บทที่ 4

ผลการทดลอง

4.1 ผลการแยกเชื้ออะซิติกแอซิดแบคทีเรียจากแหล่งต่างๆ

จากผลไม้ชนิดต่างๆ 34 ชนิด ซึ่งเก็บตัวอย่างจาก ตลาดสดในกรุงเทพฯ ปทุมธานี นนทบุรี และสระบุรี พบว่าผลการวัดปริมาณน้ำตาลในรูปของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) มีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.1-33.5 °B. จากการแยกเชื้ออะซิติกแอซิดแบคทีเรียจากผลไม้ดังกล่าว แยกได้เชื้อจำนวน 148 สายพันธุ์ ทุกสายพันธุ์ย้อมติดสีแกรมลบ และสร้างเอนไซม์แคตาเลส เชื้อจำนวน 144 สายพันธุ์สามารถออกซิไดส์อะซิเตท เชื้อ 132 สายพันธุ์สามารถออกซิไดส์แลคเตทได้ เชื้อ 40 สายพันธุ์สามารถสร้างไดไฮดรอกซีอะซีโตน (Dihydroxy acetone) จากกลีเซอรอล เชื้อ 136 สายพันธุ์สามารถสร้างกรดอะซิติกได้ปริมาณ 0.012-1.452 % เชื้อบางสายพันธุ์เจริญได้ที่อุณหภูมิ 37-40 °ซ. และเชื้อ 12 สายพันธุ์สร้างเซลลูโลสได้ แต่ไม่ได้สนใจที่จะนำมาใช้ในการผลิตกรด ดังนั้นจึงไม่ได้ทดสอบความสามารถในการผลิตกรดซึ่งให้ผลการทดลองเป็น NT (not test) (ตารางที่ 4.1)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.1 วันเดือนปีที่แยก ชนิดของผลไม้ แหล่งที่มา รหัสเชื้อ และคุณสมบัติบางประการของเชื้อ

วันที่	ชนิดของผลไม้/TSS	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อ	Gram reaction	Catalase test	Oxidation of acetate	Oxidation of lactate	Ketogenesis from glycerol	Acid production in 3 days (%)	Growth at (37/40°C)	Cellulose production in 14 days (mm.)
10/10/40	เงาะ	กรุงเทพฯ	RB1-1	-	+	Basic	+	-	0.012	(+/-)	-
	(Rambutan)/14.5°B	(สามย่าน)	RB1-2	-	+	Basic	+	-	0.012	(+/-)	-
			RB2-1	-	+	Basic	+	-	0.030	(+/-)	-
			RB2-2	-	+	Basic	+	-	1.154	(+/W)	-
			RB3-1	-	+	Basic	+	-	0.763	(+/-)	-
			RB3-2	-	+	Basic	+	-	0.908	(+/-)	-
10/10/40	ลำไย	กรุงเทพฯ	LG4-1	-	+	Basic	+	-	0.009	(+/-)	-
	(Longan fruit)/14.7°B	(สามย่าน)	LG4-2	-	+	Basic	+	-	0.294	(+/-)	-
			LG5-1	-	+	Basic	+	-	0.030	(+/-)	-
			LG5-2	-	+	Basic	+	-	0.006	(+/-)	-
			LG6-1	-	+	Basic	+	-	1.106	(+/W)	-
			LG6-2	-	+	Basic	+	-	0.799	(+/-)	-
30/10/40	มะเขือเทศ	กรุงเทพฯ	TM7-1	-	+	Basic	+	-	0.637	(+/-)	-
	(Tomato)/4.4°B	(สามย่าน)	TM7-2	-	+	Basic	+	-	0.607	(+/-)	-
			TM7-3	-	+	Basic	+	-	0.709	(+/-)	-
			TM8-1	-	+	Basic	+	-	0.541	(+/-)	-
			TM8-2	-	+	Basic	+	-	0.469	(+/-)	-
			TM8-3	-	+	Basic	+	-	0.637	(+/-)	-
30/10/40	มะกรูด	กรุงเทพฯ	KL13-1	-	+	Basic	+	-	0.421	(+/-)	-
	(Kaffir lime)/4.1°B	(สามย่าน)	KL13-2	-	+	Basic	+	-	0.541	(+/-)	-
			KL13-3	-	+	Basic	+	-	0.817	(+/-)	-
			KL14-1	-	+	Basic	+	-	0.649	(+/W)	-
			KL14-2	-	+	Basic	+	-	0.914	(+/-)	-
			KL14-3	-	+	Basic	+	-	0.793	(+/-)	-

°B, °Brix ; +, positive ; W, weak positive ; -, negative; NT, not test

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วันที่	ชนิดของผลไม้/TSS	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อ	Gram reaction	Catalase test	Oxidation of acetate	Oxidation of lactate	Ketogenesis from glycerol	Acid production in 3 days (%)	Growth at (37/40°C)	Cellulose production in 14 days (mm.)
30/10/40	ลางสาด (Lansat)/13.1°B	กรุงเทพฯ (สามย่าน)	LS15-1	-	+	Basic	+	-	0.810	(+/-)	-
			LS15-2	-	+	Basic	+	-	1.080	(+/-)	-
			LS15-3	-	+	Basic	+	-	0.240	(+/W)	-
			LS16-1	-	+	Basic	+	-	1.350	(+/-)	-
			LS16-2	-	+	Basic	+	-	0.780	(+/-)	-
			LS16-3	-	+	Basic	+	-	0.012	(+/-)	-
30/10/40	มะเฟือง (Star fruit)/15.0°B	กรุงเทพฯ (ตลิ่งชัน)	SF17-1	-	+	Basic	+	-	0.030	(+/-)	-
			SF17-2	-	+	Basic	+	-	0.660	(+/-)	-
			SF17-3	-	+	Basic	+	-	0.630	(+/-)	-
			SF18-1	-	+	Basic	+	-	1.290	(+/W)	-
			SF18-2	-	+	Basic	+	-	0.930	(+/-)	-
			SF18-3	-	+	Basic	+	-	1.200	(+/-)	-
1/11/40	มะขามเปรี้ยว (Tamarind)/33.5°B	กรุงเทพฯ (สามย่าน)	TR19-1	-	+	Basic	+	-	1.182	(+/W)	-
			TR19-2	-	+	Basic	+	-	0.588	(+/-)	-
			TR20-1	-	+	Basic	+	-	1.176	(+/W)	-
			TR20-2	-	+	Basic	+	-	1.104	(+/-)	-
1/11/40	ละมุด (Sapodilla)/20.6°B	กรุงเทพฯ (สามย่าน)	SL21-1	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/-)	-
			SL21-2	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/-)	-
			SL21-3	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/-)	-
			SL22-1	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/-)	-
			SL22-2	-	+	Basic	+	-	0.840	(+/-)	-
			SL22-3	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/-)	-

°B, °Brix ; +, positive ; W, weak positive ; -, negative; NT, not test

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วันที่	ชนิดของผลไม้/TSS	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อ	Gram reaction	Catalase test	Oxidation of acetate	Oxidation of lactate	Ketogenesis from glycerol	Acid production in 3 days (%)	Growth at (37/40°C)	Cellulose production in 14 days (mm.)
1/11/40	องุ่นแดง (Grape)/19.2°B	กรุงเทพฯ (ราชประสงค์)	GR23-1	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/W)	-
			GR23-2	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/-)	-
			GR23-3	-	+	Basic	+	-	0.468	(+/-)	-
			GR24-1	-	+	Basic	+	-	0.570	(+/-)	-
			GR24-2	-	+	Basic	+	-	1.248	(+/W)	-
			GR24-3	-	+	Basic	+	-	0.900	(+/-)	-
14/11/40	ส้มเขียวหวาน (Orange)/ 8.0°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	OR55-1	-	+	Basic	+	-	1.140	(+/W)	-
			OR55-2	-	+	Basic	+	-	0.018	(+/W)	-
			OR56-1	-	+	Basic	+	-	1.200	(+/+)	-
			OR56-2	-	+	Basic	+	-	0.792	(+/-)	-
14/11/40	กล้วยไข่ (Banana)/18.6°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	BS57-1	-	+	Basic	+	-	0.186	(+/W)	-
			BS57-2	-	+	Basic	+	-	1.092	(+/W)	-
			BS58-1	-	+	Basic	+	-	0.960	(+/-)	-
			BS58-2	-	+	Basic	+	-	1.452	(+/W)	-
14/11/40	แอปเปิ้ล (Apple)/11.8°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	AP59-1	-	+	Basic	+	-	0.150	(+/W)	-
			AP59-2	-	+	Basic	+	-	0.852	(+/-)	-
			AP60-1	-	+	Basic	+	-	0.366	(+/-)	-
			AP60-2	-	+	Basic	+	-	0.624	(+/-)	-
15/11/40	พุทรา (Jujube)/18.2°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	JJ63-1	-	+	Basic	+	+	1.116	(+/W)	-
			JJ63-2	-	+	Basic	+	+	0.720	(+/-)	-
			JJ64-1	-	+	Basic	+	+	0.438	(+/W)	-
			JJ64-2	-	+	Basic	+	-	0.012	(+/-)	-
15/11/40	มะม่วงแก้วสุก (Mango)/19.4°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	MG69-1	-	+	Basic	+	-	0.798	(+/-)	-
			MG69-2	-	+	Basic	+	-	1.140	(+/-)	-
			MG70-1	-	+	Basic	+	-	0.768	(+/-)	-
			MG70-2	-	+	Basic	+	-	0.720	(+/-)	-

°B, °Brix ; +, positive ; W, weak positive ; -, negative; NT, not test

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วันที่	ชนิดของผลไม้/TSS	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อ	Gram reaction	Catalase test	Oxidation of acetate	Oxidation of lactate	Ketogenesis from glycerol	Acid production in 3 days (%)	Growth at (37/40°C)	Cellulose production in 14 days (mm.)
16/11/40	ฝรั่งเวียดนาม (Guava)/12.1°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	GV73-1	-	+	Basic	+	-	0.492	(+/+)	-
			GV73-2	-	+	Basic	+	-	0.066	(+/-)	-
			GV74-1	-	+	Basic	+	-	0.072	(+/-)	-
			GV74-2	-	+	Basic	+	-	0.666	(+/-)	-
16/11/40	น้อยหน่า (Custard apple)/17.5°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	CA75-1	-	+	Basic	+	-	0.318	(+/+)	-
			CA75-2	-	+	Basic	+	-	0.270	(+/-)	-
			CA76-1	-	+	Basic	+	-	0.270	(+/-)	-
			CA76-2	-	+	Basic	+	-	0.330	(+/+)	-
18/11/40	สับปะรด (Pineapple)/14.6°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	PA83-1	-	+	Basic	+	-	0.420	(+/-)	-
			PA83-2	-	+	Basic	+	-	0.312	(+/-)	-
			PA84-1	-	+	Basic	+	-	0.252	(+/-)	-
			PA84-2	-	+	Basic	+	-	0.150	(+/-)	-
18/11/40	แตงโม (Watermelon)/9.0°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	WM85-1	-	+	Basic	+	-	0.330	(+/-)	-
			WM85-2	-	+	Basic	+	-	0.042	(+/-)	-
			WM86-1	-	+	Basic	+	-	0.942	(+/-)	-
			WM86-2	-	+	Basic	+	-	0.990	(+/-)	-
19/11/40	เงาะ (Rambutan)/14.5°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	RB87-1	-	+	Basic	+	-	0.870	(+/-)	-
			RB87-2	-	+	Basic	+	-	0.903	(+/-)	-
			RB88-1	-	+	Basic	+	-	0.906	(+/-)	-
			RB88-2	-	+	Basic	+	-	0.972	(+/-)	-
19/11/40	กล้วยหอม (Banana)/18.2°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	BB90-1	-	+	Basic	+	-	0.918	(+/-)	-
			BB90-2	-	+	Basic	+	-	0.762	(+/-)	-
			BB91-1	-	+	Basic	+	-	0.714	(+/-)	-
			BB91-2	-	+	Basic	+	-	0.960	(+/-)	-

°B, °Brix ; +, positive ; W, weak positive ; -, negative; NT, not test

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วันที่	ชนิดของผลไม้/TSS	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อ	Gram reaction	Catalase test	Oxidation of acetate	Oxidation of lactate	Ketogenesis from glycerol	Acid production in 3 days (%)	Growth at (37/40°C)	Cellulose production in 14 days (mm.)
19/11/40	กล้วยน้ำว้า (Banana)/18.8°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	BM92-1	-	+	Basic	+	-	0.126	(+/-)	-
			BM92-2	-	+	Basic	+	-	0.270	(+/-)	-
			BM93.1	-	+	Basic	+	-	0.330	(+/-)	-
			BM93-2	-	+	Basic	+	-	0.492	(+/-)	-
20/11/40	แอปเปิ้ล (Apple)/11.8°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	AP94-1	-	+	Basic	+	-	0.270	(+/-)	-
			AP94-2	-	+	Basic	+	-	0.780	(+/-)	-
20/11/40	ส้มเขียวหวาน (Orange)/8.0°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	OR95-1	-	+	Basic	+	+	0.792	(+/W)	-
			OR95-2	-	+	Basic	+	+	1.146	(+/W)	-
20/11/40	องุ่นเขียว (Grape)/19.4° B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	GG96-1	-	+	Basic	+	+	0.570	(+/W)	-
			GG96-2	-	+	Basic	+	+	0.552	(+/-)	-
20/11/40	ลองกอง (Long-gong)/13.4°B	ปทุมธานี (รังสิต)	LD97-1	-	+	Basic	+	+	0.030	(+/W)	-
			LD97-2	-	+	Basic	+	+	0.450	(+/-)	-
20/11/40	มังคุด (Mangosteen)/18.4°B	ปทุมธานี (รังสิต)	MT100-1	-	+	Basic	+	+	0.912	(+/W)	-
			MT100-2	-	+	Basic	+	+	0.678	(+/-)	-
20/11/40	ชมพู่ (Rose apple)/6.0°B	ปทุมธานี (รังสิต)	RA103-1	-	+	Basic	+	-	0.960	(+/W)	-
			RA103-2	-	+	Basic	+	-	0.978	(+/-)	-
24/11/40	สตรอเบอรี่ (Strawberry)/15.1°B	ปทุมธานี (รังสิต)	ST106-1	-	+	Basic	+	-	0.966	(+/-)	-
			ST106-2	-	+	Basic	+	-	0.900	(+/W)	-
			ST107-1	-	+	Basic	+	-	0.918	(+/-)	-
			ST107-2	-	+	Basic	+	-	0.702	(+/-)	-
24/11/40	ท้อ (Peach)/12.3°B	ปทุมธานี (รังสิต)	PH108-1	-	+	Basic	+	-	0.558	(+/-)	-
			PH108-2	-	+	Basic	+	+	0.072	(+/-)	-
			PH109-1	-	+	Basic	+	-	0.756	(+/W)	-
			PH109-2	-	+	Basic	+	+	0.126	(+/-)	-

°B, °Brix ; +, positive ; W, weak positive ; -, negative; NT, not test

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วันที่	ชนิดของผลไม้/TSS	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อ	Gram reaction	Catalase test	Oxidation of acetate	Oxidation of lactate	Ketogenesis from glycerol	Acid production in 3 days (%)	Growth at (37/40°C)	Cellulose production in 14 days (mm.)
24/11/40	มะยม (Star gooseberry)/7.9°B	นนทบุรี (ปากเกร็ด)	SG110-1	-	+	Basic	+	+	0.990	(+/W)	-
28/11/40	ขนุน (Jackfruit)/20.5°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	JF113-1	-	+	Basic	+	+	0.972	(+/W)	-
28/11/40	มะละกอ (Papaya)/12.8°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	PY114-1	-	+	Basic	+	-	0.402	(+/W)	-
15/2/41	ทับทิม (Pomegranate)/10.2°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	PG123-1	-	+	ACID	-	+	0.054	(+/-)	-
			PG123-2	-	+	ACID	-	+	0.084	(+/-)	-
16/2/41	เสาวรส (Passion fruit)/12.2°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	PF124-1	-	+	Basic	+	+	0.252	(+/W)	-
			PF124-2	-	+	Basic	+	+	0.228	(+/W)	-
17/2/41	มะละกอ (Papaya)/17.3°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	PY125-1	-	+	ACID	-	+	0.120	(+/-)	-
17/2/41	มะขามเทศ (Tamarind pod)/4.4°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	TP126-1	-	+	ACID	-	+	0.072	(+/-)	-
			TP126-2	-	+	Basic	+	+	0.414	(+/-)	-
17/2/41	น้อยไหน่ง (Custard apple) /17.0°B	สระบุรี (หนองแค)	CA127-1	-	+	Basic	+	+	0.864	(+/-)	-
			CA127-2	-	+	Basic	+	+	0.720	(+/-)	-
18/2/41	แคนตาลูป (Cantaloup)/11.5°B	สระบุรี (หนองแค)	CT128-1	-	+	Basic	+	+	0.612	(+/-)	-
			CT128-2	-	+	Basic	+	+	0.570	(+/-)	-
18/2/41	แตงไทย (Musk-melon)/10.2°B	สระบุรี (หนองแค)	MM129-1	-	+	Basic	+	+	0.552	(+/-)	-
			MM129-2	-	+	Basic	+	+	0.564	(+/-)	-
18/2/41	กล้วยหอม (Banana)/18.2°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	BB150-1	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	10.51
			BB150-2	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	9.42
18/2/41	แตงโม (Watermelon)/9.0°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	WM151-1	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	10.25
			WM151-2	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	10.10
18/2/41	ขนุน (Jackfruit)/20.5°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	JF152-1	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	10.33
			JF152-2	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	10.31

°B, °Brix ; +, positive ; W, weak positive ; -, negative; NT, not test

ตารางที่ 4.1 (ต่อ)

วันที่	ชนิดของผลไม้/TSS	แหล่งที่มา	รหัสเชื้อ	Gram reaction	Catalase test	Oxidation of acetate	Oxidation of lactate	Ketogenesis from glycerol	Acid production in 3 days (%)	Growth at (37/40°C)	Cellulose production in 14 days (mm.)
20/2/41	กล้วยไข่ (Banana)/18.6°B	กรุงเทพฯ (พรานนก)	BS153-1	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	10.22
			BS153-2	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	9.25
20/2/41	แอปเปิ้ล (Apple)/11.8°B	กรุงเทพฯ (มหานาค)	AP154-1	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	9.53
			AP154-2	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	8.96
20/2/41	ลองกอง (Long-gong)/13.4°B	ปทุมธานี (รังสิต)	LD155-1	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	9.12
			LD155-2	-	+	Basic	+	+	NT	(+/-)	7.36
Acetobacter aceti subsp. *aceti*			TISTR 354	-	+	Basic	+	+	0.588	(+/-)	-
A. aceti subsp. *orleanensis*			TISTR 1054	-	+	Basic	+	+	0.174	(W/-)	-
A. pasteurianus			TISTR 1056	-	+	Basic	+	+	0.648	(+/-)	-
Gluconoacetobacter hansenii			TISTR 1054	-	+	Basic	+	+	0.132	(-/-)	-
Gluconoacetobacter liquefaciens			TISTR 1057	-	+	Basic	+	+	0.108	(-/-)	-
Gluconoacetobacter xylinus			TISTR 893	-	+	Basic	+	+	-	(W/-)	10.52
Gluconobacter cerinus			TISTR 756	-	+	ACID	-	+	0.012	(-/-)	-

°B, °Brix ; +, positive ; W, weak positive ; -, negative; NT, not test

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.2 ผลการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ของเชื้อ (ตารางที่ 4.2)

จากเชื้ออะซิติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้ 148 สายพันธุ์ (ตารางที่ 4.1) ได้คัดเลือกเชื้อตัวแทนเพียง 74 สายพันธุ์ ได้แก่ AP 59-1, BB 90-1, BM 92-1, BS 57-1, BS 57-2, BS 58-2, CA 75-1, CA 76-2, GR 23-1, GR 24-2, GV 73-1, GV 74-2, JF 113-1, JJ 63-1, JJ 64-1, KL 14-1, LD 97-1, LG 5-2, LG 6-1, LS 15-3, LS 16-1, MG 69-2, MG 70-2, OR 55-1, OR 55-2, OR 56-1, OR 95-1, OR 95-2, PA 83-1, PA 84-1, PF 124-2, PH 109-1, PY 114-1, RA 103-1, RB 2-1, RB 2-2, SG 110-1, SL 21-1, ST 106-2, TM 8-2, TR 19-1, TR 20-1, TR 20-2, WM 85-2, WM 86-1, CA 127-1, CA 127-2, CT 128-1, CT 128-2, GG 96-1, KL 13-2, MM 129-1, MM 129-2, MT 100-1, PF 124-2, SF 17-1, SF 18-1 และ TP 126-2, AP 154-1, AP 154-2, BB 150-1, BB 150-2, BS 153-1, BS 153-2, JF 152-1, JF 152-2, LD 155-1, LD 155-2, WM 151-1, WM 151-2, PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1 โดยอาศัยเกณฑ์การเป็นเชื้อตัวแทนของผลไม้ชนิดที่แตกต่างกัน ความสามารถในการผลิตกรดอะซิติกได้ปริมาณสูง ความสามารถในการผลิตเซลลูโลส การเจริญที่อุณหภูมิ 37 และ 40 °ซ. รวมทั้งความแตกต่างจากผลการทดสอบทางชีวเคมีของการสร้างไดไฮดรอกซีอะซิโตนจากกลีเซอรอล การออกซิไดส์อะซิเตทและแลคเตท ซึ่งจะคัดเลือกสายพันธุ์ที่มีและไม่มีความสามารถในการทดสอบเบื้องต้นดังกล่าวมาศึกษาต่อไป (ตารางที่ 4.1)

4.2.1 ผลการศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา การเจริญ และสรีรวิทยา

จากตารางที่ 4.2

- พบว่าเชื้อทั้ง 74 สายพันธุ์ ที่เลี้ยงบนอาหารวุ้น GEY-$CaCO_3$ (ภาคผนวก ก ข้อ 1.2) มีรูปร่างแท่งสั้น (Short rod) ย้อมติดสีแกรมลบ rod เซลล์มีขนาด 0.5-0.9 x 1.1-2.8 ไมครอน โคโลนีมีขนาดเล็กเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-2 มม. เชื้อ 70 สายพันธุ์มีแฟลกเจลลาเป็นแบบรอบเซลล์ (Peritrichous flagella) โดยเชื้อจำนวน 58 สายพันธุ์มีโคโลนีกลมขอบเรียบ สีครีมเข้ม ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *Acetobacter aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^T, *A. aceti* subsp. *orleanensis* TISTR 753^T, *A. pasteurianus* TISTR 1056^T และ *Gluconoacetobacter hansenii* TISTR 1054^T ส่วนเชื้ออีก12 สายพันธุ์มีโคโลนีกลมขอบเรียบ สีครีมเข้มและมีเมือกรอบโคโลนี แสดงให้เห็นว่าสามารถสร้างเซลลูโลสได้นั่นเอง ได้แก่สายพันธุ์ AP 154-1, AP 154-2, BB 150-1, BB 150-2, BS 153-1, BS 153-2, JF 152-1, JF 152-2, 155-1, LD 155-2, WM 151-1 และ WM 151-2 ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์ *Gluconoacetobacter xylinus* TISTR 893

เชื้อ 4 สายพันธุ์มีแฟลกเจลลาเป็นชนิดขั้วเซลล์ (Polar flagella) มีโคโลนีกลมขอบเรียบสีครีมเป็นมัน ได้แก่สายพันธุ์ PG 123-1, PG 123-2, PY 125-1 และ TP 126-1 ซึ่งมีลักษณะเหมือนกับสายพันธุ์มาตรฐาน *Gluconobacter cerinus* TISTR 756^T

- พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาล บนอาหารวุ้น GYC (ภาคผนวก ก ข้อ 1.19) และไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีกลูตามิค (ภาคผนวก ก ข้อ 1.20) และอาหารวุ้นโฮเยอร์-เฟรเทอร์ (ภาคผนวก ก ข้อ 1.21) แต่เชื้อทุกสายพันธุ์สามารถเจริญบนอาหารวุ้น MGYP (ภาคผนวก ก ข้อ 1.15)

- พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์สามารถเจริญที่ค่าความเป็นกรดเป็นด่าง 4.0, 4.5 และ 5.0 แต่บางสายพันธุ์ไม่สามารถเจริญได้ที่ระดับ 3.0, 3.5, 7.5 และ 8.0 ได้แก่สายพันธุ์ PF 124-2 และ PY 125-1 และจากข้อมูลพบว่าเชื้อตัวแทนที่คัดเลือกได้ส่วนใหญ่เจริญได้ที่ 37 °ซ. และโดยเฉพาะอย่างยิ่งเชื้อสายพันธุ์ GV 73-1, CA 75-1, CA 76-2 และ OR 56-1 สามารถเจริญได้ที่ 40°ซ.

- พบว่าไม่มีเชื้อสายพันธุ์ใดทนกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 3.0% เจริญได้ที่อุณหภูมิในการบ่ม 30 และ 37 °ซ. และการทดสอบการเจริญในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีเอธานอลเป็นองค์ประกอบ 8.0% พบว่าเชื้อเกือบทุกสายพันธุ์สามารถเจริญได้ทั้งที่ 30 และ 37 °ซ.

4.2.2 ผลการทดสอบลักษณะทางชีวเคมี

จากตารางที่ 4.2

- พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์สามารถสร้างเอนไซม์แคตาเลสและกรดกลูโคนิคได้เช่นเดียวกับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐานทุกสายพันธุ์

- พบว่าเชื้อจำนวนถึง 70 สายพันธุ์จาก 74 สายพันธุ์ สามารถออกซิไดส์เอทเทและอะซิเตทได้ โดยเปลี่ยนสีของอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีโบรโมไทมอลบลูเป็นอินดิเคเตอร์จากสีเขียวเป็นสีน้ำเงินได้หรือให้ผลการทดสอบเป็นเบสิค (Basic) ส่วนเชื้ออีก 4 สายพันธุ์จะไม่เปลี่ยนสีอินดิเคเตอร์ หรือออกไปทางสีเหลืองเล็กน้อย โดยให้ผลการทดสอบเป็นแอซิด (Acid) ได้แก่สายพันธุ์ PG 123-1, PG 123-2, PY 125-1 และ TP 126-1 ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *Gluconobacter cerinus* TISTR 756^T

- พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์สามารถผลิตกรด 2-คีโตกลูโคนิคได้แต่ไม่สามารถสร้างกรด 2, 5-ไดคีโตกลูโคนิค นอกจากนี้ยังพบว่าเชื้อ 45 สายพันธุ์ไม่สามารถสร้างกรด 5-คีโตกลูโคนิค ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *A. pasteurianus* TISTR 1056^T แต่เชื้อ 29 สายพันธุ์ ได้แก่ CA 127-1, CA 127-2, CT 128-1, CT 128-2, GG 96-1, KL 13-2, MM 129-1, MM 129-2, MT 100-1, PF 124-2, SF 17-1, SF 18-1, TP 126-2, AP 154-1, AP 154-2, BB 150-1, BB 150-2, BS 153-1, BS 153-2, JF 152-1, JF 152-2, LD 155-1, LD 155-2, WM 151-1, WM 151-2, PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1 สามารถสร้างกรด 5-คีโตกลูโคนิคได้

- พบว่าเชื้อ 70 สายพันธุ์ไม่สามารถใช้แมนนิทอล มีเพียง 4 สายพันธุ์เท่านั้นได้แก่ PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1 ที่สามารถใช้หรือเจริญบนอาหารที่มีแมนนิทอลเป็นองค์ประกอบได้ ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *Gluconobacter cerinus* TISTR 756^T

- พบว่าเชื้อ 34 สายพันธุ์ ให้ผลบวก หรือให้สีส้มภายหลังการหยดสารละลายเฟร์ริกลงและเชื้ออีก 40 สายพันธุ์ไม่เปลี่ยนแปลงหรือให้ผลลบกับการทดสอบ

- พบว่าเชื้อ 45 สายพันธุ์ให้ผลบวกคือให้สีชมพูถึงแดงภายหลังการทดสอบ ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *A. pasteurianus* TISTR 1056^T ส่วนอีก 29 สายพันธุ์ได้แก่ CA 127-1, CA 127-2, CT 128-1, CT 128-2, GG 96-1, KL 13-2, MM 129-1, MM 129-2, MT 100-1, PF 124-2, SF 17-1, SF 18-1, TP 126-2, AP 154-1, AP 154-2, BB 150-1, BB 150-2, BS 153-1, BS 153-2, JF 152-1, JF 152-2, LD 155-1, LD 155-2, WM 151-1, WM 151-2, PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1 ไม่เปลี่ยนแปลงสีหรือให้ผลลบกับการทดสอบ

- พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์สามารถผลิตกรดจาก ดี-กลูโคส และเอธานอลได้ แต่ไม่สามารถใช้แป้ง ดี-เมเลไซโตส แอล-ราฟฟิโนส ซาลิซิน แอล-แรมโนส ดี-ทรีฮาโลส และ เมธานอล มีเชื้อเพียง 4 สายพันธุ์เท่านั้นได้แก่ PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1 ที่สามารถผลิตกรดได้จากซอร์บิทอล และแมนนิทอลได้โดยจะเปลี่ยนสีโบรโมคลีซอล เพอร์เพิล จากสีม่วงเป็นสีเหลืองได้ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *Gluconobacter cerinus* TISTR 756^T

- พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ไม่สามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาล ซึ่งแตกต่างจากเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *Gluconoacetobacter liquefaciens* TISTR 1057^T ที่สามารถสร้างรงควัตถุสีน้ำตาลได้

ตารางที่ 4.2 ลักษณะทางฟีโนไทป์ของเชื้อที่คัดเลือก 74 สายพันธุ์

Characteristics / เชื้อ	RB2-1	RB2-2	LG5-2	LG6-1	TM8-2	KL13-2	KL14-1	LS15-3	LS16-1	SF17-1
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (μ)	0.6-0.7x1.8-2.0	0.7-0.8x1.8-2.2	0.6-0.8x1.8-2.4	0.6-0.8x2.0-2.2	0.7-0.8x2.2-2.4	0.6-0.8x2.2-2.4	0.6-0.8x2.4-2.5	0.6-0.8x2.6-2.8	0.6-0.7x2.2-2.4	0.6-0.8x1.8-2.0
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	peri.	NT	peri.	NT	peri.	NT	peri.	peri.	NT	NT
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ubiquinone type (major part)	Q-9	NT	Q-9	NT	Q-9	NT	Q-9	Q-9	NT	NT
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	+	+	+	+	+	-	+	+	+	-
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	-	-	-	-	-	+	-	-	-	+
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม
Mannitol agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 3.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	-	W	-	W	-	-	W	W	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	RB2-1	RB2-2	LG5-2	LG6-1	TM8-2	KL13-2	KL14-1	LS15-3	LS16-1	SF17-1
Acid from carbon sources:										
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	-	-	+	-	-	+	+	+	-	+
D-fructose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+
Glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	+	W	-	-	+	+	+	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :										
30°C, 72 hr	-	NT	-	NT	-	NT	-	-	NT	NT
37°C, 72 hr	-	NT	-	NT	-	NT	-	-	NT	NT
Growth in 8% ethanol :										
30°C, 24 hr	+	NT	+	NT	+	NT	+	+	NT	NT
37°C, 24 hr	+	NT	+	NT	+	NT	+	+	NT	NT

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	SF18-1	TR19-1	TR20-1	TR20-2	SL21-1	GR23-1	GR24-2	OR55-1	OR55-2	OR56-1
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (u)	0.6-0.7x2.0-2.2	0.5-0.8x2.1-2.4	0.5-0.8x2.0-2.2	0.6-0.8x1.8-2.5	0.6-0.8x1.8-2.0	0.6-0.8x1.8-2.2	0.6-0.8x2.0-2.2	0.6-0.8x2.0-2.4	0.6-0.7x1.7-1.9	0.5-0.7x1.8-2.0
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	peri.	peri.	NT	NT	NT	NT	peri.	NT	NT	peri.
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ubiquinone type (major part)	Q-9	Q-9	NT	NT	NT	NT	Q-9	NT	NT	Q9
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม
Mannitol agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	-	-	-	-	-	-	+	-	-
pH 3.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	-	W	W	-	-	W	W	W	W	+

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	SF18-1	TR19-1	TR20-1	TR20-2	SL21-1	GR23-1	GR24-2	OR55-1	OR55-2	OR56-1
Acid from carbon sources:										
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	-	+	+	+	+	+	-	+	+
D-fructose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	+	+	+	+	+	+	+	+	-	-
Glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	+	+	+	+	+	+	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	+	+	W	-	-	-	+
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	+	+	+	-	-	-	-	+	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :										
30°C, 72 hr	-	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	-
37°C, 72 hr	-	-	NT	NT	NT	NT	-	NT	NT	-
Growth in 8% ethanol :										
30°C, 24 hr	+	+	NT	NT	NT	NT	+	NT	NT	+
37°C, 24 hr	+	+	NT	NT	NT	NT	+	NT	NT	+

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	BS57-1	BS57-2	BS58-2	AP59-1	JJ63-1	JJ64-1	MG69-2	MG70-2	GV73-1	GV74-2
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (μ)	0.6-0.8x1.8-2.0	0.7-0.9x1.7-2.0	0.6-0.7x1.8-2.0	0.7-0.9x1.6-1.8	0.7-0.9x1.8-2.0	0.6-0.7x1.6-1.8	0.7-0.9x1.5-2.1	0.8-0.9x1.8-2.1	0.5-0.7x1.8-2.0	0.6-0.8x1.5-2.4
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	NT	NT	peri.	peri.	peri.	NT	peri.	NT	peri.	NT
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Ubiquinone type (major part)	NT	NT	Q-9	Q-9	Q-9	NT	Q-9	NT	Q-9	NT
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม
Mannitol agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	-	-	+	-	+	+	-	-	-
pH 3.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	W	W	W	W	W	W	-	-	+	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	BS57-1	BS57-2	BS58-2	AP59-1	JJ63-1	JJ64-1	MG69-2	MG70-2	GV73-1	GV74-2
Acid from carbon sources:										
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
D-fructose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	-	+	-	+	+	+	+	+	+	+
Glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	-	-	-	-	+	+	-	-	-	+
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	+	-	-	-	-	-	W	-	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	-	-	-	+	+	+	+	-	-	+
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :										
30°C, 72 hr	NT	NT	-	-	-	NT	-	NT	-	NT
37°C, 72 hr	NT	NT	-	-	-	NT	-	NT	-	NT
Growth in 8% ethanol :										
30°C, 24 hr	NT	NT	+	+	+	NT	+	NT	+	NT
37°C, 24 hr	NT	NT	+	+	+	NT	+	NT	+	NT

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	CA75-1	CA76-2	PA83-1	PA84-1	WM85-2	WM86-1	BB90-1	BM92-1	OR95-1	OR95-2
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (µ)	0.6-0.7x1.6-2.2	0.5-0.7x1.8-2.2	0.6-0.8X1.9-2.2	0.8-0.9x2.2-2.2	0.7-0.9x1.2-1.4	0.7-0.9x1.8-2.0	0.5-0.7x1.5-2.0	0.6-0.7x1.7-1.8	0.6-0.8x1.6-2.1	0.6-0.7x1.6-2.2
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	peri.	NT	peri.	NT	peri.	NT	peri.	peri.	peri.	NT
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	+	+
Ubiquinone type (major part)	Q-9	NT	Q-9	NT	Q-9	NT	Q-9	Q-9	Q-9	NT
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม
Mannitol agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	+	+	+	-	-	+	-	-	+	+
pH 3.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	+	+	-	-	-	-	-	-	W	W

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	CA75-1	CA76-2	PA83-1	PA84-1	WM85-2	WM86-1	BB90-1	BM92-1	OR95-1	OR95-2
Acid from carbon sources:										
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	+	+	+	+	+	+	+	+	-
D-fructose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannose	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	+	+	-	-	+	+	-	-	+	-
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	+	+	-	-	-	+	+	+	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :										
30°C, 72 hr	-	NT	-	NT	-	NT	-	-	-	NT
37°C, 72 hr	-	NT	-	NT	-	NT	-	-	-	NT
Growth in 8% ethanol :										
30°C, 24 hr	+	NT	+	NT	+	NT	+	+	+	NT
37°C, 24 hr	+	NT	+	NT	+	NT	+	+	+	NT

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	GG96-1	LD97-1	MT100-1	RA103-1	ST106-2	PH109-1	SG110-1	JF113-1	PY114-1
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (μ)	0.6-0.7x1.7-2.2	0.6-0.8x1.8-2.0	0.6-0.7x1.1-1.8	0.6-0.8x1.2-2.2	0.5-0.7x1.0-1.2	0.5-0.7x1.1-1.3	0.6-0.8x1.2-1.6	0.6-0.8x1.2-1.5	0.6-0.7x1.5-2.2
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	peri.	peri.	peri.	peri.	peri.	peri.	peri.	peri.	peri.
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	+	+	+	-	-	-	+	+	-
Ubiquinone type (major part)	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	-	+	-	+	+	+	+	+	+
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	+	-	+	-	-	-	-	-	-
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม
Mannitol agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	+	-	+	-	-	-	-	-
pH 3.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	W	W	W	W	W	W	W	W	W

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / ชื่อ	GG96-1	LD97-1	MT100-1	RA103-1	ST106-2	PH109-1	SG110-1	UF113-1	PY114-1
Acid from carbon sources:									
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	+	-	+	-	-	-	+	+
D-fructose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannose	+	+	+	+	+	+	-	+	+
D-mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	+	+	-	-	-	+	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	+	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-ribose	+	+	+	-	-	+	-	-	+
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :									
30°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
37°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 8% ethanol :									
30°C, 24 hr	+	+	+	+	+	+	+	+	+
37°C, 24 hr	+	+	+	+	+	+	+	+	+

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	PG123-1	PG123-2	PF124-1	PF124-2	PY125-1	TP126-1	TP126-2	CA127-1	CA127-2
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (μ)	0.6-0.8x1.5-2.1	0.5-0.8x1.5-2.0	0.5-0.6x1.6-1.8	0.5-0.6x1.8-2.0	0.5-0.7x2.1-2.8	0.6-0.8x2.2-2.6	0.7-0.9x2.7-3.0	0.8-0.39x2.2-2.	0.8-0.9x2.0-2.2
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	Polar	Polar	peri.	peri.	Polar	Polar	peri.	NT	peri.
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Acid	Acid	Basic	Basic	Acid	Acid	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	-	-	+	+	-	-	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ubiquinone type (major part)	Q10	Q10	Q9	Q9	Q10	Q10	Q9	NT	Q9
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	-	-	-	+	-	-	-	-	-
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	+	+	+	-	+	+	+	+	+
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมมัน	สีครีมมัน	สีครีมด้าน	สีครีมด้าน	สีครีมมัน	สีครีมมัน	สีครีมด้าน	สีครีมด้าน	สีครีมด้าน
Mannitol agar	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 3.5	+	+	-	-	-	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	-	-	+	-	-	-	+	+	+
pH 8.0	-	-	-	-	-	-	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	-	-	W	W	-	-	-	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / ไอโซเลต	PG123-1	PG123-2	PF124-1	PF124-2	PY125-1	TP126-1	TP126-2	CA127-1	CA127-2
Acid from carbon sources:									
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	+	+	+	-	-	+	+	+
D-fructose	+	+	-	-	-	-	-	-	+
D-galactose	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Glycerol	+	+	-	-	+	+	-	-	-
D-mannose	+	+	+	W	W	W	+	+	+
D-mannitol	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	W	W	-	-	W	W	-	-	W
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	+	+	+	+	-	-	+	+	+
Maltose	+	+	-	-	-	-	+	+	+
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	+	+	-	-	-	-	-	-	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	W	W	-	-	W	W	-	-	+
D-ribose	+	+	-	-	+	+	-	-	W
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	+	+	-	-	+	+	-	-	+
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	+	+	-	-	+	+	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :									
30°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-	-	NT	-
37°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-	-	NT	-
Growth in 8% ethanol :									
30°C, 24 hr	+	+	+	+	+	+	+	NT	+
37°C, 24 hr	+	+	+	+	+	+	+	NT	+

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	CT128-1	CT128-2	MM129-1	MM129-2	BB150-1	BB150-2	WM151-1	WM151-2	JF152-1	JF152-2
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (μ)	0.6-0.8x2.0-2.2	0.7-0.9x2.0-2.4	0.6-0.8x2.2-2.4	0.6-0.8x2.4-2.6	0.5-0.7x2.0-2.2	0.6-0.8x1.8-2.0	0.5-0.7x1.8-2.2	0.6-0.8x1.8-2.0	0.5-0.7x2.0-2.2	0.5-0.6x1.8-2.0
Motility	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	NT	peri.	NT	peri.	peri.	NT	peri.	NT	peri.	NT
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Ubiquinone type (major part)	NT	Q9	NT	Q9	Q10	NT	Q10	NT	Q10	NT
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Brown pigment	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Cellulose	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้มมีเมือก	สีครีมเข้มมีเมือก	สีครีมเข้มมีเมือก	สีครีมเข้มมีเมือก	สีครีมเข้มมีเมือก	สีครีมเข้มมีเมือก
Mannitol agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
pH 3.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	CT128-1	CT128-2	MM129-1	MM129-2	BB150-1	BB150-2	WM151-1	WM151-2	JF152-1	JF152-2
Acid from carbon sources:										
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
D-fructose	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	+	+	+	+	W	W	W	W	W	W
Glycerol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-mannose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
D-mannitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-	+	-	+	-
D-cellobiose	W	W	+	+	-	-	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
D-xylose	+	+	+	+	-	-	-	-	-	-
Maltose	+	+	-	+	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	+	+	-	-	W	+	+	W	W	W
D-ribose	W	W	-	-	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :										
30°C, 72 hr	NT	-	NT	-	-	-	-	-	-	-
37°C, 72 hr	NT	-	NT	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 8% ethanol :										
30°C, 24 hr	NT	+	NT	+	-	-	-	-	-	-
37°C, 24 hr	NT	+	NT	+	-	-	-	-	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	BS153-1	BS153-2	AP154-1	AP154-2	LD155-1	LD155-2
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (μ)	0.6-0.8x2.0-2.2	0.7-0.9x2.2-2.4	0.7-0.8x2.0-2.5	0.7-0.8x2.0-2.5	0.6-0.8x2.0-2.4	0.5-0.7x1.8-2.2
Motility	+	+	+	+	+	+
Flagellation	peri.	NT	peri.	NT	peri.	NT
Gram reaction	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	+
Ketogenesis from glycerol	+	+	+	+	+	+
Ubiquinone type (major part)	Q10	NT	Q10	NT	Q10	NT
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	-	-	-	-	-	-
Brown pigment	-	-	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	-	-
Cellulose	+	+	+	+	+	+
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมข้นมีเมือก	สีครีมข้นมีเมือก	สีครีมข้นมีเมือก	สีครีมข้นมีเมือก	สีครีมข้นมีเมือก	สีครีมข้นมีเมือก
Mannitol agar	+	+	+	+	+	+
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	+	+	+	+	+	+
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	-	-	-	-	-
pH 3.5	+	+	+	+	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	+	+	+	+	+	+
Temp 37°C	+	+	+	+	+	+
Temp 40°C	-	-	-	-	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	BS153-1	BS153-2	AP154-1	AP154-2	LD155-1	LD155-2
Acid from carbon sources:						
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	+	+	+	+	+
D-fructose	-	-	-	-	-	-
D-galactose	W	W	+	+	+	+
Glycerol	-	-	-	-	-	-
D-mannose	-	-	-	-	-	-
D-mannitol	-	-	-	-	-	-
Sucrose	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	-	-	-	-	-	-
Starch	-	-	-	-	-	-
D-xylose	-	-	-	-	-	-
Maltose	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-
Melibiose	-	-	-	-	-	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-
Esculin	+	+	+	+	W	W
D-ribose	-	-	-	-	-	-
Salicin	-	-	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	-	-	-	-	-	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	-
Growth in 3% acetic acid :						
30°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-
37°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-
Growth in 8% ethanol :						
30°C, 24 hr	-	-	-	-	-	-
37°C, 24 hr	-	-	-	-	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics / เชื้อ	TISTR 354 T	TISTR 753 T	TISTR 1054 T	TISTR1056 T	TISTR 1057 T	TISTR 756 T	TISTR 893
Cell form	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod	sh.rod
Cell size (µ)	0.6-0.7x1.5-2.0	0.6-0.8x1.2-2.1	0.6-0.7x1.5-3.0	0.6-0.8x1.3-2.2	0.6-0.7x1.5-2.0	0.7-0.8x1.6-2.0	0.5-0.7x1.7-2.0
Motility	+	+	+	+	+	+	+
Flagellation	peri.	peri.	peri.	peri.	peri.	Polar	peri.
Gram reaction	-	-	-	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Basic	Basic	Acid	Basic
Oxidation of lactate	+	+	+	+	+	-	+
Ketogenesis from glycerol	+	+	+	+	+	+	+
Ubiquinone type (major part)	Q9	Q9	Q10	Q9	Q10	Q10	Q10
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	-	-	-	+	-	-	-
Brown pigment	-	-	-	-	+	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	+	+	+	-	+	+	+
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-	+	-	-
Cellulose	-	-	-	-	-	-	+
Growth on : ลักษณะโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีน้ำตาลเข้ม	สีครีมเป็นมัน	สีครีมเข้มเมือก
Mannitol agar	-	-	-	-	-	+	-
Calcium lactate agar	+	+	+	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	+	-	-	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	-	-	-	-	-	-	-
pH 3.5	+	+	+	+	-	+	+
pH 4.0	+	+	+	+	+	+	+
pH 4.5	+	+	+	+	+	+	+
pH 5.0	+	+	+	+	+	+	+
pH 7.5	+	+	+	+	+	+	+
pH 8.0	-	+	+	+	-	+	+
Temp 37°C	+	W	-	+	-	-	W
Temp 40°C	-	-	-	-	-	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; peri., peritrichous ; sh.rod., short rod ; NT, not test

ตารางที่ 4.2 (ต่อ)

Characteristics	ITISTR 354^T	ITISTR 753^T	ITISTR 1054^T	ITISTR1056^T	ITISTR 1057^T	ITISTR 756^T	ITISTR 893
Acid from carbon sources:							
D-glucose (+ve control)	+	+	+	+	+	+	+
Basal medium (-ve control)	-	-	-	-	-	-	-
L-arabionse	+	+	+	-	+	+	+
D-fructose	-	-	-	-	-	-	-
D-galactose	-	-	-	-	-	-	+
Glycerol	-	-	-	-	-	+	-
D-mannose	+	+	+	-	+	+	-
D-mannitol	-	-	-	-	-	+	-
Sucrose	+	-	-	-	-	-	-
D-cellobiose	+	+	+	+	-	+	-
Starch	-	+	-	-	-	-	-
D-xylose	-	-	-	-	-	+	-
Maltose	-	-	-	-	-	-	-
D-melezitose	-	-	-	-	-	-	-
Meljbiose	W	W	W	-	+	-	-
L-raffinose	-	-	-	-	-	-	-
Esculin	-	W	W	-	W	+	W
D-ribose	+	+	+	-	+	+	-
Salicin	-	-	-	-	-	-	-
Rhamnose	-	-	-	-	-	-	-
L-sorbose	-	+	+	-	-	+	-
D-trehalose	-	-	-	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	-	-	+	-
Growth in 3% acetic acid :							
30°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-	-
37°C, 72 hr	-	-	-	-	-	-	-
Growth in 8% ethanol :							
30°C, 24 hr	-	-	-	+	-	-	-
37°C, 24 hr	-	-	-	+	-	-	-

+, positive ; W, weak positive ; -, negative ; NT, not test

จากผลการทดสอบทางสัณฐานวิทยา การเจริญ สรีรวิทยาและชีวเคมีสามารถจัดเชื้อทั้ง 74 สายพันธุ์ได้เป็น 4 กลุ่ม โดยทุกสายพันธุ์มีรูปร่างเป็น Short rod สามารถเคลื่อนที่ได้ เป็นแกรมลบ ให้ผลบวกกับการทดสอบแคตาเลส และสามารถผลิตกรดกลูโคนิคได้

โดยเชื้อกลุ่มที่ 1 มี 45 สายพันธุ์ กลุ่มที่ 2 มี 13 สายพันธุ์ ซึ่งทั้ง 2 กลุ่มมีลักษณะแฟลกเจลลาเป็นแบบรอบเซลล์ (Peritrichous flagella) และลักษณะโคโลนีบนอาหารวุ้น GEY-$CaCO_3$ มีลักษณะกลม สีครีมเข้ม มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 1-2 มม. นอกจากนี้ยังสามารถออกซิไดส์อะซิเตทและแลคเตท แต่อย่างไรก็ตามสามารถแยกเชื้อกลุ่มที่ 1 ออกจากกลุ่มที่ 2 ได้โดยอาศัยความแตกต่างในการสร้างอะซิติลเมทธิลคาร์บินอล (Acetyl methyl carbinol) หรือการทดสอบ VP รวมทั้งการสร้างกรด 5-คีโตกลูโคนิค (5-ketogluconic acid) ซึ่งเชื้อกลุ่มที่ 1 สามารถการสร้างสารอะซิติลเมทธิลคาร์บินอล หรือให้ผลการทดสอบ VP เป็นบวก แต่ไม่มีการสร้างกรด 5-คีโตกลูโคนิค แต่เชื้อในกลุ่มที่ 2 ให้ผลตรงกันข้าม จากลักษณะที่แตกต่างกันดังกล่าวทำให้แยกเชื้อทั้งสองกลุ่มออกจากกันได้

สำหรับการแยกเชื้อกลุ่มที่ 3 ออกจากกลุ่มที่ 4 จะอาศัยลักษณะของแฟลกเจลลา การออกซิไดส์อะซิเตทและแลคเตท การผลิตเซลลูโลส การเจริญบนอาหารแมนนิทอล รวมทั้งการผลิตกรดจากซอร์บิทอลและแมนนิทอล ซึ่งเชื้อกลุ่มที่ 3 นั้นมีลักษณะแฟลกเจลลาเป็นแบบรอบเซลล์ (Peritrichous flagella) สามารถออกซิไดส์อะซิเตทและแลคเตทได้ นอกจากนี้ยังผลิตเซลลูโลสได้ แต่ไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีแมนนิทอล และไม่สามารถผลิตกรดได้จากซอร์บิทอลและแมนนิทอล แต่สำหรับเชื้อกลุ่มที่ 4 นั้นให้ผลตรงกันข้าม โดยมีลักษณะแฟลกเจลลาเป็นแบบขั้วเซลล์ (Polar flagella) และจากลักษณะที่แตกต่างกันดังกล่าวทำให้แยกเชื้อกลุ่มที่ 3 ออกจากกลุ่มที่ 4 ออกจากกันได้ (ตารางที่ 4.3)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.3 ลักษณะของกลุ่มเชื้ออะซิติกแอซิดแบคทีเรียที่แยกได้

กลุ่มเชื้อ / Characteristics	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
Number of strains	45	13	12	4
Cell form	Short rod	Short rod	Short rod	Short rod
Cell size (μ)	0.5-0.9x1.1-2.8	0.5-0.9x1.1-3.0	0.5-0.9x1.8-2.5	0.5-0.8x1.5-2.8
Motility	+	+	+	+
Flagellation	Peritrichous	Peritrichous	Peritrichous	Polar
Gram reaction	-	-	-	-
Catalase test	+	+	+	+
Oxidation of acetate	Basic	Basic	Basic	Acid
Oxidation of lactate	+	+	-	-
Ketogenesis from glycerol	+8 / -37	+10 / -3	+	+
Ubiquinone type (Major part)	Q-9	Q-9	Q-10	Q-10
Formation of : Acetyl methyl carbinol (VP-test)	+	-	-	-
Brown pigment	-	-	-	-
Gluconic acid	+	+	+	+
2-ketogluconic acid	+	+	+	+
5-ketogluconic acid	-	+	+	+
2,5-diketogluconic acid	-	-	-	-
Cellulose	-	-	+	-
Growth on : ลักษณะสีโคโลนีบน GEY-agar	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม	สีครีมเข้ม, มีเมือก	สีครีมเป็นมัน
Mannitol agar	-	-	-	+
Calcium lactate agar	+	+	+	+
Glucose-Mannitol-Yeast extract agar	+	+	+	+
Glutamate agar	-	-	-	-
Hoyer-Frateur medium	-	-	-	-
Growth at : pH 3.0	+12 / -33	-	-	-
PH 3.5	+44 / -1	+12 / -1	+	+3 / -1
PH 4.0	+	+	+	+
PH 4.5	+	+	+	+
PH 5.0	+	+	+	+
PH 7.5	+44 / -1	+	+	-
PH 8.0	+44 / -1	+11 / -2	+	-
Temp 37 °C	+	+	+	+
Temp 40 °C	+4 / W26 / -15	W10 / -3	-	-

+, positive ; W, Weak positive ; -, negative

ตารางที่ 4.3 (ต่อ)

กลุ่มเชื้อ / Characteristics	กลุ่มที่ 1	กลุ่มที่ 2	กลุ่มที่ 3	กลุ่มที่ 4
Number of strains	45	13	12	4
D-glucose	+	+	+	+
L-arabionse	+31 / -14	+12 / -1	+	+2 / -2
D-fructose	-	+3 / -10	-	+2 / -2
D-galactose	+22 / -23	+11 / -2	+4 / W8	+2 / -2
Glycerol	-	-	-	+
D-mannose	+43 / W1 / -1	+	-	+2 / W2
D-mannitol	-	-	-	+
Sucrose	-	-	+2 / -10	-
D-cellobiose	+1 / -44	+5 / W3 / -5	-	W
Starch	-	-	-	-
D-xylose	+1 / -44	+8 / -5	-	+2 / W2
Maltose	-	+6 / -7	-	+2 / W2
D-melizitose	-	-	-	-
Melibiose	+10 / W3 / -32	-	-	+2 / -2
L-raffinose	-	-	-	-
Esculin	-	+3 / -10	+6 / W6	W
D-ribose	+17 / -28	+4 / W3 / -6	-	+
Salicin	-	-	-	-
L-rhamnose	-	-	-	-
L-sorbose	+1 / -44	+4 / -9	-	+
D-trehalose	-	-	-	-
Ethanol	+	+	+	+
Methanol	-	-	-	-
Sorbitol	-	-	-	+

+, positive ; W, Weak positive ; -, negative

4.3 ผลการศึกษาระบบยูบิควิโนน

จากผลการศึกษาระบบยูบิควิโนนสามารถแบ่งเชื้อได้เป็น 2 กลุ่มคือ กลุ่มแรกมีเชื้อจำนวน 38 สายพันธุ์มียูบิควิโนน ชนิด Q-9 ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *Acetobacter aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^T, *A. aceti* subsp. *orleanensis* TISTR 753^T และ *A. pasteurianus* TISTR 1056^T และมีเชื้ออีก 22 สายพันธุ์ซึ่งไม่ได้วิเคราะห์ระบบยูบิควิโนน แต่มีลักษณะทางฟีโนไทป์ใกล้เคียงกันจึงจัดไว้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ได้แก่สายพันธุ์ BS 57-1, BS 58-2, CA 76-2, GR 23-1, GV 74-2, JJ 64-1, LG 6-1, LS 16-1, MG 70-2, OR 55-2, OR 95-2, PA 84-1, RB 2-2, SL 21-1, TR 20-1, TR 20-2 , WM 86-1, CA 127-1, CT 128-1, KL 13-2, MM 129-1 และ SF 17-1

และกลุ่มที่ 2 มีเชื้อ 10 สายพันธุ์มียูบิควิโนนเป็นชนิด Q-10 ได้แก่ สายพันธุ์ AP 154-1, BB 150-1, BS 153-1, JF 152-1, LD 155-1, WM 151-1, PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1 ซึ่งมีลักษณะเหมือนสายพันธุ์มาตรฐาน *Gluconobacter cerinus* TISTR 756^T, *Gluconoacetobacter xylinus* TISTR 893, *Gluconoacetobacter hansenii* TISTR 1054^T และ *Gluconoacetobacter liquefaciens* TISTR 1057^T และมีเชื้ออีก 6 สายพันธุ์ซึ่งไม่ได้วิเคราะห์ระบบยูบิควิโนน แต่มีลักษณะทางฟีโนไทป์ใกล้เคียงกันจึงจัดไว้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน ได้แก่สายพันธุ์ BB 150-2, BS 153-2, JF 152-2, LD 155-2, WM 151-2 และ AP 154-2 ดังตารางที่ 4.2-4.3

จากผลการศึกษาลักษณะทางฟีโนไทป์ และระบบยูบิควิโนนของเชื้อตัวแทนทั้ง 74 สายพันธุ์ มาเทียบกับผลของสายพันธุ์มาตรฐาน ทำให้เห็นผลการแบ่งกลุ่มและบ่งบอกลักษณะสายพันธุ์ได้ชัดเจนขึ้น รวมทั้งอาศัยแนวทางการจัดจำแนกของ Holt (1994) ; Yamada และคณะ (1997) และ Stackebrandt (1998) สามารถแบ่งเชื้อได้เป็น 4 กลุ่ม ดังผลในตารางที่ 4.4 คือ

กลุ่มที่ 1 ประกอบด้วยเชื้อจำนวน 45 สายพันธุ์ ได้แก่ AP 59-1, BB 90-1, BM 92-1, BS 57-1, BS 57-2, BS 58-2, CA 75-1, CA 76-2, GR 23-1, GR 24-2, GV 73-1, GV 74-2, JF 113-1, JJ 63-1, JJ 64-1, KL 14-1, LD 97-1, LG 5-2, LG 6-1, LS 15-3, LS 16-1, MG 69-2, MG 70-2, OR 55-1, OR 55-2, OR 56-1, OR 95-1, OR 95-2, PA 83-1, PA 84-1, PF 124-2, PH 109-1, PY 114-1, RA 103-1, RB 2-1, RB 2-2, SG 110-1, SL 21-1, ST 106-2, TM 8-2, TR 19-1, TR 20-1, TR 20-2, WM 85-2 และ WM 86-1 เชื้อกลุ่มนี้มีลักษณะเหมือนกับสายพันธุ์มาตรฐาน *A. pasteurianus* TISTR 1056^T และลักษณะเด่นที่แตกต่างจากเชื้อกลุ่มอื่นตรงที่สามารถสร้างสารอะซิติลเมทธิลคาร์บินอลได้ หรือให้ผลบวกกับการทดสอบ VP

กลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยเชื้อจำนวน 13 สายพันธุ์ ได้แก่ CA 127-1, CA 127-2, CT 128-1, CT 128-2, GG 96-1, KL 13-2, MM 129-1, MM 129-2, MT 100-1, PF 124-2, SF 17-1, SF 18-1 และ TP 126-2 เชื้อกลุ่มนี้มีลักษณะเหมือนกับสายพันธุ์มาตรฐาน *A. aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^{T} และ *A. aceti* subsp. *orleanensis* TISTR 753^{T} แต่มีความใกล้เคียงกับเชื้อ *A. aceti* subsp. *orleanensis* TISTR 753^{T} มากกว่าตรงที่สามารถเจริญบนอาหารวุ้น ไฮเยอร์-เฟรเทอร์ ได้

กลุ่มที่ 3 ประกอบด้วยเชื้อจำนวน 12 สายพันธุ์ ได้แก่ AP 154-1, AP 154-2, BB 150-1, BB 150-2, BS 153-1, BS 153-2, JF 152-1, JF 152-2, LD 155-1, LD 155-2, WM 151-1 และ WM 151-2 เชื้อกลุ่มนี้มีลักษณะเหมือนกับเชื้อ *Gluconoacetobacter xylinus* TISTR 893 และมีลักษณะเด่นที่แตกต่างจากเชื้อกลุ่มอื่นตรงที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้

และ กลุ่มที่ 4 ประกอบด้วยเชื้อจำนวน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1เชื้อกลุ่มนี้มีลักษณะเหมือนกับสายพันธุ์ *Gluconobacter cerinus* TISTR 756^{T} และมีลักษณะเด่นที่แตกต่างจากเชื้อกลุ่มอื่นตรงที่สามารถผลิตกรดจากซอร์บิทอลและแมนนิทอลได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.4 ลักษณะความแตกต่างของเชื้อสายพันธุ์ที่แยกได้เปรียบเทียบกับเชื้อมาตรฐาน

Characteristics / ชื่อและกลุ่มเชื้อ	*Acetobacter pasteurianus* TISTR 1056^T	Group 1 (45 สายพันธุ์) [1]	*A. aceti* subsp. *orleanensis* TISTR 753^T	Group 2 (13 สายพันธุ์) [2]	*A. aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^T	*Gluconoacetobacter xylinus* TISTR 893	Group 3 (12 สายพันธุ์) [3]	*Gluconobacter cerinus* TISTR 756^T	Group 4 (4 สายพันธุ์) [4]	*Gluconoacetobacter liquefaciens* TISTR 1057^T	*Gluconoacetobacter hansenii* TISTR 1054^T
Flagellation	Peri.	Peri.	Peri.	Peri.	Peri.	Peri.	Peri.	Polar	Polar	Peri.	Peri.
Color of colony on GYPG agar	สีครีมเข้มเป็นมัน	สีครีมเข้มเป็นมัน	สีครีมเข้มเป็นมัน	สีครีมเข้มเป็นมัน	สีครีมเข้มเป็นมัน	สีครีมเข้ม, มีเมือก	สีครีมเข้ม, มีเมือก	สีครีมเป็นมัน	สีครีมเป็นมัน	สีน้ำตาล	สีครีมเข้มเป็นมัน
Acetate & lactate oxidation	+	+	+	+	+	+	+	-	-	+	+
Ubiquinone analysis	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9	Q-9	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10	Q-10
VP-test	+	+	-	-	-	-	-	-	-	-	-
5-ketogluconic formation	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	+
Growth on Hoyer-Frateur	-	-	-	-	+	-	-	-	-	-	-
Cellulose formation	-	-	-	-	-	+	+	-	-	-	-
Acid formation from D-Mannitol and D-Sorbitol	-	-	-	-	-	-	-	+	+	-	-
Brown pigment formation	-	-	-	-	-	-	-	-	-	+	-
Growth on Methanol	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-

[1] เชื้อกลุ่มที่ 1 มี 45 สายพันธุ์ ดังนี้ AP 59-1, BB 90-1, BM 92-1, BS 57-1, BS 57-2, BS 58-2, CA 75-1, CA 76-2, GR 23-1, GR 24-2, GV 73-1, GV 74-2, JF 113-1, JJ 63-1, JJ 64-1, KL 14-1, LD 97-1, LG 5-2, LG 6-1, LS 15-3, LS 16-1, MG 69-2, MG 70-2, OR 55-1, OR 55-2, OR 56-1, OR 95-1, OR 95-2, PA 83-1, PA 84-1, PF 124-2, PH 109-1, PY 114-1, RA 103-1, RB 2-1, RB 2-2, SG 110-1, SL 21-1, ST 106-2, TM 8-2, TR 19-1, TR 20-1, TR 20-2, WM 85-2 และ WM 86-1

[2] เชื้อกลุ่มที่ 2 มี 13 สายพันธุ์ ดังนี้ CA 127-1, CA 127-2, CT 128-1, CT 128-2, GG 96-1, KL 13-2, MM 129-1, MM 129-2, MT 100-1, PF124-2, SF 17-1, SF 18-1 และ TP 126-2

[3] เชื้อกลุ่มที่ 3 มี 12 สายพันธุ์ ดังนี้ AP 154-1, AP 154-2, BB 150-1, BB 150-2, BS 153-1, BS 153-2, JF 152-1, JF 152-2, LD 155-1, LD 155-2, WM 151-1 และ WM 151-2

[4] เชื้อกลุ่มที่ 4 มี 4 สายพันธุ์ ดังนี้ PG 123-1, PG 123-2, PY 125-2 และ TP 126-1

การแสดงการกระจายเชื้อทั้ง 74 สายพันธุ์ ที่แยกได้จากผลไม้ชนิดต่างๆ 34 ชนิด (ตารางที่ 4.5) เชื้อที่แยกได้ส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มที่ 1 หรือ *A. pasteurianus* ซึ่งพบได้ในผลไม้เกือบทุกชนิดที่ใช้แยก ได้แก่ มะขามเปรี้ยว ละมุด ขนุน มะม่วง องุ่นแดง ลำไย กล้วยหอม กล้วยน้ำว้า กล้วยไข่ พุทรา น้อยหน่า สตรอเบอรี่ สับปะรด เงาะ ลองกอง ลางสาด มะละกอ ท้อ แตงโม ส้มเขียวหวาน มะยม ชมพู่ มะขามเทศ มะกรูด เสาวรส ฝรั่ง และแอปเปิ้ล

สำหรับเชื้อในกลุ่มที่ 2 หรือ *A. aceti* พบได้ใน องุ่นเขียว มังคุด น้อยโหน่ง มะเฟือง แคนตาลูป แตงไทย มะขามเทศ มะกรูด และเสาวรส

สำหรับเชื้อในกลุ่มที่ 3 หรือ *Gluconoacetobacter xylinus* พบได้ใน ขนุน กล้วยหอม กล้วยไข่ ลองกอง แอปเปิ้ล และแตงโม

และสำหรับเชื้อในกลุ่มที่ 4 หรือ *Gluconobacter* sp. พบได้ใน มะละกอ ทับทิม และมะขามเทศ

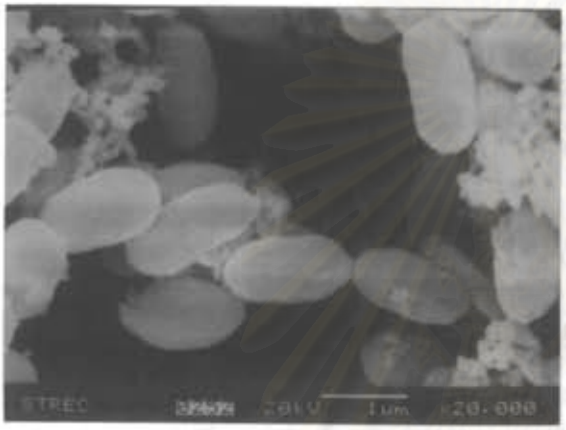
ตารางที่ 4.5 การกระจายของเชื้ออะซิติกแอซิดแบคทีเรียในผลไม้ชนิดต่างๆ

ชนิดของผลไม้	รหัสเชื้อ			กลุ่ม	ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์
มะขามเปรี้ยว (Tamarind)	TR19-1	TR20-1	TR20-2	1	*Acetobacter pasteurianus*
ละมุด (Sapodilla)	SL21-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
ขนุน (Jackfruit)	JF113-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
	JF152-1	JF152-2		3	*Gluconoacetobacter xylinus*
มะม่วง (Mango)	MG69-2	MG70-2		1	*Acetobacter pasteurianus*
องุ่นแดง (Grape)	GR23-1	GR24-2		1	*Acetobacter pasteurianus*
องุ่นเขียว	GG96-1			2	*Acetobacter aceti*
ลำไย (Longan fruit)	LG5-2	LG6-1		1	*Acetobacter pasteurianus*
กล้วยหอม (Banana)	BB90-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
	BB150-1	BB150-2		3	*Gluconoacetobacter xylinus*
กล้วยน้ำว้า	BM92-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
กล้วยไข่	BS57-1	BS57-2	BS58-2	1	*Acetobacter pasteurianus*
	BS153-1	BS153-2		3	*Gluconoacetobacter xylinus*
มังคุด (Mangosteen)	MT100-1			2	*Acetobacter aceti*
พุทรา (Jujube)	JJ63-1	JJ64-1		1	*Acetobacter pasteurianus*
น้อยหน่า (Custard apple)	CA75-1	CA76-2		1	*Acetobacter pasteurianus*
น้อยโหน่ง (Custard apple)	CA127-1	CA127-2		2	*Acetobacter aceti*

ตารางที่ 4.5 (ต่อ)

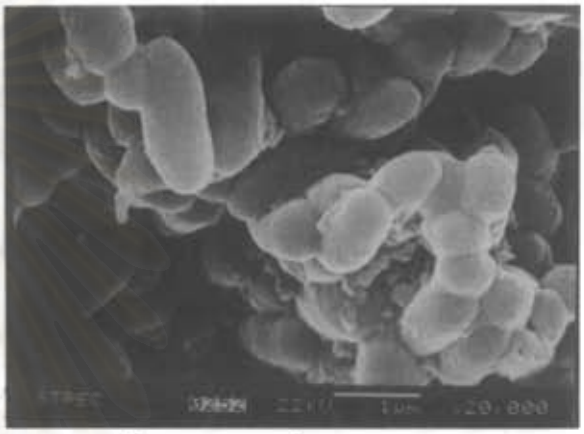
ชนิดของผลไม้	รหัสเชื้อ			กลุ่ม	ผลการพิสูจน์เอกลักษณ์
สตรอเบอรี่ (Strawberry)	ST106-2			1	*Acetobacter pasteurianus*
มะเฟือง (Star fruit)	SF17-1	SF18-1		2	*Acetobacter aceti*
สับปะรด (Pineapple)	PA83-1	PA84-1		1	*Acetobacter pasteurianus*
เงาะ (Rambutan)	RB2-1	RB2-2		1	*Acetobacter pasteurianus*
ลองกอง (Long-gong)	LD97-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
	LD155-1	LD155-2		3	*Gluconoacetobacter xylinus*
ลางสาด (Lansat)	LS15-3	LS16-1		1	*Acetobacter pasteurianus*
มะละกอ (Papaya)	PY114-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
	PY125-1			4	*Gluconobacter* sp.
ท้อ (Peach)	PH109-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
แคนตาลูป (Cantaloup)	CT128-1	CT128-2		2	*Acetobacter aceti*
ทับทิม (Pomegranate)	PG123-1	PG123-2		4	*Gluconobacter* sp.
แตงไทย (Musk-melon)	MM129-1	MM129-2		2	*Acetobacter aceti*
แตงโม (Watermelon)	WM85-2	WM86-1		1	*Acetobacter pasteurianus*
	WM151-1	WM151-2		3	*Gluconoacetobacter xylinus*
ส้มเขียวหวาน (Orange)	OR55-1	OR55-2	OR56-1	1	*Acetobacter pasteurianus*
	OR95-1	OR95-2		1	*Acetobacter pasteurianus*
มะยม (Star gooseberry)	SG110-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
ชมพู่ (Rose apple)	RA103-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
มะขามเทศ (Tamarind pod)	TP126-2			2	*Acetobacter aceti*
	TP126-1			4	*Gluconobacter* sp.
มะเขือเทศ (Tomato)	TM8-2			1	*Acetobacter pasteurianus*
มะกรูด (Kaffir lime)	KL14-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
	KL13-2			2	*Acetobacter aceti*
เสาวรส (Passion fruit)	PF124-2			1	*Acetobacter pasteurianus*
	PF124-1			2	*Acetobacter aceti*
ฝรั่ง (Guava)	GV73-1	GV74-2		1	*Acetobacter pasteurianus*
แอปเปิ้ล (Apple)	AP59-1			1	*Acetobacter pasteurianus*
	AP154-1	AP154-2		3	*Gluconoacetobacter xylinus*

ภายหลังการพิสูจน์เอกลักษณ์และแบ่งกลุ่มของเชื้อแล้ว ได้นำเชื้อ 1 สายพันธุ์จากแต่ละกลุ่มไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน (SEM) ผลแสดงดังรูปที่ 4.1



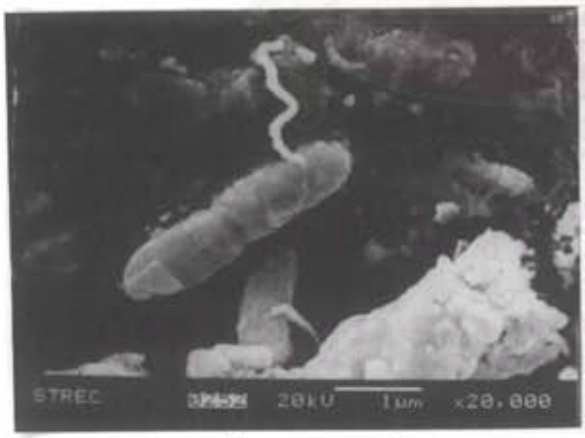
เชื้อตัวแทนกลุ่มที่ 1

Acetobacter pasteurianus OR 56-1



เชื้อตัวแทนกลุ่มที่ 2

Acetobacter aceti SF 18-1



เชื้อตัวแทนกลุ่มที่ 3

Gluconoacetobacter xylinus BN 150-1

เชื้อตัวแทนกลุ่มที่ 4

Gluconobacter sp. PY 125-1

รูปที่ 4.1 Scanning electron micrograph ของเชื้อตัวแทนแต่ละกลุ่มที่แยกได้

พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ คือ *Acetobacter pasteurianus* OR 56-1, *A. aceti* SF 18-1, *Gluconoacetobacter xylinus* BB 150-1 และ *Gluconobacter* sp. PY 125-1 มีลักษณะเป็น Short rod แต่สำหรับสายพันธุ์ *Gluconoacetobacter xylinus* BB 150-1 นั้นจะแยกออกจากกลุ่มอื่นได้ชัดเจน เพราะมีการสร้างสายของเซลลูโลส

4.4 ผลการคัดเลือกเชื้อที่ผลิตกรดอะซิติกหรือเซลลูโลสปริมาณสูง

จากการศึกษาการผลิตกรดและเซลลูโลสของเชื้อทุกสายพันธุ์ที่แยกได้จากตารางที่ 4.1

4.4.1 ผลการคัดเลือกเชื้อที่ผลิตกรดอะซิติกได้ปริมาณสูง

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นว่าตัวอย่างเชื้อ *Acetobacter pasteurianus* GR 24-2, OR 56-1, BS 58-2 และ MG 69-2 รวมทั้งเชื้อ *Acetobacter aceti* SF 18-1 สามารถผลิตกรดได้สูงสุด 5 อันดับแรกจากทุกสายพันธุ์ที่แยกได้ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์ผลิตกรดได้อยู่ในช่วง 1.140-1.452 % และยังเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง จึงนำเชื้อที่คัดเลือกได้นี้ไปศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตกรดอะซิติกในขั้นตอนการดำเนินการวิจัยต่อไป การเจริญของเชื้อแต่ละตัว และปริมาณกรดที่ผลิตได้สรุปได้ดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 การเจริญและปริมาณกรดที่ผลิตของสายพันธุ์ที่จะนำไปศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรด

การเจริญที่อุณหภูมิต่างๆ	เชื้อที่มีคุณสมบัติเหมาะสมในการผลิตกรด				
	SF 18-1	GR 24-2	OR 56-1	BS 58-2	MG 69-2
: 30 °ซ.	+	+	+	+	+
: 37 °ซ.	+	+	+	+	+
: 40 °ซ.	W	W	+	W	-
ปริมาณกรดที่ผลิตได้ (%) ในอาหารที่มีเอธานอล 4%	1.290	1.248	1.200	1.452	1.140

+, positive ; W, weak positive ; -, negative

4.4.2 ผลการคัดเลือกเชื้อที่ผลิตเซลลูโลสได้ปริมาณสูง

จากตารางที่ 4.1 จะเห็นว่าตัวอย่างเชื้อ *Gluconoacetobacter xylinus* BB 150-1, MM 151-1, JF 152-1, BS 153-1, AP 154-1 และ LD 155-1 สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุด 6 อันดับแรกจากทุกสายพันธุ์ที่แยกได้ ซึ่งแต่ละสายพันธุ์ผลิตเซลลูโลสได้หนาอยู่ในช่วง 9.53-10.51 มม. จึงนำเชื้อที่คัดเลือกได้นี้ไปศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเซลลูโลสในขั้นตอนการดำเนินการวิจัยต่อไป การผลิตเซลลูโลสของแต่ละสายพันธุ์สรุปได้ดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ความหนาของชั้นเซลลูโลสจากเชื้อซึ่งจะนำไปศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเซลลูโลส

เชื้อตัวแทนที่มีคุณสมบัติเหมาะสม	เซลลูโลสที่ผลิตได้ (มม.)
BB 150-1	10.51
MM 151-1	10.25
JF 152-1	10.33
BS 153-1	10.22
AP 154-1	9.53
LD 155-1	9.12

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.5 ผลการศึกษาภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก

จากทดลองนี้ได้ทดลองกับเชื้อ 5 สายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้จากข้อ 4.4.1 คือ *Acetobacter pasteurianus* GR 24-2, OR 56-1, BS 58-2 และ MG 69-2 รวมทั้งสายพันธุ์ *A. aceti* SF 18-1 เปรียบเทียบกับสายพันธุ์มาตรฐาน *A. aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^{T} เพื่อศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตกรดอะซิติก ในวันที่ 3 ของการหมัก

4.5.1 ผลการศึกษาปริมาณเอธานอลเริ่มต้นที่เหมาะสม

เมื่อแปรปริมาณเอธานอลเป็น 0, 2.0, 4.0, 6.0 และ 8.0% v/v ในอาหารพื้นฐาน (Basal medium) ซึ่งประกอบด้วยผงยีสต์สกัด 0.5% ทำการหมักในเครื่องเขย่าแบบหมุนที่อัตรา 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิในการหมักที่ 30 °ซ. พบว่าทุกระดับความเข้มข้นของเอธานอลที่เติมจะทำให้การผลิตกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการหมัก ยกเว้นทรีทเมนต์ (Treatment) ที่ไม่ได้ใช้เอธานอล (ตารางที่ 4.8) พบว่าที่ความเข้มข้นของการเติมเอธานอล 4.0% จะมีการผลิตกรดอะซิติกสูงสุด ดังนี้

สายพันธุ์ SF 18-1 สามารถผลิตกรดได้ 1.448 $\pm$ 0.042%
สายพันธุ์ GR 24-2 สามารถผลิตกรดได้ 1.659 $\pm$ 0.017%
สายพันธุ์ OR 56-1 สามารถผลิตกรดได้ 1.479 $\pm$ 0.052%
สายพันธุ์ BS 58-2 สามารถผลิตกรดได้ 1.376 $\pm$ 0.093%
สายพันธุ์ MG 69-2 สามารถผลิตกรดได้ 1.340 $\pm$ 0.042% และ
สายพันธุ์ *A. aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^{T} สามารถผลิตกรดได้ 1.166 $\pm$ 0.017%

จะพบว่าที่ภาวะและเวลาการหมักเดียวกัน เชื้อสายพันธุ์ GR 24-2 สามารถผลิตกรดได้สูงกว่าทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง แต่ก็ไม่ต่างจากสายพันธุ์ OR 56-1 และ SF 18-1 มากนัก ส่วนสายพันธุ์ *A. aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^{T} ผลิตกรดได้ต่ำที่สุด และพบว่าทุกสายพันธุ์สามารถผลิตกรดได้สูงสุดเมื่อเติมเอธานอล 4.0% และการเติมเอธานอลที่ 4.0% จะทำให้การผลิตกรดของทุกสายพันธุ์สูงกว่าการเติมเอธานอลที่ระดับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) จึงเลือกการเติมเอธานอลที่ระดับความเข้มข้น 4.0% มาเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และศึกษาการแปรปริมาณกรดอะซิติกเริ่มต้นต่อไป

ตารางที่ 4.8 ผลของเอธานอลที่เติมต่อปริมาณกรดอะซิติก (%) ที่ผลิตได้ในภาวะเขย่าจากเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ

	เชื้อสายพันธุ์ SF 18-1			เชื้อสายพันธุ์ GR 24-2			เชื้อสายพันธุ์ OR 56-1		
เอธานอลที่เติม (%w/w)	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
0%	0.000± 0.000	0.000± 0.000	0.000^{d}± 0.000	0.000± 0.000	0.000± 0.000	0.000^{d}± 0.000	0.000± 0.000	0.000± 0.000	0.000^{d}± 0.000
2%	0.210± 0.008	0.847± 0.025	0.938^{b}± 0.017	0.210± 0.025	0.896± 0.043	0.998^{c}± 0.051	0.282± 0.008	1.082± 0.034	1.256^{b}± 0.042
4%	0.301± 0.034	1.238± 0.068	1.448^{a}± 0.042	0.355± 0.025	1.442± 0.051	1.659^{a}± 0.017	0.367± 0.042	1.256± 0.042	1.479^{a}± 0.052
6%	0.222± 0.025	0.823± 0.025	0.944^{b}± 0.008	0.186± 0.042	1.058± 0.170	1.118^{b}± 0.017	0.222± 0.042	0.956± 0.042	1.052^{c}± 0.026
8%	0.186± 0.008	0.775± 0.042	0.823^{c}± 0.025	0.210± 0.008	0.974± 0.034	1.016^{c}± 0.042	0.240± 0.034	0.835± 0.042	1.004^{c}± 0.009

	เชื้อสายพันธุ์ BS 58-2			เชื้อสายพันธุ์ MG 69-2			เชื้อสายพันธุ์ TISTR 354^{T}		
เอธานอลที่เติม (%w/w)	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
0%	0.000± 0.000	0.000± 0.000	0.000^{c}± 0.000	0.000± 0.000	0.000± 0.000	0.000^{c}± 0.000	0.000± 0.000	0.000± 0.000	0.000^{c}± 0.000
2%	0.271± 0.043	0.595± 0.042	0.757^{b}± 0.017	0.222± 0.026	0.595± 0.042	0.884^{b}± 0.077	0.114± 0.009	0.649± 0.034	0.950^{b}± 0.017
4%	0.379± 0.009	1.034± 0.017	1.376^{a}± 0.093	0.415± 0.042	1.136± 0.042	1.340^{a}± 0.042	0.252± 0.017	0.944± 0.026	1.166^{a}± 0.017
6%	0.337± 0.017	0.691± 0.026	0.769^{b}± 0.034	0.150± 0.009	0.595± 0.009	0.661^{c}± 0.017	0.138± 0.026	0.493± 0.017	0.625^{c}± 0.034
8%	0.110± 0.032	0.637± 0.017	0.679^{b}± 0.009	0.132± 0.034	0.216± 0.017	0.343^{d}± 0.009	0.222± 0.009	0.295± 0.026	0.337^{d}± 0.017

a, b...ตัวเลขในแถวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันอย่างน้อยหนึ่งตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

4.5.2 ผลการศึกษาการใช้ปริมาณกรดอะซิติกเริ่มต้นที่เหมาะสม

เมื่อแปรปริมาณกรดอะซิติกเป็น 0, 0.5, 1.0, 1.5 และ 2.0% v/v ในอาหารพื้นฐาน (Basal medium) ซึ่งประกอบด้วยผงยีสต์สกัด 0.5% เอธานอล 4.0% ทำการหมักในเครื่องเขย่าแบบหมุนที่อัตรา 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิในการหมักที่ 30 °ซ. พบว่าที่ระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่ใช้ คือ ที่ 0.5, 1.0 และ 1.5% จะทำให้การผลิตกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการหมัก และผลิตกรดสูงกว่าการเติมเอธานอล 4.0% เพียงอย่างเดียว แต่ยกเว้นทรีทเมนต์ที่เติมกรดอะซิติก 2.0% (ตารางที่ 4.9) ซึ่งทำให้การผลิตกรดลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของกรดเริ่มต้นสูงเกินไปจึงมีผลต่อการเจริญของเชื้อ ทำให้มีการเจริญและผลิตกรดลดลง

และพบว่าสายพันธุ์ SF 18-1 และ GR 24-1 สามารถผลิตกรดได้สูงสุดเมื่อเติมกรดอะซิติก 0.5% และการเติมกรดอะซิติก 0.5% นี้จะทำให้การผลิตกรดของทั้ง 2 สายพันธุ์นี้สูงกว่าการเติมกรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 0.5% มาเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

แต่สำหรับสายพันธุ์ OR 56-1, BS 58-2, MG 69-2 และ *A. aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^T สามารถผลิตกรดได้สูงสุดเมื่อเติมกรดอะซิติก 1.0% และการเติมกรดอะซิติก 1.0% นี้จะทำให้การผลิตกรดของทั้ง 4 สายพันธุ์นี้สูงกว่าการเติมกรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดอะซิติกที่ระดับความเข้มข้น 1.0% มาเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และศึกษาการแปรปริมาณกรดคาซามิโนเริ่มต้นต่อไป

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.9 ผลของกรดอะซิติกที่เติมต่อปริมาณกรดอะซิติก (%) ที่ผลิตได้ในภาวะเขย่าจากเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ

กรดอะซิติกที่เติม (%w/w)	เชื้อสายพันธุ์ SF 18-1			เชื้อสายพันธุ์ GR 24-2			เชื้อสายพันธุ์ OR 56-1		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
0%	0.944 ± 0.042	1.328 ± 0.076	1.647^{b} ± 0.034	0.703 ± 0.009	1.382 ± 0.051	1.629^{b} ± 0.009	0.884 ± 0.026	1.304 ± 0.059	1.491^{bc} ± 0.137
0.5%	1.058 ± 0.051	1.545 ± 0.111	1.881^{a} ± 0.076	0.896 ± 0.026	1.785 ± 0.059	2.512^{a} ± 0.119	0.890 ± 0.018	1.322 ± 0.017	1.672^{b} ± 0.069
1.0%	0.878 ± 0.035	1.292 ± 0.042	1.557^{b} ± 0.009	0.631 ± 0.009	1.442 ± 0.017	1.689^{b} ± 0.076	0.926 ± 0.034	1.407 ± 0.255	2.047^{a} ± 0.081
1.5%	0.805 ± 0.034	1.166 ± 0.034	1.424^{c} ± 0.042	0.547 ± 0.059	1.082 ± 0.017	1.262^{c} ± 0.051	0.793 ± 0.051	1.202 ± 0.187	1.671^{b} ± 0.221
2.0%	0.613 ± 0.017	0.721 ± 0.017	0.884^{d} ± 0.026	0.529 ± 0.034	0.847 ± 0.026	1.016^{d} ± 0.055	0.673 ± 0.017	1.064 ± 0.059	1.178^{c} ± 0.034

กรดอะซิติกที่เติม (%w/w)	เชื้อสายพันธุ์ BS 58-2			เชื้อสายพันธุ์ MG 69-2			เชื้อสายพันธุ์ TISTR 354^{T}		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
0%	0.445 ± 0.017	0.920 ± 0.060	1.424^{c} ± 0.042	0.493 ± 0.017	1.088 ± 0.076	1.551^{c} ± 0.051	0.691 ± 0.009	0.944 ± 0.111	1.304^{d} ± 0.042
0.5%	0.727 ± 0.076	1.376 ± 0.144	1.960^{b} ± 0.153	0.691 ± 0.026	1.563 ± 0.085	2.275^{b} ± 0.035	0.679 ± 0.009	1.040 ± 0.009	1.515^{c} ± 0.052
1.0%	0.920 ± 0.009	1.665 ± 0.076	2.410^{a} ± 0.076	0.944 ± 0.059	1.671 ± 0.068	2.550^{a} ± 0.014	0.914 ± 0.000	1.328 ± 0.026	1.833^{a} ± 0.059
1.5%	0.523 ± 0.042	0.914 ± 0.000	1.178^{d} ± 0.017	0.625 ± 0.017	1.070 ± 0.000	1.389^{e} ± 0.162	0.691 ± 0.026	1.208 ± 0.076	1.653^{b} ± 0.026
2.0%	0.391 ± 0.059	0.649 ± 0.034	0.811^{e} ± 0.026	0.511 ± 0.110	0.902 ± 0.052	1.028^{d} ± 0.009	0.427 ± 0.059	0.691 ± 0.026	0.781^{e} ± 0.034

a, b...ตัวเลขในแถวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันอย่างน้อยหนึ่งตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

4.5.3 ผลการศึกษาปริมาณกรดคาซามิโนเริ่มต้นที่เหมาะสม

เมื่อแปรปริมาณกรดคาซามิโนเป็น 0.0%, 0.25%, 0.5%, 0.75% และ 1.0% w/v ในอาหารพื้นฐาน (Basal medium) ซึ่งประกอบด้วยผงยีสต์สกัด 0.5% เอธานอล 4.0% กรดอะซิติกแอซิด 0.5% สำหรับสายพันธุ์ SF 18-1 และ OR 56-1 ส่วนอีก 4 สายพันธุ์ที่เหลือจะเติมกรดอะซิติก 1.0% ทำการหมักในเครื่องเขย่าแบบหมุนที่อัตรา 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิในการหมักที่ 30 °ซ. พบว่าที่ความเข้มข้นของการเติมกรดคาซามิโน 0.5% จะมีการผลิตกรดอะซิติกสูงสุด (ตารางที่ 4.10) ดังนี้

สายพันธุ์ SF 18-1 สามารถผลิตกรดได้ 2.297 $\pm$ 0.042%
สายพันธุ์ GR 24-2 สามารถผลิตกรดได้ 2.903 $\pm$ 0.068%
สายพันธุ์ OR 56-1 สามารถผลิตกรดได้ 2.512 $\pm$ 0.102%
สายพันธุ์ BS 58-2 สามารถผลิตกรดได้ 2.255 $\pm$ 0.064%
สายพันธุ์ MG 69-2 สามารถผลิตกรดได้ 2.771 $\pm$ 0.093% และ
สายพันธุ์ *A. aceti* subsp. *aceti* TISTR 354^T สามารถผลิตกรดได้ 2.404 $\pm$ 0.085%

จะพบว่าที่ภาวะและเวลาการหมักเดียวกัน เชื้อสายพันธุ์ GR 24-2 สามารถผลิตกรดได้สูงกว่าทุกสายพันธุ์ที่ใช้ในการทดลอง แต่ก็ไม่ต่างจากสายพันธุ์ MG 69-2 และ OR 56-1 มากนัก ส่วนสายพันธุ์ SF 18-1 ผลิตกรดได้ต่ำที่สุด

และพบว่าทุกสายพันธุ์สามารถผลิตกรดได้สูงสุดเมื่อเติมกรดคาซามิโน 0.5% และการเติมกรดคาซามิโนที่ 0.5% นี้จะทำให้การผลิตกรดของทุกสายพันธุ์สูงกว่าการเติมกรดคาซามิโนที่ระดับความเข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) ดังนั้นจึงเลือกการเติมกรดคาซามิโนที่ระดับความเข้มข้น 0.5% มาเป็นองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ และศึกษาการแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักต่อไป

ตารางที่ 4.10 ผลของกรดคาซามิโนที่เติมต่อปริมาณกรดอะซิติก (%) ที่ผลิตได้ในภาวะเขย่าจากเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ

กรดคาซามิโนที่เติม (%w/w)	เชื้อสายพันธุ์ SF 18-1			เชื้อสายพันธุ์ GR 24-2			เชื้อสายพันธุ์ OR 56-1		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
0%	1.000± 0.070	1.407± 0.096	4.863^{c}± 0.015	0.897± 0.025	1.820± 0.046	2.540^{b}± 0.027	0.890± 0.018	1.527± 0.255	2.164^{b}± 0.085
0.25%	1.017± 0.061	1.370± 0.053	1.957^{b}± 0.021	1.080± 0.121	1.833± 0.049	2.583^{b}± 0.021	1.010± 0.017	1.863± 0.051	1.991^{b}± 0.028
0.50%	1.217± 0.031	1.640± 0.115	2.297^{a}± 0.042	1.177± 0.049	2.010± 0.030	2.903^{a}± 0.068	1.190± 0.068	1.942± 0.281	2.512^{a}± 0.102
0.75%	0.980± 0.053	1.230± 0.027	1.437^{d}± 0.037	0.817± 0.035	1.223± 0.012	2.033^{c}± 0.025	0.938± 0.051	1.226± 0.119	1.563^{c}± 0.085
1.0%	0.987± 0.006	1.075± 0.045	1.190^{e}± 0.036	0.703± 0.050	1.200± 0.010	2.080^{c}± 0.062	0.769± 0.017	1.340± 0.110	1.382^{c}± 0.085

กรดคาซามิโนที่เติม (%w/w)	เชื้อสายพันธุ์ BS 58-2			เชื้อสายพันธุ์ MG 69-2			เชื้อสายพันธุ์ TISTR 354^{T}		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
0%	0.926± 0.017	1.767± 0.085	1.910^{b}± 0.028	0.968± 0.076	1.443± 0.086	2.044^{b}± 0.086	0.890± 0.018	1.250± 0.017	1.767^{b}± 0.017
0.25%	1.015± 0.092	1.815± 0.007	1.901^{b}± 0.070	1.090± 0.014	1.593± 0.059	2.230^{b}± 0.009	0.908± 0.009	1.172± 0.042	1.623^{bc}± 0.000
0.50%	1.056± 0.048	1.913± 0.053	2.255^{a}± 0.064	1.050± 0.057	1.929± 0.076	2.771^{a}± 0.093	1.076± 0.093	1.923± 0.085	2.404^{a}± 0.085
0.75%	0.691± 0.026	0.968± 0.026	1.124^{c}± 0.076	0.974± 0.034	1.028± 0.009	1.304^{c}± 0.110	0.739± 0.059	1.316± 0.110	1.743^{b}± 0.509
1.0%	0.649± 0.153	1.106± 0.102	1.190^{c}± 0.051	1.088± 0.026	1.226± 0.153	1.334^{c}± 0.136	0.721± 0.034	1.124± 0.263	1.341^{c}± 0.230

a, b...ตัวอักษรในแถวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันอย่างน้อยหนึ่งตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

4.5.4 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก

จากการใช้เชื้อทั้งหมด 7 สายพันธุ์มีการเพิ่มเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *A. pasteurianus* TISTR 1056^T และแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักเป็น 30, 37 และ 40 °ซ. ซึ่งอาหารที่ใช้เลี้ยงเชื้อมีองค์ประกอบที่เหมาะสมที่ได้จากข้อ 4.5.1-4.5.3 จากการทดลองพบว่าเชื้อตัวแทนที่คัดเลือกได้คือ SF 18-1, GR 24-1, OR 56-1, BS 58-2 และ MG 69-2 สามารถผลิตกรดได้ทั้งที่ 30 และ 37 °ซ. ได้ใกล้เคียงกัน (ตารางที่ 4.11) โดยเฉพาะอย่างยิ่งสายพันธุ์ OR 56-1, BS 58-2 และ MG 69-2 นั้นสามารถผลิตกรดได้สูงทั้งที่ 30°ซ. และ 37°ซ. โดยไม่แตกกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่สำหรับเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *A. aceti* subsp. *aceti* 354^T นั้นผลิตกรดที่ 37 °ซ.ได้ต่ำกว่าที่ 30 °ซ. ถึง 0.499% และเชื้อสายพันธุ์มาตรฐาน *A. pasteurianus* TISTR 1056^T จะผลิตกรดที่ 37 °ซ.ได้ต่ำกว่าที่ 30 °ซ. ถึง 0.685%

และเมื่อพิจารณาการหมักที่ 40 °ซ. พบว่าเชื้อทุกสายพันธุ์ผลิตกรดได้ต่ำมาก ยกเว้นสายพันธุ์ OR 56-1 ผลิตกรดได้สูงถึง $1.875 \pm 0.051\%$

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 4.11 ผลของอุณหภูมิที่ใช้ต่อปริมาณกรดอะซิติก (%) ที่ผลิตได้ในภาวะเขย่าจากเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ

อุณหภูมิที่ใช้หมัก (°ซ.)	เชื้อสายพันธุ์ SF 18-1			เชื้อสายพันธุ์ GR 24-2			เชื้อสายพันธุ์ OR 56-1		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
30 °ซ.	1.173± 0.021	1.627± 0 .078	2.340^{a}± 0.010	1.163± 0.015	1.967± 0.015	2.887^{a}± 0 .025	1.100± 0.042	2.044± 0.170	2.699^{a}± 0.077
37 °ซ.	0.870± 0.101	1.247± 0.016	2.162^{b}± 0.065	0.950± 0.030	1.597± 0.015	2.490^{b}± 0.085	1.010± 0.034	1.827± 0.068	2.572^{a}± 0.102
40 °ซ.	0.000± 0.000	0.045± 0.008	0.108^{c}± 0.032	0.028± 0.003	0.057± 0.007	0.093^{c}± 0.007	0.331± 0.008	1.352± 0.042	1.875^{b}± 0.051

อุณหภูมิที่ใช้หมัก (°ซ.)	เชื้อสายพันธุ์ BS 58-2			เชื้อสายพันธุ์ MG 69-2			เชื้อสายพันธุ์ TISTR 354^{T}			เชื้อสายพันธุ์ TISTR 1056^{T}		
	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3	วันที่ 1	วันที่ 2	วันที่ 3
30 °ซ.	0.960± 0.014	1.803± 0.018	2.205^{a}± 0.007	0.926± 0.052	1.917± 0.110	2.807^{a}± 0.230	0.893± 0.124	1.677± 0.059	2.254^{a}± 0.195	0.920± 0.014	1.431± 0.153	2.098^{a}± 0.094
37 °ซ.	0.661± 0.051	1.773± 0.076	2.158^{a}± 0.059	0.836± 0.111	1.851± 0.034	2.747^{a}± 0.179	0.493± 0.034	1.298± 0.034	1.755^{b}± 0.051	0.283± 0.111	1.136± 0.025	1.413^{b}± 0.196
40 °ซ.	0.042± 0.008	0.277± 0.052	0.499^{b}± 0.025	0.030± 0.008	0.042± 0.008	0.066^{b}± 0.008	0.000± 0.000	0.006± 0.008	0.030^{c}± 0.008	0.000± 0.000	0.006± 0.008	0.012^{c}± 0.017

a, b...ตัวเลขในแถวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันอย่างน้อยหนึ่งตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

เมื่อนำข้อมูลจากตารางที่ 4.11 มาแสดงเป็นค่าการหมักสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 37°ซ. และ 40°ซ. เปรียบเทียบกับการหมักที่อุณหภูมิ 30 °ซ. จะได้ดังตารางที่ 4.12

ตารางที่ 4.12 ค่าการหมักสัมพัทธ์ที่อุณหภูมิ 37 และ 40 °ซ. ของเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ เมื่อเทียบกับการหมักที่ 30 °ซ.

	ค่าการหมักสัมพัทธ์ของเชื้อสายพันธุ์ต่างๆ						
อุณหภูมิ	SF 18-1	GR 24-2	OR 56-1	BS 58-2	MG 69-2	TISTR 354^T	TISTR 1056^T
37 °ซ.	92.4	86.2	95.3	97.9	97.9	77.9	67.3
40 °ซ.	4.6	3.2	69.5	22.6	2.4	1.3	0.6

เมื่อพิจารณาตารางที่ 4.12 ซึ่งเป็นการแสดงค่าการหมักสัมพัทธ์ (Relative fermentation ; %) ของเชื้อที่ใช้ศึกษาการหมักที่อุณหภูมิ 30, 37 และ 40 °ซ. เปรียบเทียบกับการหมักที่ 30 °ซ. จะพบว่าเชื้อสายพันธุ์ OR 56-1 มีค่าการหมักสัมพัทธ์สูงมากเมื่อเทียบกับสายพันธุ์อื่นๆ กล่าวคือสามารถผลิตกรดที่อุณหภูมิ 40 °ซ. ได้เป็น 69.5% เมื่อเทียบกับการหมักที่ 30 °ซ. ซึ่งหมายความว่าสายพันธุ์ OR 56-1 ยังสามารถผลิตกรดได้แม้อุณหภูมิในการหมักสูงขึ้นอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาคายความร้อนที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการหมัก

4.6 ผลการศึกษาปริมาณการผลิตเซลลูโลส

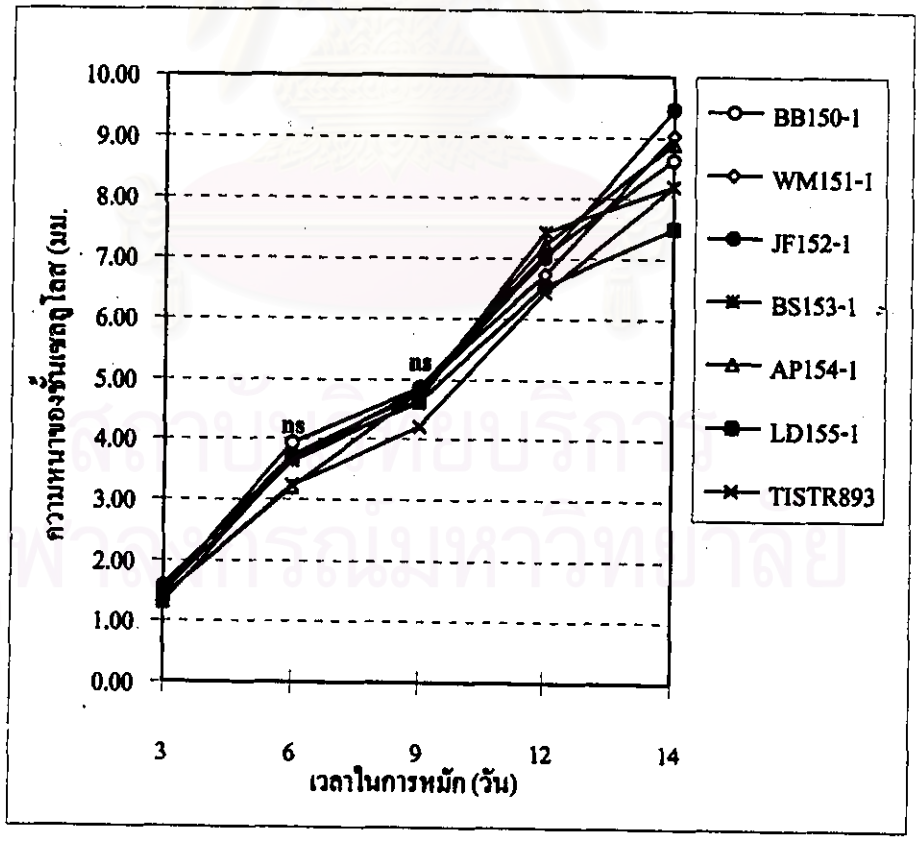
จากผลการคัดเลือกเชื้อตัวแทนที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้ปริมาณสูง 6 สายพันธุ์ คือ *Gluconoacetobacter xylinus* BB 150-1,WM 151-1, JF 152-1, BS 153-1, AP 154-2 และ LD 155-1 (ตารางที่ 4.8) นำมาศึกษาการผลิตเซลลูโลสเทียบกับเชื้อสายพันธุ์ *Gluconoacetobacter xylinus* TISTR 893 พบว่าความหนาของชั้นเซลลูโลสมี ความหนาเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักที่ภาวะนิ่ง (Static fermentation) ที่ 30 °ซ. ดังตารางที่ 4.13 หรือ รูปที่ 4.2 และความหนาของชั้นเซลลูโลส ในช่วง 9 วันแรกของการหมักจากแต่ละสายพันธุ์นั้นไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$) แต่เมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นจนถึงวัน 14 วัน ซึ่งเป็นวันสิ้นสุดการหมัก ของเชื้อสายพันธุ์ WM 151-1, JF 152-1 และ AP 154-1 สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงกว่าสายพันธุ์ *Gluconoacetobacter xylinus* TISTR 893

ตารางที่ 4.13 ความหนา (มม.) ของชั้นเซลลูโลสที่เชื้อผลิตได้ในวันที่ 3, 6, 9, 12 และ 14 ของการหมักในอาหารเหลวสูตรน้ำมะพร้าวของเชื้อสายพันธุ์ที่คัดเลือกไว้

	ชั้นเซลลูโลสที่ผลิตได้จากเชื้อสายพันธุ์ที่คัดเลือกได้						
ความหนา	BB 150-1	WM 151-1	JF 152-1	BS 153-1	AP 154-1	LD 155-1	TISTR 893
วันที่ 3 [ns]	1.47±0.02	1.61±0.26	1.57±0.12	1.46±0.42	1.42 ±0.23	1.32 ±0.17	1.39±0.22
วันที่ 6 [ns]	3.94±0.29	3.68±0.08	3.75±0.40	3.66±0.61	3.21±0.02	3.71±0.49	3.25±0.11
วันที่ 9 [ns]	4.86±0.32	4.80±0.55	4.76±0.51	4.65±0.62	4.79±0.96	4.60±0.32	4.23±0.10
วันที่ 12	7.06^{ab}±0.19	6.73^{bcd}±0.14	6.99^{abc}±0.23	7.41^{a}±0.21	7.23^{ab}±0.22	6.52^{cd}±0.40	6.46^{d}±0.39
วันที่ 14	8.63^{bc}±0.37	9.03^{ab}±0.48	9.48^{a}±0.36	8.20^{cd}±0.31	8.91^{ab}±0.38	7.48^{d}±0.58	8.18^{cd}±0.35

a, b...ตัวเลขในแนวนอนเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันอย่างน้อยหนึ่งตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

[ns] = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)



ns = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

รูปที่ 4.2 ความหนาของชั้นเซลลูโลสที่ผลิตได้จากเชื้อตัวแทนที่แยกได้ (มม.)

ภายหลังจากการหมักเซลลูโลสของเชื้อที่แยกได้แต่ละสายพันธุ์เสร็จสิ้นแล้ว นำชั้นเซลลูโลสที่ผลิตได้มาวิเคราะห์ น้ำหนักเปียก น้ำหนักแห้ง และแรงสูงสุดที่ใช้เจาะทะลุผ่าน (Penetration force) (ตารางที่ 4.14) พบว่าน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้ง ให้ผลทางสถิติเป็นไปในทำนองเดียวกันกับข้อมูลด้านความหนาของชั้นเซลลูโลส เมื่อนำชั้นเซลลูโลสที่ผลิตได้มาหาค่าน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้งพบว่าเชื้อสายพันธุ์ JF 152-1 สามารถผลิตเซลลูโลสมีน้ำหนักเปียกและน้ำหนักแห้งสูงสุดคือ 209.71 ± 8.06 และ 11.53 ± 0.41 กรัม ตามลำดับ และสำหรับค่าแรงสูงสุดเมื่อวัดโดยใช้เครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัสชนิดหัวเข็มที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 ซม. พบว่าชั้นเซลลูโลสที่แต่ละเชื้อผลิตขึ้นจะใช้แรงเจาะทะลุผ่าน (Penetration force) อยู่ในช่วง 49.65 ± 5.36 ถึง 56.51 ± 5.48 นิวตัน ซึ่งไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.14 น้ำหนักเปียก น้ำหนักแห้ง (กรัม) และค่าแรงสูงสุดที่เจาะทะลุผ่าน (N.) ภายหลังการหมัก 14 วัน

เชื้อสายพันธุ์ที่ใช้ศึกษา	น้ำหนักเปียก (กรัม)	น้ำหนักแห้ง (กรัม)	แรงสูงสุดที่เจาะทะลุผ่าน (นิวตัน) [ns]
BB 150-1	198.79^{a}±8.04	10.80^{ab}±0.48	52.13±4.53
WM 151-1	200.66^{a}±12.60	10.97^{a}±0.78	56.51±5.48
JF 152-1	209.71^{a}±8.06	11.53^{a}±0.41	54.87±3.89
BS 153-1	182.07^{b}±5.37	9.83^{c}±0.29	54.59±5.78
AP 154-1	197.89^{a}±5.15	10.82^{ab}±0.34	51.58±3.11
LD 155-1	165.41^{c}±9.51	9.10^{c}±0.69	49.65±5.36
TISTR 893	181.55^{b}±4.28	9.98^{bc}±0.06	53.61±3.30

a, b...ตัวเลขในแถวตั้งเดียวกันที่มีอักษรกำกับเหมือนกันอย่างน้อยหนึ่งตัวไม่แตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

[ns] = ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย