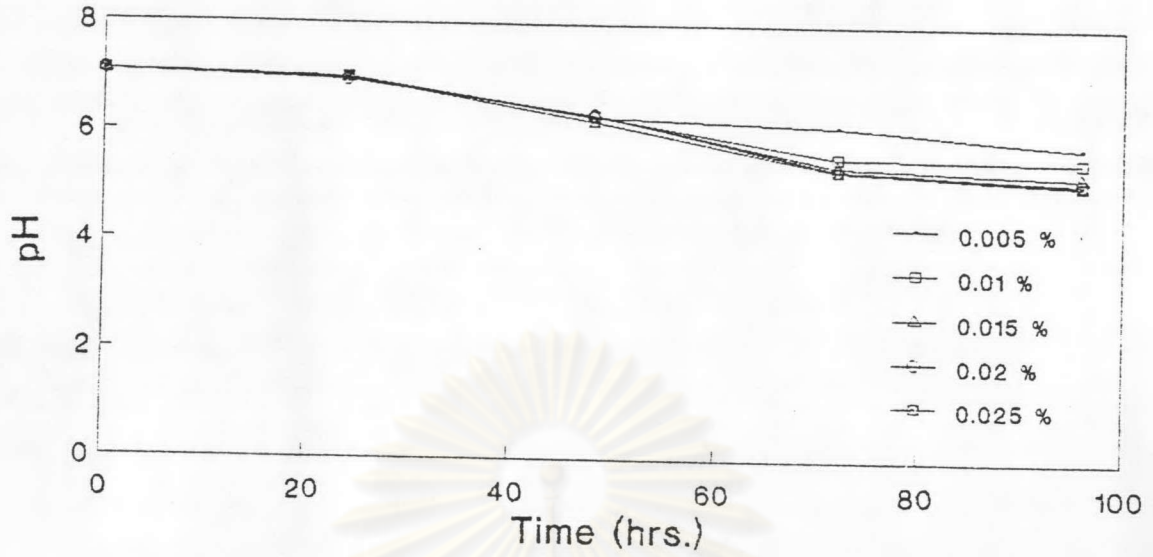
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



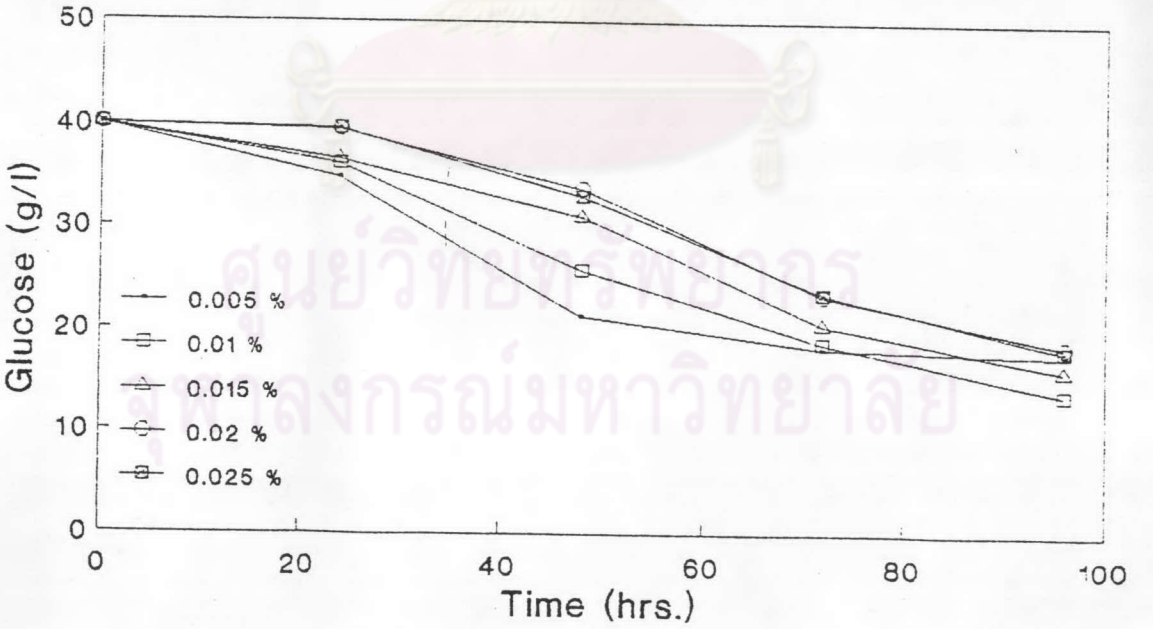
รูปที่ 17ก การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ที่การดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร



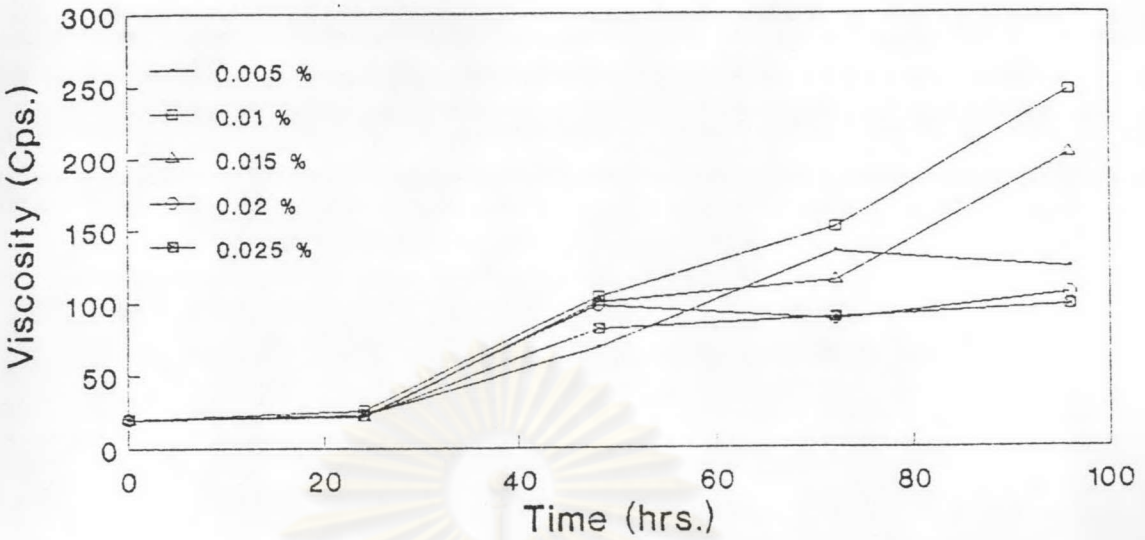
รูปที่ 17ข การเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยการหาน้ำหนักแห้งของเซลล์ (กรัมต่อลิตร)



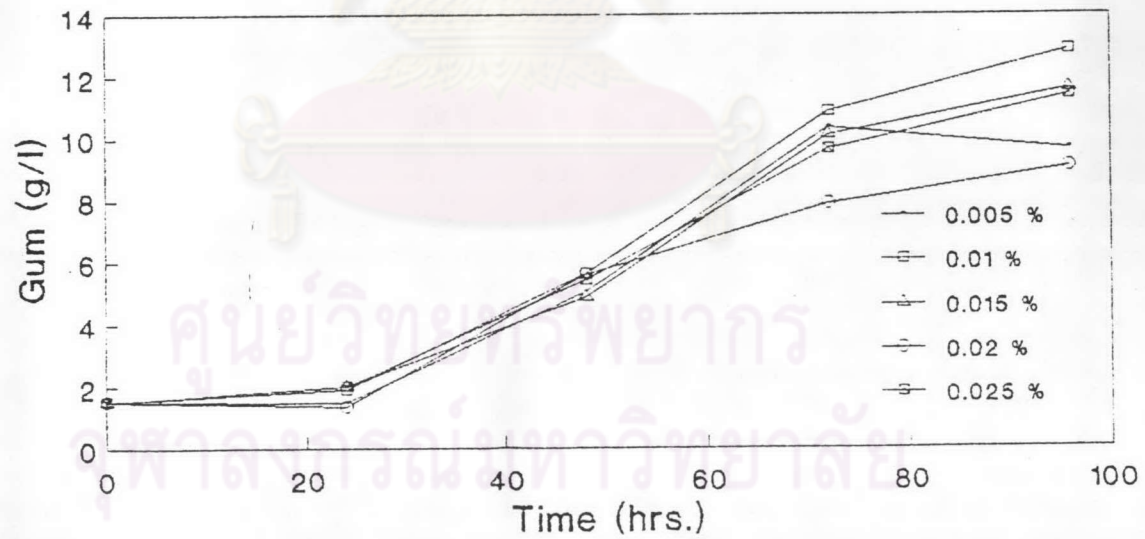
รูปที่ 17ค การเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)



รูปที่ 17ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส(กรัมต่อลิตร)ที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่ใช้แมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

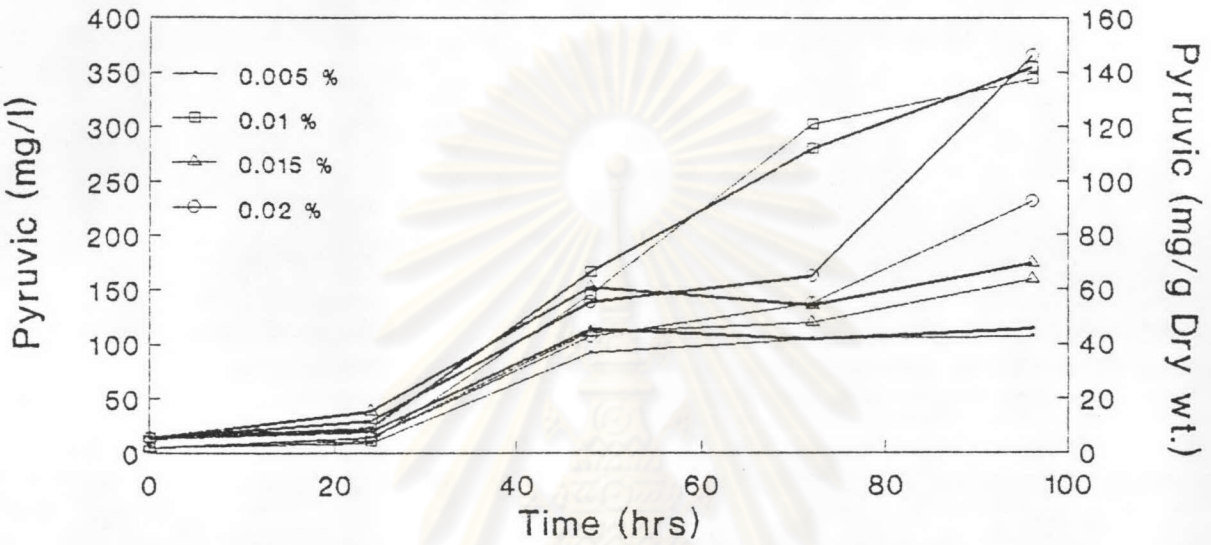


รูปที่ 17 จ แสดงความหนืด (เซนติพอยซ์) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์) โดยวัดด้วยเครื่อง Brookfield viscosimeter



รูปที่ 17ฉ ปริมาณกัม (กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในอาหารที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 17ช ปริมาณกรดไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* ที่มีแมกนีเซียมปริมาณต่างๆ (เปอร์เซนต์)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

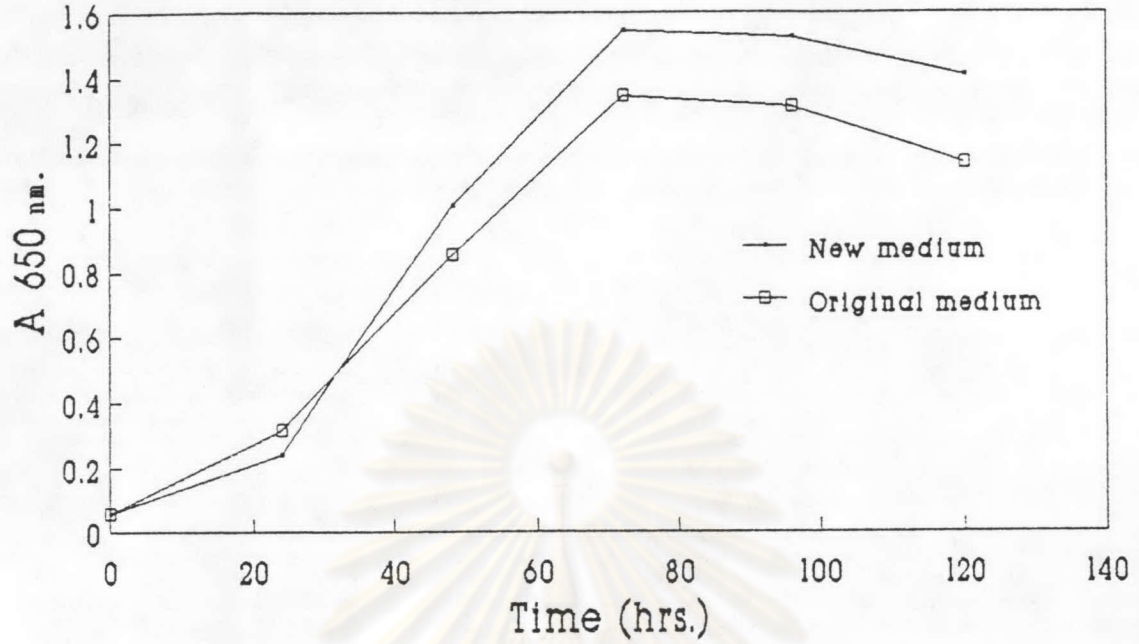
3.9 เปรียบเทียบการผลิตแซนแทนในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรดั้งเดิม

จากผลการทดลองที่ได้ศึกษาผ่านมาข้างต้นสามารถสรุปได้ว่า อาหารสูตรที่เหมาะต่อการเพาะเลี้ยง *X. campestris* (สายพันธุ์นี้คัดเลือกได้จากสถาบัน NRRL) ให้ผลิตแซนแทนกัมระดับสูงคือสูตรปรับปรุงใหม่ซึ่งประกอบด้วย กลูโคส 3 %, แอมโมเนียมไนเตรต 0.08 %, ไดโปตัสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.4 % และแมกนีเซียม 0.01 % จึงนำมาเพาะเลี้ยงเปรียบเทียบกับอาหารสูตรเริ่มต้นในสภาวะการทดลองเดียวกัน แล้วศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติการเจริญการผลิตกัม ทั้งในแง่ปริมาณและคุณภาพ ผลการทดลองพบว่า การเจริญของเชื้อ *X. campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่จะดีกว่าอาหารสูตรเดิมอย่างเห็นได้ชัด เริ่มต้นตั้งแต่วันที่ 2 ของการหมัก (72 ชั่วโมง) และเจริญสูงสุดได้สูงกว่าโดยวัดค่าความขุ่นของเซลล์ที่ค่าการดูดกลืนแสง 650 นาโนเมตร ได้ประมาณ 1.55 น้ำหนักเซลล์แห้งประมาณ 2.1 กรัมต่อลิตรในชั่วโมงที่ 72 ของอาหารสูตรปรับปรุงใหม่ ในขณะที่ค่าการเจริญคิดจากค่าความขุ่นมีค่าประมาณ 1.4 และน้ำหนักแห้งเพียง 1.5 กรัมต่อลิตร ของอาหารสูตรเดิม (รูปที่ 18ก และ 18ข)

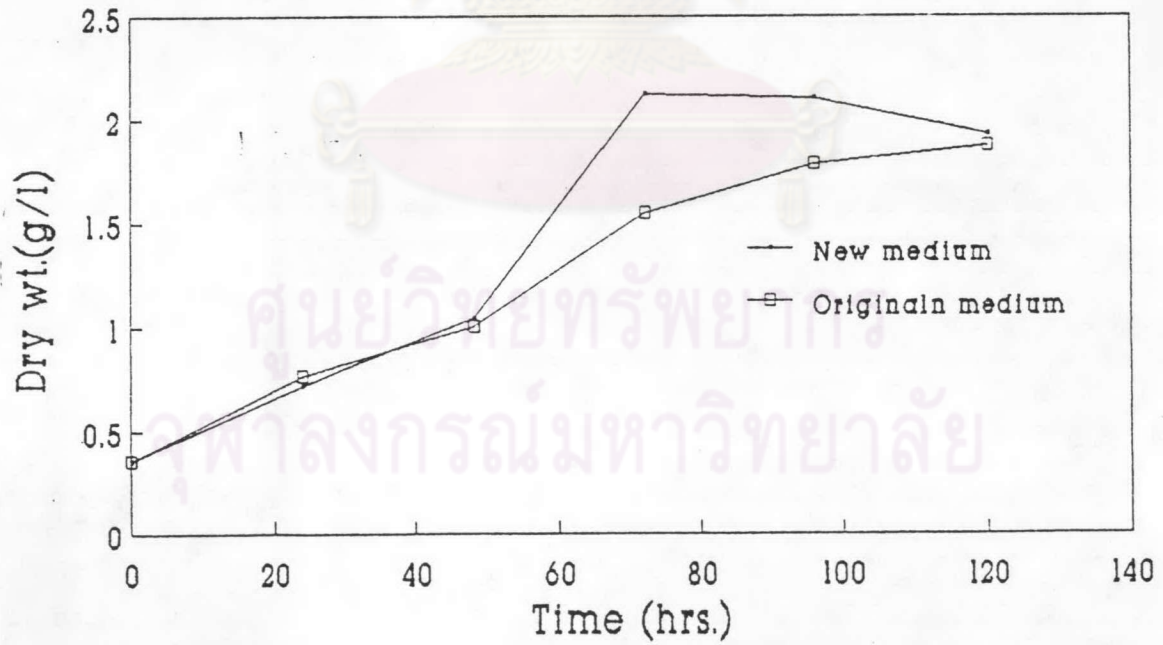
เมื่อวิเคราะห์ค่าการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเพาะเลี้ยงก็จะพบว่าค่า pH ของอาหารสูตรปรับปรุงลดลงตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของการเลี้ยง และจะลดลงต่ำถึงประมาณ 5.7 ที่ชั่วโมง 96 ในขณะที่อาหารสูตรดั้งเดิม ค่า pH เปลี่ยนแปลงน้อยมาก pH ลดลงเหลือประมาณ 6.5-6.8 เท่านั้น (รูปที่ 18ค) เมื่อสิ้นสุดการทดลองที่ ชั่วโมง 120

ผลการวัดปริมาณกลูโคสที่ถูกใช้ไปโดยวัดปริมาณกลูโคสที่เหลือในอาหารเลี้ยงเชื้อ ก็เป็นการยืนยันว่า อาหารสูตรปรับปรุงใหม่ให้อัตราการเจริญสูงที่กว่าสูตรดั้งเดิม โดยพบว่าปริมาณกลูโคสที่ถูกใช้ไปสูงกว่าในทุกช่วงของการเจริญของเชื้อ *X. campestris* และการใช้กลูโคสก็เป็นสัดส่วนกับค่าการเจริญอีกด้วย โดยกลูโคสในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่จะถูกใช้ไปเหลือประมาณ 5 % หรือต่ำกว่าในชั่วโมงที่ 96 และต่ำลงอีกในชั่วโมงที่ 120 ในขณะที่อาหารสูตรดั้งเดิมจะยังมีกลูโคสเหลือถึง 10 % ในชั่วโมงที่ 96 และลดลงเหลือประมาณ 8 % ที่ ชั่วโมง ที่ 120 (รูปที่ 18ง)

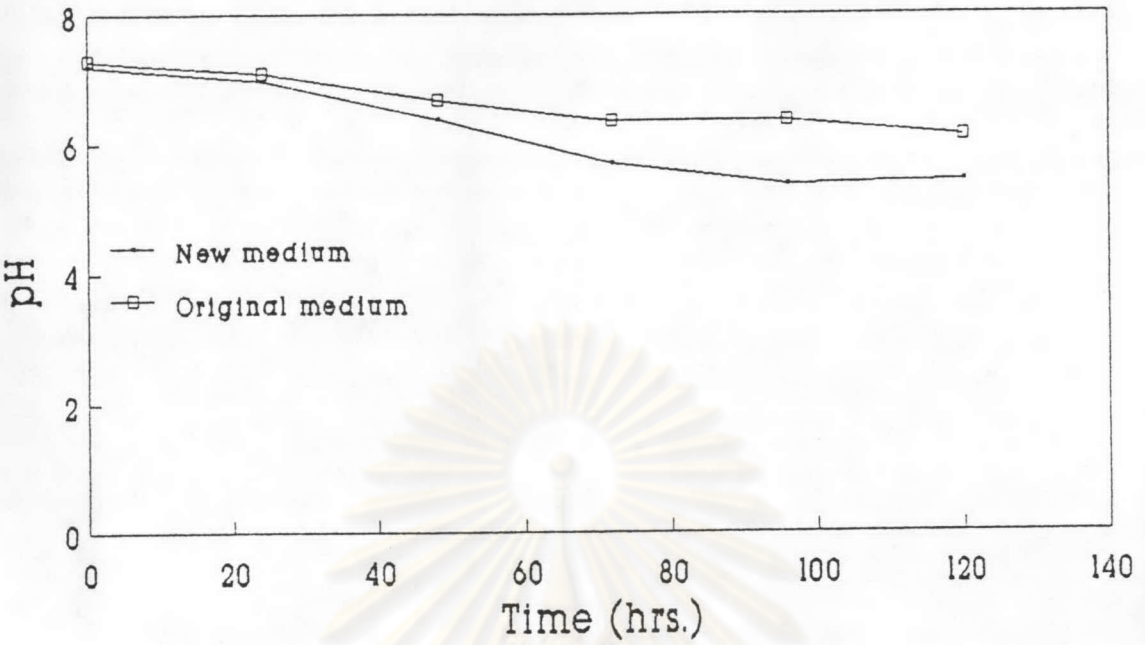
เมื่อศึกษาถึงความหนืดและปริมาณกัม (รูปที่ 18จ, 18ฉ) พบว่า อาหารสูตรปรับปรุงใหม่ให้ความหนืดและปริมาณกัมสูงกว่า และสอดคล้องกับการเจริญของเซลล์ โดยให้ความหนืดสูงสุดที่ชั่วโมง 96 มีค่าประมาณ 130 เซนติพอยต์ ขณะที่อาหารสูตรเดิมให้ความหนืดประมาณ 90 เซนติพอยต์ที่ชั่วโมงเดียวกัน และ 105 เซนติพอยต์ที่ชั่วโมง120 สำหรับปริมาณกัมมีค่า 13 กรัม



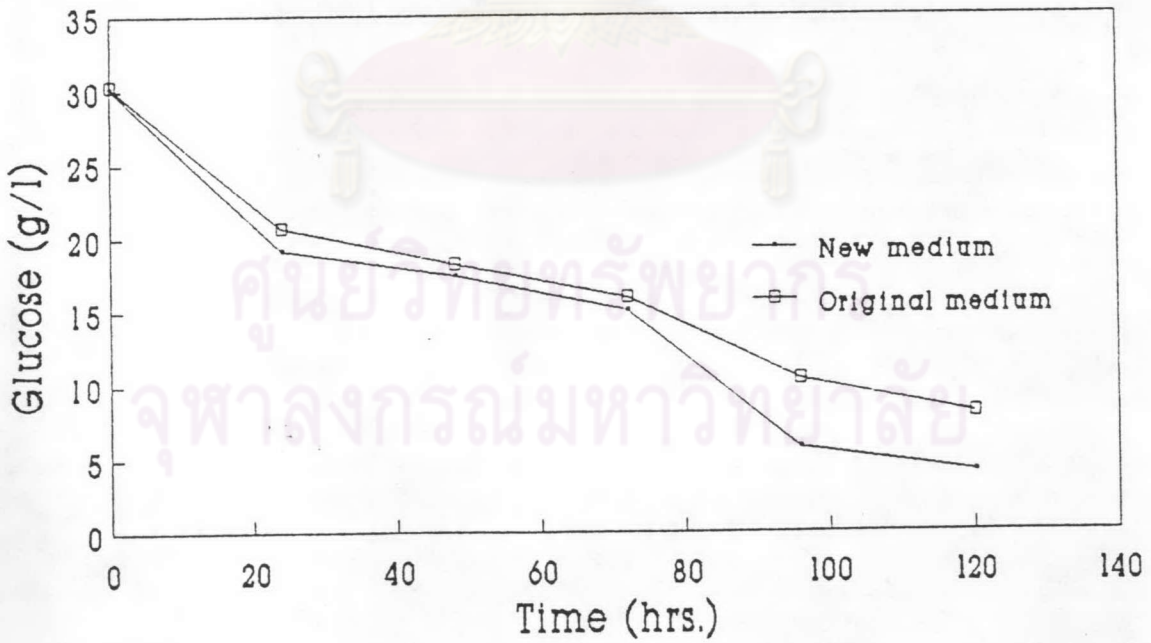
รูปที่ 18 ก. เปรียบเทียบการเจริญของเซลล์ *X.campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่และอาหารสูตรเดิมโดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากันในช่วงเวลา 120 ชั่วโมง โดยการวัดความขุ่นของเซลล์ ที่ 650 nm.



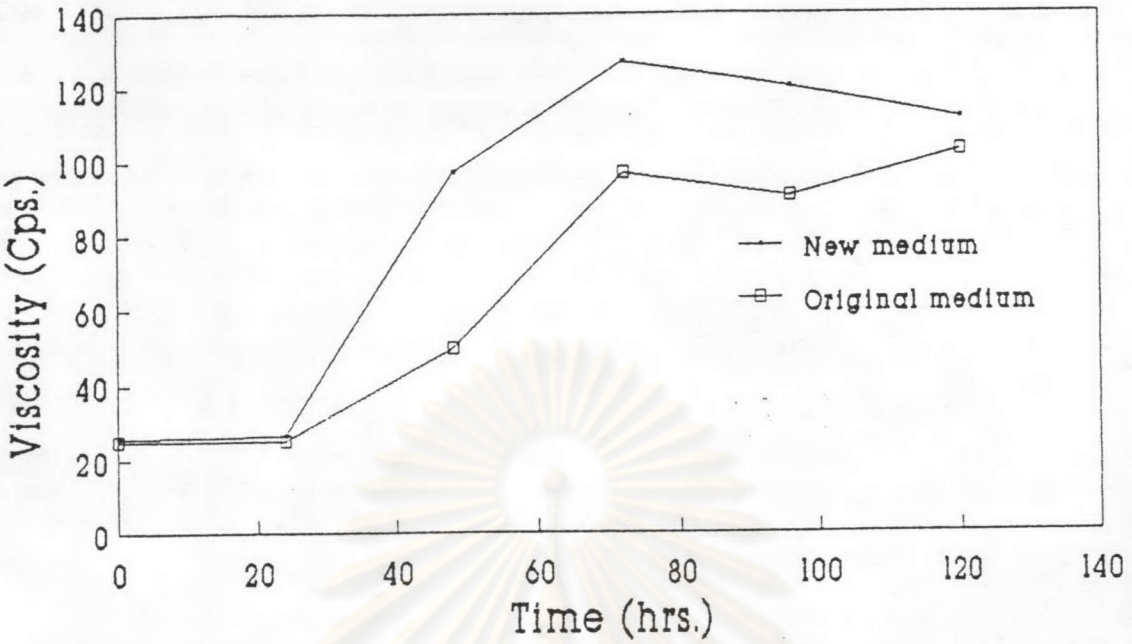
รูปที่ 18 ข. เปรียบเทียบการเจริญโดยวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร) ของ *X.campestris* ในอาหารเพาะเลี้ยงสูตรใหม่กับอาหารสูตรเดิมเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



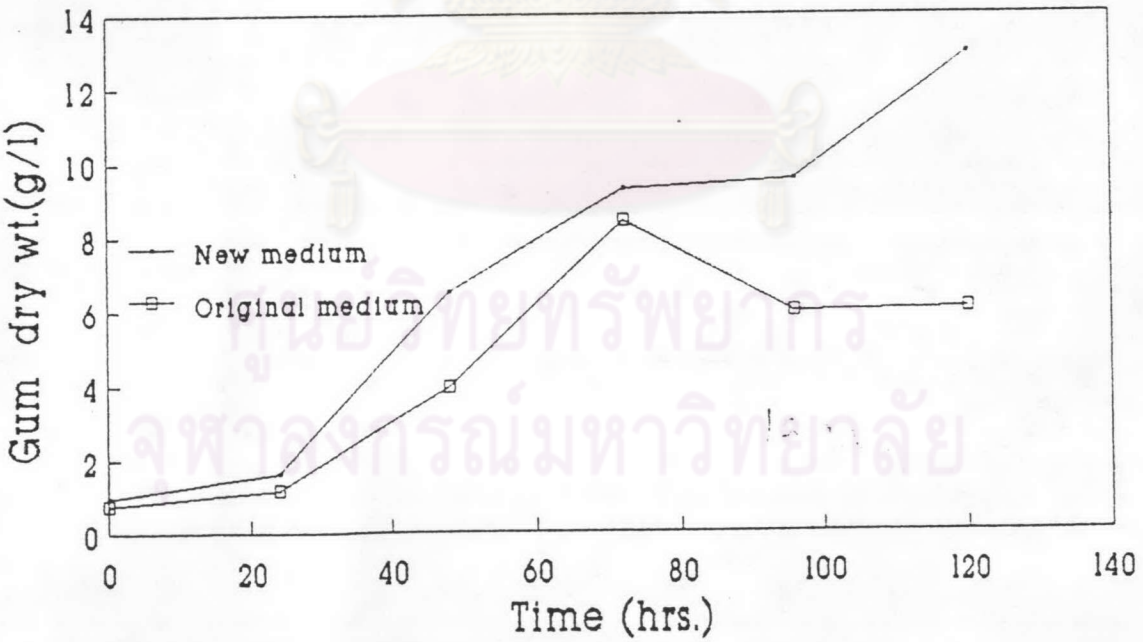
รูปที่ 18 ค. เปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลง pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อ *X.campestris* ในอาหารสูตรปรับปรุงใหม่กับอาหารสูตรดั้งเดิม โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน เป็นเวลานาน 120 ชั่วโมง



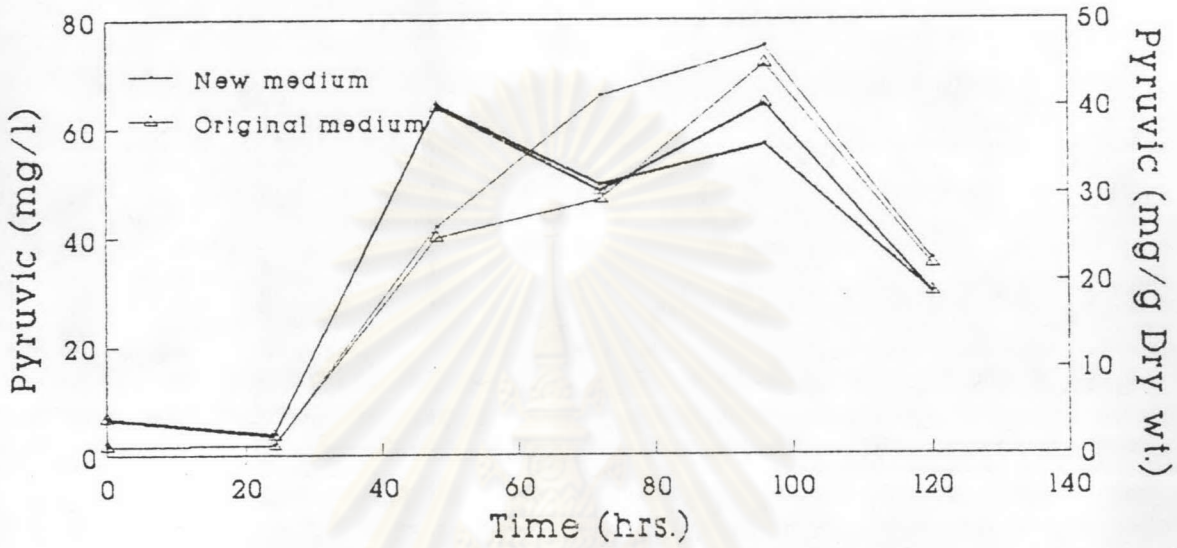
รูปที่ 18 ง. เปรียบเทียบปริมาณกลูโคส(กรัมต่อลิตร)ของ *X.campestris* ในอาหารสูตรใหม่กับอาหารสูตรเดิม โดยจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากันเป็นเวลานาน 120 ชั่วโมง



รูปที่ 18 จ. เปรียบเทียบความหนืด(เซนติพอยส์)ของ *X.campestris* ในอาหารสูตรใหม่กับอาหารสูตรเดิม โดยการวัดด้วยเครื่อง Brookfield Viscosimeter ในช่วงเวลา 120 ชั่วโมง โดยมีจำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากัน

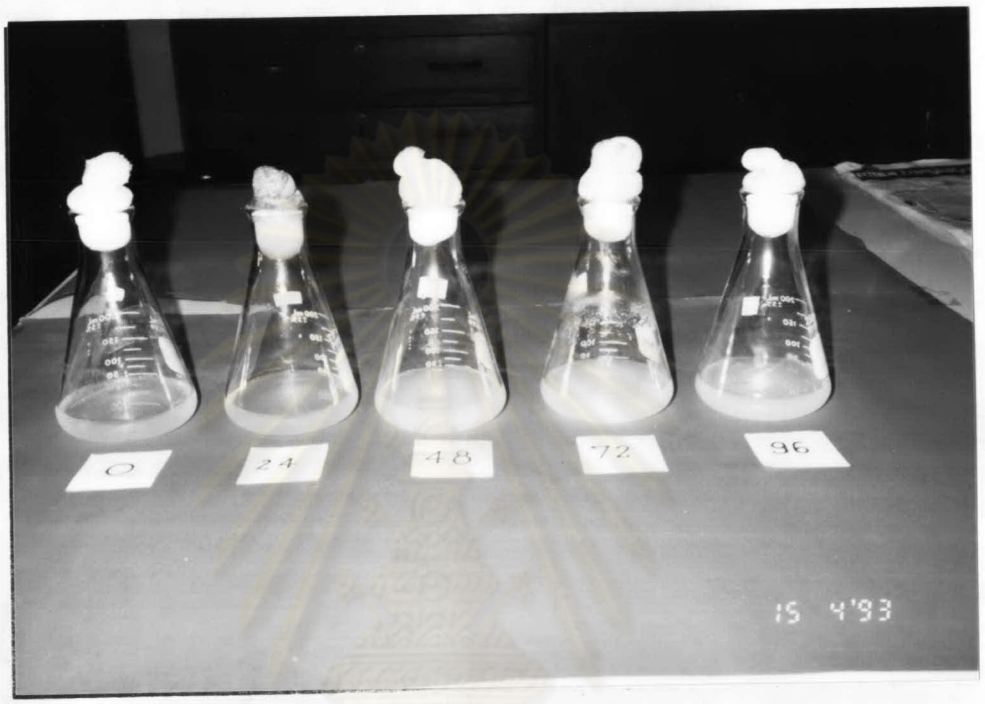


รูปที่ 18 ฉ. เปรียบเทียบปริมาณกัม(กรัมต่อลิตร)ที่แยกได้จากอาหารเลี้ยงเชื้อ *X.campestris* ในอาหารสูตรใหม่กับอาหารสูตรเดิม ในช่วงเวลา 120 ชั่วโมง



รูปที่ 18 ช. ปริมาณไพรูวิก (มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *X.campestris* ในอาหารสูตรใหม่กับอาหารสูตรเดิม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 19 แสดงการเปลี่ยนแปลงลักษณะภายนอกของอาหารที่เลี้ยง *X. campestris* ใน Psycrotherm ที่ชั่วโมงต่างๆ เมื่อเพาะเลี้ยงในสภาวะเมื่อเพาะเลี้ยงในอาหารทั้งระบบด้วย 3 เปอร์เซนต์ของกลูโคส, 0.08 เปอร์เซนต์แอมโมเนียมไนเตรต 0.4 เปอร์เซนต์ของไดโปแทสเซียมไฮโดรเจนฟอสเฟต และ 0.01 เปอร์เซนต์ของแมกเนเซียมซัลเฟต ด้วยอัตราการเขย่า 250 รอบต่อนาทีที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากรูปจะเห็นได้ว่าอาหารเริ่มมีสีเหลืองและมีความหนืดเพิ่มขึ้นตามลำดับของเวลา

ต่อลิตรที่ชั่วโมง 120 และ 8.5 กรัมต่อลิตรที่ชั่วโมง 96 ตามลำดับ เป็นที่น่าสังเกตว่าอาหารสูตรปรับปรุงใหม่จะให้ค่าความหนืดสูงสุดในระยะเวลาเพียง 72 ชั่วโมง ในขณะที่ค่าน้ำหนักแห้งของกัมที่แยกได้จะสูงขึ้นไปอีกจนถึงชั่วโมงที่ 120 จะให้ค่าสูงกว่าที่ได้จากการเลี้ยงบนอาหารสูตรดั้งเดิมเกือบ 50 เปอร์เซนต์

ปริมาณกรดไพรูวิก (รูป 18ช) จะมีค่าใกล้เคียงกันในชั่วโมงที่ 96 ประมาณ 76 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสูตรใหม่ และ 72 มิลลิกรัมต่อลิตรในอาหารสูตรดั้งเดิม และที่ชั่วโมงที่ 96 ยังให้ปริมาณไพรูวิกต่อกรัมน้ำหนักแห้งสูงสุดด้วย (รูป 18ช)

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

หอสมุดกลาง สถาบันวิทยบริการ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

3.10 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมของการตกตะกอนกัม

3.10.1 การศึกษาชนิดและปริมาณของเกลือ

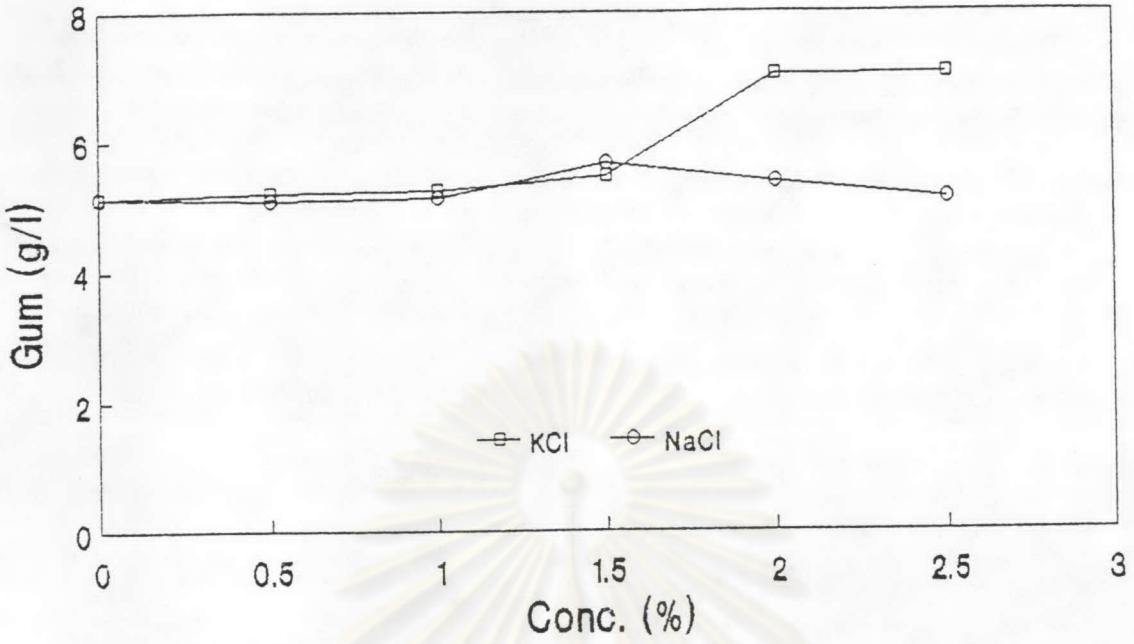
การทดลองต้องการศึกษาถึงชนิดของเกลือที่ควรเลือกใช้ในการตกตะกอนกัม ในอาหารเลี้ยงเชื้อ *X. campestris* โดยได้เปรียบเทียบอิทธิพลของเกลือโปตัสเซียมคลอไรด์ (KCl) และ โซเดียมคลอไรด์ (NaCl) ที่ความเข้มข้น (%) เท่ากัน (รูปที่ 20) พบว่าที่ความเข้มข้น 0 ถึง 1.5 % ของ NaCl และ KCl ไม่มีผลต่อการเพิ่มปริมาณกัมที่ตกตะกอนได้ (5.2 กรัมต่อลิตร) แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของ KCl, NaCl มากกว่า 0.15 % พบว่า KCl ที่ความเข้มข้นเท่ากันสามารถช่วยให้ปริมาณกัมที่ตกลงมาได้สูงมากกว่าเมื่อใช้ NaCl ที่ความเข้มข้นเดียวกัน (ประมาณ 7 กรัมต่อลิตร) ขณะที่ปริมาณตะกอนกัมของอาหารที่เติม NaCl ไม่เปลี่ยนแปลงและดูเหมือนว่าจะลดลงเหลือประมาณ 5 กรัมต่อลิตร (ที่ความเข้มข้น 2 และ 2.5 %) จากการทดลองนี้จึงเลือกเกลือ KCl ในการตกตะกอน

เมื่อทำการแปรผันความเข้มข้น (%)ของ KCl โดยเพิ่มความเข้มข้นของเกลือให้มากขึ้นแล้วติดตามปริมาณกัมที่ถูกตกตะกอนลงมา (รูปที่ 21) พบว่าสามารถเพิ่มปริมาณของตะกอนกัมได้เมื่อเทียบกับไม่ได้เติมเกลือ KCl เลย (กัม 3.455 กรัมต่อลิตร) เช่นเมื่อเพิ่ม KClในอาหารเป็น 5 % จะสามารถทำให้ตะกอนกัมตกลงมาเพิ่มขึ้นและมีค่าสูงสุดประมาณ 5.301 กรัมต่อลิตร

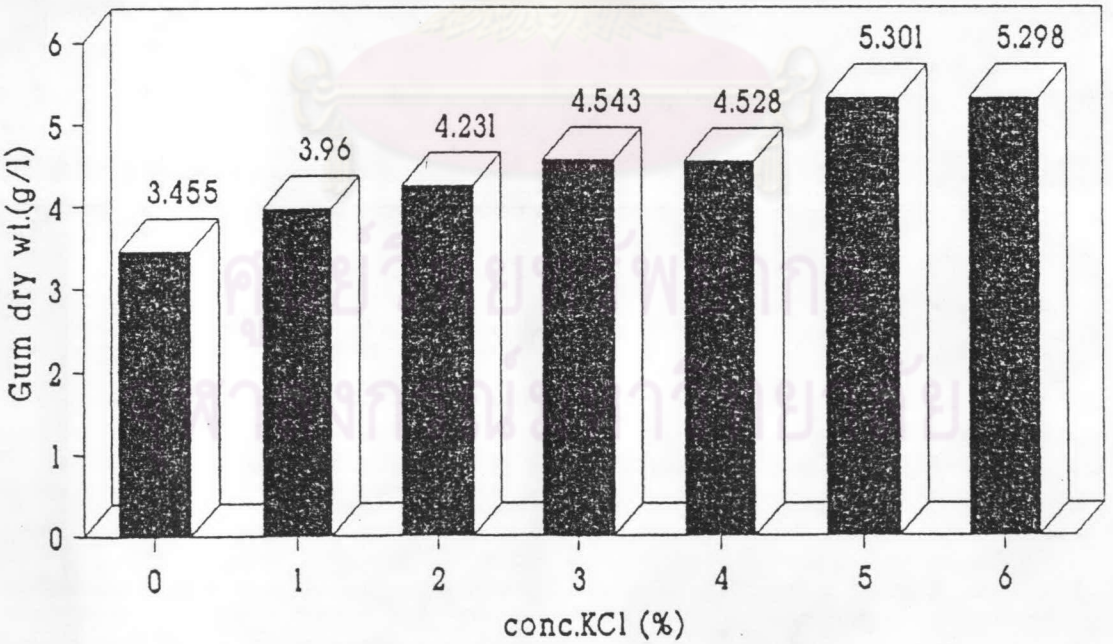
ผลการทดลองแปรผันความเข้มข้นของ KCl ในอาหารที่จะตกตะกอนกัมเนื่องจากการทอลองที่แล้วพบว่าเกลือ KCl มีผลต่อการตกตะกอนกัมได้เพิ่มขึ้น จึงได้ทดลองอิทธิพลของ KCl ต่อการเปลี่ยนแปลงค่าความหนืดของอาหารที่จะใช้เป็นแหล่งของการตกตะกอน (รูปที่ 22) พบว่าการเติม KCl เกือบจะไม่ทำให้ความหนืดของสารอาหารที่ได้เป็นแหล่งของกัมเพิ่มขึ้นเลยหรือเพิ่มขึ้นน้อยมาก

3.10.2 การศึกษาความเข้มข้นของเอธานอลที่เหมาะสม

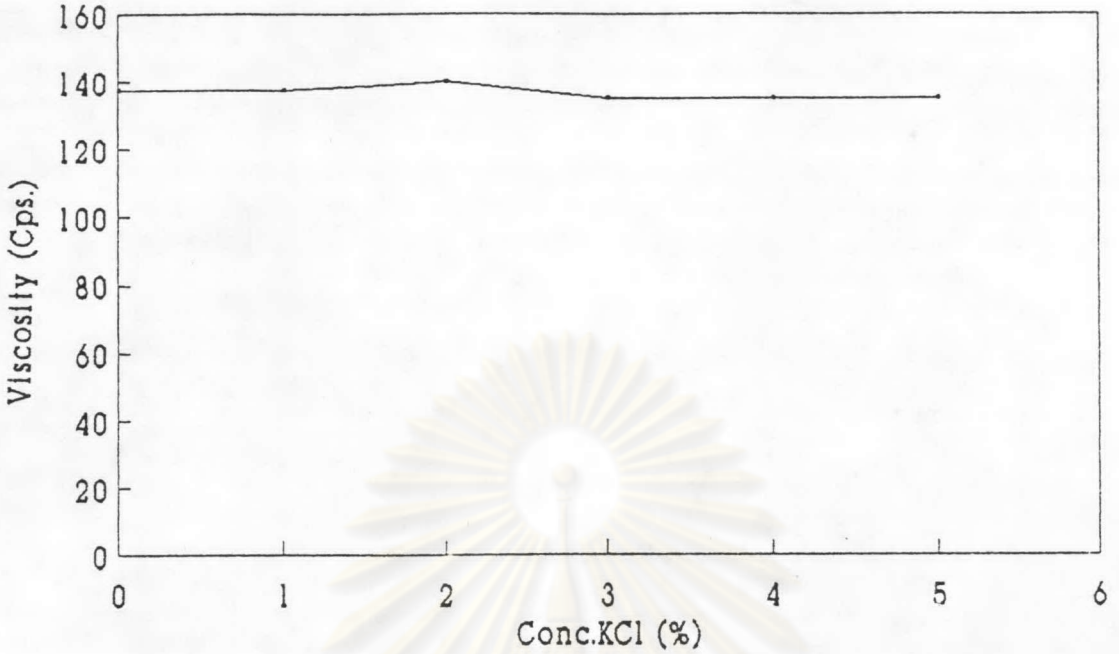
จากการศึกษาเอกสารโดยทั่วไป พบว่า เอธานอลเป็นตัวทำละลายอินทรีย์ที่เหมาะสมและใช้ในการตกตะกอนกัมกันอย่างทั่วไปแต่ปริมาณความเข้มข้นที่ใช้กับความเข้มข้นของสารละลายกัมที่ใช้และสภาวะอื่น ๆ ด้วย โดยการทดลองได้ใช้อาหารเลี้ยง *X. campestris* ที่เพาะเลี้ยงเป็นเวลานาน 96 ชั่วโมง โดยไม่มีการปรับ pH แต่เติม KCl 5% แล้วศึกษาความเข้มข้นของเอธานอลที่เหมาะสมกับการตกตะกอนกัม โดยแปรผันอัตราส่วนปริมาตรเอธานอลกับสารละลาย



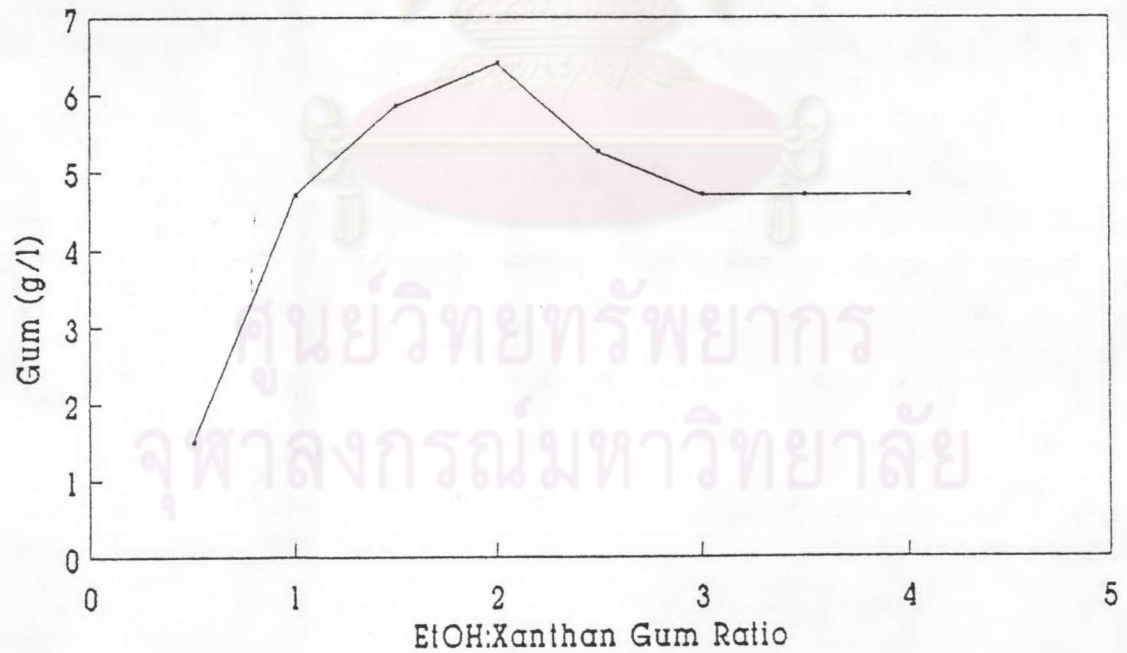
รูปที่ 20 แสดงอิทธิพลของความเข้มข้น (%) ของเกลือ KCl และ NaCl ที่มีผลต่อการตกตะกอนกัม ของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ช.ม.96 เมื่อแปรผันความเข้มข้นตั้งแต่ 0.5-2.5 กรัมต่อ 100 มล.ตกตะกอนกัมด้วยเอทานอลอัตราส่วน 2:1ของปริมาตรสารละลายที่จะตกตะกอน



รูปที่ 21 แสดงถึงผลของความเข้มข้น (%) ของโปตัสเซียมคลอไรด์ต่อการตกตะกอนกัม ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ ชั่วโมงที่ 96



รูปที่ 22 แสดงความเข้มข้น (%) ของเกลือ KCl ที่มีผลต่อความหนืด ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่วโมงที่ 96



รูปที่ 23 แสดงถึงปริมาณของเอทานอลที่มีผลต่อการตกตะกอนของแซนแทนกัม เมื่อใช้ 1% KCl ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ชั่วโมง 96

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

อาหารที่ต้องการตกตะกอนกัม ผลการทดลอง (รูปที่ 23) พบว่าเมื่ออัตราส่วนปริมาตรเอธานอลกับสารละลายอาหารที่ต้องการตกตะกอนกัมมากขึ้น จะสามารถทำให้กัมตกตะกอนได้มากขึ้นด้วย และให้ค่าสูงสุดที่อัตราส่วน 2 ต่อ 1 แต่เมื่อเพิ่มอัตราส่วนให้มากเกินกว่า 2 ต่อ 1 พบว่าจะทำให้กัมตกตะกอนได้น้อยลง

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

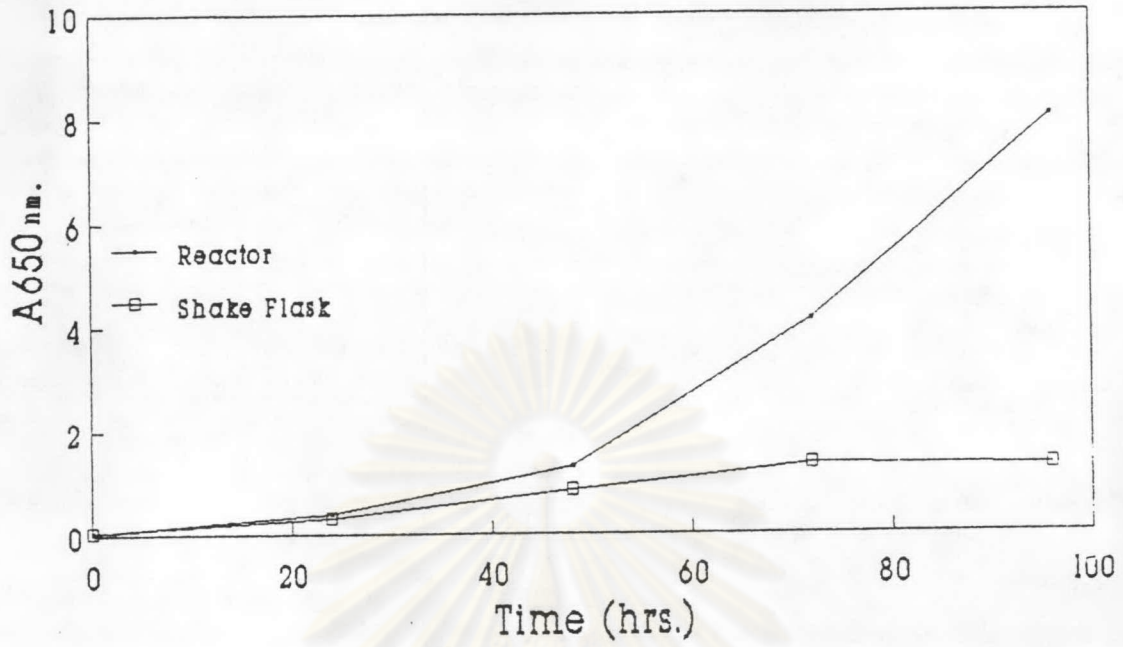
3.11 การขยายขนาดการผลิตแซนแทนกัมสู่ถังหมักขนาด 2.5 ลิตร

3.11.1 การหมักเริ่มแรก

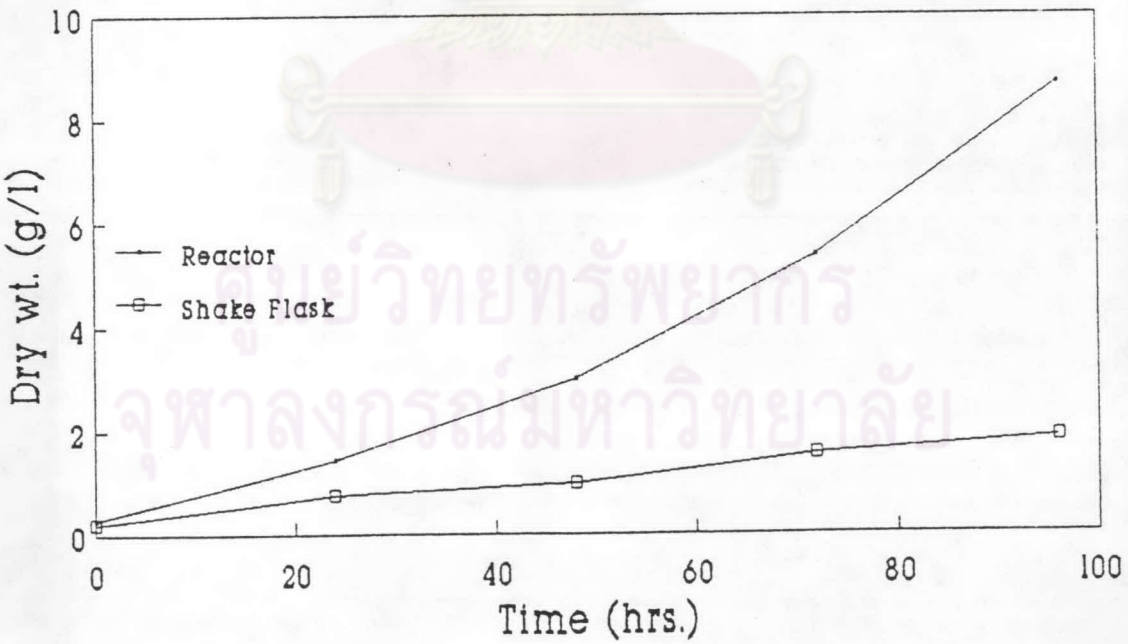
จากสภาวะที่เหมาะสมโดยผลิตแซนแทนกัม ได้มีการศึกษาวิจัยจนได้สูตรปรับปรุงใหม่ซึ่งได้นำไปขยายสเกลการผลิตแซนแทนกัมในถังหมักชีวปฏิกรณ์ โดยเลือกใช้ถังชีวปฏิกรณ์ที่มีการให้อาหารแบบฟองอากาศที่มีปริมาตรการทำงาน (Working Volume) 2 ลิตร มีอัตราให้อากาศ 1.6 v.v.m. โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรปรับปรุงใหม่ เทียบกับการเลี้ยงในขวดเขย่าที่เป็นชุดควบคุม ผลการทดลอง (รูปที่ 24 ก)พบว่า การเจริญของเซลล์ในถังหมักสูงกว่าการเจริญของเซลล์โดยการวัดความขุ่นของเซลล์ที่ 650 นาโนเมตร (ประมาณ 5-6 เท่า) โดยลดลงในชั่วโมงที่ 96 เป็นช่วงที่การเจริญของเชื้อเข้าสู่การเจริญสูงสุดแล้วแต่เซลล์ในถังชีวปฏิกรณ์ ยังมีการเจริญต่อไปได้อีก ซึ่งผลของการเจริญที่ได้จากการติดตามความขุ่น จะสอดคล้องกับการวัดน้ำหนักเซลล์แห้งด้วย (รูปที่ 24ข) สูงกว่าในขวดเขย่าประมาณ (4-5 เท่า)สำหรับ pH ในถังหมักพบว่าจะลดลงอย่างรวดเร็วจนถึง 5 ในชั่วโมงที่ 72 และคงที่จนถึงชั่วโมงที่ 96 แต่ในชุดควบคุมลดลงอย่างช้าๆ มาถึงเพียง 6.5 เท่านั้น (รูปที่ 24ค)เมื่อวัดปริมาณกลูโคสที่เหลือ(รูปที่ 24ง) ในถังเกือบจะไม่มีน้ำตาลเหลือเลย เมื่อชั่วโมงที่ 96 แต่ในชุดควบคุม ยังเหลือน้ำตาลอยู่ประมาณ 12 กรัมต่อลิตร การติดตามความหนืดและปริมาณกัมเป็นค่าน้ำหนักแห้งต่อลิตร ของอาหาร (รูปที่ 24จ,24ฉ) พบว่าในช่วงเวลาของการเพาะเลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์ จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆจนถึง ช.ม.ที่ 72 จึงเริ่มเพิ่มขึ้นสูงกว่าค่าความหนืดที่เพิ่มขึ้นในขวดเขย่า และจะเพิ่มขึ้นได้สูงกว่าขวดเขย่า ประมาณ 2-3 เท่า ในชั่วโมงที่ 96

ผลการทดลองต่อไปเป็นที่น่าสนใจว่า น้ำหนักแห้งกัมที่แยกได้จากอาหารเลี้ยง *X. campestris* ในชีวปฏิกรณ์ก็ไม่เพิ่มมากนัก (รูปที่ 24ฉ) และมีค่าต่ำกว่าตัวที่ได้จากกัมที่แยกจากเพาะเลี้ยงแบบขวดเขย่า จนกระทั่งถึงชั่วโมงที่ 96 ซึ่งได้ค่าน้ำหนักแห้งของกัมสูงกว่าค่าที่ได้จากขวดเขย่าประมาณ 40-50 เปอร์เซนต์

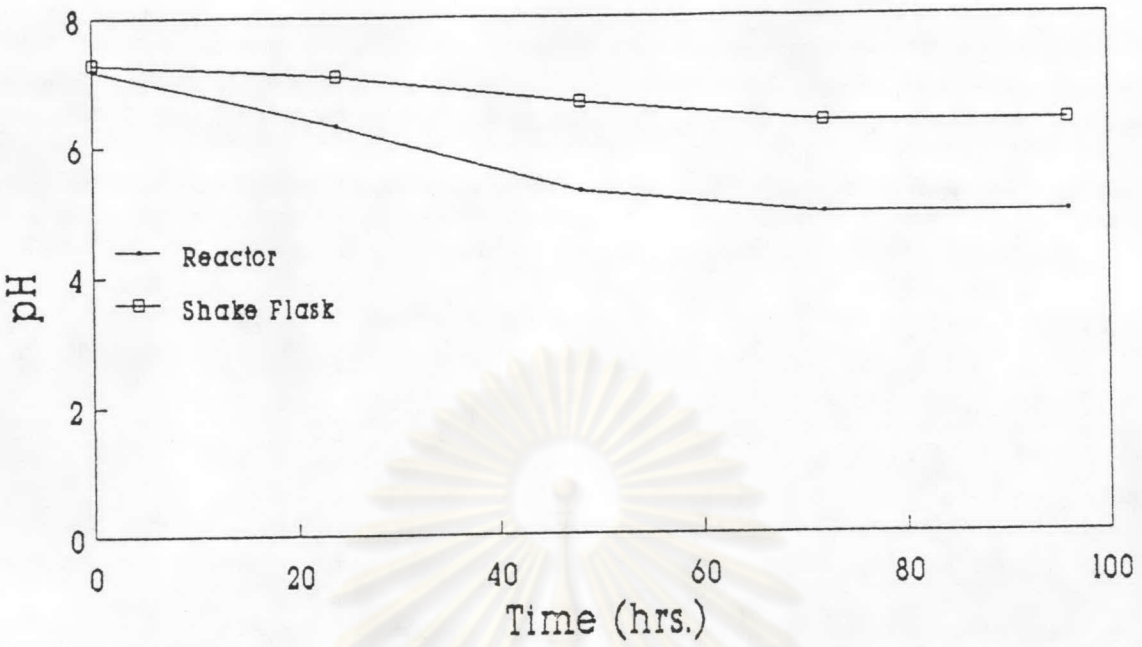
เป็นที่น่าประหลาดว่าค่าไพรูวิกที่แยกได้จากกัมที่แยกได้ ต่อปริมาตรอาหารเพาะเลี้ยง (รูปที่ 24 ช) ในขวดเขย่ามีค่าสูงขึ้นอย่างคงที่ หลังจากเพาะเลี้ยงไปนาน 24 ชั่วโมง และจะคงที่หลังจากนั้นไปได้นาน 72 ชั่วโมง โดยค่าที่วัดได้สูงกว่าได้จากกัมที่แยกได้จากถังชีวปฏิกรณ์เกือบ 7 เท่า



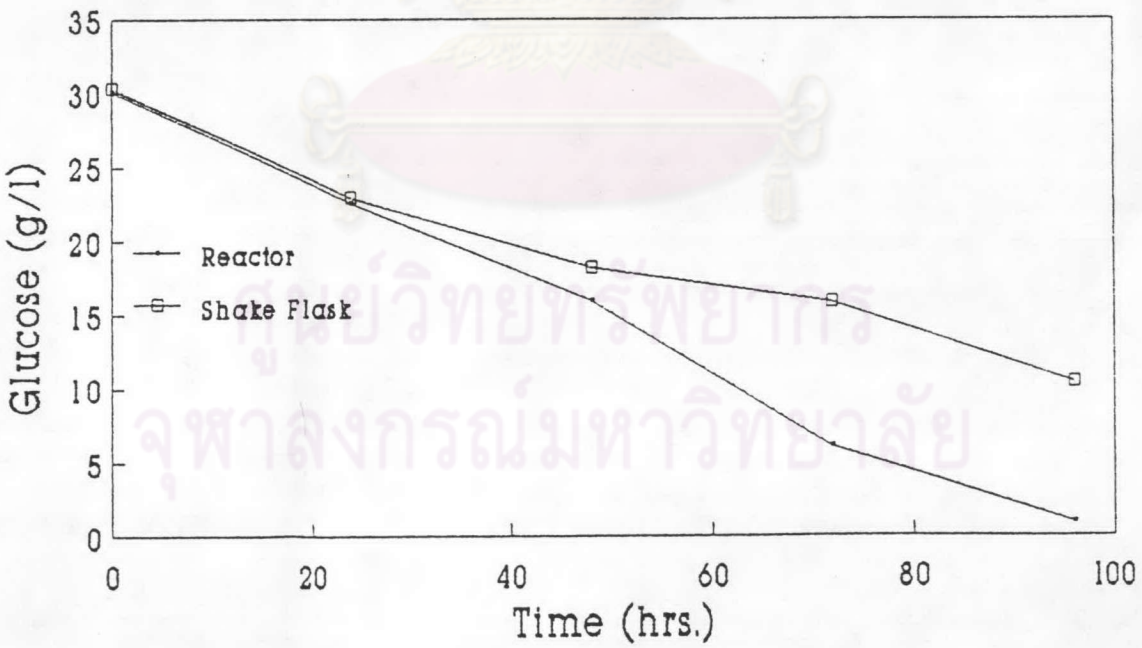
รูปที่ 24 ก เปรียบเทียบการเจริญของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์ เป็นเวลา 120 ชั่วโมง



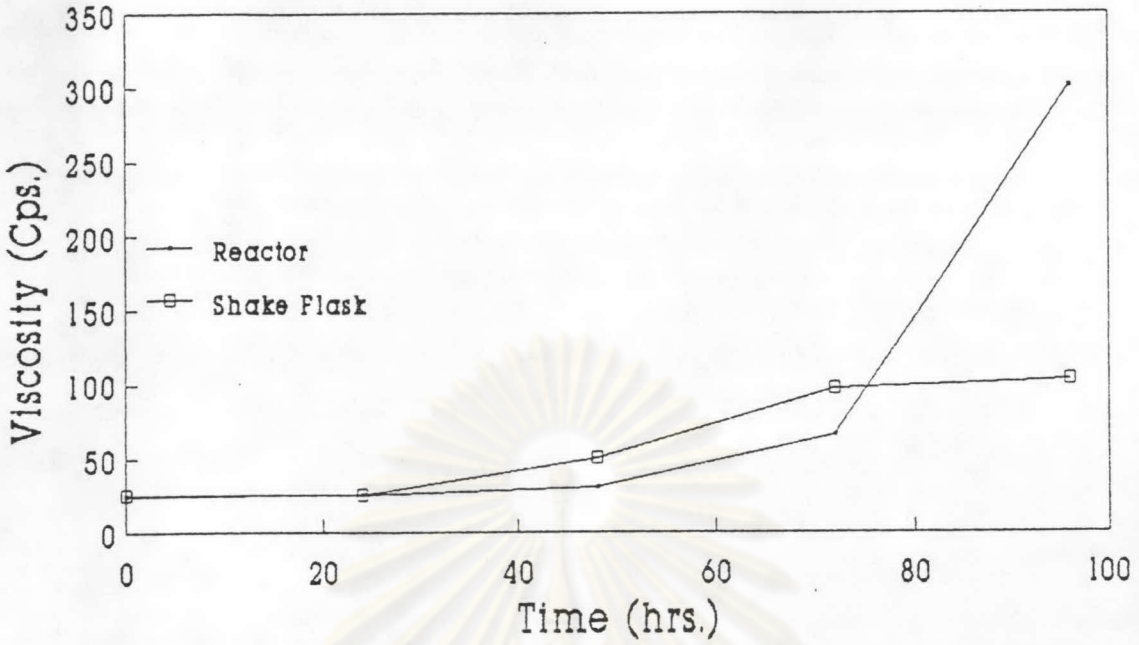
รูปที่ 24 ข เปรียบเทียบน้ำหนักเซลล์แห้ง(กรัมต่อลิตร)ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม เป็นเวลา 120 ชั่วโมง



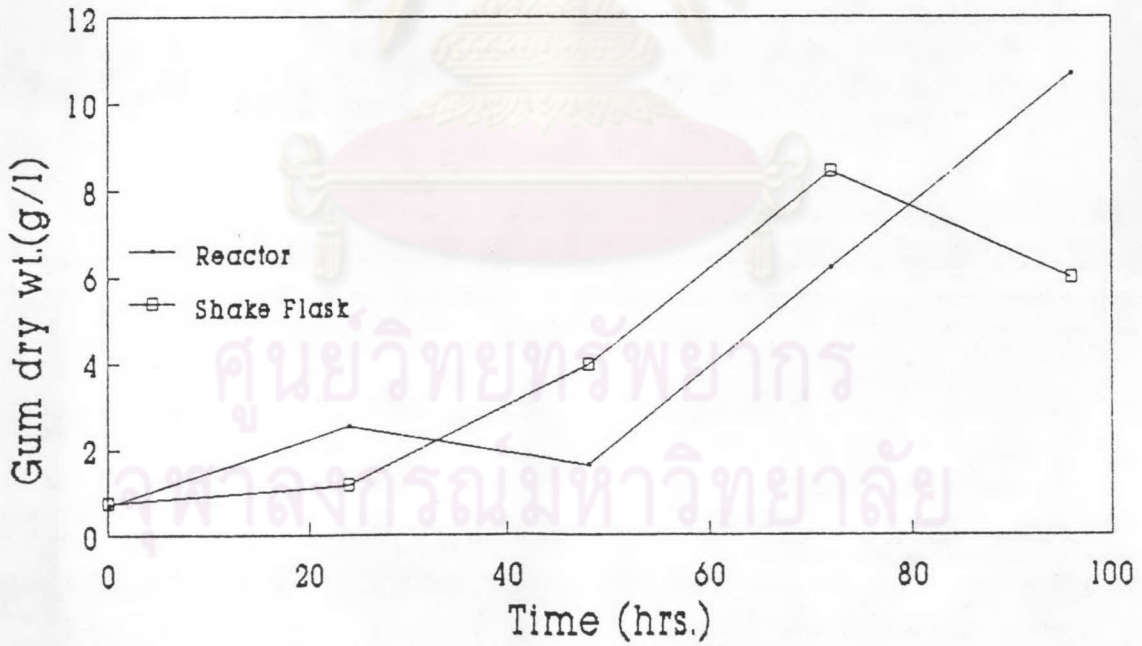
รูปที่ 24 ค แสดงการเปลี่ยนแปลง pH ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม



รูปที่ 24 ง แสดงน้ำตาลกลูโคส(กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม

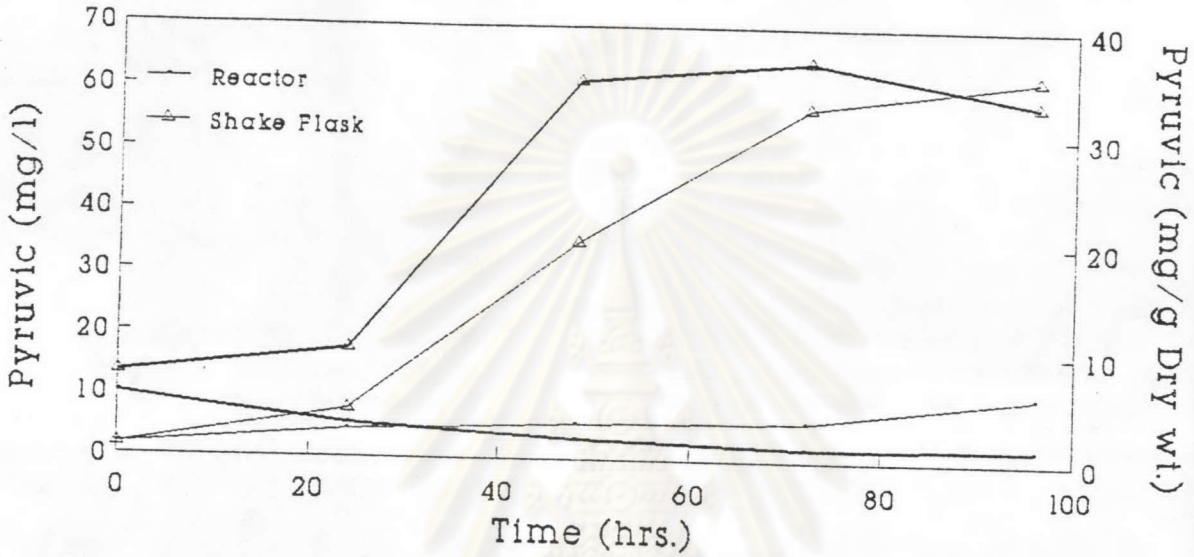


รูปที่ 24 จ แสดงความหนืด(เซนติพอยซ์) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม



รูปที่ 24 ฉ แสดงปริมาณกัม(กรัมต่อลิตร) ของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 21 ช ปริมาณไพรูวิก(มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังปฏิกรณ์กับชุดควบคุม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

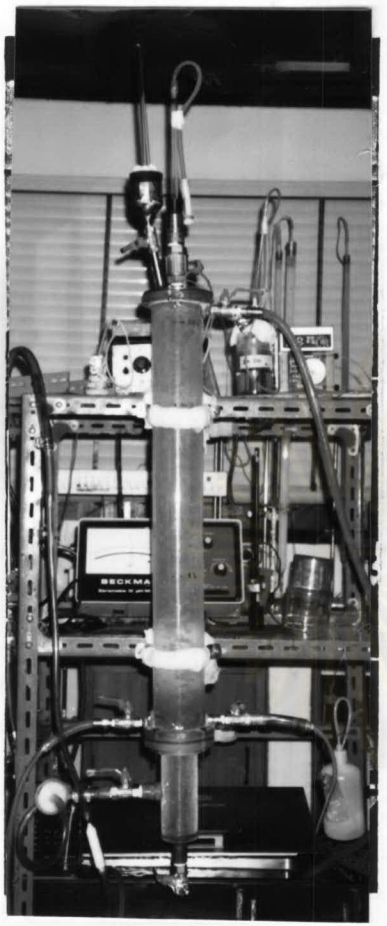
3.11.2 การหมักโดยควบคุม pH

จากการทดลองที่กล่าวแล้วจะเป็นได้ว่าไม่ได้ควบคุม pH ของอาหารเลี้ยงเชื้อเมื่อสิ้นสุดการทดลองมี pH ประมาณ 5 ที่ชั่วโมงที่ 96 ซึ่งเป็นสภาวะที่มีรายงานว่าไม่เหมาะสมในการผลิตกัม (Moraine และ Rogovin, 1971) การทดลองชุดต่อไปจึงศึกษาการเจริญและผลิตแซนแทนโดย *X. campestris* ในถังปฏิกรณ์ โดยการควบคุม pH เพื่อรักษาสภาวะให้เหมาะสมสำหรับการผลิตแซนแทนกัมตลอดเวลา โดยปรับ pH ไม่ให้ต่ำกว่า 6 โดยใช้ 2 M KOH ทั้งในถังหมักและชุดควบคุม ผลการทดลองดังแสดงไว้ (รูปที่ 27 ก.) การเจริญของเซลล์เมื่อวัดด้วยความขุ่น ในช่วง 72 ชั่วโมงแรก ชุดควบคุมมีการเจริญสูงกว่าถังหมักเล็กน้อย ในชั่วโมงถัดมาถังหมักให้การเจริญของเซลล์สูงกว่าชุดควบคุมที่ชั่วโมง 96 ซึ่งสอดคล้องด้วยการวัดน้ำหนักเซลล์แห้ง (รูปที่ 27 ข.) ในถังหมักที่สูงถึง 6.2 กรัมต่อลิตร ที่ชั่วโมง 120 ขณะที่ชุดควบคุมมีน้ำหนักแห้งเพียง 2 กรัมต่อลิตร ใน ชั่วโมง ที่ 72 เท่านั้น

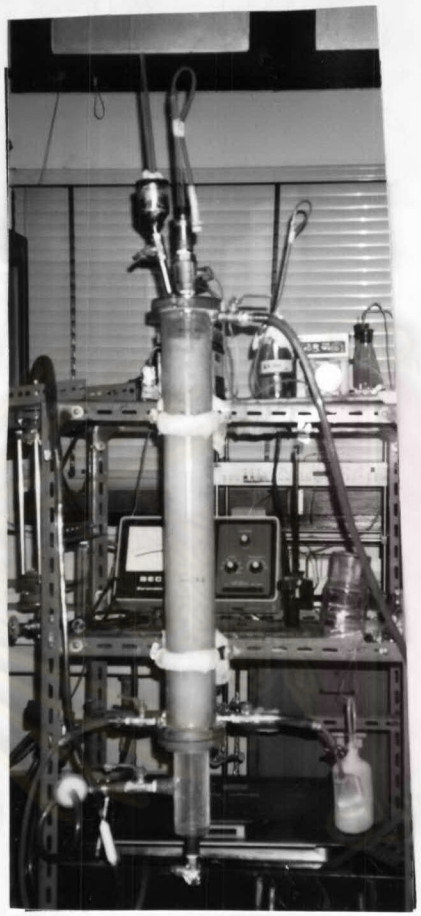
การศึกษาการเจริญโดยศึกษาประสิทธิภาพของการใช้กลูโคส โดยวัดปริมาณกลูโคสในอาหารเลี้ยงเชื้อก็พบว่า ปริมาณกลูโคสจะมีลักษณะคล้ายการทดลองที่ไม่มีการควบคุม pH คือน้ำตาลในถังหมักถูกใช้ไปจนไม่มีเหลือเลย ในขณะที่ในชุดควบคุมเหลือประมาณ 10 กรัมต่อลิตร ใน ชั่วโมง ที่ 120 (รูปที่ 27 ง.)

สำหรับความหนืด พบว่า ในการเพาะเลี้ยงแบบชวดเขย่าสามารถให้ค่าสูงกว่าถังปฏิกรณ์ ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 24 ของการเพาะเลี้ยง คือมีค่าสูงสุดของ ความหนืด, ปริมาณกัม, ปริมาณไพรูวิก และปริมาณไพรูวิกต่อกรัมน้ำหนักแห้ง เท่ากับ 230 เซนติพอยส์, 18 กรัมต่อลิตร, 310 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 210 ตามลำดับ ขณะที่ถังหมักมีค่า 50 เซนติพอยส์, 6 กรัมต่อลิตร, 105 มิลลิกรัมต่อลิตร และ 18 ตามลำดับ (รูป 27 จ-ช)

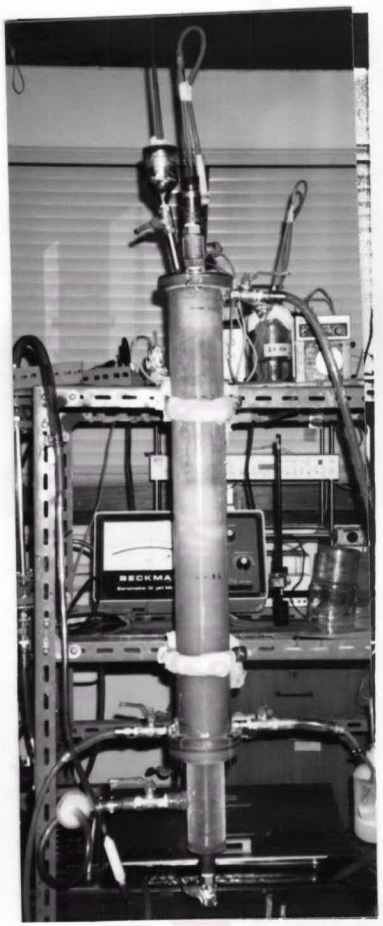
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



25.1 ชั่วโมงที่ 0



25.2 ชั่วโมงที่ 24



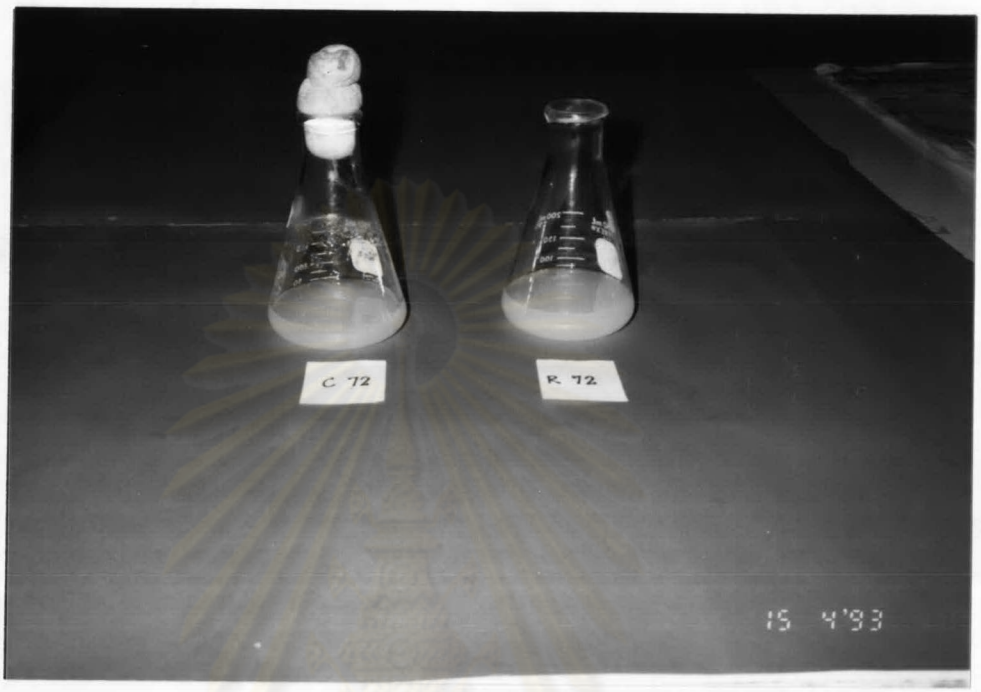
25.3 ชั่วโมงที่ 48

รูปที่ 25 ภาพแสดงเครื่องชีวปฏิกรณ์ในการผลิตแซนแทน กัม โดย *X. campestris* ที่วิเคราะห์โดยช่วงเวลาต่างๆกัน

25.1 ชั่วโมงที่ 0 สังเกตเห็นว่าอาหารเลี้ยงเชื้อจะใส ไม่มีสี

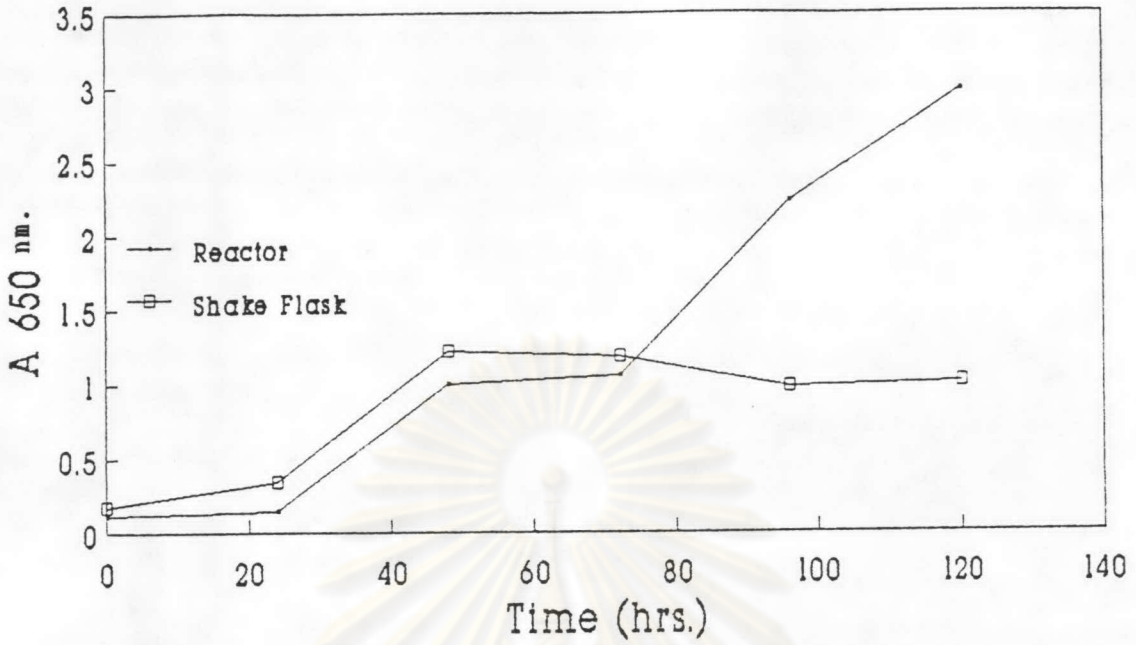
25.2 ชั่วโมงที่ 24 อาหารเลี้ยงเชื้อเริ่มมีความหนืดและเปลี่ยนเป็นสีเหลือง

25.3 ชั่วโมงที่ 48 อาหารเลี้ยงเชื้อมีความหนืดมากขึ้นและเปลี่ยนเป็นสีเหลืองเข้ม

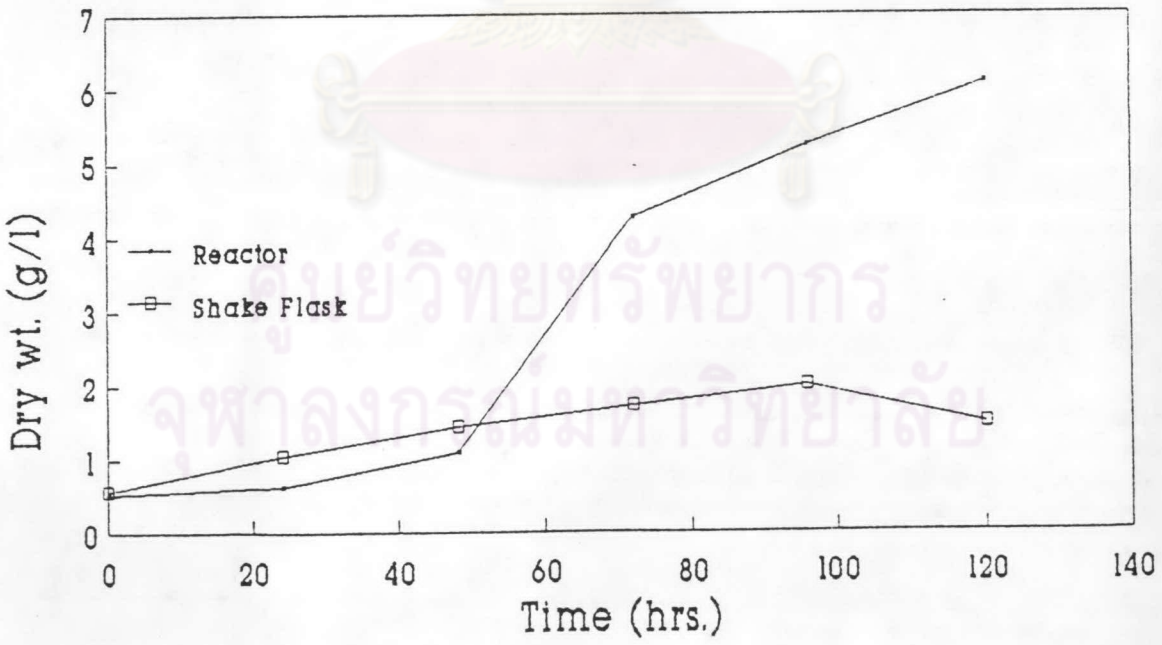


รูปที่ 26 เปรียบเทียบถึงลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อของ *X.campestris* ที่ได้จากการหมักของอาหารเพาะเลี้ยงจากขวดเขย่าซึ่งเป็นชุดควบคุม (C)และจากถังชีวปฏิกรณ์(R) ชั่วโมงที่ 72 ซึ่งพบว่าอาหารมีสีเหลืองเหมือนกัน แต่ชุดควบคุมจะให้ความหนืดสูงกว่าจากถังชีวปฏิกรณ์

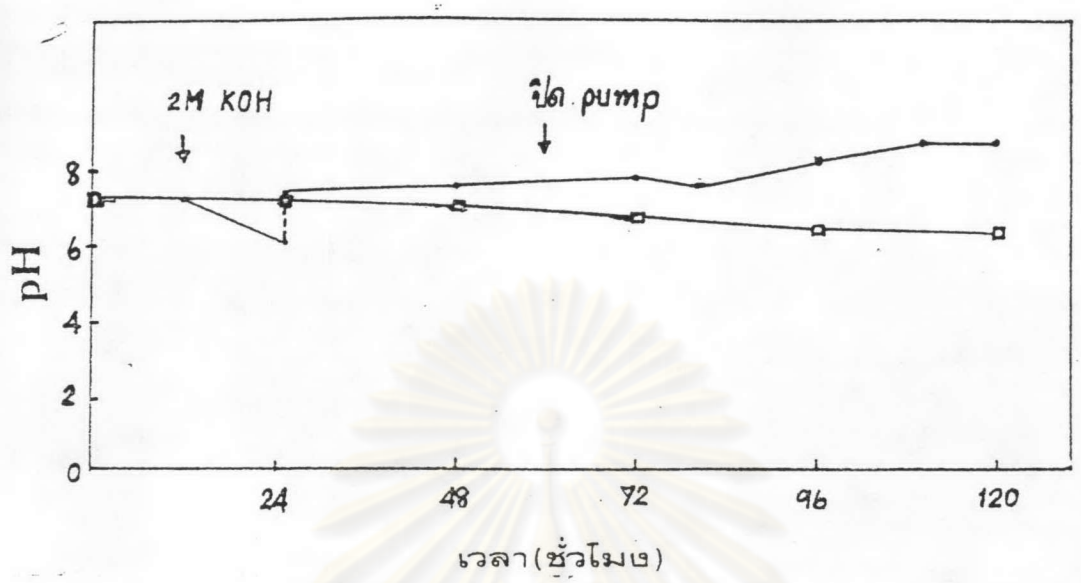
ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



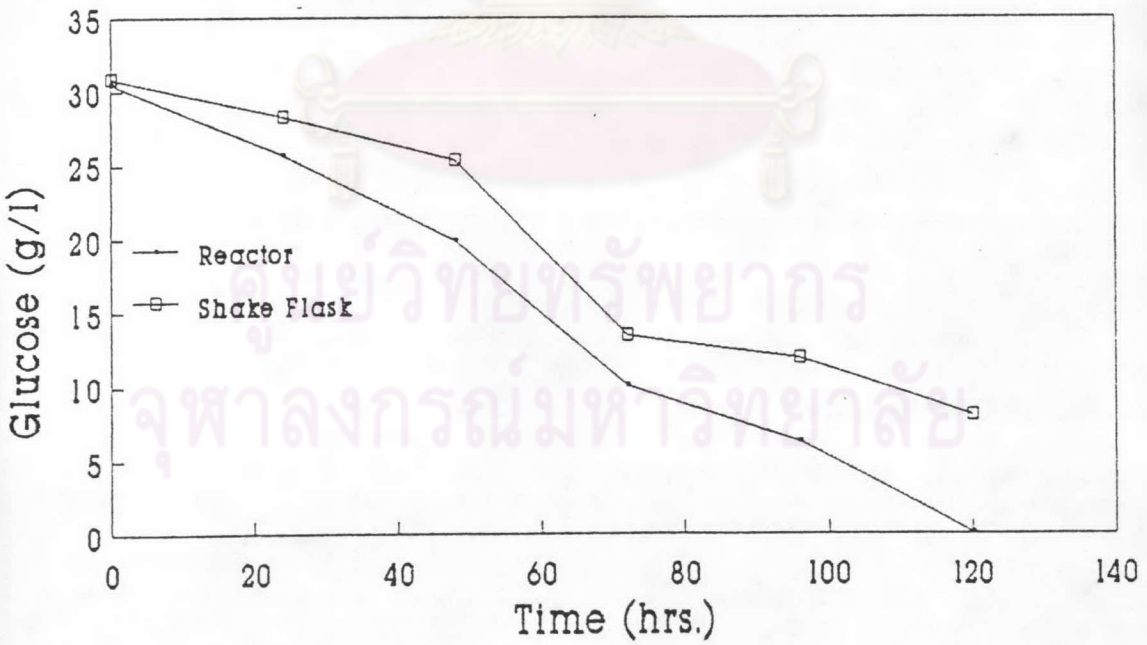
รูปที่ 27 ก แสดงการเจริญของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังหมักชีวปฏิกรณ์เปรียบเทียบกับชุดควบคุม โดยวิธีวัดความขุ่นของเซลล์



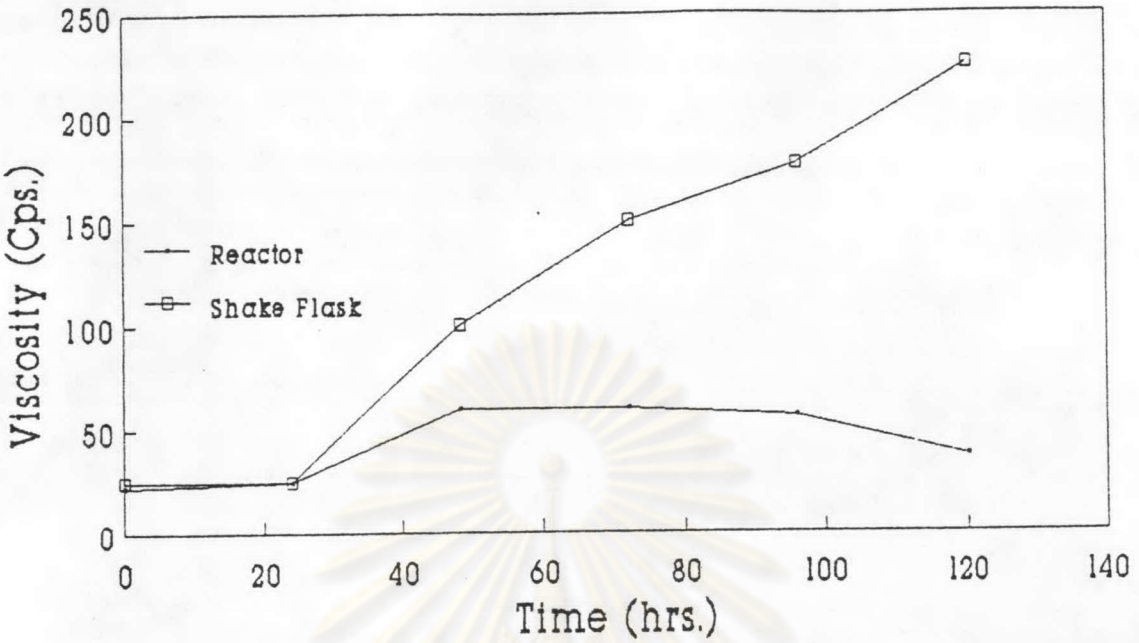
รูปที่ 27 ข แสดงน้ำหนักเซลล์แห้งของ *X. campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม



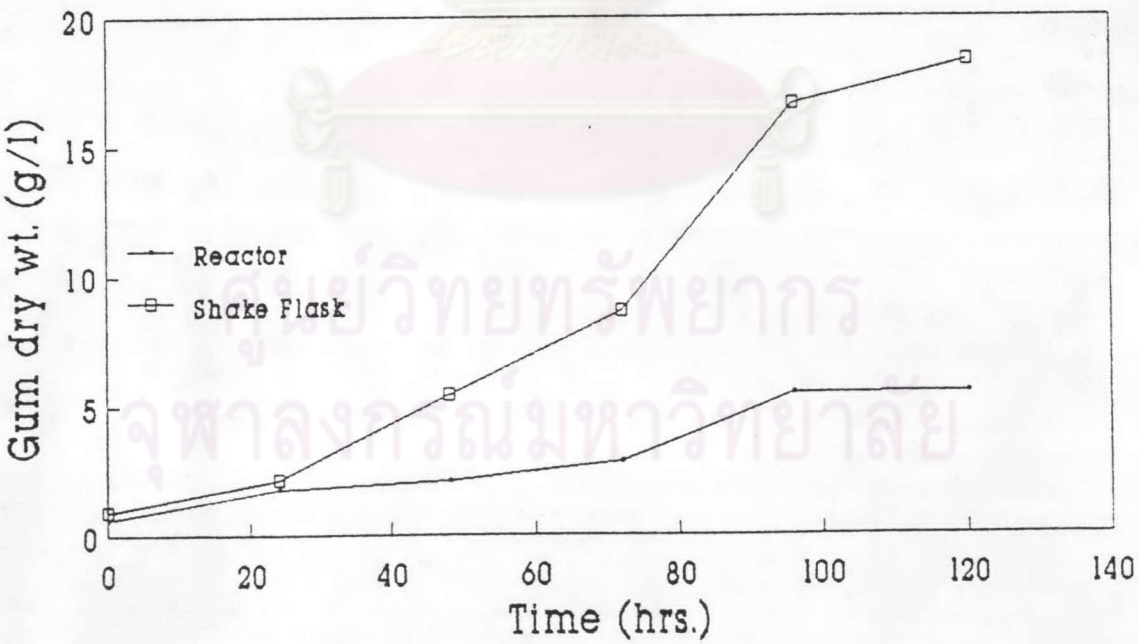
รูปที่ 27 ค แสดงการเปลี่ยนแปลง pH ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม



รูปที่ 27 ง แสดงน้ำตาลกลูโคส(กรัมต่อลิตร) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม

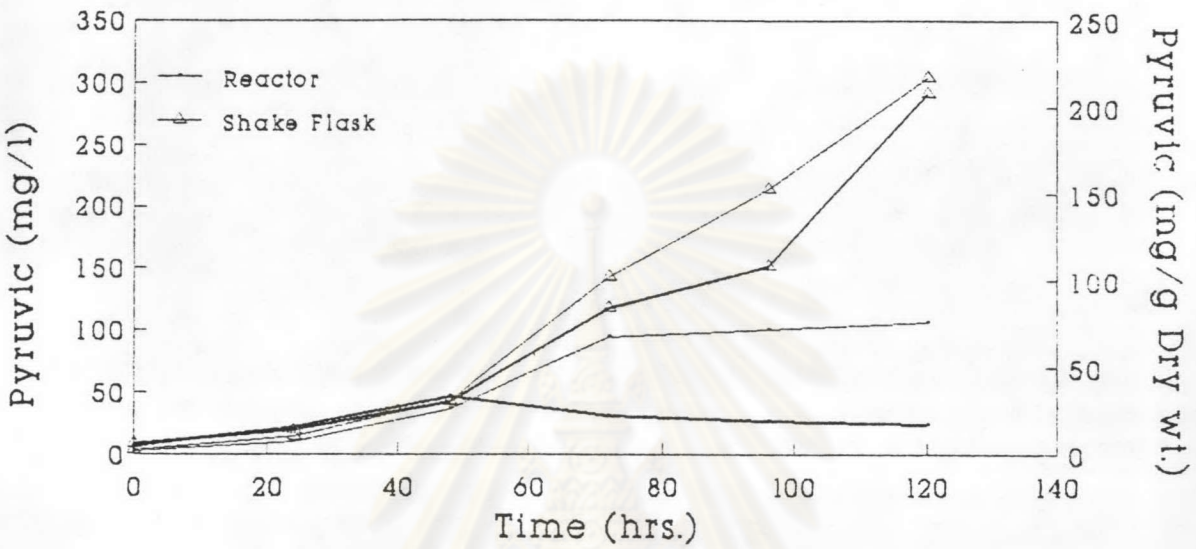


รูปที่ 27 จ แสดงความหนืด(เซนติพอยซ์) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม



รูปที่ 27 ฉ แสดงปริมาณกัม(กรัมต่อลิตร) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย



รูปที่ 27 ช ปริมาณไพรูวิก(มิลลิกรัมต่อลิตร) ของ *X.campestris* ที่เลี้ยงในถังชีวปฏิกรณ์กับชุดควบคุม

ศูนย์วิทยทรัพยากร
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย