รายงานการวิจัย

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียจากน้ำทิ้งโรงงานขนมจีน โดยเชื้อใหม่ที่แยกได้ *Komagataeibacter* sp. PAP1

Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose from waste water of noodles factories by a newly isolated *Komagataeibacter* sp.

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล

b00266605

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงการวิจัย การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียจากน้ำทิ้งโรงงานขนมจีนโดยเชื้อใหม่ที่แยกได้ *Komagataeibacter* sp. PAP1

แหล่งเงิน (ระบุแหล่งทุน) เงินงบประมาณแผ่นดิน (วช)

ประจำปีงบประมาณ 2559

จำนวนเงินที่ได้รับการสนับสนุน 240,000บาท

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม 2558 ถึง กันยายน 2559

ชื่อ-สกุล หัวหน้าโครงการวิจัย พร้อมระบุ หน่วยงานต้นสังกัด

รศ.ดวงใจ โอชัยกุล คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บทคัดย่อ

การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้น้ำทิ้งจากโรงงานผลิตขนมจีน โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 เมื่อคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย พบว่า อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด คือ 5.59 ± 0.49 กรัมต่อลิตร นำสูตรอาหารที่ได้ไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสพบว่าค่าพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสม 7.00 น้ำตาลแมนนิทอลร้อยละ 5 เป็นแหล่งคาร์บอน สารสกัดเนื้อร้อยละ 0.1 เป็นแหล่งไนโตรเจน และเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เมื่อทำการผลิตเซลลูโลสโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ได้ปริมาณผลผลิตเซลลูโลส 9.72 ± 0.037 กรัมต่อลิตร ซึ่งผลผลิตเซลลูโลสสูงกว่าสูตรอาหารก่อนใช้สภาวะที่เหมาะสม 1.76 เท่า การศึกษาการเจริญ และการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 โดยใช้อาหารหมักในสภาวะที่เหมาะสมเป็นเวลา 10 วัน พบว่าปริมาณเซลล์สูงสุดในวันที่ 6 และมีแนวโน้มคงที่ตลอดระยะเวลาการหมัก สำหรับผลผลิตเซลลูโลสในวันที่ 10 เท่ากับ 11.76 ± 0.34 กรัมต่อลิตร โดยผลผลิตเซลลูโลสที่ใช้สูตรอาหารภายใต้สภาวะที่เหมาะสมเปรียบเทียบกับสูตรอาหารมาตรฐาน HS ที่หมักเป็นเวลา 10 วัน พบว่า ผลผลิตเซลลูโลสจากสูตรอาหารที่ใช้สภาวะที่เหมาะสมสูงกว่าการใช้อาหารสูตรมาตรฐาน HS ซึ่งให้ผลผลิต 2.67 ± 0.65 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 4.40 เท่า การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีน โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 คัดเลือกหาสภาวะที่เหมาะสมจากปัจจัยต่างๆในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสภาวะเขย่า พบว่า ใช้น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 เป็นแหล่งคาร์บอน ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 เป็นแหล่งไนโตรเจน ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม 5.0 และเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 เมื่อทำการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้สภาวะที่เหมาะสมในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ได้ปริมาณผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.30 ± 0.17 กรัมต่อลิตร และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำมาศึกษาการเจริญ และการผลิตเซลลูโลสจากทั้งสองเชื้อ โดยใช้อาหารหมักในสภาวะที่เหมาะสมเป็นเวลา 12 วัน พบว่าปริมาณเซลล์สูงสุดในวันที่ 8 หลังจากนั้นจะคงที่ สำหรับผลผลิตเซลลูโลสซึ่งหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 2.30 กรัมต่อลิตร และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 2.86 กรัมต่อลิตร ในวันสุดท้ายของการหมัก การศึกษาสมบัติของกระดาษที่ได้จากการหมักเซลลูโลสในสภาวะที่เหมาะสม และเซลลูโลสที่ได้จากอาหารสูตรมาตรฐาน HS ศึกษาสมบัติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของกระดาษ ค่าแรงดึง ค่าการยืด ณ จุดขาด และค่ามอดูลัสของยังส์ของกระดาษที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสมมีค่าสูงกว่า รวมทั้งการจัดเรียงตัวของเส้นใยเซลลูโลสหนาแน่นมากกว่ากระดาษที่ได้จากอาหารสูตรมาตรฐาน HS

คำสำคัญ : เซลลูโลสจากแบคทีเรีย น้ำทิ้งจากโรงงานขนมจีน สภาวะที่เหมาะสม
Komagataeibacter sp. PAP1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Research Title Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose from waste water of noodles factories by a newly isolated *Komagataeibacter* sp. PAP1

Researcher Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul
Department of Biology, Faculty of Science,
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

ABSTRACT

Bacterial cellulose production from waste water of noodle is processed by *Gluconacetobacter nataicola* PAP1. The suitable medium of cellulose production was water boiled noodle with the addition of the composition of coconut water medium and 1% (v/v) ethanol with the maximum yield of 5.59 ± 0.49 g/L. In the study on optimization, these medium were used to produce bacterial cellulose. The result showed that pH 7.00, 5% (w/v) mannitol, 0.1% (w/v) beef extract were suitable for carbon source and nitrogen source, respectively, then the extract was added with 0.5% (v/v) ethanol. After optimization of culture conditions at 30°C of temperature under static culture for 7 days, yield was reached up to 9.72 ± 0.04 g/L. The yield was 1.76 times higher than that produced in suitable medium. In the study on growth and bacterial cellulose production from *G. nataicola* PAP1 fermented in optimize culture condition for 10 days, the yield was at maximum in 6 days and constant throughout fermentation in 10 days, BC yield was 11.76 ± 0.34 g/L. The BC yield was fermented under optimize culture compared with HS medium which yielded 2.67 ± 0.65 g/L, which was 4.40 times the original. Bacterial cellulose production from waste water of noodles is processed by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976. The optimization of cellulose production was water boiled noodle with the addition of the composition of 5% (w/v) sucrose as carbon source, 0.1% (w/v) yeast extract as nitrogen source and optimum pH was 5.0, then the extract was added with 0.5% (v/v) ethanol. After optimization of culture conditions at 30°C of temperature under shaking culture at 200 rpm for 7 days, yield was reached up to 1.30 ± 0.17 g/L and 1.56 ± 0.33 g/L, respectively. Studied on growth and bacterial cellulose production from *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 fermented in optimized culture condition for 12 days, the variable cell was the highest at 8 days. The stationary phase was observed after 8 days of cultivation. The production of bacterial cellulose at the end of fermentation from *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 were the highest of 2.30 g/L and 2.86 g/L, respectively. Study on properties of paper production from bacterial cellulose fermented

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

in optimize culture condition and cellulose from HS medium, was for an analysis of tensile strength, elongation at break and young's modulus of paper. The optimize culture condition was higher and the arrangement of cellulose microfibril was more intense than paper from HS medium.

Keywords: bacterial Cellulose, waste water, optimization, *Komagataeibacter* sp. PAP1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

งานวิจัยนี้สำเร็จได้ด้วยความร่วมมือของนักศึกษาระดับปริญญาตรี ชั้นปีที่ 4 สาขาจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม และนักศึกษาปริญญาโท สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง รวมทั้งเจ้าหน้าที่ภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ได้เอื้อเฟื้ออุปกรณ์และสารเคมีบางส่วนในการทำวิจัย งานวิจัยนี้ได้รับทุนสนับสนุนการวิจัยจากเงินงบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ 2559

รองศาสตราจารย์ดวงใจ โอชัยกุล
หัวหน้าโครงการวิจัย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
กิตติกรรมประกาศ	จ
สารบัญ	ฉ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ฌ
บทที่ 1 บทนำ	**1**
1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	2
1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย	3
1.4 วิธีดำเนินการวิจัย	3
1.5 สมมุติฐานงานวิจัยและกรอบแนวคิดของโครงงานวิจัย	5
1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	**9**
2.1 แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส	9
2.2 เชื้อแบคทีเรีย	10
2.3 เซลลูโลสจากแบคทีเรีย	10
2.4 ลักษณะของเซลลูโลส	11
2.5 กลไกการสังเคราะห์เซลลูโลส	16
2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	17
2.7 กระบวนการผลิตเซลลูโลส	19
2.8 การใช้ประโยชน์ในเซลลูโลสจากแบคทีเรีย	22
2.9 ขนมจีน	25
2.10 ตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	32
บทที่ 3 วิธีดำเนินงานวิจัย	**34**
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี	34
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน	36

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 4 ผลการทดลอง	40
4.1 ผลการคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 จากน้ำทิ้งโรงงานผลิตขนมจีน	40
4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP 1 ในสูตรอาหารที่คัดเลือก	43
4.3 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. ในสูตรอาหารที่คัดเลือกและใช้สภาวะที่เหมาะสมในการหมัก	50
4.4 ผลการหมักเซลลูโลสในอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสมกับการหมักในสูตรอาหารมาตรฐาน HS	52
4.5 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะเขย่า	53
4.6 เปรียบเทียบผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 หมักในสภาวะที่เหมาะสม	64
4.7 ผลการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก	65 69
4.8 ศึกษาสมบัติของกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม	
4.9 ศึกษาองค์ประกอบของน้ำต้มเส้นขนมจีน	70
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	72
เอกสารอ้างอิง	74

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1.1	ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียจากการผลิตขนมจีน	8
2.1	ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียจากการผลิตขนมจีน	10
4.1	ค่าพีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลสของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 10 สูตรโดยการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	41
4.2	พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน	44
4.3	พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	46
4.4	พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลส ที่ได้จากการหมักโดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน	47
4.5	พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยการเติมเอทานอลความเข้มข้นที่แตกต่างกันหมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน	49
4.6	ผลผลิตเซลลูโลสจากสูตรอาหารน้ำต้มเส้นขนมจีนก่อน และหลังใช้สภาวะที่เหมาะสม หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	50
4.7	ค่าพีเอชของการหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสม ในสภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน	51
4.8	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสม และอาหารสูตรมาตรฐาน HS โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 หมักในสภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	52
4.9	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ที่ความเร็วรอบแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	53
4.10	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่ความเร็วรอบแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	54
4.11	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดย เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	56
4.12	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
4.13	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน	58
4.14	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)	59
4.15	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	59
4.16	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้แหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	61
4.17	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	61
4.18	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	63
4.19	ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	63
4.20	ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะที่เหมาะสม	64
4.21	ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน	66
4.22	ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักของเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน	67
4.23	ค่าแรงดึง ค่าการยืด ณ จุดขาด และค่ามอดูลัสของยังส์ ของกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากสูตรอาหารที่คัดเลือก หมักในสภาวะที่เหมาะสม และกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรมาตรฐาน HS	69
4.24	องค์ประกอบของน้ำต้มเส้นขนมจีน	71

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2.1 แผนผังโครงร่างของเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย(ขวา) วาดเปรียบเทียบกับเส้นใยของเซลลูโลสจากพืช	12
2.2 (ก) รูปจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของเยื่อเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เลี้ยงในสภาวะนิ่งโดยเชื้อ *A. xylinum* (ข) รูปแถบเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เชื่อมพันกันอยู่	12
2.3 เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ก่อตัวขึ้นในการเพาะเลี้ยงสภาวะนิ่ง	13
2.4 เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ก่อตัวขึ้นในการเพาะเลี้ยงสภาวะเขย่า	13
2.5 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส (ก) โครงสร้าง 3 มิติ (ข) โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส	15
2.6 ลักษณะภายนอกของเซลลูโลสใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน	15
2.7 การควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย	16
2.8 วิถีกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์บอน ใน *A. xylinum* ในการสังเคราะห์เซลลูโลส ; CS , Cellulose synthase ; UGP , pyrophosphorylase UPDGLc ; PGM , Phophoglucose mutase ; GK , Glucose hexokinase ; G6PDH , Glucose-6-phosphate dehydrogenase , PGA , Phosphogluconic acid ; Glc-6-P , Glucose-6-phosphate ; Glc-1-P , Glucose-1-phosphate ; PGI , Phosphoglucoisomerase ; Fru-6-P , Fructose-6-phosphate ; FK , Fructose hexokinase ; PTS , System of phosphotransferases ; 1PFK , Fructose-1-phosphatekinase ; Fru-1-P , Fructose-1-phosphate ; Fru-bi-P , Fructose-1,6-bi-phosphate ; FBP , Fructose-1,6-bisphosphate phosphatase.	
2.9 ลักษณะของหัวเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส: (ก) หัวเชื้อ *A. xylinum* DK ในขวดขนาด 120 ลูกบาศก์เมตร; (ข) หัวเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* ที่ชาวบ้านใช้ในการผลิตวุ้นเซลลูโลส	19
2.10 ขั้นตอนการผลิตเซลลูโลสจาก แบคทีเรีย *A. xylinum* DK	20
2.11 ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตภายหลังการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน : (ก) การหมักในถาดสแตนเลส; (ข) เซลลูโลสที่ผลิตได้จากถาดสแตนเลสขนาดต่างๆ	21
2.12 ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตโดยชุมชน	21
2.13 เซลลูโลส หรือวุ้นสวรรค์ที่ผลิตได้จากการผลิตในระดับชุมชน เพื่อนำไปใช้เป็นอาหาร	21
2.14 ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตจากวัตถุดิบน้ำกากส่า	22
2.15 กระบวนการผลิตขนมจีน (ดัดแปลงจาก กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ, 2549)	27

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่		หน้า
4.1	ผลผลิตเซลลูโลสจากการหมักอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 สูตร โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	42
4.2	ลักษณะการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในฟลาสก์ในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 7 วัน, ก: อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และเติมเอทานอลร้อยละ 1 (สูตรที่ 8) ก่อนการหมัก, ข: ลักษณะเซลลูโลสที่เกิดขึ้นภายหลังการหมัก	43
4.3	ลักษณะแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายหลังการอบแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน, ก: ลักษณะแผ่นเซลลูโลสก่อนการอบแห้ง, ข: ลักษณะแผ่นเซลลูโลสหลังการอบแห้ง	43
4.4	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยใช้พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	44
4.5	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	46
4.6	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	48
4.7	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นแตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	49
4.8	ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 เลี้ยงในอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสม หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน	52
4.9	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่ความเร็วรอบแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	54
4.10	ลักษณะของเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้ความเร็วรอบแตกต่างกันคือ 100 120 และ 200 รอบต่อนาที ตามลำดับ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	55
4.11	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักที่แตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	57
4.12	ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	60

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่	หน้า
4.13 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้แหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	62
4.14 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	64
4.15 ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 หมักในสภาวะที่เหมาะสม	65
4.16 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน	66
4.17 ลักษณะของเซลลูโลสที่ได้จากการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เป็นเวลา 12 วัน	67
4.18 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักของเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน	68
4.19 ลักษณะกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากอาหารหมัก ก. อาหารสูตรที่คัดเลือกหมักในสภาวะที่เหมาะสม ข. อาหารสูตรมาตรฐาน HS	69
4.20 ลักษณะเส้นใยเซลลูโลสโดยเครื่อง Scanning electron microscope (SEM) (1) กระดาษที่ได้จากสูตรอาหารมาตรฐาน HS (2) กระดาษที่ได้จากสูตรอาหารที่คัดเลือกหมักในสภาวะที่เหมาะสม	70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

เซลลูโลสจากแบคทีเรียหรือวุ้นมะพร้าว วุ้นน้ำมะพร้าว หรือเห็ดรัสเซีย เป็นวัสดุที่มีโครงสร้างระดับนาโน ผลิตโดยแบคทีเรียอะซิติกสายพันธุ์ต่างๆ เซลลูโลสจากแบคทีเรียก่อตัวขึ้นจากเส้นใยไมโครไฟบิลซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 - 4 นาโนเมตร รวมตัวกันเป็นเส้นใยขนาดประมาณน้อยกว่า 100 นาโนเมตร (Cavka และคณะ, 2013) โดยจุลินทรีย์จะสร้างออกมาภายนอกเซลล์(microbial extracellular polymers) (Nazeri, 2012) มีลักษณะเป็นสีขาวคล้ายหนัง ก่อตัวเป็นฝ้าที่บริเวณผิวหน้าอาหาร (Liu และ Wu, 2012) เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกับเซลลูโลสจากพืช แต่เซลลูโลสจากพืชนั้นเป็นเซลลูโลสที่มีความบริสุทธิ์ต่ำ อีกทั้งยังมีลิกนินและ เฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบด้วย (Nazeri, 2012) เซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีคุณสมบัติที่โดดเด่นกว่ากล่าวคือมีความแข็งแรงเชิงกล ความพรุน ความบริสุทธิ์ และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าเซลลูโลสจากพืช นอกจากนี้ยังมีการปรับตัวทางชีววิทยาได้ดี มีความเป็นผลึกสูง และมีความละเอียดเป็นพิเศษ คุณสมบัติเหล่านี้ทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นวัตถุดิบที่สำคัญที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ และในด้านการแพทย์ เช่น แผ่นฟิล์มคาร์บอนที่นำไฟฟ้าได้ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังเทียมและการรักษาเนื้อเยื่อ แผ่นกรอง อาหารปราศจากแคลอรี่ เช่น Coco de Nata (Jeong และคณะ, 2010) นำไปใช้ในการเสริมเนื้อกระดาษเพื่อให้มีคุณภาพสูง ไดอะแฟรมสำหรับอุปกรณ์แปลงเสียง สารเติมแต่งสี สารเคลือบ เป็นตัวเสริมในแผ่นฟิล์มโปร่งแสงและเยื่อหุ้มเหนียวนำโปรตอนของเซลล์พลังงาน เป็นต้น (Cavka, 2013) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายๆ ชนิดในการผลิตเซลลูโลส(Faria-Tischer และคณะ, 2008) ความพยายามหาวัสดุทางเลือกที่มีต้นทุนต่ำและไม่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อมโดยใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตร หรือของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเป็นสิ่งที่สนใจศึกษาในปัจจุบันซึ่งน้ำเสียจากอุตสาหกรรมขนมจีนจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ

ขนมจีนได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างกว้างขวางเนื่องจากรสชาติที่ถูกปากคนไทย สามารถผลิตบริโภคได้เองภายในครัวเรือน ส่งผลให้แหล่งผลิตขนมจีนมีอยู่อย่างแพร่หลายตั้งแต่ขนาดใหญ่ระดับโรงงานอุตสาหกรรม จนถึงขนาดเล็กระดับครอบครัว (พจนีย์, 2550) ขนมจีนแบ่งออกได้เป็น 2 ประเภท คือขนมจีนแป้งหมักและขนมจีนแป้งสด ซึ่งทั้งสองชนิดแตกต่างกันในกรรมวิธีการผลิต ขนมจีนแป้งหมักเป็นขนมจีนที่มีผู้นิยมบริโภคกันมาก โดยใช้ปลายข้าวเจ้าเป็นวัตถุดิบในการหมักในขณะที่ขนมจีนแป้งสดเป็นที่นิยมน้อยกว่า ทำจากแป้งสดหรือแป้งที่โม่ใหม่ๆ ไม่มีการหมัก (ลาวัณย์, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการผลิตขนมจีนมีการใช้น้ำเป็นจำนวนมาก ทำให้มีปริมาณน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตมากตามไปด้วย ซึ่งน้ำทิ้งนั้นมีองค์ประกอบต่างๆ มากมาย ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ เช่น คาร์โบไฮเดรต จำพวกแป้งและน้ำตาลอยู่สูง มีโปรตีน และธาตุอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส น้ำเสียจะมีสภาพเป็นกรด ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแข็งที่ละลายน้ำได้และคอลลอยด์และมีของแข็งแขวนลอยอยู่ปริมาณไม่มากนัก จึงทำให้มีสารอินทรีย์ในรูปบีโอดี และซีโอดีอยู่ปริมาณมาก เมื่อเวลาผ่านไปสามารถเกิดการสลายตัวและส่งกลิ่นเน่าเหม็นได้ง่าย หากปล่อยลงสู่แหล่งน้ำหรือสิ่งแวดล้อมโดยไม่มีการบำบัดคุณภาพน้ำ จะเกิดผลกระทบต่อคุณภาพแหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อม (พิพัฒน์, 2555) จากการศึกษาพบว่าจังหวัดฉะเชิงเทรา สามารถผลิตขนมจีนวันละประมาณ 56,400 กิโลกรัม มีน้ำเสียเกิดจากกระบวนการผลิตประมาณวันละ 700 – 1,000 ลูกบาศก์เมตร มีค่าบีโอดีเฉลี่ย 2,850 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ระบบบำบัดน้ำเสียที่มีอยู่ไม่สามารถบำบัดน้ำเสียให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานได้ ก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำเช่น ในคลองนครเนื่องเขต ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่ผลิตน้ำประปาสำหรับจังหวัดฉะเชิงเทรา นอกจากนั้นเกิดกลิ่นเหม็นรบกวนสร้างความเดือดร้อนแก่ชาวบ้านบริเวณใกล้เคียง (วรพจน์, 2551)

จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบ เช่น Acetobacter, Gluconacetobacter, Agrobacterium, Achromobacter, Aerobacter, Sarcina, Azotobacter, Rhizobium, Pseudomonas, Salmonella และ Alcaligenes (Kennedy และคณะ, 1989) โดย *Acetobacter xylinus* (*Gluconacetobacter xylinus*), *Acetobacter hansenii* และ *Acetobacter pasteurianus* มีศักยภาพในการผลิตเซลลูโลสได้สูงที่สุด (Bajaj และคณะ, 2009) ในการศึกษานี้ใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสได้สูง ซึ่งแยกได้จากมะละกอที่เน่าเสียในประเทศไทย (Amornrat และคณะ, 2013) ใช้ในการผลิตเซลลูโลส เชื้อชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียอะซิติก สกุล Acetobacteraceae มีงานวิจัยที่นำเชื้อ *Komagataebacter* sp. PAP มาใช้ผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย เช่น Amornrat และคณะ (2014) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP 1 โดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตเต้าหู้ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อชนิดนี้ คือ พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ 6.21 เติมเอทานอลร้อยละ 1.61 (โดยปริมาตร) และเลี้ยงเชื้อที่อุณหภูมิ 28.4 องศาเซลเซียส จากการเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าวทำให้ได้เซลลูโลสเพิ่มขึ้น 3.6 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อาหารมาตรฐาน HS นำเซลลูโลสที่ผลิตได้จากเชื้อชนิดนี้มาผลิตแผ่นฟิล์มพบว่าแผ่นฟิล์มมีสมบัติเชิงกล เช่น ค่าความแข็งแรงดึงสูง และความสามารถในการที่ไอน้ำและก๊าซออกซิเจนซึมผ่านแผ่นฟิล์มต่ำ ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ เพื่อศึกษาศักยภาพในการนำน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมาใช้เป็นวัตถุดิบหรืออาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (วุ้นมะพร้าว) โดยใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP 1 ซึ่งเป็นเชื้อชนิดใหม่ที่แยกได้เองในประเทศไทย และเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสให้สูงขึ้นโดยมีการศึกษาสภาวะในการผลิตเซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากนั้นนำเซลลูโลสที่ได้จากการผลิต มาผลิตเป็นแผ่นฟิล์มมีการศึกษาสมบัติของแผ่นฟิล์มที่ได้ เพื่อที่จะได้เป็นข้อมูลพื้นฐานในการพัฒนาแผ่นฟิล์มที่ได้ต่อไป

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

1. ศึกษาศักยภาพการนำน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1
2. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 จากน้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีน เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ความเข้มข้นเอทานอล พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า เปรียบเทียบผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะทั้งสอง
3. ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยจุลินทรีย์ที่นิยมใช้ทางการค้าคือ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 (เดิมชื่อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976) จากน้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีน โดยปัจจัยที่ศึกษาเหมือนข้อ 2 หมักทั้งในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่าเปรียบเทียบผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะทั้งสอง
4. เปรียบเทียบผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ได้จากการหมักในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่าจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้และ *G. xylinus* TISTR 976 ซึ่งเป็นเชื้อที่นิยมนำมาผลิตเซลลูโลสทางการค้า
5. นำเซลลูโลสที่ผลิตได้มาผลิตแผ่นฟิล์ม ศึกษาสมบัติเชิงกลของแผ่นฟิล์มที่ได้ รวมทั้งความสามารถในการซึมผ่านของก๊าซออกซิเจน และไอน้ำ

1.3 ขอบเขตของโครงการวิจัย

ผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากมะละกอเน่าเสียในประเทศไทย (Amornrat และคณะ, 2013) เปรียบเทียบกับเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำมาหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียทางการค้า โดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการขนมจีนเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ศึกษาสภาวะการหมักที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูง เช่น แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ความเข้มข้นเอทานอล พีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ เป็นต้น หมักทั้งในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า เปรียบเทียบผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักจากเชื้อทั้งสองสภาวะ นำเซลลูโลสที่ได้ จากการหมักมาทำแผ่นฟิล์ม ศึกษาสมบัติของแผ่นฟิล์มที่ได้

1.4 วิธีดำเนินการวิจัย

แบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. การเตรียมตัวอย่างน้ำทิ้ง

เก็บน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีน โดยแบ่งเป็น 2 ส่วน คือ น้ำชาวข้าว และน้ำต้มขนมจีน นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อกำจัดเศษตะกอนแป้งออก ทิ้งให้เย็น และเก็บไว้ในขวดพลาสติก แช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำมาใช้ต่อไป

2. การเตรียมหัวเชื้อเซลลูโลส

เตรียมอาหารสูตรน้ำมะพร้าวซึ่งประกอบด้วย น้ำมะพร้าวแก่ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยปริมาตรของน้ำมะพร้าวแก่ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรีย *Komagataeibacter* sp. PAP หรือ *Gluconacetobacter xylinus* 1 จานเพาะเลี้ยง (plate) ใส่ลงไปในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3. การคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 หรือ *G. xylinus* TISTR 976

3.1 การหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสภาวะนิ่ง

นำน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อกำจัดสิ่งที่ไม่ต้องการออก นำส่วนน้ำที่ผ่านการกรองมาใช้เป็นอาหารหมัก โดยมีการศึกษาสูตรอาหารดังนี้

สูตรที่ 1 : น้ำชาวข้าวปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 2 : น้ำชาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 ปรับพีเอชเป็น 6.0

สูตรที่ 3 : น้ำชาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับ พีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 4 : น้ำชาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟสร้อยละ 0.27 และกรดซิติกร้อยละ 0.12 ปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 5 : น้ำชาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 และกรดซิติกร้อยละ 0.12 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับพีเอช เป็น 6.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรที่ 6 : น้ำต้มเส้นขนมจีนปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 7 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 ปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 8 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับ พีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 9 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 และกรดซิตริกร้อยละ 0.12 ปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 10 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 และกรดซิตริกร้อยละ 0.12 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับพีเอช เป็น 6.0

โดยอาหารหมักแต่ละสูตรเตรียมใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 89 มิลลิลิตรในอาหารสูตรที่ 3, 5, 8 และสูตรที่ 10 (ซึ่งมีการเติมเอทานอลร้อยละ 1.0) ส่วนอาหารสูตรอื่นๆ (ไม่ได้เติมเอทานอล) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองสูตรอาหารละ 3 ซ้ำ

นำอาหารไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เติมหัวเชื้อที่ได้จากหัวข้อ 2 ปริมาณ 10 มิลลิลิตรลงในอาหารหมักแต่ละสูตร หมักในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักของเชื้อทั้งสอง

1.5 สมมุติฐานงานวิจัยและกรอบแนวคิดของโครงงานวิจัย

Addel – Fattah และ Abdel – Naby (2011) ได้ศึกษาการปรับสภาพผักตบชวาภายใต้ เซลลูโลสเป็นหนึ่งในพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีมากที่สุดบนโลก ส่วนใหญ่มักได้จากพืช นอกจากนี้พบว่าจุลินทรีย์บางชนิดสามารถสร้างเซลลูโลสออกมานอกเซลล์จุลินทรีย์ เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีโครงสร้างทางเคมีเหมือนเซลลูโลสที่ได้จากพืช คือประกอบด้วย β-1, 4 กลูแคน มีสูตรโมเลกุลเหมือนกัน $(C_6H_{12}O_6)_n$ แต่มีคุณสมบัติทางกายภาพต่างกัน (Kouda และคณะ, 1997) เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์ คือปราศจากลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส มีความเป็นผลึกสูงความต้านทางแรงดึงสูง ความสามารถในการดูดซับน้ำสูง และมีแนวโน้มที่จะมีการปรับเปลี่ยนได้ในระหว่างการสังเคราะห์ ซึ่งเส้นใยของเซลลูโลสจากแบคทีเรียบางกว่าเซลลูโลสจากพืช 100 เท่า ทำให้มีรูพรุนมากขึ้น (Bajaj และคณะ, 2009) จากคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นวัตถุดิบสำคัญที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในด้านอุตสาหกรรมต่างๆ และในด้านการแพทย์ เช่น แผ่นฟิล์มคาร์บอนที่นำไฟฟ้าได้ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังเทียม และการรักษาเนื้อเยื่อ แผ่นกรอง อาหารเสริมสุขภาพ ปราศจากแคลอรี่ เช่น Coco de Nata (Jeong และคณะ, 2010) นำไปใช้เสริมเนื้อกระดาษเพื่อให้มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คุณภาพสูง ไดอะแฟรมสำหรับอุปกรณ์แปลงเสียง สารเติมแต่งสี สารเคลือบ เป็นตัวเสริมในแผ่นฟิล์มโปร่งแสงและเยื่อหุ้มเหนี่ยวนำโปรตอนของเซลล์พลังงาน เป็นต้น (Cavka, 2013)

แบคทีเรียสังเคราะห์เซลลูโลสโดยปล่อยเส้นใยเซลลูโลส (cellulose microfibrils) ออกนอกเซลล์ เส้นใยจะรวมตัวกันเกิดเป็นแผ่นลอยอยู่ผิวหน้าของอาหารหมักในสภาวะนิ่ง เซลลูโลสจากแบคทีเรียในสภาวะเขย่ามีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ-สม่ำเสมอ ขนาดของเม็ดเล็กๆ ขึ้นอยู่กับความเร็วรอบของการเขย่า (Doi และ Steinbuchi, 2005) กลไกการสังเคราะห์เซลลูโลสเริ่มจาก การสังเคราะห์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส (Uridine diphosphoglucose : UDPGlu) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของเซลลูโลส การเกิดพอลิเมอร์ไรเซชั่นของกลูโคสทเกี่ยวกับพันธะเบต้า 1, 4 glucan การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียสารตัวกลางหลัก คือกลูโคส – 6 – ฟอสเฟต (G-6-P) ซึ่งอาจจะเปลี่ยนแปลงมาจากกลูโคสหรือฟรุกโตส-6-ฟอสเฟต (F-6-P) ผ่านทางวงจรไกลโคไลซิส (Glycolysis) หรือกลูโคสถูกนำไปเข้าสู่กระบวนการเมแทบอลิซึมผ่านทางวงจรเพนโตสฟอสเฟต (Pentose phosphate pathway) โดยเปลี่ยนกลูโคส-6-ฟอสเฟต (G-6-P) จนกระทั่งได้ UDP-กลูโคส (UDP_Glu) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เซลลูโลส

จุลินทรีย์ที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้ส่วนใหญ่อยู่ในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบ เช่น *Acetobacter, Gluconacetobacter, Agrobacterium, Achromobacter, Aerobacter, Sarcina, Azotobacter, Rhizobium, Pseudomonas, Salonella* และ *Alcaligeness* (kennedy และคณะ, 1989) โดย *Acetobacter xylinum* (*Gluconacetobacter xylinus*), *Acetobacter hansenii* และ *Acetobacter pasteurianus* มีศักยภาพในการผลิตเซลลูโลสได้มากที่สุด (Bajai และคณะ, 2009) ในการศึกษานี้ใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp PAP1 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสได้สูงแยกได้จากมะละกอที่เน่าเสียไปในประเทศไทย (Amornrat และคณะ, 2013) ใช้ในการผลิตเซลลูโลส ซึ่งเชื้อชนิดนี้จัดอยู่ในกลุ่มแบคทีเรียอะซิติก สกุล Acetobacteraceae ครั้งก่อนการจัดจำแนกแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูโลส จะใช้ลักษณะทางสัณฐานวิทยา คุณสมบัติทางชีวเคมี ปัจจุบันมีวิธีการในการจัดจำแนกโดยศึกษาลักษณะทางชีวโมเลกุลร่วมด้วย (Cleenwerck และ De Vos, 2008).

ลักษณะของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 มีดังนี้ เมื่อเจริญบนอาหารมาตรฐาน HS ลักษณะโคโลนีกลมขอบเรียบ โคโลนีสีครีม มีเมือกปกคลุม ติดสีแกรมลบ รูปร่างเป็นท่อนสั้นและยาวประมาณ 1.6 – 1.7 ไมโครเมตร กว้าง 0.4-0.5 ไมโครเมตรอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือต่อเป็นสายโซ่สั้น ทดสอบคาตาเลสเป็นบวก เจริญได้ดีที่สุด pH 4.5-7.0 สำหรับ pH 3.0,3.5 และ 4.0 เจริญได้น้อย แบคทีเรียชนิดนี้ไม่สามารถเจริญบนอาหารที่มีน้ำตาล sorbitol หรือเมทานอลได้ แต่สามารถเจริญได้ดีในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคสหรือน้ำตาลซูโครส สามารถเจริญได้ในอาหารที่มีน้ำตาล D-glucose ร้อยละ 30 โดยไม่มีกรดอะซิติก สามารถเจริญบนอาหารที่มีน้ำตาล D-arabinose, D-fructose, D-galactose, D-glucose, D-Lactose, D-maltose, D-mannitol, D-sorbitol, D-sucrose, D-xylose, L-arabinose, L-rhamnose, L-sorbose, ethanol, glycerol และ meso-erythritol (Amornrat และคณะ, 2013)

จากการได้ศึกษาคุณสมบัติของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งสามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงและเป็นเชื้อที่แยกได้เอง จึงได้สนใจที่จะนำเชื้อชนิดนี้มาใช้ศึกษาในการผลิตเซลลูโลสโดยพยายามหาวัตถุดิบที่มีราคาถูกเพื่อลดต้นทุนในการผลิตลง ซึ่งน้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมขนมจีนจะเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจ

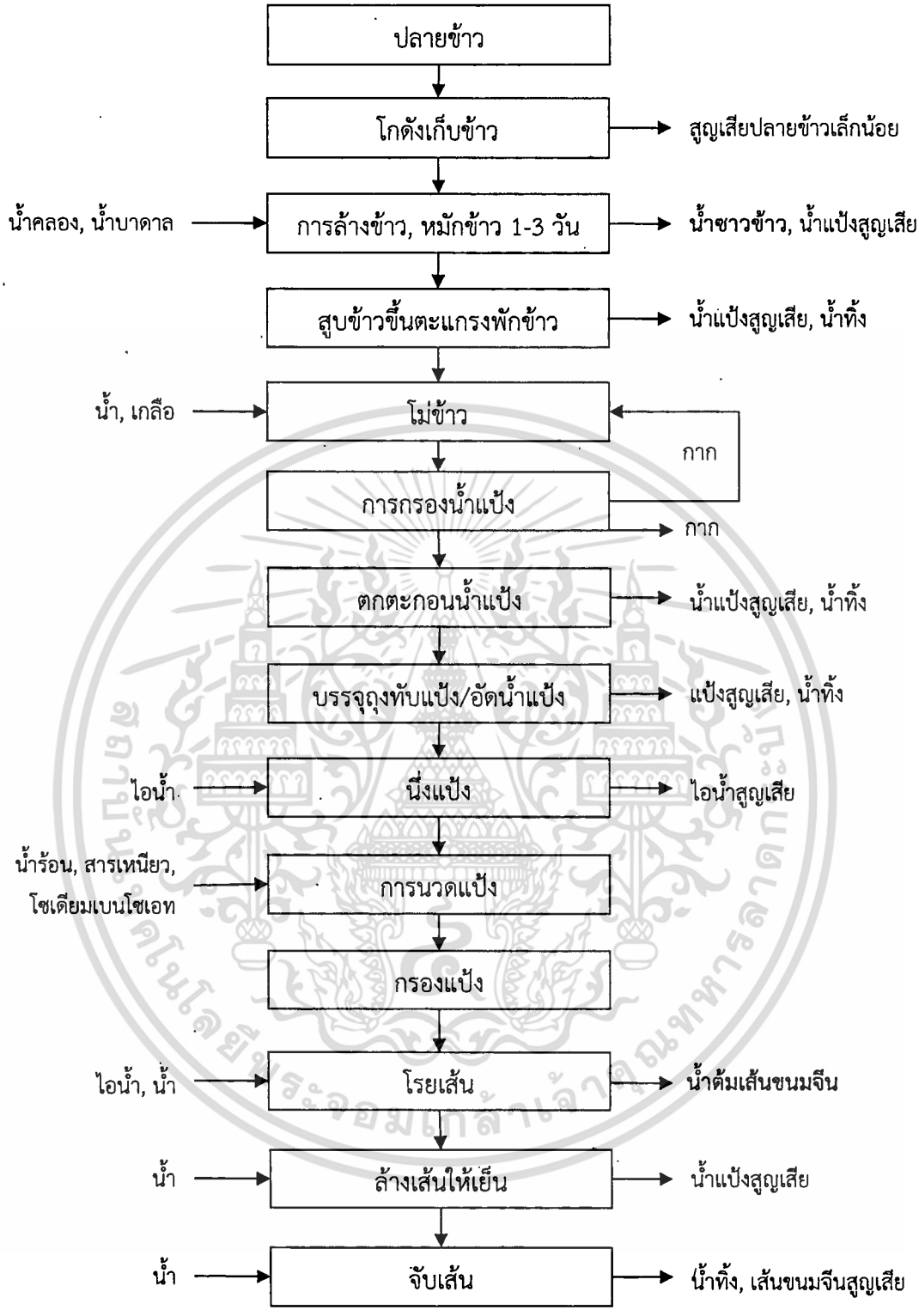
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนมจีนได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างกว้างขวาง เนื่องจากรสชาติที่ถูกปากคนไทย สามารถผลิตบริโภคได้เองภายในครัวเรือน แหล่งผลิตขนมจีนมีอยู่อย่างแพร่หลายตั้งแต่ขนาดใหญ่ระดับโรงงานอุตสาหกรรมจนถึงขนาดเล็กระดับครอบครัว (พจนีย์, 2550) ขนมจีนแบ่งเป็น 2 ชนิด ได้แก่

1. ขนมจีนแป้งหมัก เป็นขนมจีนได้จากการหมักข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้า โดยนำข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้าหมัก 2 – 3 วัน ก่อนนำมาโม่ทำเป็นขนมจีน ขนมจีนชนิดนี้มีความเหนียวสีคล้ำเล็กน้อย มีกลิ่นหมัก และสามารถเก็บไว้ได้นาน นิยมในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ

2. ขนมจีนแป้งสด เป็นขนมจีนที่ทำจากข้าวเจ้าหรือปลายข้าวที่ผ่านการแช่น้ำหรือล้างน้ำก่อนนำมาโม่แล้วทำเป็นขนมจีน เก็บได้ไม่นาน มีความเหนียวน้อยกว่าขนมจีนแป้งหมัก นิยมบริโภคทางภาคใต้ การผลิตขนมจีนหมัก แสดงดังรูปที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 1 : กระบวนการผลิตขนมจีน

ที่มา : กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ (2549)

กระบวนการผลิตขนมจีนต้องใช้น้ำปริมาณมาก ทำให้มีน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตมีมากขึ้นด้วย ซึ่งน้ำทิ้งเหล่านี้มีปริมาณสารอินทรีย์สูง ถ้าระบายออกสู่สิ่งแวดล้อมจะเป็นสาเหตุสำคัญในการก่อให้เกิดปัญหาน้ำเสีย ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียจากการผลิตขนมจีน แสดงดังตารางที่ 1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1.1 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียจากการผลิตขนมจีน

พารามิเตอร์	ค่าที่ได้
pH	4.21
Biochemical Oxygen Demand (BOD)	28,300 mg/l
Chemical Oxygen Demand (COD)	33,969 mg/l
Total Kjeldahl Nitrogen (TKN)	0.021 mg/l
Volatile fatty acid (VFA)	157.87 mg/l
Total Solids (TS)	3,511 mg/l
Total Volatile Solids (TVS)	2,727 mg/l
Suspended Solids (SS)	3,127 mg/l
Total Alkalinity	29.16 mg/l
Phosphorus (P)	15 mg/l
BOD:COD	0.83
BOD:N:P	100:0.00007:0.005

ที่มา : กัณตพัฒน์ (2554)

ในงานวิจัยนี้มีความสนใจในการนำน้ำทิ้งจากโรงงานขนมจีนมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อที่แยกได้เอง คือ *Komagataeibacter* sp. PAP1 เปรียบเทียบกับเชื้อที่ใช้ผลิตเซลลูโลสทางทางค้า คือ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 โดยศึกษาการหมักในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่าจากเชื้อทั้งสองชนิดเปรียบเทียบกัน รวมทั้งศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากการใช้น้ำทิ้งโรงงานขนมจีนจากเชื้อทั้งสอง

1.6 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. สามารถนำน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมาใช้ประโยชน์ โดยนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ สำหรับผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียได้
2. สามารถผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีน และทำให้รู้สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากจุลินทรีย์ที่นำมาใช้ในการวิจัย
3. เป็นแนวทางในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในระดับอุตสาหกรรมต่อไป
4. ลดปัญหามลภาวะทางสิ่งแวดล้อมโดยนำน้ำทิ้งจากโรงงานขนมจีนมาใช้ประโยชน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 แบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส

ในปี 1886 Brown พบว่าแบคทีเรียสามารถผลิตเซลลูโลสได้ ซึ่งจะสร้างเนื้อเยื่อที่มีความแข็งเมื่อให้เจริญในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตอยู่มาก เขาพบว่าเยื่อเหนียวสามารถละลายได้ใน ammonium copper hydroxide และให้น้ำตาลรีดิวซ์ เนื่องจากเขาพบว่าในฝ้ายก็สามารถเกิดสารเหล่านี้เช่นกัน และเรียกแบคทีเรียกลุ่มนี้ว่า Bacteria Cellulose (BC) Producer

Corrtel และ Kang(1979) พบว่าพอลิแซคคาไรด์ที่สังเคราะห์ขึ้นโดยแบคทีเรียแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ โฮโมพอลิแซคคาไรด์และเฮเทอโรพอลิแซคคาไรด์ สายพันธุ์แบคทีเรียชนิดต่างๆ ที่สามารถผลิตสารพอลิแซคคาไรด์ เช่น *Corynebacterium* sp. *Arthobacter vicosus* NRRL B-1797 *Alcaligenes faecalis var. myxogenes* 10 C3 *Pseudomonas solanacearum Erwinia stewatiicoli Erwinia amylovora Acinetobacter vinelandii strain* D-0.5 *Acinetobacter* sp. *Strain* 12 *Leuconostoc mesenterroides L. dextranicum Xanthomons campestris* และสายพันธุ์ *Acetobacter* sp.

Richmon (1991) ค้นพบว่ามีการสร้างเซลลูโลสอยู่ในจุลินทรีย์กลุ่ม ฟังไจ แบคทีเรีย และสาหร่าย ในสาหร่ายสีเขียวนั้น เซลลูโลส ไซแลน หรือแมนแนน อาจใช้เป็นโครงสร้างของพอลีแซคคาไรด์ในผนังเซลล์ เซลลูโลสที่พบในบางกลุ่มของฟังไจนั้น มีรายงานว่าใช้สร้างผนังเซลล์ชั้นใน ซึ่งมีน้ำหนักประมาณร้อยละ 15 ของน้ำหนักผนังเซลล์แห้ง (Araraki และIsizawa, 1976) ส่วนแบคทีเรียนั้นในกลุ่มของแบคทีเรียแกรมลบที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้ เช่น *Acetobacter, Gluconacetobacter, Agrobacterium, Achromobacter, Aerobacter, Sarcina, Azotobacter, Rhizobium, Pseudomonas, Salmonella* และ *Alcaligenes* (Kennedy และคณะ, 1989) ในแบคทีเรียแกรมบวกก็มีการสังเคราะห์เซลลูโลสเช่นกัน เช่น *Sarcina ventriculi* มีเซลลูโลสประมาณร้อยละ 15 ของน้ำหนักเซลล์แห้ง (Beleme, 1974) โดยผู้ผลิตเซลลูโลสที่มีศักยภาพมากที่สุดคือ *Acetobacter xylinum* (*Gluconacetobacter xylinus*) (Ameyama และคณะ, 1995; Catchmark และคณะ, 2009; Doi และ Steinbuchel, 2005; Jonas และ Farah, 1998) *Acetobacter hansenii*(Jung และคณะ, 2005; Park และคณะ, 2003) และ*Acetobacter pasteurianus*(Asakura และคณะ, 1996)

2.1.1 แหล่งที่พบแบคทีเรียที่สามารถสร้างเซลลูโลสได้

ตามปกติแล้วแบคทีเรียสกุล *Acetobacter* spp. สามารถพบได้ในผลไม้ ผัก น้ำส้มสายชู ผลไม้สุกจัดหรือเน่า เช่น สับปะรด มะม่วง ฝรั่ง ละมุด เงาะ และเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ โดยส่วนประกอบหลักในวัตถุดิบแต่ละชนิดที่แบคทีเรียใช้ในการสังเคราะห์เซลลูโลสคือ น้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยหลายๆ ชิ้นที่ผ่านมาระบุว่าเชื้อในสกุลนี้สามารถใช้น้ำตาลชนิดอื่นได้นอกเหนือจากน้ำตาลกลูโคส เช่น แมนนิทอลไซโลส ฟรุกโตส ได้ และให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงกว่าใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน(วราวุฒิ, 2551)

2.2 เชื้อแบคทีเรีย *Gluconacetobacter*

Gluconacetobacter nataicola มีลักษณะเป็นแบคทีเรียแกรมลบ รูปร่างท่อน หรือท่อนสั้นและอยู่เป็นคู่หรือเดี่ยว (Cleenwerck, 2005) สมาชิกในจีนัส *Gluconacetobacter* แบ่งได้เป็น 2 กลุ่ม ได้แก่ กลุ่มที่ 1 *Gluconacetobacter liquefaciens* และกลุ่มที่ 2 *Gluconacetobacter xylinus* (Yamada และ Yukphan, 2008) โดยกลุ่มแรกประกอบด้วยพวกที่ไม่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ เช่น *Gluconacetobacter liquefaciens* และ *Gluconacetobacter sacchari* และพวกที่สามารถตรึงไนโตรเจนได้ เช่น *Gluconacetobacter diazotrophicus, Gluconacetobacter azotocaptans* และ *Gluconacetobacter johannae* ส่วนกลุ่มที่ 2 ประกอบด้วยพวกที่ไม่ผลิตเซลลูโลส เช่น *Gluconacetobacter hansenii* และ *Gluconacetobacter europaeus* และพวกที่ผลิตเซลลูโลส เช่น *Gluconacetobacter xylinus, Gluconacetobacter natiacola* และ *Gluconacetobacter rhaeticus* (Ochaikul, 2013)

การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นลักษณะเด่นของ *Gluconacetobacter* sp. แบคทีเรียชนิดนี้ผลิตเซลลูโลสในลักษณะของพอลิเมอร์บริสุทธิ์ที่ปราศจากองค์ประกอบอื่นๆเหมือนที่พบในเซลลูโลสจากพืช ซึ่งมักจะเกี่ยวข้องกับเฮมิเซลลูโลส และลิกนิน ซึ่งเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Gluconacetobacter* sp. เป็นที่สนใจสำหรับนักวิจัยอย่างกว้างขวาง เนื่องจากเซลลูโลสจากแบคทีเรียผลิตได้ง่ายและสามารถทำให้บริสุทธิ์ได้ด้วยการใช้สารกลุ่มอัลคาไลน์ (Gupta และคณะ, 2010)

Ochaikul (2013) รายงานว่าการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Gluconacetobacter nataicola* สายพันธ์ PAP1 มีการเปลี่ยนแปลงของ pH ระหว่างการเพาะเลี้ยงในอาหาร HS ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน รวมทั้งจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของสายพันธ์นี้มีการเพิ่มขึ้นหลังจากระยะlag phase ที่มีระยะเวลาประมาณ 2 วัน โดยจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตได้เพิ่มขึ้นอย่างๆ ช้าในช่วง 1 ถึง 2 วันแรก หลังจากนั้นก็มีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 ทั้งนี้การผลิตเซลลูโลสมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่ 3 เช่นกัน จากการศึกษาผลของปัจจัยต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตเซลลูโลสของสายพันธ์PAP1 พบว่าสายพันธ์นี้สามารถใช้น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด เช่น D-fructose, D-mannitol, D-sorbitol, glycerol, ethanol, maltose, lactose and sucrose

2.3 เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เซลลูโลสเป็นหนึ่งในพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีมากที่สุดบนโลก และส่วนใหญ่มักเก็บเกี่ยวได้จากพืช เซลลูโลส(Cellulose) เป็นสารอินทรีย์ที่สามารถสังเคราะห์ขึ้นได้ด้วยสิ่งมีชีวิตหลายชนิดซึ่งประกอบด้วย พืชและจุลินทรีย์ นอกเหนือจากได้รับการยอมรับว่าเป็นองค์ประกอบที่สำคัญของชีวมวลจากพืชแล้ว ยังเป็นตัวแทนของพอลิเมอร์ที่สร้างออกมานอกเซลล์จุลินทรีย์อีกด้วย (วราวุฒิ, 2551) เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีโครงสร้างทางเคมีที่เหมือนกันคือ β-1,4-กลูแคน, สูตรโมเลกุลเหมือนกัน $(C_6H_{12}O_6)n$, แต่ทั้งสองมีคุณสมบัติทางกายภาพต่างกัน(Kouda และคณะ, 1997) เมื่อเทียบกับเซลลูโลสจากพืช โดยเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์ กล่าวคือ ปราศจากลิกนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้เพื่อการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และเฮมิเซลลูโลส มีความเป็นผลึกสูง ความต้านทานแรงดึงสูง ความสามารถในการดูดซับน้ำสูง และมีแนวโน้มที่จะมีการปรับเปลี่ยนได้ในระหว่างการสังเคราะห์ ซึ่งเส้นใยของเซลลูโลสจากแบคทีเรียบางกว่าเซลลูโลสของพืช 100 เท่าทำให้มีรูพรุนมากขึ้น (Bajaj และคณะ, 2009).

เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นผลิตภัณฑ์ที่เฉพาะเจาะจงของเมแทบอลิซึมหลัก โดยส่วนใหญ่มีบทบาทเป็นสารเคลือบเซลล์ ในขณะที่เซลลูโลสจากพืชมีบทบาทเกี่ยวกับโครงสร้างพืช ทั้งนี้ในกลุ่มของจุลินทรีย์นั้นแบคทีเรียในกลุ่มที่สร้างกรดอะซิติกเป็นแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์เซลลูโลสโดยปล่อยเส้นใยเซลลูโลส (Cellulose microfibrils) ออกนอกเซลล์ เส้นใยจะรวมตัวกันเกิดเป็นแผ่นที่ลอยอยู่ผิวหน้าในสารอาหารที่อยู่ในสภาพนิ่ง อย่างไรก็ตามมีการค้นพบแบคทีเรียนี้ครั้งแรกในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชู (vinegar) โดยพบอยู่ในลักษณะวุ้นที่เรียกว่า เจล (gel) ที่สร้างอยู่บนผิวหน้าของน้ำหมักและเมื่อนำเจลดัง กล่าวไปวิเคราะห์ พบว่าเจลมีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลสซึ่งเรียกว่า เจลเซลลูโลส (cellulose gel) ดังนั้นต่อมาจึงเรียกเซลลูโลสที่สร้างจากแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติกนี้ว่าเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial cellulose) ทั้งนี้ได้สันนิษฐานว่าการสร้างแผ่นวุ้นของเชื้อที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องจากเชื้อที่ต้องการอากาศสามารถลอยตัวอยู่บนผิวหน้าอาหารเหลวได้ เพื่อรับออกซิเจนให้ได้มากที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่ามีเชื้อบางชนิดที่ต้องการออกซิเจนเพียงเล็กน้อย (microaerophilic) ที่สามารถเจริญและสร้างเซลลูโลสได้เช่นกัน โดยเฉพาะเซลลูโลสที่สร้างโดย *Acetobacter* นั้น พบว่ามีความบริสุทธิ์ทางเคมีโดยปราศจากลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส (ทิวารัตน์, 2549) แบคทีเรียสร้างเซลลูโลสขึ้นมาเพื่อทำหน้าที่เชื่อมระหว่างเซลล์กับอนุภาคหรือสารประกอบอาหารอื่นๆ ทำหน้าที่ป้องกันเซลล์ในสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโต เช่น สภาวะที่แห้งและอุณหภูมิต่ำ และทำหน้าที่ป้องกันการติดเชื้อจากไวรัส (นิภาวรรณ และนุชนารถ, 2548)

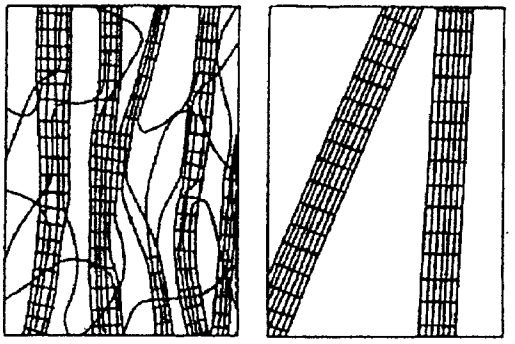
เซลลูโลสจากแบคทีเรียจัดเป็นสารอินทรีย์ที่บริโภคได้ ไม่มีรสชาติ ไม่มีกลิ่น และยังสามารถใช้ได้ในอุตสาหกรรมหลายประเภทรวมถึงอุตสาหกรรมอาหารด้วย เซลลูโลสจากแบคทีเรียนี้นิยมเรียกอีกอย่างว่า Nata ซึ่งนิยมเรียกที่ประเทศฟิลิปปินส์หรือในประเทศไทยมักจะเรียกว่า วุ้นสวรรค์ หรือวุ้นน้ำมะพร้าว ทั้งนี้แต่เดิมนิยมใช้มะพร้าวเป็นวัตถุดิบ อีกทั้งยังสามารถเลือกใช้กะทิเป็นวัตถุดิบได้เช่นกัน ดังนั้นจึงเรียกเซลลูโลสจากแบคทีเรียนี้ว่า Nata de Coco ซึ่งเป็นการเน้นว่าเป็นเซลลูโลสจากแบคทีเรียจากการใช้วัตถุดิบเป็นน้ำมะพร้าว นอกจากนี้ยังอาจเรียกว่า Nata de Pina ซึ่งระบุถึงเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตจากน้ำสับปะรด ผลิตภัณฑ์ Nata de Pina นี้เป็นที่รู้จักกันดีในประเทศต่างๆ เช่น ฟิลิปปินส์ ไทย ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย ไต้หวัน และสหรัฐอเมริกา เนื่องจากมีสมบัติที่เฉพาะ เช่น เหนียวและหนึบแต่ไม่แข็ง และยังสามารถทำให้มีกลิ่นรสที่ต้องการโดยอาศัยการแช่ในสารละลายที่ให้กลิ่นได้ด้วย (วราวุฒิ, 2551)

2.4 ลักษณะของเซลลูโลส

2.4.1 โครงสร้างของเซลลูโลส

การวิจัยเกี่ยวกับเซลลูโลสจากแบคทีเรียพบว่า เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีองค์ประกอบทางเคมีเหมือนกับเซลลูโลสจากพืช แต่โครงสร้างด้านมาโครโมเลกุลและคุณสมบัติแตกต่างกัน ดังแสดงใน รูปที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แผนผังโครงร่างของเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย(ขวา) วาดเปรียบเทียบกับเส้นใยของเซลลูโลสจากพืช
ที่มา: Doi และ Steinbuchi (2005)

เส้นใยขนาดย่อยของเซลลูโลสจากแบคทีเรียจะเกิดการตกผลึกเป็นเส้นใยขนาดเล็ก ซึ่งเส้นใยขนาดเล็กเหล่านี้จะเกิดการรวมตัวกันภายหลังกลายเป็นแถบสายของเส้นใยเซลลูโลส มีรายงานว่าขนาดของแถบเส้นใยมีความหนา 3-4 นาโนเมตร กว้าง 70 – 80 นาโนเมตร ในขณะที่ความกว้างของเส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากไม้เบิร์ชและต้นสน พืชทั้งสองมีขนาดความกว้างของเส้นใยเซลลูโลสมากกว่า คือ $1.4 – 4.0 \times 10^{-2}$ และ $3.0 – 7.5 \times 10^{-2}$ มิลลิเมตร ตามลำดับ แถบเส้นขนาดเล็กของเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีความยาวอยู่ในช่วงตั้งแต่ 1 ถึง 9 ไมโครเมตร จากโครงสร้างซึ่งมีลักษณะเหมือนตาข่ายที่มีความหนาแน่น และความเสถียรเกิดขึ้นจากพันธะไฮโดรเจนที่อยู่กระจายทั่วทั้งโครงสร้าง แสดงดังรูปที่ 2.2 (Doi และ Steinbuchi, 2005)

(ก) (ข)

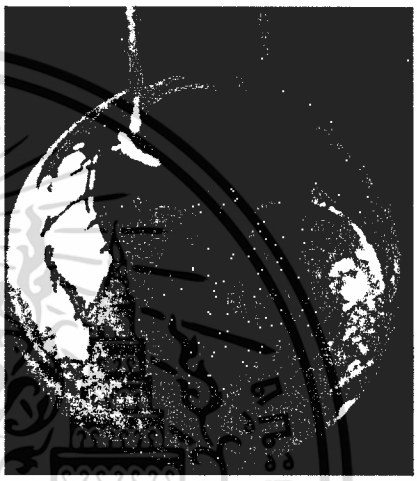
ภาพที่ 2.2 (ก) รูปจากกล้องจุลทรรศน์แบบส่องกราดของเยื่อเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เลี้ยงในสภาวะนิ่งโดยเชื้อ *A. xylinum*
(ข) รูปแถบเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เชื่อมพันกันอยู่
ที่มา: Doi และ Steinbuchi (2005)

ในสภาวะนิ่ง (รูปที่ 2:3) แบคทีเรียจะสร้างเซลลูโลสเป็นแผ่นบนพื้นผิวหน้าของอาหารเหลวที่อุดมไปด้วยออกซิเจน และบริเวณที่ของเหลวสัมผัสกับอากาศ เส้นใยย่อยของเซลลูโลสมีการโผล่ออกมาอย่างต่อเนื่องจากรูพรุนที่ผิวของเซลล์แบคทีเรีย แล้วตกผลึกเป็นเส้นใยขนาดเล็กดันตัวเซลล์ให้กดลึกลงไปในอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง ดังนั้นจะเหมือนมีฝ้ามาปกคลุมกลุ่มเซลล์ไว้ ซึ่งฝ้าที่เกิดขึ้นนี้ประกอบด้วยการซ้อนทับกัน และการขดเข้าด้วยกันของแถบเส้นเซลลูโลส สร้างเป็นระนาบแบบขนาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันแต่เรียงตัวไม่เป็นระเบียบ (Jonas และ Farah, 1998) ในเซลลูโลสที่ได้จากสภาวะนิ่งการติดกันของกิ่งโครงสร้างและการเชื่อมต่อกันของกิ่งก้านนั้นน้อยกว่าเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตในสภาวะเขย่า เซลลูโลสจากแบคทีเรียในสภาวะเขย่านั้นมีลักษณะเป็นเม็ดเล็กๆ สม่ำเสมอ ซึ่งมีลักษณะของเส้นใยเป็นรูปดาวกระจายตัวอย่างสม่ำเสมอในอาหารเลี้ยงเชื้อ (ภาพ 2.4) เส้นใยของเซลลูโลสจากแบคทีเรียซึ่งมีลักษณะเหมือนตาข่าย จากการเพาะลี้ยงในสภาวะเขย่าเกิดการเชื่อมต่อที่สร้างเป็นรูปร่างเหมือนตะแกรง และมีลักษณะทั้งขนานกันและตั้งฉากกันอย่างหยาบๆ ด้วย (Doi และ Steinbuchi, 2005)

รูปที่ 2.3 เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ก่อตัวขึ้นในการเพาะเลี้ยงสภาวะนิ่ง
ที่มา : Doi และ Steinbuchi (2005)



รูปที่ 2.4 เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ก่อตัวขึ้นในการเพาะเลี้ยงสภาวะเขย่า
ที่มา : Doi และ Steinbuchi (2005)

โดยธรรมชาติเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถสานตัวกันจนเป็นแผ่นลอยอยู่บนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อได้ ทั้งนี้เนื่องจากพอลิเมอร์ที่เกิดขึ้นนั้นสามารถปล่อยออกมาจากนอกเซลล์ของแบคทีเรียที่สร้างได้ สำหรับเหตุผลที่เซลลูโลสเกิดการลอยตัวมาที่ผิวนั้นสันนิษฐานว่าเกิดจากผลของฟองก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้นจากกระบวนการเมแทบอลิซึมของเซลล์ถูกจับอยู่ในโครงร่างแหเซลลูโลส (Cellulose matrix) และก่อให้เกิดแรงขับเคลื่อน (driving force) ให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียลอยขึ้นสู่ผิวหน้าอาหารเลี้ยงเชื้อ

รูปแบบของผลึกเซลลูโลสโดยทั่วไปแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม คือ กลุ่ม 1 และ กลุ่ม 2 ซึ่งสามารถแยกความแตกต่างของทั้ง 2 กลุ่มได้โดยใช้ การเอ็กซ์เรย์ วิธีเอ็นเอ็มอาร์ รามานสเปคโทรสโคปี และการวิเคราะห์ด้วยอินฟาเรด (Johnson และ Neogi, 1989)

มีการสังเกตพบว่าบางส่วนที่สำคัญของเซลลูโลสในกลุ่มที่ 2 นั้นมีอยู่ในเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่เลี้ยงในสภาวะเขย่า ซึ่งในธรรมชาตินั้นเซลลูโลสกลุ่มที่ 2 จะมีจุลินทรีย์เพียงไม่กี่ชนิดที่สังเคราะห์ได้ (สาหร่าย รา และแบคทีเรีย เช่น *Sarcina ventriculi*) (Jonas และ Farah, 1998) ในทางอุตสาหกรรมการผลิตเซลลูโลสกลุ่มที่ 2 นี้อยู่บนพื้นฐานการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของเซลลูโลสจากพืช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อเปรียบเทียบขนาดของเส้นใยเซลลูโลสกับขนาดของเส้นใยอื่นๆ พบว่าเส้นใยเซลลูโลสมีขนาดเล็กกว่าเส้นผม เส้นใยฝ้าย (cotton fiber) เส้นใยไม้ (wood pulp fiber) เส้นใยสังเคราะห์ (synthesis fiber) และเส้นใยคอลลาเจน (collagen fiber) อย่างมาก

2.4.2 ชีวเคมีของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เซลลูโลสจากแบคทีเรียโครงสร้างมีลักษณะเช่นเดียวกับเซลลูโลสจากพืช คือ เป็นเส้นสายของพอลิเมอร์ที่มีหน่วยย่อยประกอบด้วยกลูโคสมีสูตรโมเลกุลโดยทั่วไปคือ $C_6H_{12}O_6$ เพียงชนิดเดียว จึงเรียกว่า โฮโมพอลิเมอร์ (homopolymer) ที่ต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1,4 (β-1,4) ในระหว่างเส้นสายต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจน เซลลูโลสอยู่ในรูปโครงสร้างที่ไม่ละลายน้ำ เซลลูโลสมีสายโมเลกุลต่อกันเป็นพันธะที่ยาวมาก มีหมู่ไฮดรอกซิลถึง 3 หมู่ สามารถเกิดพันธะไฮโดรเจนได้ แรงดึงดูดระหว่างโมเลกุลของ เซลลูโลสจึงมีมาก และโครงสร้างของเซลลูโลสยังจัดตัวอย่างเป็นระเบียบ จึงทำให้เซลลูโลสมีความเป็นผลึกสูงมาก นอกจากนี้ยังพบว่าความต้านทานแรงดึงขาด ค่าความยืดหยุ่น และอุณหภูมิการหลอมตัวสูงมาก มักจะเกิดการสลายตัวก่อนถึงอุณหภูมิหลอมตัวและมีความสามารถในการละลายต่ำ

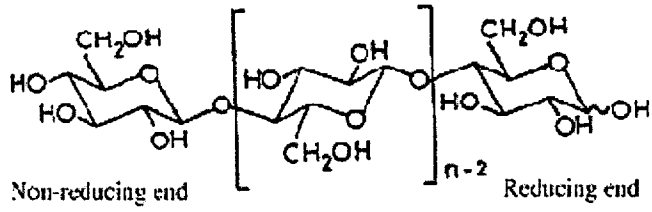
biocellulose หรือ bacterial cellulose ซึ่งสามารถย่อยสลายได้ในธรรมชาติ เซลลูโลสดังกล่าวมีหน้าที่ปกป้องและรักษาระดับน้ำและออกซิเจนภายในเซลล์ ทั้งเซลลูโลสจากพืชและจากแบคทีเรีย จะมีโครงสร้างทางเคมีที่เหมือนกัน (ภาพที่ 2.5) แต่มีลักษณะภายนอกต่างกัน (ภาพที่ 2.6)

สำหรับเซลล์พืช เซลลูโลสเป็นส่วนประกอบของไมโครไฟบริล (microfibrils) ส่วนเซลลูโลสจากแบคทีเรีย จะประกอบไปด้วยเส้นใยเล็กๆ มากมายเชื่อมกันเป็นร่างแหซึ่งต่างจากของพืช

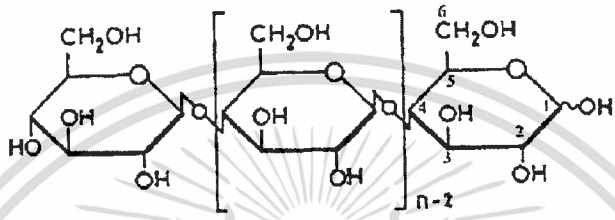
ปัจจุบันมีความสนใจเกี่ยวกับเซลลูโลสจากแบคทีเรียมากขึ้นเนื่องจาก เซลลูโลสจากแบคทีเรียถือเป็นทางเลือกใหม่ ที่จะใช้ทดแทนเซลลูโลสจากพืชที่ใช้ระยะเวลาในการผลิตนานกว่าการผลิตจากแบคทีเรียที่ใช้เวลาน้อย และให้ผลผลิตที่มีคุณภาพดีทดแทนการใช้พืชลดการทำลายต้นไม้ นอกจากนี้เป็นการป้องกันภาวะโลกร้อนได้

เซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีค่าการอุ้มน้ำสูงแต่น้ำจะไม่จับตัวกับเส้นใย ทำให้สามารถรีดน้ำออกได้โดยใช้แรงกดทับ เมื่อต้องการทำให้แห้งคล้ายกับการผลิตกระดาษ โดยเมื่อแห้งแล้วจะมีความหนาประมาณ 0.01 - 0.05 มิลลิเมตร และมีสมบัติการดูดซับน้ำที่ดี สมบัติของเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถปรับเปลี่ยนขั้นตอนการสังเคราะห์หรือ วิธีการเลี้ยงให้เหมาะสม (สุกัญญา, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



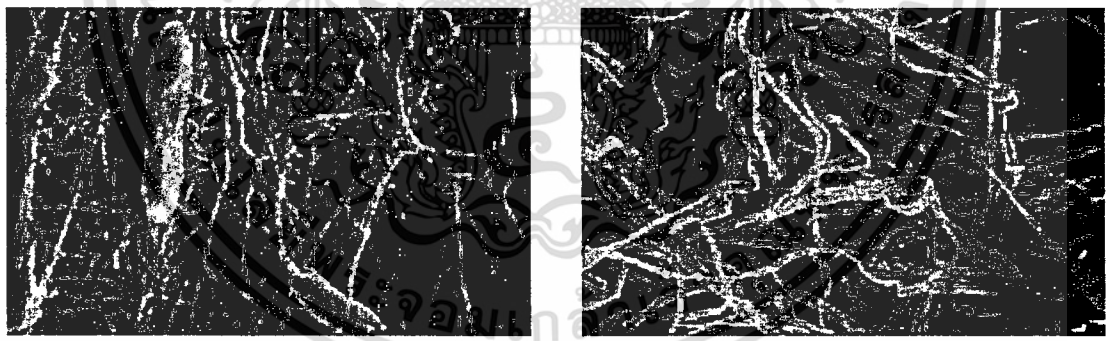
(ก)



(ข)

รูปที่ 2.5 โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส (ก) โครงสร้าง 3 มิติ (ข) โครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลส

ที่มา : fibersource (2009)



เซลลูโลสจาก *Acetobacter xylinum* เซลลูโลสจากพืช

รูปที่ 2.6 ลักษณะภายนอกของเซลลูโลสใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน

ที่มา : chemical resources laboratory (2008)

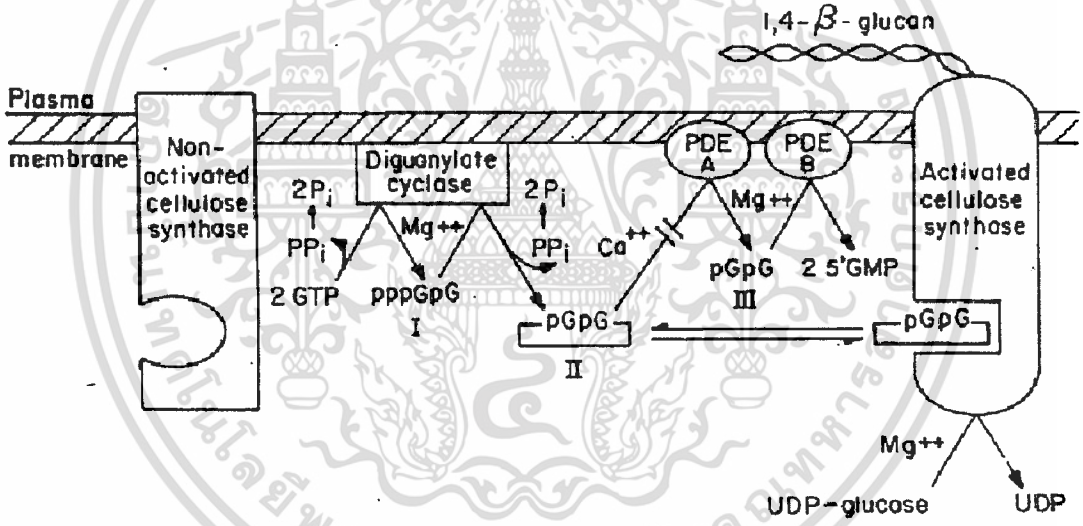
2.4.3 คุณสมบัติของเซลลูโลส

มีความบริสุทธิ์สูง ไม่มีสารอื่นมาเจือปนเหมือนเซลลูโลสจากพืช สารเจือปนเช่น เฮมิเซลลูโลส หรือลิกนิน มีคุณสมบัติทางกายภาพที่ดี เช่น มีความยืดหยุ่นสูง (elasticity) มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง ไม่เป็นพิษ และไม่ก่อให้เกิดภูมิแพ้ อีกทั้งยังมีความสามารถการต้านทานความร้อน (heat resistance) ที่อุณหภูมิสูงถึง 100 องซาเซลเซียส ได้นานถึง 3 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

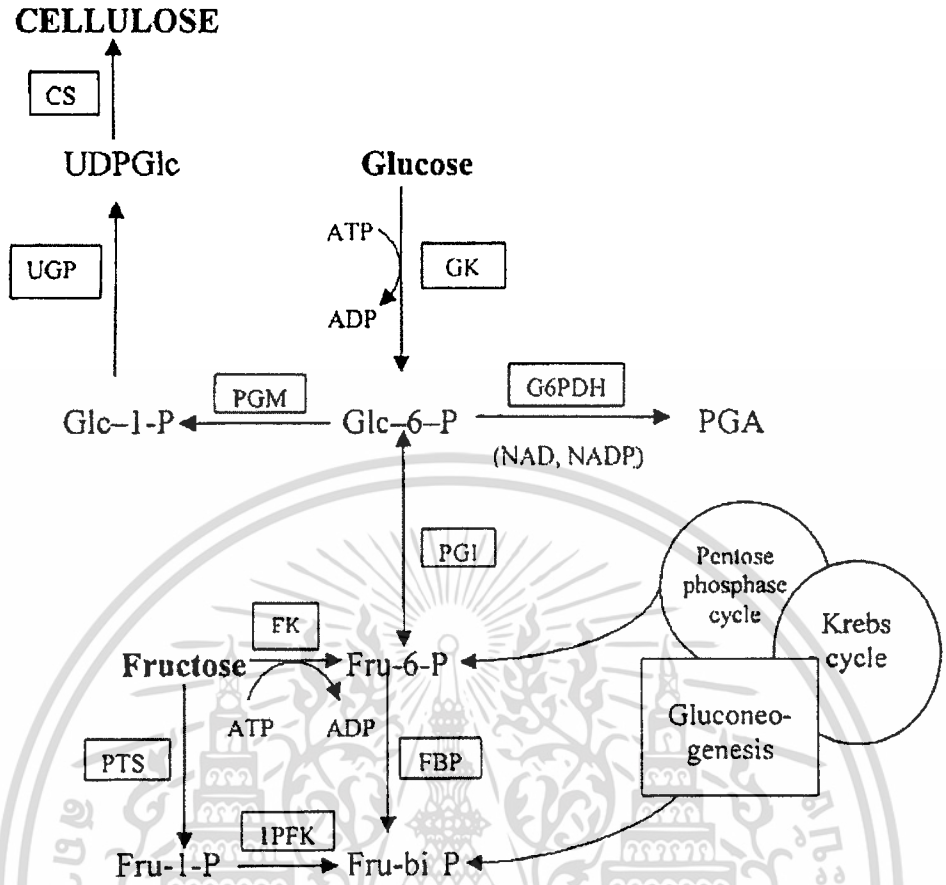
2.5 กลไกการสังเคราะห์เซลลูโลส

กลไกการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีการควบคุมอย่างแม่นยำ โดยเฉพาะอย่างยิ่งมีกระบวนการหลายขั้นตอนรวมไปถึงตัวเร่งปฏิกิริยาเชิงซ้อน และโปรตีนควบคุมต่างๆ มาเกี่ยวข้อง กระบวนการประกอบไปด้วยการสังเคราะห์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส (Uridine diphosphoglucose : UDPGlc) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของเซลลูโลส การเกิดพอลิเมอร์ไรเซชั่นของกลูโคสเกี่ยวกับพันธะเบต้า 1,4 glucan (β-1,4 glucan) ทั้งนี้การสังเคราะห์เซลลูโลส(ภาพที่ 2.7) โดยที่สารตัวกลางหลักคือ กลูโคส-6-ฟอสเฟต (G-6-P) อาจจะเปลี่ยนแปลงมาจากกลูโคส หรือฟรุกโตส-6-ฟอสเฟต (F-6-P) โดยผ่านทางวงจรไกลโคไลซิส(Glycolysis) หรือกลูโคสถูกนำไปเข้าสู่กระบวนการเมแทบอลิซึมผ่านทางวงจรเพนโตสฟอสเฟต (Pentose phosphate pathway) โดยเปลี่ยนเป็นกลูโคส-6-ฟอสเฟต (G-6-P) จนกระทั่งเป็น UDP-กลูโคส (UDP-Glc) ซึ่งเป็นสารตั้งต้นของการสังเคราะห์เซลลูโลสดังแสดงในภาพที่ 2.8 ความสามารถในการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถตรวจสอบได้ง่ายโดยอาศัยการติดตามปริมาณพอลิเมอร์ที่สร้างขึ้น จากนั้น UDP-กลูโคสที่สังเคราะห์ขึ้นจะเกิดการรวมตัวกันเป็นเส้นใยเซลลูโลสและปล่อยออกภายนอกเซลล์โดยอาศัยโปรตีนเอนไซม์เชิงซ้อนที่เซลล์เมมเบรน (membrane protein complex) ซึ่งเรียกว่า Cellulose synthase



รูปที่ 2.7 การควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย
ที่มา : Ross และคณะ (1991)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 วิถีกระบวนการเมแทบอลิซึมของคาร์บอน ใน *A. xylinum* ในการสังเคราะห์เซลลูโลส ; CS , Cellulose synthase ; UGP , pyrophosphorylase UPDGLc ; PGM , Phophoglucose mutase ; GK , Glucose hexokinase ; G6PDH , Glucose-6-phosphate dehydrogenase , PGA , Phosphogluconic acid ; Glc-6-P , Glucose-6-phosphate ; Glc-1-P , Glucose-1-phosphate ; PGI , Phosphoglucoisomerase ; Fru-6-P , Fructose-6-phosphate ; FK , Fructose hexokinase ; PTS , System of phosphotransferases ; 1PFK , Fructose-1-phosphatekinase ; Fru-1-P , Fructose-1-phosphate ; Fru-bi-P , Fructose-1,6-bi-phosphate ; FBP , Fructose-1,6-bisphosphate phosphatase.

ที่มา : Doi และ Steinbuchi (2005)

สรุปการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียจากสารตั้งต้นคือ UDP-กลูโคส (Uridine diphosphoglucose : UDPGlc) แสดงในสมการดังนี้

$$UDP\text{-}G + (glucose)_n \longrightarrow UDP + (glucose)_{n+1}$$

เซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ปัจจัยที่มีผลต่อกระบวนการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

2.6.1 แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจน

ในการศึกษาเกี่ยวกับผลของปัจจัยต่อการผลิตเซลลูโลสมักมุ่งความสนใจไปที่แหล่งคาร์บอนหลายๆ อย่างทั้ง โมเลกุลเดี่ยว โมเลกุลคู่ พอลิแซ็คคาไรด์ แอลกอฮอล์ กรดอินทรีย์ และสารประกอบอื่นๆ ซึ่ง Janas และFarah (1998)ได้ค้นพบว่าแหล่งคาร์บอนที่ต้องการคือ ดี-อราบิทอล และ ดี-แมนนิทอล โดยให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงขึ้นถึง 6.2 หรือ 3.8 เท่า ตามลำดับ ในการเปรียบเทียบกับกลูโคส น้ำตาลแอลกอฮอล์ทั้งสองมีการรักษาเสถียรภาพของค่า pH ตลอดระยะเวลาการเลี้ยง

การผลิตเซลลูโลสของแต่ละสายพันธุ์ต้องการแหล่งไนโตรเจนที่ซับซ้อนเฉพาะ ซึ่งไม่ใช่เพียงแต่กรดอะมิโนเท่านั้น แต่ยังรวมถึงวิตามินและเกลือแร่ด้วยเช่นกัน ความต้องการเหล่านี้จะพบได้กับยีสต์สกัด น้ำแช่ข้าวโพด ตลอดจนเคซินในกระบวนการไฮโดรไลซิส และโปรตีนอื่นๆ แหล่งไนโตรเจนที่ต้องการก็คือ ยีสต์สกัด และเปปโตนซึ่งเป็นองค์ประกอบพื้นฐานในสูตรอาหารที่คิดค้นโดย Hestrin และ Schramm (1954;อาหาร H-S) ซึ่งมีการนำมาประยุกต์ใช้ในการศึกษาในด้านการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย อย่างไรก็ตามแหล่งไนโตรเจนที่แนะนำมากที่สุดสำหรับการเพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่า คือ น้ำแช่ข้าวโพด

นอกจากนี้แหล่งไนโตรเจนเป็นส่วนสำคัญขององค์ประกอบในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีราคาแพง เช่น ยีสต์สกัด และแบคโตเปปโตน สามารถแทนที่ด้วยน้ำแช่ข้าวโพดหรือแม้กระทั่งน้ำจากผักกาดขาวเช่นเดียวกันกับของเสียจากส่วนประกอบของพืช เช่น กากน้ำตาลจากชูการ์บีท ของเหลวที่ได้หลังจากการแยกกลูโคสจากกระบวนการย่อยสลายแป้ง ตลอดจนน้ำหางนม และของเสียจากกระบวนการหมักในอุตสาหกรรม เช่น ของเหลวหลังจากการตกตะกอนเด็กซ์แทรนด้วยเอทานอล เป็นองค์ประกอบอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสม

2.6.2 อาหารที่ใช้เพาะเลี้ยง

อาหารที่นิยมนำมาใช้เพาะเลี้ยงทั้งทำเป็นหัวเชื้อเริ่มต้น และใช้เพาะเลี้ยงเพื่อให้ได้เซลลูโลสออกมานิยมใช้อาหารอยู่ 2 สูตร คือ อาหาร Hestrin-Schramm (HS) และอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยสูตรอาหาร Hestrin-Schramm (HS) ประกอบไปด้วย น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 ต่อปริมาตรอาหาร เปปโตนร้อยละ 0.5 ต่อปริมาตรอาหาร ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ต่อปริมาตรอาหาร ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 ต่อปริมาตรอาหาร กรดซิตริกร้อยละ 0.12 ต่อปริมาตรอาหาร แต่อาหารสูตรนี้นิยมใช้ในห้องปฏิบัติการเท่านั้นเนื่องจากมีสารเคมีต่างๆ ที่หาซื้อยากตามท้องตลาดทั่วไป และอาหารสูตรน้ำมะพร้าว (Coconut water medium) เป็นสูตรอาหารที่นิยมใช้กันมาก เพราะทำได้ง่าย และส่วนผสมไม่ยุ่งยาก โดยส่วนใหญ่ชาวบ้านจะนิยมใช้สูตรอาหารนี้ในการผลิตเซลลูโลส และอาจจะมีการเติมกรดลงไปเพื่อปรับ pH ก็ได้ ส่วนอาหารสูตรอื่นๆ ก็มีการนำมาใช้ในการเพาะเลี้ยงเช่นกัน ตัวอย่างเช่น

1. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรของ Alaban

ประกอบด้วย (กรัม/ลิตร) ซูโครส 100 เอทานอล 25 ยีสต์สกัด 2.5 แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 5 แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรของ Forang

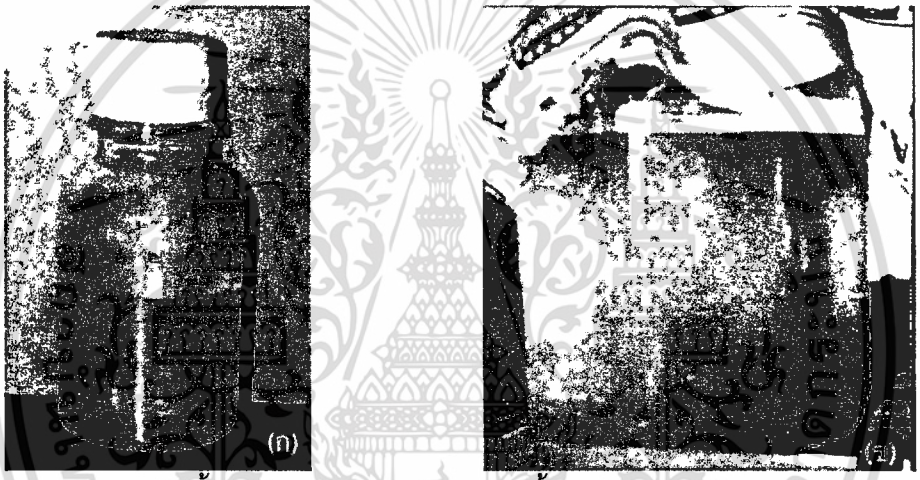
ประกอบด้วย (กรัม/ลิตร) กลูโคส 20 แอมโมเนียมคลอไรด์ 10 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 2.7 แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 และปรับค่าความเป็นกรด–ด่าง เท่ากับ 5.0

3. อาหารเลี้ยงเชื้อสูตรของ Okiyama

ประกอบด้วย (กรัม/ลิตร) ซูโครส 100 ยีสต์สกัด 5 แอมโมเนียมซัลเฟต 5 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 3 แมกนีเซียมซัลเฟต 0.2 และปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.0

รูปที่ 2.9(ก) เป็นตัวอย่างของหัวเชื้อ *A. xylinum* DK ที่เลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวบรรจุอยู่ในขวดขนาดบรรจุ 120 ลูกบาศก์เมตร ซึ่งใช้เป็นหัวเชื้อที่เก็บรักษาไว้ (stock culture) และรูปที่ 2.9(ข) เป็นหัวเชื้อ *A. xylinum* ที่ชาวบ้านเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวที่บรรจุในขวดโหล

หัวเชื้อที่พร้อมใช้งานนี้จะสังเกตเห็นเยื่อของเชื้อกระจายเป็นสาย ดังแสดงด้วยลูกศรชี้ในรูปที่ 2.9(ข) สำหรับหัวเชื้อที่ชาวบ้านซื้อมานั้นจะซื้อมาในลักษณะที่เลี้ยงเชื้อในขวดคล้ายกับรูปที่ 2.9 (ก)(วราวุฒิ, 2551)

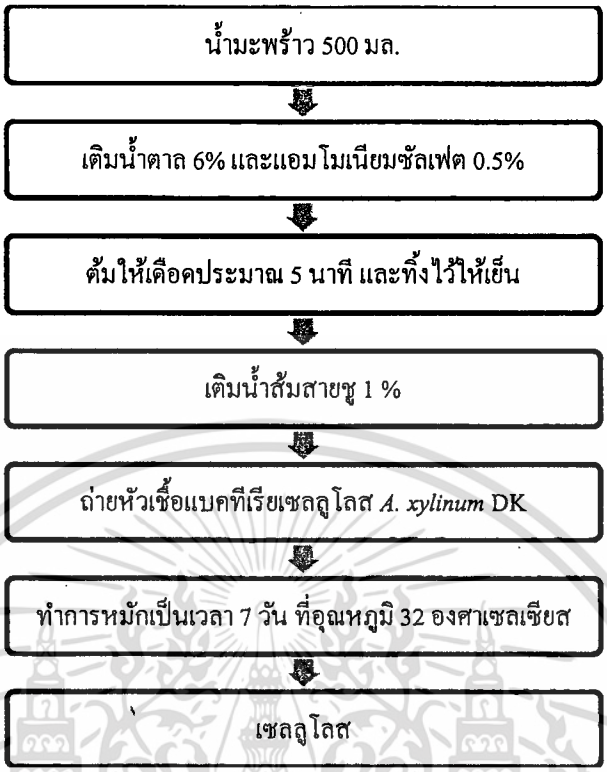


รูปที่ 2.9 ลักษณะของหัวเชื้อแบคทีเรียเซลลูโลส: (ก) หัวเชื้อ *A. xylinum* DK ในขวดขนาด 120 ลูกบาศก์เมตร; (ข) หัวเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* ที่ชาวบ้านใช้ในการผลิตวุ้นเซลลูโลส
ที่มา : วราวุฒิ (2551)

2.7 กระบวนการผลิตเซลลูโลส

โดยทั่วไปกระบวนการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียหรือที่นิยมเรียกว่า วุ้นน้ำมะพร้าว หรือวุ้นสวรรค์ นิยมใช้การหมักในสภาพนิ่ง (static condition) การผลิตภายในประเทศมักเลือกใช้น้ำมะพร้าวเป็นวัตถุดิบ โดยที่ต้องควบคุมให้เวลาหลังการเก็บรวบรวมน้ำมะพร้าวจากแหล่งผลิตไม่ให้เกิน 3 ชั่วโมง เนื่องจากน้ำมะพร้าวอาจเกิดการเสื่อมเสียได้ อย่างไรก็ตามถ้าไม่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการผลิตได้ทันหรือวางแผนใช้น้ำมะพร้าวเกินช่วง 3 ชั่วโมงดังที่กล่าวถึงนี้จำเป็นต้องมีการเติมน้ำสายชู หรือ กรดอะซิติกเพื่อป้องกันการเสื่อมเสียของน้ำมะพร้าว เพราะน้ำส้มสายชูมีคุณสมบัติในการยับยั้งหรือทำลายการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย อีกทั้งในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียมีการเติมน้ำส้มสายชูประมาณร้อยละ 1 อยู่แล้ว ดังนั้นในกรณีนี้จึงเลือกใช้การปรับน้ำมะพร้าวด้วยน้ำส้มสายชูให้มีปริมาณความเป็นกรดประมาณร้อยละ 2 สำหรับขั้นตอนการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และลักษณะเซลลูโลสที่ได้แสดงในรูปที่ 2.10 และ 2.11 ตามลำดับ และรูปที่ 2.12 เป็นตัวอย่างผลิตภัณฑ์ที่ผลิตโดยชุมชน

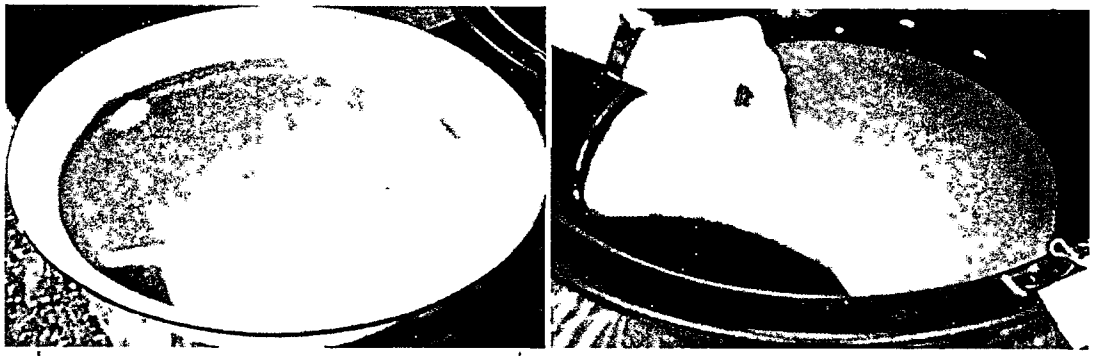
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



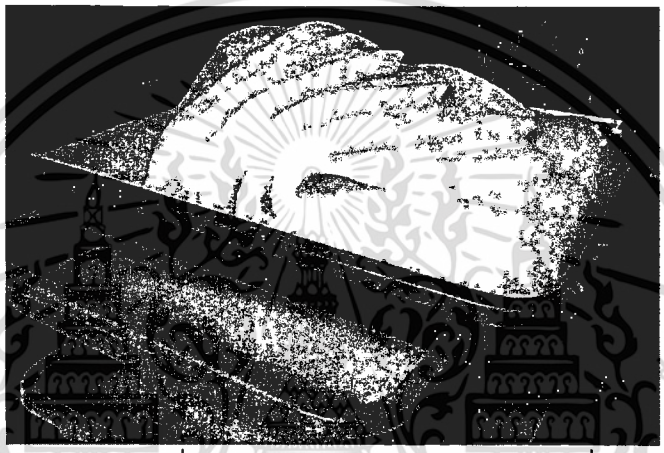
รูปที่ 2.10 ขั้นตอนการผลิตเซลลูโลสจาก แบคทีเรีย *A. xylinum* DK
ที่มา : วราวุฒิ (2551)

รูปที่ 2.11 ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตภายหลังการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศา-เซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน : (ก) การหมักในถาดสแตนเลส; (ข) เซลลูโลสที่ผลิตได้จากถาดสแตนเลสขนาดต่างๆ
ที่มา : วราวุฒิ (2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

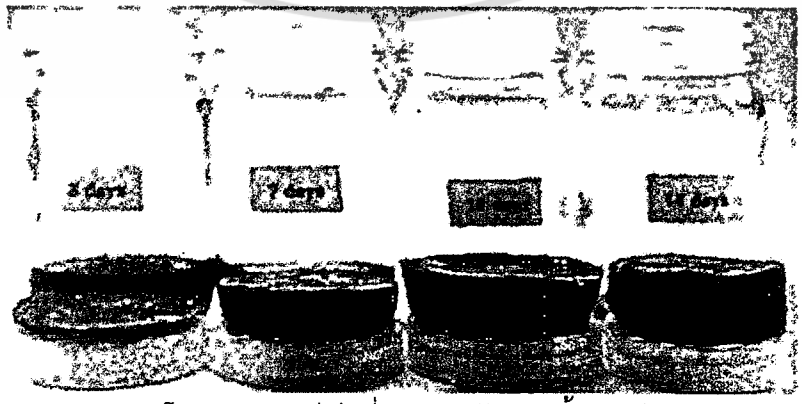


รูปที่ 2.12 ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตโดยชุมชน
ที่มา : วราวุฒิ (2551)



รูปที่ 2.13 เซลลูโลส หรือวุ้นสวรรค์ที่ผลิตได้จากการผลิตในระดับชุมชน เพื่อนำไปใช้เป็นอาหาร
ที่มา : www.monmai.com (วันที่ 8 เดือนตุลาคม พ.ศ. 2556)

นอกจากน้ำมะพร้าวที่เป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมและนิยมใช้แล้ว ยังมีวัตถุดิบชนิดอื่นที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียได้ เช่น น้ำผลไม้ (อาทิเช่น น้ำสับปะรด น้ำแตงโม) น้ำกะทิ น้ำหางกะทิ น้ำหางนมจากโรงงานผลิตเนย น้ำกากส่าจากโรงงานผลิตแอลกอฮอล์ สำหรับรูปที่ 2.14 เป็นลักษณะของเซลลูโลสที่ได้จากการหมักน้ำกากส่าซึ่งพบว่าจะยังคงมีสีน้ำตาลเข้มของน้ำกากส่า (วราวุฒิ, 2551)



รูปที่ 2.14 ลักษณะของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตจากวัตถุดิบน้ำกากส่า
ที่มา : วราวุฒิ (2551)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7.1 วิธีการทำให้เป็นเซลลูโลสบริสุทธิ์

วิธีการผลิตเซลลูโลสที่สร้างขึ้นมาแล้วจะมีเซลล์ของแบคทีเรียรวมอยู่ด้วย จึงต้องนำเซลลูโลสที่ผลิตได้ มาทำให้บริสุทธิ์โดยวิธีการต่างๆ

วิธีการต่างๆ ที่ทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีความบริสุทธิ์ ได้แก่ การล้าง การระเหยภายใต้ความดัน การล้างด้วยกรด ล้างด้วยด่าง ฟอกสีให้ขาวด้วยไฮโปรคลอไรด์ หรือไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ ใช้เอนไซม์ไลซิง (lysing) ร่วมกับไลติค (lytic) หรือใช้ laury sulfate หรือ deoxycholate ที่อุณหภูมิห้อง หรือที่ 200 องศาเซลเซียส

การล้างด้วยน้ำเป็นการเอาอาหารออกจากเซลลูโลส จากนั้นสกัดด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อเอาเซลล์ของแบคทีเรียออก ล้างด้วยน้ำให้หมด นำไปอบด้วยตู้อบแห้งแบบสุญญากาศ (vacumm oven) ที่ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมงเพื่อทำให้เซลล์แห้ง

Kasaoka (1993) ทำการเก็บเกี่ยวเซลลูโลสจากการเลี้ยงด้วย *A. xylinum* ในอาหารเหลว จากนั้นนำเซลลูโลสที่ได้กรองด้วยตะแกรง ขนาด 45 ไมครอน จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออนหลายๆครั้ง นำไปต้มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 2 เป็นเวลา 20 นาทีและล้างด้วยน้ำกลั่นที่ปราศจาก อิออนอีกหลายๆครั้ง จนหมดด่าง นำเซลลูโลสไปอบที่อุณหภูมิ 95 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาหนึ่งคืน ทำให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำไปชั่งเพื่อหาน้ำหนักแห้งของเซลลูโลสที่ผลิตได้

Ramana และคณะ (2000) ศึกษาการใช้ด่าง (alkali treatment) ในการล้างอาหารเลี้ยงเชื้อออกจากเซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรีย จะเห็นโครงสร้างที่เป็นรูพรุน (porous structure) และลักษณะเส้นใย (fibrillar structure) หลังการล้างด้วยด่าง (ทิวารัตน์ และคณะ, 2549)

2.8 การใช้ประโยชน์ในเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

2.8.1 ในด้านอาหาร

เนื่องจากคุณสมบัติด้านใยอาหาร จึงได้นำมาประยุกต์ใช้เป็นแหล่งของใยอาหารในอาหาร โดยผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นโดยใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ มีดังนี้

1. ขนมหวานและเครื่องดื่ม ประกอบด้วย
   - วุ้นมะพร้าวในน้ำเชื่อมเข้มข้น หรือเรียกว่า Nata de Coco in Heavy Syrup โดยใช้น้ำเชื่อมเข้มข้น ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีรสชาติหวานจัด และเก็บได้นาน
   - วุ้นมะพร้าวในน้ำเชื่อมเจือจาง
   - ผลิตภัณฑ์วุ้นมะพร้าวผสมน้ำผลไม้
   - เครื่องดื่มเยื่อใย โดยอาศัยการตีปั่นของวุ้นมะพร้าว แล้วนำไปผสมกับเครื่องดื่ม
   - เติมชิ้นวุ้นมะพร้าวลงในผลิตภัณฑ์ เช่นโยเกิร์ต เยลลี่
   - ผสมในเครื่องดื่มธัญชาติ

2. อาหารคาว โดยการนำของเหลือจากกระบวนการผลิตเซลลูโลสมาผลิต เช่น เศษน้ำหมักนำไปผลิตน้ำจิ้มไก่ เศษวุ้นจากการตัดนำไปปรุงอาหาร เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยผู้บริโภคเชื่อกันว่าการทานวุ้นมะพร้าว (nata de coco) จะช่วยต้านการเกิดมะเร็งในลำไส้ โรคเครียด โรคหลอดเลือดหัวใจอุดตัน และป้องกันการเพิ่มปริมาณน้ำตาลในปัสสาวะ ดังนั้นวุ้นมะพร้าวจึงได้รับความนิยมในการบริโภคเพิ่มขึ้น

จีนได้ผลิตอาหารที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นส่วนประกอบขึ้นเรียกว่าชาเห็ด (teakvass or tea-fungus) โดยได้จากการเลี้ยงเชื้อยีสต์และแบคทีเรียกรดอะซิติกในชา ที่มีส่วนประกอบของน้ำตาล ซึ่งจะเกิดเซลลูโลสบนผิวหน้าและเอนไซม์ที่มีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค โดยกิจกรรมของเซลลูโลสจากแบคทีเรียและชาจะจำเพาะเจาะจงไปกระตุ้นส่วนของลำไส้เพื่อป้องกันการเกิดมะเร็งในลำไส้

นอกจากนี้มีการศึกษาการนำแผ่นเซลลูโลสแบคทีเรียที่สังเคราะห์ได้จากเชื้อ *A. xylinum* มาประยุกต์ใช้เพื่อผลิตไวน์และน้ำผลไม้โดยใช้เป็นตัวกรองและตัวตรึงสาร polyphenols ได้เป็นผลสำเร็จ ได้มีการผลิต anthocyanins เป็นตัวกระตุ้นทางชีวภาพในอาหารควบคุมน้ำหนักจำพวกเส้นใย โดยนำมาใช้ในการผลิตอาหารเพื่อสุขภาพได้เป็นอย่างดี นอกจากนี้เซลลูโลสจากแบคทีเรียยังสามารถนำมาใช้เป็นส่วนประกอบของเยเกอร์ที่มีบทบาทในเรื่องของเส้นใย รสชาติ กลิ่น รวมไปถึงยืดอายุในการเก็บรักษาได้เป็นอย่างดีด้วย

2.8.2 ในด้านการเกษตร

ใช้เป็นสารเคลือบผิวผลไม้ เพื่อช่วยยืดความสด โดยการชะลอการเปลี่ยนแปลงสีผิวของผลไม้ เซลลูโลสจากแบคทีเรีย *A. xylinum* DK ที่ผ่านการตีปั่นอย่างละเอียดสามารถนำมาใช้เป็นส่วนผสมเพื่อเตรียมสารเคลือบผิวของกล้วยไข่ได้ดี โดยสูตรที่เหมาะสมประกอบด้วยแป้งมันต่อเซลลูโลสต่อน้ำเท่ากับอัตราส่วน 1 ต่อ 60 ต่อการเคลือบผิวกล้วยไข่ด้วยสูตรดังกล่าวสามารถช่วยยืดความสดโดยเฉพาะช่วยชะลอการเปลี่ยนแปลงสีผิวของกล้วยไข่ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ได้อย่างชัดเจนเมื่อเปรียบเทียบกับกล้วยไข่ที่ไม่ได้ผ่านการเคลือบผิว

2.8.3 ในด้านอุตสาหกรรม

1. เพื่อผลิตสารเพิ่มความคงตัว (Stabilizer)

การนำเซลลูโลสจากการผลิตในอาหารเหลวของ *A. xylinum* ผสมกับพอลิเมอร์อื่นๆ เช่น พอลีไวนิลแอลกอฮอล์ เพื่อผลิตวัสดุที่มีความแข็งแรงและทนทาน ใช้เป็นสารให้ความหนืดและความคงตัวในอุตสาหกรรมอาหาร ยา และเครื่องสำอาง

นอกจากนี้ยังได้นำเซลลูโลสที่ผลิตได้มาทำปฏิกิริยาทางเคมีเพื่อให้ได้อนุพันธ์ของเซลลูโลส (cellulose derivatives) เช่น ไฮดรอกซีเมทิลเซลลูโลส (hydroxymethyl cellulose) คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส (carboxymethyl cellulose) หรือเซลลูโลสอะซิเตต (cellulose acetate) จึงทำให้การใช้ประโยชน์จากเซลลูโลสของ *A. xylinum* เป็นไปอย่างกว้างขวางทั้งในอุตสาหกรรมอาหาร ยา ผงซักฟอก กาว สิ่งทอ กระดาษ และเครื่องสำอาง เป็นต้น (ทิวารัตน์ และคณะ, 2549)

2. เป็นวัตถุผลิตกระดาษ

กระดาษที่ผลิตขึ้นจะมีคุณสมบัติที่ดี แต่เดิมฟีนอลเรซิน (phenol resin fiber) หรือเส้นใยคาร์บอน (Carbon fiber) ซึ่งโดยปกติไม่สามารถทำให้เป็นแผ่นได้ แต่เมื่อนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผ่านการอบแห้งและบดเป็นผงแล้วมาผสมเพื่อใช้เป็นตัวเชื่อม จะทำให้เส้นใยเหล่านี้ขึ้นรูปเป็นแผ่นได้ในการผลิตกระดาษคาร์บอน (activated carbon fiber sheets) เพื่อใช้ในการดูดซับสารพิษ การเติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือแสวงหาประโยชน์เชิงการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลลูโลสจากแบคทีเรียลงไปจะช่วยเพิ่มประสิทธิภาพการดูดซับสารพิษให้ดีขึ้น (Yamanaka และ Watanabe, 1994) นอกจากนี้แล้วยังได้มีการนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาพัฒนาใช้ในการผลิตกระดาษสา หรือเพิ่มคุณภาพของกระดาษสาอีกด้วย เซลลูโลสจากแบคทีเรียยังได้รับการพัฒนาขึ้นเป็นกระดาษกรอง (Cellulose filtering membrane) เนื่องจากคุณสมบัติด้านการจับกับน้ำ (Water-binding capacity) ที่ดีจึงทำให้เหมาะสมกับการกรองสารแขวนลอย (Wanichapichart และคณะ, 2002)

3. เป็นส่วนประกอบของเครื่องเสียง (Audio components)

เช่น หูฟังจากเซลลูโลส ลำโพง ซึ่งเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้เสียงสูงที่ดี มีความเร็วของคลื่นเสียงสูงเท่ากับอลูมิเนียม และมีสมบัติในการลดเสียงรบกวนได้ดี จึงมีความสามารถในการผลิตกระดาษลำโพงวัสดุที่ใช้ในการผลิตกระดาษลำโพงจำเป็นต้องมีคุณสมบัติที่สำคัญคือ ต้องให้คลื่นเสียงความเร็วสูง (high sonic velocity) และต้องลดคลื่นรบกวนได้ดี เพื่อให้ได้คุณภาพเสียงที่ชัดเจน วัสดุที่ใช้ในการผลิตกระดาษลำโพงมีหลายชนิด แต่ละชนิดจะมีข้อดีข้อเสียแตกต่างกัน บางชนิดมีความสามารถในการลดเสียงรบกวนได้ไม่ดี ในขณะที่บางชนิดให้ความเร็วคลื่นเสียงได้ต่ำเกินไป เช่น เพียง 1500 เมตรต่อวินาทีเท่านั้น แต่การนำเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* พบว่ามีข้อได้เปรียบ คือให้เสียงสูงที่ดี มีความเร็วของคลื่นเสียงสูงเท่ากับอลูมิเนียม และยังมีคุณสมบัติในการลดเสียงรบกวนได้ดีเท่ากับกระดาษโคนอีกด้วย ดังนั้นเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถนำมาใช้ในการผลิตกระดาษลำโพงได้

4. ผสมกับพอลิเมอร์อื่นๆ

เช่น พอลีไวนิลแอลกอฮอล์ เพื่อผลิตวัสดุที่มีความแข็งแรง และทนทานใช้เป็นสารให้ความหนืดและความคงตัวในอุตสาหกรรม ยา อาหาร เครื่องสำอาง

2.8.4 ในด้านการแพทย์

ใช้เป็นหนังเทียม (Temporary skin substitute) โดยอาศัยคุณภาพของเซลลูโลสและ เบต้า-ดี-โฮโมพอลีกลูแคน (β-D-homopolyglucan) ของแผ่นวุ้นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ผลิตเป็นแผ่นฟิลม์ชีวภาพ(Biofilm) ใช้ในการรักษาแผลไฟไหม้ และปัญหาด้านผิวหนัง (Doi และ Steinbuchi, 2005) เซลลูโลสที่ถูกเลี้ยงแบบสภาวะนิ่ง จะถูกนำไปใช้เป็นวัสดุตกแต่งแผลได้อย่างเป็นธรรมชาติ และได้รับการรับรองมาตรฐานของวัสดุตกแต่งแผล เนื่องจากเป็นวัสดุที่สามารถทำให้ปลอดเชื้อได้ มีรูพรุน มีความยืดหยุ่น มีความสามารถในการดูดซับ และมีความชื้นที่เหมาะสม ซึ่งง่ายต่อการนำไปใช้งาน และการจัดเก็บรักษา การใช้แผ่นเซลลูโลสเป็นวัสดุตกแต่งแผล จะทำให้บาดแผลสมานตัวได้อย่างรวดเร็ว ช่วยในการป้องกันการติดเชื้อในขั้นที่ 2 นอกจากนี้ยังไม่ส่งผลกระทบต่อกลไกการเกิดใหม่ของเนื้อเยื่อ ในกรณีของบาดแผลที่เกิดจากไฟไหม้ แผ่นเซลลูโลสยังช่วยป้องกันการเจ็บปวดจากการดูดซับความร้อนของบาดแผลได้อีกด้วย

Krystynowicz และคณะ (2000) ได้ทำการเตรียมเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* และรายงานว่าเซลลูโลสที่ผลิตขึ้นสามารถนำมาใช้ในการตกแต่งบาดแผลได้ บริษัท Xylos ได้นำเซลลูโลสมาใช้ในการตกแต่งบาดแผล ภายใต้เครื่องหมายการค้า Prima Cel™ และพบว่าในสัปดาห์ที่ 8 ผู้ป่วยร้อยละ 54 ที่ได้รับการตกแต่งบาดแผล มีแผลสมานกันเป็นอย่างดี บริษัท Biofill และ Bioprocess ได้นำเซลลูโลสที่สังเคราะห์ได้จากเชื้อ *A. xylinum* ประยุกต์ใช้ทางการค้าโดยใช้เป็นผิวหนังเทียมเพื่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ในการบำบัดแผลไฟไหม้ขั้นที่ 3 แผลเปื่อย และเซลล์เนื้อเยื่อที่ตาย การศึกษาของบริษัท Gengiflex พบว่าเซลลูโลสสามารถนำมาใช้เป็นเนื้อเยื่อปกคลุมได้ (Doi และ Steinbuchi, 2005)

เซลลูโลสจากแบคทีเรียยังถูกนำมาใช้ผลิตเป็นหลอดเลือดเทียม และพบว่ามีความเป็นไปได้สูงที่จะประสบความสำเร็จ การศึกษาสมบัติของแบคทีเรียเซลลูโลสในด้านการป้องกันการเกิดลิ่มเลือดได้ถูกทดสอบการใช้งาน โดยมีการนำไปใช้แทนหลอดเลือดของสุนัขเต็มวัย พบว่า 1 เดือนต่อมาหลังจากการนำหลอดเลือดเทียมออกมาตรวจสอบพบว่าหลอดเลือดเทียมดังกล่าวยังคงสภาพมีสภาพเช่นเดิม เนื่องจากสมบัติของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่มีค่าทนต่อแรงดึงขาดสูง, มีความยืดหยุ่น และมีสมบัติให้ของเหลวและก๊าซซึมผ่านได้ เซลลูโลสจากแบคทีเรียชนิดแห้งถูกนำมาใช้ใน Biosensor ในการตรวจสอบระดับกลูโคสในเลือด (สุกัญญา, 2553)

2.9 ขนมจีน

ขนมจีนได้รับความนิยมในการบริโภคอย่างกว้างขวางเนื่องจากรสชาติที่ถูกปากคนไทย สามารถผลิตบริโภคได้เองภายในครัวเรือนจึงได้รับความนิยมในการบริโภค แหล่งผลิตขนมจีนจึงมีอยู่อย่างแพร่หลายตั้งแต่ขนาดใหญ่ระดับโรงงานอุตสาหกรรมจนถึงขนาดเล็กระดับครอบครัว (พจนีย์, 2550) ความเป็นมาของขนมจีน ไม่มีหลักฐานปรากฏที่แน่ชัด เป็นเพียงการสันนิษฐานเท่านั้นว่าขนมจีนมีมาตั้งแต่สมัยกรุงศรีอยุธยา เนื่องจากมีคลองชื่อคลองขนมจีนและคลองน้ำยา การที่เรียกว่าขนมจีนอาจเนื่องจากแต่เดิมในแถบจังหวัดสงขลานิยมรับประทานเส้นขนมจีนใส่น้ำเชื่อม ซึ่งเป็นลักษณะของการรับประทานขนมไทย และเส้นนั้นคงได้จากวิธีการของจีน จึงเรียกว่าขนมจีน สำหรับมอญนั้นมีคำเรียกขานขนมจีนอยู่ 2 ชื่อ คือภาษาพระเรียกตามลักษณะข้าว คือ บิณฑปัตหะเริ่น หมายความถึงข้าวยาว และภาษาทั่วๆไปเรียก คนอมจิน จินแปลว่าสุก ซึ่งการทำขนมจีนนั้นต้องมีการต้มแป้งพอสุก และเมื่อโรยเป็นเส้นก็คือการทำให้สุก คนไทยเรียกเสียงยาวจึงการเป็น ขนมจีน สำหรับภาคเหนือนั้นเรียกว่า เข้าหนมเส้น หรือ ขนมเส้น ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ (อีสาน) และลาวพวนเรียก เข้าปุ้น หรือ ข้าวปุ้น ภาคกลางและภาคใต้เรียก ขนมจีน และภาคใต้แถบจังหวัดสตูลเรียก ละสา จัดเป็นอาหารจานด่วน (Fast Food) ของคนทุกระดับและทุกสถานที่ทั้งในชุมชน ชนบท และในเมือง (ลาวัณย์, 2549) โดยขนมจีนแบ่งได้เป็น 2 ชนิด ได้แก่

1. ขนมจีนแป้งหมัก เป็นขนมจีนที่ได้จากการหมักข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้า โดยนำข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้ามาหมัก 2-3 วัน ก่อนนำมาโม่แล้วทำเป็นขนมจีน ขนมจีนชนิดนี้มีความเหนียว สีคล้ำเล็กน้อย มีกลิ่นหมักและสามารถเก็บไว้ได้นานจึงเป็นที่นิยมมากในภาคกลาง ภาคตะวันออกเฉียงเหนือ มากกว่าขนมจีนแป้งสด

2. ขนมจีนแป้งสด เป็นขนมจีนที่ทำจากข้าวเจ้าหรือปลายข้าวที่ผ่านการแช่น้ำหรือล้างน้ำก่อนการนำมาโม่แล้วทำเป็นขนมจีน ขนมจีนชนิดนี้เก็บได้ไม่นาน และมีความเหนียวน้อยกว่าขนมจีนแป้งหมัก นิยมบริโภคทางภาคใต้ ภาคอื่นนิยมบ้างแต่น้อยกว่าขนมจีนแป้งหมัก

2.9.1 วัตถุดิบที่นิยมใช้ในการผลิตขนมจีน

การผลิตขนมจีนมีวัตถุดิบที่เป็นองค์ประกอบสำคัญ 3 ส่วนได้แก่

1. ข้าว จะใช้ข้าวเจ้าหรือปลายข้าวเจ้า นิยมใช้ข้าวที่มีอายุการเก็บมากกว่า 6 เดือน แต่ไม่เกิน 1 ปี ซึ่งเรียกว่า ข้าวเก่า ถ้าใช้ข้าวใหม่ที่มีอายุการเก็บไม่ถึง 6 เดือน จะทำให้เส้นขนมจีนที่ได้มีลักษณะนิ่มและเส้นเกาะติดกันมาก ได้ปริมาณขนมจีนน้อยกว่าการใช้ข้าวเก่า แต่ถ้าข้าวเก่าที่มีอายุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเก็บมากกว่า 1 ปี จะได้เส้นขนมจีนที่แข็งกระด้างร่วนไม่มีความเงามัน ส่วนประกอบของข้าวโดยทั่วไปประกอบด้วย แป้ง โปรตีน ไขมัน และ แร่ธาตุต่างๆ พันธุ์ข้าวที่นิยมใช้เป็นวัตถุดิบในการทำเส้นขนมจีนควรเป็นพันธุ์ข้าวที่มีปริมาณโปรตีนต่ำเพราะโปรตีนทำให้เกิดสีคล้ำและให้เนื้อสัมผัสที่กระด้าง สีขาวขุ่นและด้านไม่เป็นเงา แต่ถ้ามีปริมาณอะไมโลสน้อยเกินไปจะทำให้เส้นขนมจีนขาดความคงตัว (กาญจนา, 2539) การเลือกข้าวเพื่อใช้ทำเป็นแป้งขนมจีนต้องคำนึงถึงปัจจัย เช่น พันธุ์ข้าว แหล่งที่ปลูก วิธีการปลูก วิธีการสีข้าว และอายุการเก็บมีผลต่อสภาวะการผลิต ข้าวที่นิยมใช้กันมากคือ ข้าวเหลืองอ่อน ข้าวนางพระยา ข้าวปิ่นแก้ว (พิพัฒน์, 2555)

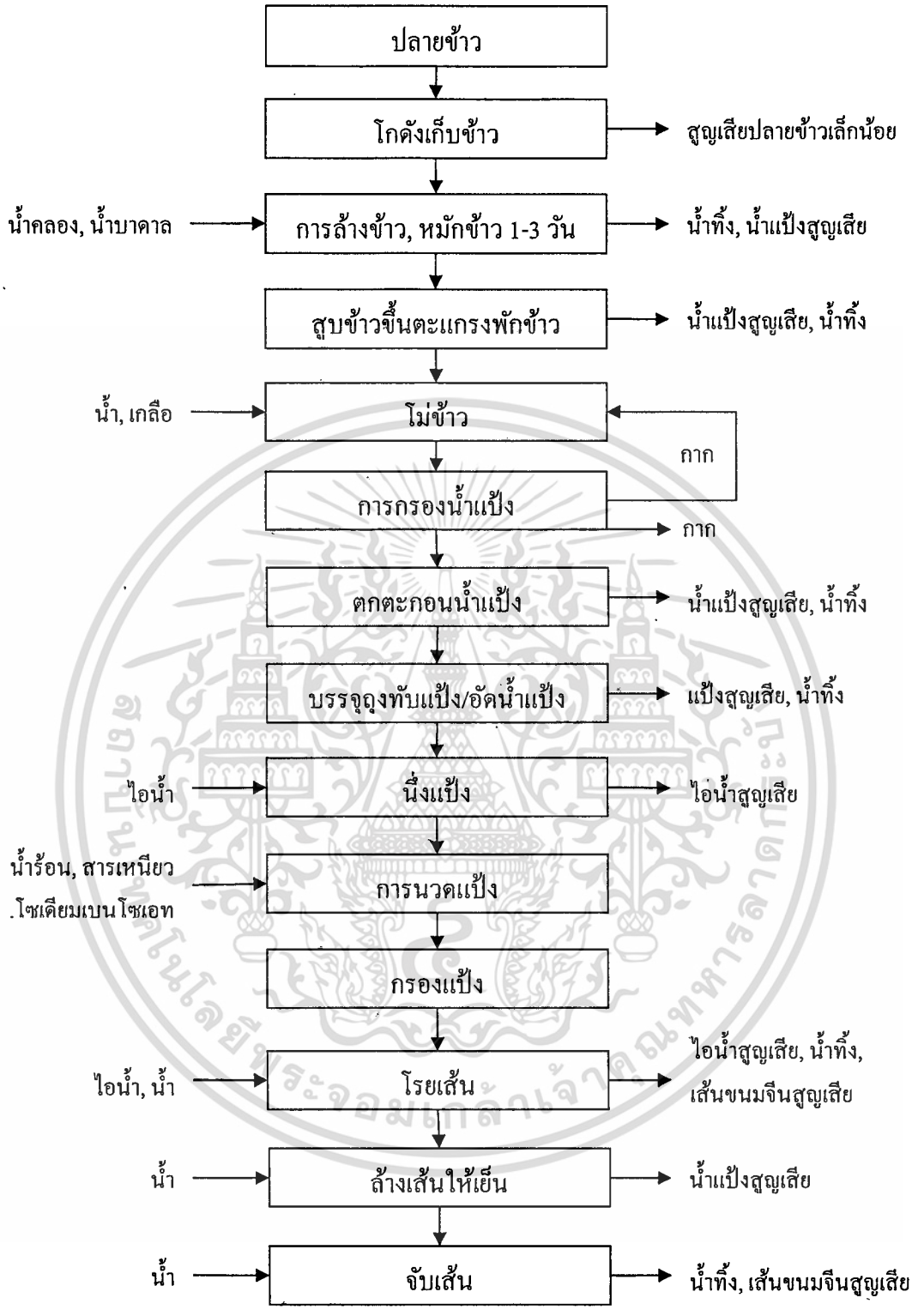
2. น้ำ น้ำที่นำมาใช้ในกระบวนการผลิตแป้งหรือเส้นขนมจีนควรเป็นน้ำสะอาดและถูกสุขลักษณะ โดยอาศัยแหล่งน้ำดิบจากธรรมชาติ ซึ่งโดยมากจะมีอยู่ 2 ประเภทคือ น้ำใต้ดิน และน้ำผิวดิน (คลอง แม่น้ำ) (กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ, 2549) โดยน้ำที่ใช้ในการผลิตควรปราศจากสิ่งแขวนลอย มีความกระด้างต่ำ ถ้าเป็นน้ำบาดาลควรสูบมาพักไว้และกำจัดความกระด้างก่อน ถ้าเป็นน้ำประปาไม่ควรมีคลอรีนมากเกิน เนื่องจากจะทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นผิดปกติ และหากน้ำที่ใช้ในการผลิตขุ่นจะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีคล้ำไม่น่ารับประทาน (พจนีย์, 2550)

3. เกลือ จะใช้เกลือป่นหรือเกลือเม็ดใส่ในขณะโม่แป้งหรือการตั้งแป้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอน ปริมาณที่ใช้ คือ 7 กิโลกรัมต่อข้าว 100 กิโลกรัม โดยเกลือจะช่วยป้องกันการบูดของแป้งเมื่อตั้งทิ้งไว้ขณะรอการตกตะกอนของน้ำแป้ง (พจนีย์, 2550)

2.9.2 กระบวนการผลิตขนมจีน

วิธีการผลิตขนมจีนมีอยู่ 2 วิธีขึ้นอยู่กับชนิดของเส้นขนมจีน การผลิตเส้นขนมจีนแป้งหมักมีขั้นตอนโดยสรุป 10 ขั้นตอนดังแสดงในภาพที่ 2.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.15 กระบวนการผลิตขนมจีน (ดัดแปลงจาก กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ, 2549)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. **การแช่ข้าว** นำปลายข้าวเจ้ามาล้างด้วยน้ำสะอาดเพื่อให้ปราศจากฝุ่นและสิ่งเจือปนแล้วแช่ปลายข้าวในภาชนะ เช่น โอ่งหรือซีเมนต์ เป็นเวลา 24 ชั่วโมง (วิเชียร, 2539)

2. **การหมักข้าว** โดยนำข้าวหรือปลายข้าวที่แช่แล้วใส่ภาชนะสำหรับการหมัก ซึ่งทำด้วยไม้ไผ่สาน เช่น กระบุงหรือเข่ง หรืออาจใช้ภาชนะอื่น เช่น โอ่งหรือถังซีเมนต์ ใช้น้ำสะอาดที่มีปริมาณพอสมควรพรมบนข้าวทั้งเช้าและเย็น และอาจคลุมด้วยใบต้องหรือไม่คลุมก็ได้ การหมักข้าวอาจทำได้โดยตั้งทิ้งไว้กลางแดดหรือไว้ในที่ร่ม ซึ่งวิธีการหมักจะมีผลต่อสีของข้าวที่ได้ ข้าวที่ผ่านการหมักกลางแดดจะมีสีขาว แต่ถ้าหมักในที่ร่ม ข้าวจะมีสีอมเหลือง (กันตพัฒน์, 2554) โดยทั่วไปการผลิตระดับอุตสาหกรรมจะนิยมหมักปลายข้าวเป็นเวลา 2-5 วัน และในระหว่างการหมักจะล้างปลายข้าวทุกวัน ส่วนการผลิตระดับพื้นบ้านจะหมักปลายข้าวจนกระทั่งข้าวเปื่อยยุ่ย อาจเนื่องมาจากโมเลกุลของแป้งถูกไฮโดรไลซ์ให้สารประกอบ dextrin และ maltose โดยเอนไซม์อะไมเลสซึ่งอยู่ในแป้งเป็นตัวเร่งปฏิกิริยา และนอกจากนี้การหมักปลายข้าวยังทำให้โปรตีนที่หุ้มอยู่รอบๆเม็ดแป้งสลายตัวไปร้อยละ 2-3 ซึ่งเป็นผลให้เส้นขนมจีนที่ได้มีลักษณะนุ่มไม่กระด้างเหมือนเส้นหมี่ (วิเชียร, 2539)

3. **การโม่หรือบดข้าว** นำข้าวที่ผ่านการหมักมาบด ข้าวที่บดแล้วจะผ่านการกรอง ขณะบดข้าวควรเติมน้ำลงไปทีละน้อย จะช่วยให้การกรองเป็นไปอย่างรวดเร็ว แต่ถ้าบดในปริมาณมาก จะต้องบดด้วยโม่หิน สำหรับการบดข้าวที่ใช้ในโรงงานขนาดใหญ่เริ่มด้วยการนำข้าวที่หมักมาล้างให้สะอาดก่อนนำไปโม่ให้ละเอียด นำแป้งที่ได้ไปกรองผ่านผ้าขาวบาง ในขณะโม่นั้นจะต้องใส่เกลือลงไปร้อยละ 7 ของน้ำข้าว ทั้งนี้เพื่อป้องกันมิให้แป้งเกิดการหมักเมื่อตั้งทิ้งไว้ในขั้นตอนของตกตะกอนแป้ง

4. **การนอนน้ำแป้ง** ขั้นตอนนี้มีความจำเป็นสำหรับอุตสาหกรรมและแบบพื้นบ้าน ปกติแป้งที่โม่แล้วจะมีสีคล้ำมาก เมื่อตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนจะมีสีเหลืองมีตะกอนดำลอยอยู่เหนือแป้ง การล้างแป้งจะช่วยกำจัดตะกอนให้หมดไป นอกจากนี้ยังทำให้กลิ่นหมักน้อยลงด้วย การล้างทำได้ง่ายเพียงใส่น้ำลงในแป้ง แล้วปล่อยให้ตกตะกอนรินน้ำใสทิ้งไป แป้งที่ล้างแล้วอาจนำไปทำขนมจีนได้โดยตรง หรือเก็บไว้ใช้ต่อไป ใส่น้ำเกลือและเปลี่ยนทุกวัน สำหรับข้าวที่โม่แบบอุตสาหกรรมจะปล่อยให้แป้งแห้งหนึ่งคืน แล้วนำไปผลิตโดยตรง

5. **การทับน้ำแป้ง** การทับน้ำเป็นการกำจัดน้ำส่วนเกินออกไป วิธีการที่ปฏิบัติกันอยู่จะไม่แตกต่างกันมากนักทั้งการผลิตแบบพื้นบ้าน และอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ กล่าวคือ นำน้ำแป้งใส่ถุงปิดปากถุงให้แน่นทับด้วยของหนัก 1 คืน น้ำที่เหลืออยู่ในแป้งจะมีประมาณร้อยละ 42-44 ขึ้นอยู่กับน้ำหนักและเวลาที่ใช้ทับ

6. **การต้มหรือนึ่งแป้ง** เป็นการทำให้แป้งสุกบางส่วน และทำให้แป้งเหนียวไม่ขาดง่าย เมื่อนำไปบีบผ่านแว่น การต้มแป้งเริ่มด้วยนำแป้งที่ทับไว้มาปั้นเป็นก้อน มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 20-25 เซนติเมตรของแป้งทั้งหมด ไม่ควรให้สุกมาก เพราะแป้งจะเหนียวทำให้โรยเส้นยาก ถ้าเป็นโรงงานขนาดใหญ่จะใช้วิธีนึ่งแป้งแทนการต้ม

7. **การนวดแป้ง** เป็นการผสมแป้งดิบกับแป้งสุกเข้าด้วยกัน นอกจากนี้ทำให้เม็ดแป้งแตกมากขึ้น การนวดแบบชาวบ้าน มักใช้ครกตำด้วยสากจนเหนียวเข้าด้วยกัน ถ้าแป้งแห้งให้ใช้น้ำร้อนเติมลงไป และนวดให้เข้ากัน ขั้นตอนนี้เรียกว่า การโม้มแป้ง แป้งจะมีความหนืดพอดี และมีความชื้นร้อยละ 70-75 กล่าวคือ ข้าว 1 กิโลกรัมจะได้แป้งนวดแล้วประมาณ 3.0-3.5 กิโลกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

8. **การกรองแป้ง** การนึ่งทำให้แป้งสุกและจับตัวกันเป็นก้อน การนวดไม่สามารถเท่ให้แป้งแตกออกได้หมด บางส่วนยังเป็นก้อนเล็กๆปะปนอยู่ การกรองจึงเป็นขั้นตอนที่จำเป็นในการกำจัดเม็ดแป้งที่เหลือให้หมดไป ทำให้ไม่มีปัญหาในการโรยเส้น ขนมจีนที่ได้จะมีเส้นเรียว การกรองนิยมใช้ผ้าขาวบาง โดยการนำแป้งที่นวดแล้วใส่ลงไป รวบชายผ้าเข้าหากันบีบแป้งให้ผ่านผ้าออกมา

9. **การโรยเส้น** การโรยเส้นขนมจีนอาจทำได้หลายวิธี ถ้าเป็นการผลิตแบบพื้นบ้านมักใช้แว่นที่มีลักษณะกลมมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3 นิ้ว เจาะรูเล็กตามขนาดที่ต้องการ นำผ้าดิบขนาด 40x40 เซนติเมตร เจาะรูตรงกลางให้มีขนาดเล็กกว่าแว่นเล็กน้อยวางแว่นลงตรงรูพอดี ใช้เข็มเย็บขอบแว่นให้ติดกับผ้า และดึงให้แน่น เมื่อใส่แป้งลงในแว่นแล้วต้องรวบชายผ้าเข้าหากัน ใช้อีกมือบีบแป้งให้ผ่านรูลงไปในน้ำร้อน เคลื่อนมือไปรอบๆ เป็นวงกลม พยายามรักษาระยะห่างให้คงที่ และพยายามอย่าให้เส้นขาด กระทะที่ใช้ต้มขนมจีนต้องมีขนาดใหญ่มากพอ และไม่ควรให้เส้นมากเกินไปมิฉะนั้นน้ำร้อนที่ใช้ลวกจะลดอุณหภูมิเร็วเกินไป ทำให้เส้นไม่สุก และไม่เหนียว ส่วนเฝียนเป็นภาชนะรูปทรงกระบอกทำด้วยโลหะ เป็นเหล็กปลอดสนิม เจาะรูเล็กๆไว้ที่ก้น มีหูสองหูสำหรับยึดติดกับไม้ในขณะทำการกด มีภาชนะในหนึ่งมีลักษณะคล้ายกัน แต่มีขนาดเล็กกว่าสามารถสวมลงในภาชนะใบแรกได้พอดี ภาชนะใบนี้ไม่เจาะรู แต่ใช้สำหรับกดแป้งนวดให้ออกจากภาชนะใบแรก การกดจะทำเช่นเดียวกันกับการใช้แว่น

สำหรับการโรยเส้นในโรงงานขนาดใหญ่ใช้เครื่องมือที่มีลักษณะเหมือนแว่น ทำด้วยแผ่นโลหะมีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 4 เมตร ต่อตรงกับท่อเครื่องปั๊ม และถังเก็บแป้งที่นวดแล้ว เมื่อเดินเครื่อง น้ำแป้งจะผ่านแว่นลงมาในน้ำร้อน เช่นเดียวกันกับการใช้แว่นในการผลิตแบบพื้นบ้าน หรืออุตสาหกรรมในครัวเรือนในขณะทำการโรยเส้นควรรักษาอุณหภูมิน้ำไว้ที่ 90-95 องศาเซลเซียส และรอจนกระทั่งขนมจีนลอยจึงตักออก ถ้าปล่อยไว้นานเส้นจะสุกมากเกินไป

10. **การทำให้เย็นและการจับเส้น** เมื่อเส้นสุกแล้วให้ตักด้วยกระชุ ใส่ลงในน้ำเย็น เพื่อหยุดการดูดน้ำของเส้นขนมจีน มิฉะนั้นเส้นจะอืด ควรเปลี่ยนน้ำบ่อยๆ เพื่อรักษาอุณหภูมิของน้ำไม่ให้สูงเกินไป ในขณะเดียวกันเส้นจะเย็นตัว จนกระทั่งจับเว้นได้หลังจากจับเส้นแล้ว จะวางลงในภาชนะเพื่อรอให้เส้นแห้งและหดตัว เส้นจะแห้งและเหนียวขึ้น นอกจากนี้ยังจับตัวกันเป็นก้อนเรียกว่า จับ (ภูมิ ภักดิ์, 2545)

2.9.3 น้ำเสียจากอุตสาหกรรมผลิตขนมจีน

กระบวนการผลิตขนมจีนจำเป็นต้องใช้น้ำปริมาณมาก ผลที่ตามมาคือน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตย่อมมีมากตามไปด้วย น้ำทิ้งเหล่านี้มีปริมาณสารอินทรีย์สูง ดังนั้นเมื่อระบายออกสู่สิ่งแวดล้อม จึงเป็นสาเหตุสำคัญยิ่งในการก่อให้เกิดปัญหาน้ำเสีย จากการศึกษาพบว่าจังหวัดฉะเชิงเทรา สามารถผลิตขนมจีนวันละประมาณ 56,400 กิโลกรัม มีน้ำเสียเกิดจากกระบวนการผลิตประมาณวันละ 700-1,000 ลูกบาศก์เมตร มีค่าบีโอดีเฉลี่ย 2,850 มิลลิกรัมต่อลิตร ทำให้ระบบบำบัดน้ำเสียที่มีอยู่ไม่สามารถบำบัดน้ำเสียให้อยู่ในเกณฑ์มาตรฐานได้ ก่อให้เกิดการเน่าเสียของน้ำ เช่น ในคลองนครเนื่องเขต ซึ่งเป็นแหล่งน้ำที่ผลิตน้ำประปาสำหรับจังหวัดฉะเชิงเทรา นอกจากนั้นเกิดกลิ่นเหม็นรบกวนสร้างความเดือดร้อนแก่ชาวบ้านบริเวณใกล้เคียง (วรพจน์, 2551) สมบัติลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียจากการผลิตขนมจีนมีลักษณะดังแสดงในตารางที่ 2.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 ลักษณะทางกายภาพและทางเคมีของน้ำเสียจากการผลิตขนมจีน

พารามิเตอร์	ค่าที่ได้
pH	4.21
Biochemical Oxygen Demand (BOD)	28,300 mg/l
Chemical Oxygen Demand (COD)	33,969 mg/l
Total Kjeldahl Nitrogen (TKN)	0.021 mg/l
Volatile fatty acid (VFA)	157.87 mg/l
Total Solids (TS)	3,511 mg/l
Total Volatile Solids (TVS)	2,727 mg/l
Suspended Solids (SS)	3,127 mg/l
Total Alkalinity	29.16 mg/l
Phosphorus (P)	15 mg/l
BOD:COD	0.83
BOD:N:P	100:0.00007:0.005

ที่มา : กัณตพัฒน์ (2554)

2.9.4 การสูญเสียปลายข้าว น้ำ และเส้นขนมจีนในกระบวนการผลิต

2.9.4.1 ปลายข้าว

ปลายข้าวซึ่งเป็นวัตถุดิบของกระบวนการผลิตแป้งและเส้นขนมจีนมีผลต่อต้นทุนผันแปรของโรงงานและเป็นค่าใช้จ่ายหลักซึ่งคิดเป็นร้อยละ 97.31 - 99.34 ของต้นทุนการผลิตแป้งขนมจีน และประมาณร้อยละ 75.52 - 95.18 ของต้นทุนการผลิตเส้นขนมจีน การสูญเสียแป้งพบใน 2 ขั้นตอนสำคัญ คือ

1. การล้างทำความสะอาดปลายข้าว ปลายข้าวที่ใช้ส่วนใหญ่ควรเป็นข้าวเก่าที่มีอายุการเก็บอย่างน้อย 4 เดือน และมีปริมาณอะไมโลสค่อนข้างสูง (ร้อยละ 27 - 33) อาจมีสิ่งสกปรกปนเปื้อนทำให้ต้องมีการล้างน้ำทำความสะอาดเพื่อเอาส่วนของฝุ่นผง แมลง ดอกหญ้า ออกไปก่อน และทำการหมักแช่ข้าวให้เปื่อย โดยทั่วไปจะทำการแช่ข้าวทิ้งไว้ประมาณ 3 - 5 วัน และมีการล้างน้ำทำความสะอาดทุกวัน สำหรับขั้นตอนการทำความสะอาดปลายข้าวถือเป็นส่วนสำคัญที่มีผลทำให้สูญเสียแป้งและผลิตภัณฑ์ที่ได้ลดลง นอกจากนี้ยังเพิ่มปริมาณและความสกปรกในน้ำเสีย ข้อมูลจากการสำรวจพบว่ากระบวนการล้างทำความสะอาดปลายข้าวมีการสูญเสียแป้งอยู่ในช่วงระหว่าง 12 - 68 กิโลกรัม/ตันปลายข้าว หรือเฉลี่ยเท่ากับ 19 กิโลกรัม/ตันปลายข้าว และเมื่อคำนวณเป็นมูลค่าเงินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 171 บาท/ตันปลายข้าว (คิดที่ราคาปลายข้าว 9 บาท/กิโลกรัม)

2. การใช้เครื่องสูบน้ำสูบปลายข้าวเข้าสู่เครื่องโม่ โรงงานขนมจีนส่วนใหญ่ที่เข้าร่วมโครงการจะนำเครื่องสูบน้ำมาสูบข้าวที่ล้างแล้วไปพักไว้บนตะแกรงไม้เพื่อแยกระหว่างข้าวกับน้ำออกจากกันก่อนนำข้าวที่ได้เข้าเครื่องโม่ สำหรับขั้นตอนการนำปลายข้าวเข้าสู่เครื่องโม่ถือเป็นส่วนสำคัญที่สุดที่มีผลทำให้เกิดการสูญเสียแป้งและผลิตภัณฑ์ที่ได้ลดลง และยังเพิ่มปริมาณและของเสียในน้ำทิ้ง ข้อมูลจากการสำรวจพบว่า กระบวนการดังกล่าวมีการสูญเสียแป้ง อยู่ในช่วงระหว่าง 11- 206 กิโลกรัม/ตันปลายข้าว หรือเฉลี่ยเท่ากับ 52 กิโลกรัม/ตันปลายข้าว และเมื่อคำนวณเป็นมูลค่าเงินมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 468 บาท/ตันปลายข้าว (คิดที่ราคาปลายข้าว 9 บาท/กิโลกรัม)

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามมิให้ทำซ้ำ ดัดแปลง เผยแพร่ หรือนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9.4.2 น้ำ

ทรัพยากรน้ำเป็นปัจจัยพื้นฐานในการผลิตแป้งหรือเส้นขนมจีนโดยน้ำเป็นส่วนประกอบของแป้งและเส้นขนมจีนประมาณร้อยละ 40 และ 70 ตามลำดับ จากการสำรวจพบว่ามีปริมาณการใช้น้ำในกระบวนการผลิตแป้งขนมจีนอยู่ในช่วงระหว่าง 5.06 - 10.59 ลูกบาศก์เมตร/ตันผลิตภัณฑ์ และกระบวนการผลิตเส้นขนมจีนในช่วงระหว่าง 9.85 - 47.08 ลูกบาศก์เมตร/ตันผลิตภัณฑ์ แต่มีต้นทุนด้านการใช้น้ำเพียงร้อยละ 0.03 - 0.21 ของต้นทุนการผลิตแป้งขนมจีน และประมาณร้อยละ 0.49 - 2.28 ของต้นทุนการผลิตเส้นขนมจีนเท่านั้น เนื่องจากปัจจุบันทรัพยากรน้ำมาจากแหล่งน้ำผิวดินและน้ำบาดาลซึ่งไม่ต้องเสียค่าใช้จ่ายในการซื้อ แต่มีต้นทุนแฝงอยู่ในค่าไฟฟ้าจากการสูบน้ำ การปรับปรุงคุณภาพน้ำ และการบำบัดน้ำเสีย สำหรับขั้นตอนที่มีปริมาณการใช้น้ำมากเกินความจำเป็นในกระบวนการผลิตเส้นขนมจีน คือ การล้างเส้นให้เย็น โดยการใช้กระชอนตักเส้นขนมจีนที่ถูกต้มจนสุกดีแล้วขึ้นมาล้างน้ำสะอาดในปริมาณมากเพื่อให้เส้นเย็น จากการสำรวจพบว่า มีปริมาณการใช้น้ำอยู่ในช่วงระหว่าง 3.42 -37.22 ลูกบาศก์เมตร/ตันผลิตภัณฑ์ หรือคิดเป็นร้อยละ 32.97 - 56.32 ของปริมาณการใช้น้ำทั้งหมด การที่โรงงานขนมจีนแต่ละโรงงานมีปริมาณการใช้น้ำที่แตกต่างกันมากนั้นเนื่องจากอุปกรณ์ที่ใช้ในการล้างแตกต่างกัน ได้แก่ การล้างโดยการใช้ถังตักน้ำ การล้างโดยเปิดจากก๊อกน้ำโดยตรง การล้างโดยการใช้สายยาง การล้างโดยการใช้ฝักบัว การล้างโดยการแช่เส้นลงในถังน้ำแต่ละถัง เพื่อลดอุณหภูมิของเส้นขนมจีนก่อนนำไปจับเส้นต่อไป

2.9.4.3 เส้นขนมจีน

ปริมาณการสูญเสียของเส้นขนมจีนเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่บ่งชี้ถึงประสิทธิภาพในการผลิต โดยโรงงานใดที่มีการสูญเสียเส้นขนมจีนน้อย หมายถึง การบริหารจัดการที่ดีตั้งแต่การคัดเลือกคุณภาพข้าวจนถึงขั้นตอนการจับเส้น การสูญเสียเส้นขนมจีนแบ่งได้เป็น 2 ส่วน คือ

1. เส้นเสียที่เกิดจากการจับเส้น (เส้นขาด) ซึ่งในบางโรงงานสามารถขายได้เพราะมีผู้นิยมบริโภค

2. การสูญเสียเส้นจากเส้นตกพื้น ส่วนใหญ่นำ ไปเป็น อาหารสัตว์ จากการสำรวจพบว่าปริมาณการสูญเสียเส้นขนมจีนในกระบวนการผลิตอยู่ในช่วงระหว่าง 33.23 - 368.54 กิโลกรัม/ตันผลิตภัณฑ์

สำหรับขั้นตอนที่มีการสูญเสียเส้นขนมจีนในกระบวนการผลิตเส้นขนมจีน คือ

1.การโรยเส้นและต้มเส้น

แป้งที่ผ่านการกรองแล้วจะเข้าสู่เครื่องโรยเส้นโดยน้ำแป้งจะผ่านหัวโรยเส้นและเส้นจะผ่านลงสู่กระทะน้ำเดือด เส้นขนมจีนสุกใช้กระชอนตักขึ้นและล้างน้ำเพื่อให้เส้นเย็นลง จากการสำรวจโรงงานเส้นขนมจีน พบว่ามีเส้นติดค้างระหว่างรอยต่อของกระทะ และล้นออกจากกระทะตามการล้นของน้ำเดือด (อุณหภูมิน้ำสูง 95-100 องศาเซลเซียส) จากการสำรวจพบว่าการสูญเสียเส้นในกระบวนการนี้ประมาณ 34.93 กิโลกรัม/ตันผลิตภัณฑ์ หรือคิดเป็นร้อยละ 14.98 ของปริมาณการสูญเสียเส้นขนมจีนทั้งหมด

2. การจับเส้น

เส้นขนมจีนที่ล้างจนเย็นนำมาเทใส่ภาชนะที่มีน้ำสะอาดรออยู่เพื่อเตรียมจับเป็นหัวใส่ภาชนะไว้รอจำหน่าย จากการสำรวจพบว่ามีเส้นขนมจีนสูญเสียจากการจับเส้นอยู่ในช่วงระหว่าง 34.39 - 369.50 กิโลกรัม/ตันผลิตภัณฑ์ การที่โรงงานขนมจีนแต่ละโรงงานมีปริมาณการสูญเสียเส้นขนมจีน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แตกต่างกันมากนั้นเนื่องจากคุณภาพของข้าวที่ใช้แตกต่างกัน และพนักงานขาดความชำนาญ (กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ, 2549)

2.10 ตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Jahan และคณะ (2012) ได้คัดเลือกเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูโลสจากผลไม้เน่า และศึกษาการเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต โดยคัดเลือกเชื้อแบคทีเรียจากทั้งหมด 200 สายพันธุ์ โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร HS พบเชื้อที่มีศักยภาพในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียคือเชื้อ *Gluconacetobacter* sp. F6 เมื่อนำมาเพาะเลี้ยงในสภาวะที่ได้รับการปรับสภาวะในการเพาะเลี้ยง พีเอช อุณหภูมิที่ใช้ การเขย่า แหล่งคาร์บอน/ไนโตรเจน และตัวเร่งแล้ว ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพิ่มขึ้นอย่างมากคือ 0.52-4.5 กรัมต่อลิตร (เพิ่มขึ้น 8.65 เท่า) ส่วนผสมที่ใช้ในอาหารเพาะเลี้ยงได้แก่ กลูโคส ร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สารสกัดยีสต์ร้อยละ 1.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เปปโตนร้อยละ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 (น้ำหนักต่อปริมาตร) กรดอะซิติกร้อยละ 0.115 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเอทานอลร้อยละ 0.4 (น้ำหนักต่อปริมาตร)

Pourramezan และคณะ (2009) ได้คัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในอาหารสูตร HS สำหรับเพาะเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 เพื่อให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียมากที่สุด แหล่งคาร์บอนที่ทำการทดลองแบ่งออกเป็น 2 ประเภทคือ โมโนแซคคาไรด์ และไดแซคคาไรด์ พบว่าน้ำตาลซูโครสให้ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียมากที่สุด รองลงมาคือ กลูโคส ไซโลส และแลคโตส ตามลำดับ โดยมีการใช้น้ำตาลซูโครสไปร้อยละ 80 ซึ่งต่ำกว่าน้ำตาลกลูโครสที่ใช้ไปถึงร้อยละ 93.5 ผลผลิตที่มากที่สุดเกิดจากการใช้น้ำตาลซูโครสร้อยละ 1.5 ในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย โดยปรับพีเอชเป็น 7 และใช้อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นเป็น 11.98 กรัมต่อลิตร

Ochaikul และคณะ (2013) ได้คัดเลือกเชื้อจีนัส *Gluconacetobacter* สายพันธุ์ที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงที่สุดจากทั้งหมด 29 สายพันธุ์ แบ่งได้ออกเป็น 7 กลุ่มย่อยได้แก่ *Gluconacetobacter oboediens* (กลุ่มย่อยที่ 1 มี 5 สายพันธุ์) *Gluconacetobacter rhaeticus* (กลุ่มย่อยที่ 2 มี 1 สายพันธุ์) *Gluconacetobacter hansenii* (กลุ่มย่อยที่ 3 มี 7 สายพันธุ์) *Gluconacetobacter swingsii* (กลุ่มย่อยที่ 4 มี 2 สายพันธุ์) *Gluconacetobacter sucrofermentans* (กลุ่มย่อยที่ 5 มี 2 สายพันธุ์) สายพันธุ์ที่เหลือแบ่งออกเป็น กลุ่มย่อย 6a มี 3 สายพันธุ์ และกลุ่มย่อย 6b มี 2 สายพันธุ์ โดยทั้งหมดทำการเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารสูตร HS ในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน หลังจากครบ 7 วันทำการตรวจสอบปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตพบว่า สายพันธุ์ PAP1 (กลุ่มย่อย 6b) ให้ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียสูงสุด (1.15 กรัมต่อลิตร) และเพิ่มขึ้นเป็นสามเท่าเมื่อมีการเปลี่ยนน้ำตาลที่ใช้ในอาหารสูตร HS จากน้ำตาล D-glucose เป็น D-mannitol

Appaiah และ Rani (2011) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Gluconacetobacter hansenii* UAC09 เพื่อผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย โดยใช้อาหารสูตร HS ที่มีการเติมเอทานอลร้อยละ 1.5 และกรดอะซิติกร้อยละ 1.0 ใช้น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 4 น้ำแช่ข้าวโพดร้อยละ 8 ใช้อุณหภูมิในการเพาะเลี้ยง 27±1 องศาเซลเซียส และปรับค่าพีเอชเป็น 5.5 โดยทำการเพาะเลี้ยงในสภาวะนิ่ง เชื้อนี้สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุด 7.40 กรัมต่อลิตร เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ผลิตได้มีโครงสร้างที่คล้ายคลึงกับการใช้อาหารเลี้ยงเชื้อชนิดอื่น เมื่อดูด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบโครงสร้างเซลลูโลสมีรูพรุน และมีการประสานกันของเส้นใยขนาดเล็ก

Appaiah และRani (2013) ศึกษาผลของสารสกัด coffee cherry husk (CCH) ที่มีต่อการผลิตและเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Gluconacetobacter hansenii* UAC09 และศึกษาสมบัติทางกายภาพและเชิงกลของแผ่นฟิล์มเซลลูโลสจากแบคทีเรีย พบว่า เมื่อใช้สารสกัด CCH ความเข้มข้น 1:1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ร่วมกับน้ำแช่ข้าวโพดร้อยละ 8 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ยูเรียร้อยละ 0.2 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เอทิลแอลกอฮอล์ร้อยละ 1.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และกรดอะซิติกร้อยละ 1.0 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ได้ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย 5.6-8.2 กรัมต่อลิตร ซึ่งมากกว่า 3 เท่าเมื่อเทียบกับใช้อาหารสูตร HS เพียงอย่างเดียว เซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตได้มีความต้านทานแรงดึง 28.5-42.4 เมกะปาสคาล โครงสร้างของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ได้จากสูตรอาหารที่มีการเติมสารสกัด CCH และสูตรอาหาร HS ไม่มีความแตกต่างกัน เมื่อนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ได้จากสูตรอาหารที่มีสารสกัด CCH มาส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนพบว่ามีโครงสร้างร่างแหของเส้นใยอย่างละเอียด

ดวงใจ และคณะ (2553) ได้ทดสอบผลของไคโตซานต่อการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียรวมทั้งสมบัติของกระดาษที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหาร 3 สูตร (สูตรน้ำมะพร้าว สูตรของ HS และสูตรของ Okiyama) พบว่า กระดาษที่ได้จากการเลี้ยงเชื้อ A. *xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว มีการเติมสารละลายไคโตซานร้อยละ 0.2 มีค่าความแข็งแรงดึงสูงสุด 112.20 เมกกะพาสคาล รวมทั้งดูดซึมน้ำได้มากขึ้น ไอน้ำซึมผ่านได้ลดลงร้อยละ 23 และก๊าซออกซิเจนซึมผ่านได้ลดลงร้อยละ 84 เมื่อเทียบกับกระดาษเซลลูโลสที่ไม่เติมไคโตซาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
วิธีดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

Kamapataeibacter sp. PAP1 เป็นแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสได้สูง ซึ่งแยกได้จากมะละกอในประเทศไทย (Ochaikul และคณะ, 2013)

3.1.2 วัตถุดิบ

1. น้ำซาวข้าว
2. น้ำต้มเส้นขนมจีน
3. น้ำตาลทราย
4. น้ำมะพร้าว
5. น้ำซาวข้าวและน้ำต้มขนมจีน ได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานทำขนมจีนที่นิคมอุตสาหกรรมขนมจีน โรง5 ต.คลองนครเนื่องเขต อ.เมือง จ.ฉะเชิงเทรา

3.1.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์

อาหารสูตร HS medium (Hestrin and Schramm, HS)
อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

3.1.4 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

1. สารสกัดเนื้อ (Beef extract)
2. กรดซิตริก
3. กรดอะซิติกเข้มข้น
4. กลีเซอรอล
5. โซเดียมไฮดรอกไซด์
6. ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟต
7. น้ำกลั่น
8. น้ำตาลกลูโคส
9. น้ำตาลแมนนิทอล
10. น้ำตาลซูโครส
11. น้ำตาลฟรุกโตส
12. น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor)
13. เปปโตน (peptone)
14. ผงวุ้น
15. ยีสต์สกัด (yeast extract)
16. เอทานอลร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

17. แอมโมเนียมซัลเฟต
18. แอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5
19. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 1

3.1.5 เครื่องมือและอุปกรณ์

1. หม้อนึ่งอัดไอ (Autoclave)	รุ่น ES-315	ยี่ห้อ TOMY
2. ตู้อบลมร้อน (Hot air oven)	รุ่น UNE 600	ยี่ห้อ memmert
3. ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow)	รุ่น Bio II Advance	ยี่ห้อ Telstar
4. ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส	รุ่น SF-PC697	ยี่ห้อ Panasonic
5. ตู้บ่มเชื้อ (Incubator)	รุ่น INB 500	ยี่ห้อ BEC THAI
6. เครื่องวัด pH (pH Meter)	รุ่น PH 500	ยี่ห้อ Clean corporation
7. อ่างควบคุมอุณหภูมิ (Water bath)	รุ่น WNE 14	ยี่ห้อ memmert
8. เครื่องชั่งน้ำหนักสี่ตำแหน่ง (Balance)	รุ่น SI-234	ยี่ห้อ Denver Instrument

9. โถดูดความชื้น (Desiccators)
10. ตู้แช่เย็น -10 องศาเซลเซียส
11. เครื่องอัดรีดแผ่นเซลลูโลส
12. ลวดเขี่ยเชื้อ (Loop)
13. เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)
14. ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 500 มิลลิลิตร
15. จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
16. บีกเกอร์ ขนาด 500 มิลลิลิตร
17. ปิเปตขนาด 1 10 มิลลิลิตร
18. ตะเกียงแอลกอฮอล์
19. จุกยาง
20. หลอดทดลอง (Test tube)
21. หลอดพลาสติกทนความเย็นสูง (Cryo-tube)
22. ขวดแก้วเล็ก (Vial)
23. แท่งแก้วคนสาร
24. ปากคีบ (Forceps)
25. กระบอกตวงขนาด 100 500 มิลลิลิตร
26. ผ้าขาวบาง
27. ขวดดูแรนขนาด 500 มิลลิลิตร (Duran)
28. พาสเจอร์ปิเปต (Pasture pipette)
29. เวอร์เนียคาลิปเปอร์ (Vernier calipers)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

การดำเนินงานแบ่งเป็นขั้นตอนดังนี้

3.2.1 การเตรียมตัวอย่างน้ำทิ้ง

เก็บน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีน นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อกำจัดเศษตะกอนแป้งออก ทิ้งให้เย็น และเก็บไว้ในขวดพลาสติก แช่ไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อรอการนำมาใช้ต่อไป

3.2.2 การเตรียมหัวเชื้อเซลลูโลส

เตรียมอาหารสูตรน้ำมะพร้าวซึ่งประกอบด้วย น้ำมะพร้าวแก่ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 กรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 โดยปริมาตรของน้ำมะพร้าวแก่ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 100 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นเติมเชื้อแบคทีเรีย *Komagataeibacter* sp. PAP1 1 จาน เพาะเลี้ยง (plate) ใส่ลงไปในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.2.3 การคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1

3.2.3.1 การหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

นำน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนกรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อกำจัดสิ่งที่ไม่ต้องการออก นำส่วนน้ำที่ผ่านการกรองมาใช้เป็นอาหารหมัก โดยมีการศึกษาสูตรอาหารดังนี้

สูตรที่ 1 : น้ำซาวข้าวปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 2 : น้ำซาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 ปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 3 : น้ำซาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครส ร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับ พีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 4 : น้ำซาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟสร้อยละ 0.27 และกรดซิติกร้อยละ 0.12 ปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 5 : น้ำซาวข้าว ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 และกรดซิตริกร้อยละ 0.12 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 6 : น้ำต้มเส้นขนมจีนปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 7 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 ปรับพีเอช เป็น 6.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สูตรที่ 8 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับ พีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 9 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 และกรดซิติกร้อยละ 0.12 ปรับพีเอช เป็น 6.0

สูตรที่ 10 : น้ำต้มเส้นขนมจีน ที่มีการเติมส่วนประกอบของอาหาร HS ดังนี้ น้ำตาลกลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 และกรดซิตริกร้อยละ 0.12 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับพีเอช เป็น 6.0

โดยอาหารหมักแต่ละสูตรเตรียมใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 89 มิลลิลิตรในอาหารสูตรที่ 3, 5, 8 และสูตรที่ 10 (ซึ่งมีการเติมเอทานอลร้อยละ 1.0) ส่วนอาหารสูตรอื่นๆ (ไม่ได้เติมเอทานอล) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร โดยทำการทดลองสูตรอาหารละ 3 ซ้ำ

นำอาหารไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เติมหัวเชื้อที่ได้จากหัวข้อ 3.2.2 ปริมาณ 10 มิลลิลิตรลงในอาหารหมักแต่ละสูตร หมักในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

3.2.3.2 การเก็บเกี่ยวเซลลูโลสจากแบคทีเรียและทำให้บริสุทธิ์

นำเซลลูโลสออกจากอาหารหมัก วัดความหนาของแผ่นเซลลูโลสด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ 5 จุดทั่วทั้งแผ่นเซลลูโลสแล้วหาค่าเฉลี่ย นำแผ่นเซลลูโลสต้มด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.5 โมลาร์ อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียออก (Bae และคณะ, 2004) จากนั้นล้างด้วยน้ำกลั่นหลายครั้งเพื่อกำจัดเอาด่างออก จนแผ่นเซลลูโลสขาวและน้ำสุดท้ายมีพีเอชเป็นกลาง จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสมาอัดรีดน้ำ อบแห้งที่ 70-80 องศาเซลเซียส และนำมาชั่งน้ำหนักคำนวณหาผลผลิตของเซลลูโลส แสดงในหน่วยกรัมของเซลลูโลสต่ออาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตร (กรัมต่อลิตร) และวัดพีเอชของอาหารหมักที่เหลืออยู่ในฟลาสก์

คัดเลือกสูตรอาหารที่ให้ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียสูง เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาในขั้นต่อไป

การคำนวณหาผลผลิตเซลลูโลส

$$\text{ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{น้ำหนักเซลลูโลส+น้ำหนักกระดาษกรอง})-\text{น้ำหนักกระดาษกรอง}}{\text{ปริมาตรของอาหารหมัก}} \times 1000$$

3.2.4 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP 1 ในสภาวะนิ่ง

มีการแปรผันปัจจัยต่างๆ ดังนี้

3.2.4.1 พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก

เตรียมอาหารสูตรที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.3 ปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อโดยใช้สารละลายกรดอะซิติก และสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ให้มีพีเอชเริ่มต้น 4.0 5.0 6.0 7.0 และ 8.0 จากนั้นใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 90 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที เติมหัวเชื้อ *Komagataeibacter* sp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PAP1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มที่สภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดความหนาของแผ่นเซลลูโลส ผลผลิตเซลลูโลส และพีเอชของอาหารหมักที่เหลือ

3.2.4.2 แหล่งคาร์บอน

เตรียมอาหารสูตรที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.3 แหล่งคาร์บอนที่ใช้ศึกษามีดังนี้ น้ำตาลกลูโคส แมนนิทอล น้ำตาลทราย ฟรุกโตส และกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เตรียมอาหารใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรปริมาตรอาหาร 90 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.4.1

3.2.4.3 แหล่งไนโตรเจน

เตรียมอาหารสูตรที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.3 แหล่งไนโตรเจนที่ศึกษามีดังนี้ ยีสต์สกัด (yeast extract) น้ำแช่ข้าวโพด(corn steep liquor) เนื้อสกัด(beef extract) เปปโตน(peptone) และแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) เตรียมอาหารใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 90 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมหัวเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.4.1

3.2.4.4 ความเข้มข้นเอทานอล

เตรียมอาหารสูตรที่ได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.3 ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 90 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไออุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาเติมเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0.0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยปริมาตร เติมหัวเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับหัวข้อ 3.2.4.1

จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีน นำปัจจัยแต่ละปัจจัยที่ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ร่วมกันในการหมักเซลลูโลสจากเชื้อนี้ วิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้ และความหนาของแผ่นเซลลูโลสเปรียบเทียบกับอาหารสูตรเดิมก่อนนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสม

3.2.5 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสูตรอาหารที่เหมาะสมโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1

เลี้ยงเชื้อ *G. nataicola* PAP1 ในสูตรอาหารที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น โดยเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 250 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างทุกวันนำมาวิเคราะห์พีเอชของน้ำหมัก รวมทั้งปริมาณเซลล์โดยวิธี spread plate พีเอชของน้ำหมัก และผลผลิตของเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร) (Ochaikul และคณะ, 2014)

3.2.6 เปรียบเทียบการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียระหว่างสูตรอาหารที่เหมาะสมกับอาหารสูตรมาตรฐาน HS โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1

เลี้ยงเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสูตรอาหารที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น โดยเลี้ยงในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตรอาหาร 250 มิลลิลิตร เป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปรียบเทียบกับอาหารสูตรมาตรฐาน HS เมื่อครบกำหนดวิเคราะห์ผลผลิตของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (กรัมต่อลิตร)

3.2.7 การผลิตกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1

เตรียมอาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนในสภาวะที่เหมาะสมข้างต้น ฆ่าเชื้อโดยนำไปต้มให้เดือด 15 นาที ตักแบ่งใส่ถาดพลาสติก ปริมาตรอาหาร 1000 มิลลิลิตร ปิดผ้าขาวบาง ทิ้งให้เย็น จากนั้นเติมหัวเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร 100 มิลลิลิตรต่อถาด หมักนาน 10 วัน เมื่อครบกำหนดเก็บเซลลูโลสที่ได้มาล้างน้ำให้สะอาด แช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ นาน 1 คืน นำมาล้างน้ำ ต้มในน้ำเดือด 30 นาที นำมาอัดรีดน้ำ อบที่ 60 – 65 องศาเซลเซียส จะได้แผ่นแห้ง นำแผ่นแห้งมาต้มด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 นาน 30 นาที นำมาล้างน้ำ อัดรีดน้ำ อบให้แห้งที่ 60 – 65 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง จะได้กระดาษเซลลูโลสที่ได้จากการหมักน้ำทิ้งในกระบวนการผลิตขนมจีน

3.2.8 ศึกษาสมบัติของกระดาษที่ได้

ศึกษาสมบัติเชิงกลของกระดาษที่ได้ เช่น ค่าแรงดึง(Tensile strength) ค่าการยืด ณ จุดขาด (Elongation at break) และค่ามอดูลัสของยังส์ รวมทั้งศึกษาลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเซลลูโลสโดยใช้เครื่อง Scanning electron microscope (SEM) เปรียบเทียบกับกระดาษวุ้นมะพร้าวที่ได้จากสูตรอาหารมาตรฐาน HS

3.2.9 การศึกษาองค์ประกอบของน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน

นำน้ำเสียที่ใช้ในสูตรอาหารที่ถูกคัดเลือกในข้อ 3.2.3.2 มาวิเคราะห์องค์ประกอบในน้ำเสีย เช่น ค่าความชื้น (moisture) โปรตีน (protein) ไขมัน (Fat) เถ้า (ash) ใยอาหาร (crude fiber) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด (total carbohydrate) ปริมาณพลังงานทั้งหมด (total calories) พลังงานจากไขมัน (calories from fat) และ น้ำตาลมอลโทส (maltose)

3.2.10 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสภาวะเขย่า โดยมีการศึกษาปัจจัยดังกล่าวเหมือนในสภาวะนิ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลอง

4.1 ผลการคัดเลือกสูตรอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 จากน้ำทิ้งโรงงานผลิตขนมจีน

จากการนำน้ำทิ้งโรงงานผลิตขนมจีนซึ่งมี 2 ส่วนคือ น้ำซาวข้าว และน้ำต้มเส้นขนมจีน เติมส่วนประกอบของอาหารต่างๆ จะได้สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 สูตร นำสูตรอาหารทั้งหมด 10 สูตรมาเลี้ยงเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 บ่มในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนาน 7 วัน วัดค่าพีเอชของน้ำหมัก วัดค่าความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลส พบว่า สูตรอาหารน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 (สูตรที่ 8) จะให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงที่สุด 5.59 ± 0.49 กรัมต่อลิตร ซึ่งให้ผลที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับสูตรอาหารอื่น รองลงมาเป็นสูตรอาหารน้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HSและเติมเอทานอลร้อยละ 1 (สูตรที่ 5) ซึ่งให้ผลผลิตเซลลูโลส 4.54 ± 0.41 กรัมต่อลิตร สำหรับสูตรอาหารอื่นๆจะให้ผลผลิตเซลลูโลสในปริมาณร้อยละ 1.21 ± 0.14 – 3.69 ± 0.49 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 ซึ่งผลผลิตเซลลูโลสมีความสัมพันธ์กับความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้ในแต่ละสูตรอาหาร โดยพบว่าในสูตรอาหารที่ 8 แผ่นเซลลูโลสที่ได้มีความหนาสูงสุด 7.40 ± 0.31 มิลลิเมตร อาหารสูตรอื่นมีความหนาในช่วง 2.28 ± 0.31 – 6.74 ± 1.07 มิลลิเมตร สำหรับค่าพีเอชของน้ำหมักหลายสูตรมีค่าลดลงจากพีเอชเริ่มต้น 6.00 อาจเนื่องมาจากเชื้อใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอน ซึ่งกลูโคสจะเปลี่ยนไปเป็นสารกลูโคเนต (Gluconate) โดยเอนไซม์กลูโคสดีไฮโดรจิเนส (Glucose dehydrogenase) ที่ผลิตจากเชื้อนี้ ส่งผลให้ค่าพีเอชของน้ำหมักมีค่าลดลง (Jung และคณะ, 2003) สำหรับการหมักบางสูตรภายหลังการหมักมีค่าพีเอชเพิ่มขึ้น อาจเนื่องมาจากการที่แบคทีเรียใช้สารกลูโคเนตอย่างต่อเนื่อง จนปริมาณของสารกลูโคเนตลดลง ส่งผลให้ค่าพีเอชของน้ำหมักมีค่าเพิ่มขึ้น (Son และคณะ, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

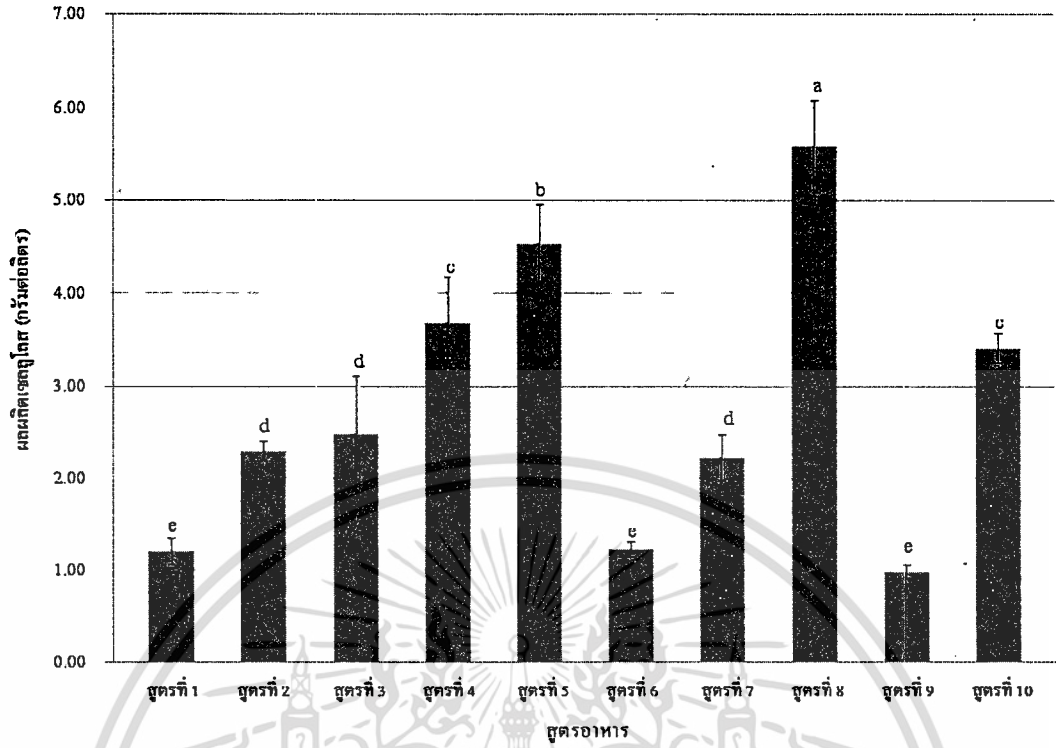
ตารางที่ 4.1 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลสของอาหารเลี้ยงเชื้อทั้ง 10 สูตรโดยการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

สูตรอาหาร	pH ของอาหารหมัก[(1)]	ความหนาของแผ่นเซลลูโลส (มม.)[(1)]	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)[(1)]
1. น้ำซาวข้าวร้อยละ 100	$3.15^{g(2)} \pm 0.15$	$2.68^{e} \pm 0.29$	$1.21^{e} \pm 0.14$
2. น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว	$7.36^{b} \pm 0.04$	$2.28^{e} \pm 0.31$	$2.30^{d} \pm 0.10$
3. น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1	$4.49^{e} \pm 0.06$	$2.58^{e} \pm 0.26$	$2.49^{d} \pm 0.62$
4. น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS	$3.36^{f} \pm 0.00$	$5.14^{c} \pm 0.31$	$3.69^{c} \pm 0.49$
5. น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS และเอทานอลร้อยละ 1	$3.02^{g} \pm 0.01$	$6.56^{b} \pm 0.35$	$4.54^{b} \pm 0.41$
6. น้ำต้มเส้นขนมจีนร้อยละ 100	$7.03^{c} \pm 0.45$	$2.71^{e} \pm 0.05$	$1.23^{e} \pm 0.08$
7. น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว	$7.58^{a} \pm 0.09$	$2.95^{e} \pm 0.26$	$2.23^{d} \pm 0.25$
8. น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1	$4.67^{d} \pm 0.01$	$7.40^{a} \pm 0.31$	$5.59^{a} \pm 0.49$
9. น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS	$3.41^{f} \pm 0.01$	$4.06^{d} \pm 0.25$	$2.98^{e} \pm 0.72$
10. น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS และเอทานอลร้อยละ 1	$3.39^{f} \pm 0.02$	$6.74^{ab} \pm 1.07$	$3.41^{c} \pm 0.16$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์กัน แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



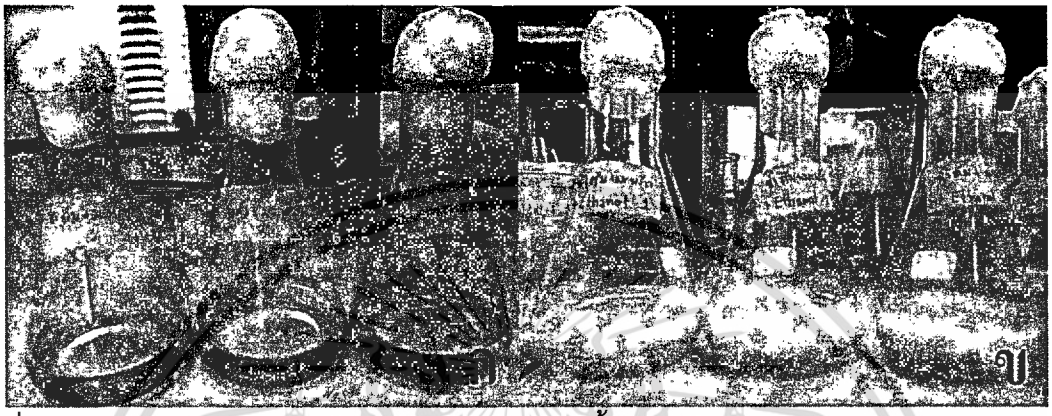
รูปที่ 4.1 ผลผลิตเซลลูโลสจากการหมักอาหารเลี้ยงเชื้อ 10 สูตร โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

หมายเหตุ สูตรที่ 1: น้ำซาวข้าวร้อยละ 100
สูตรที่ 2: น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว
สูตรที่ 3: น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และเอทานอล ร้อยละ 1
สูตรที่ 4: น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS
สูตรที่ 5: น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS และเอทานอลร้อยละ 1
สูตรที่ 6: น้ำต้มเส้นขนมจีนร้อยละ 100
สูตรที่ 7: น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว
สูตรที่ 8: น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และเอทานอล ร้อยละ 1
สูตรที่ 9: น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS
สูตรที่ 10: น้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS และเอทานอลร้อยละ 1

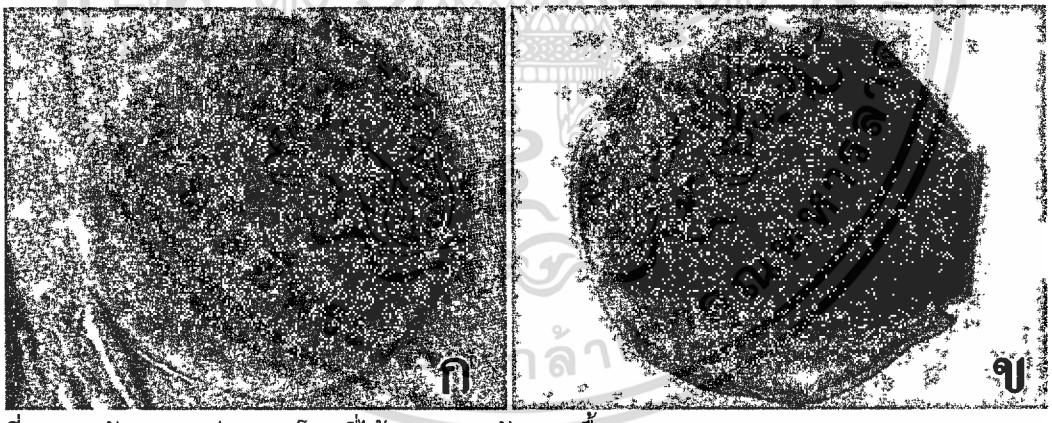
ลักษณะแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในฟลาสก์เป็นเวลา 7 วันแสดงดังรูปที่ 4.2 จะเห็นได้ว่า เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 สามารถใช้อาหารหมักที่มีปริมาณ 100 มิลลิลิตรได้เกือบหมด โดยสร้างเป็นแผ่นเซลลูโลสเกิดขึ้น เมื่อหมักครบกำหนดเก็บเซลลูโลสออกจากอาหารหมัก พบว่าผิวด้านบนของแผ่นเซลลูโลสที่สัมผัสอากาศจะมีลักษณะเรียบและผิวค่อนข้างด้านกว่าด้านที่อยู่ด้านล่างซึ่งสัมผัสกับอาหารหมัก ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของจิรารัตน์ (2555) และเมื่อนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักมาหาผลผลิตเซลลูโลสโดยหาน้ำหนักเซลล์แห้ง สีของแผ่นเซลลูโลสมีสี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำตาลแสดงดังรูปที่ 4.3 อาจเนื่องมาจากการนำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักมาต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.5 โมลาร์ (Bae และคณะ, 2004) ซึ่งเป็นการกำจัดเซลล์แบคทีเรียที่อยู่กับแผ่นเซลลูโลส รวมทั้งสิ่งเจือปนต่างๆ เช่น อาหารเลี้ยงเชื้อออกจากแผ่นเซลลูโลส (Catchmark และคณะ, 2009) เป็นวิธีการทำให้แผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ ก่อนนำมาหาน้ำหนักเซลล์แห้ง ทำให้แผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการต้มมีสีน้ำตาล



รูปที่ 4.2 ลักษณะการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในฟลาสก์ในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 7 วัน, ก: อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และเติมเอทานอลร้อยละ 1 (สูตรที่ 8) ก่อนการหมัก, ข: ลักษณะเซลลูโลสที่เกิดขึ้นภายหลังการหมัก



รูปที่ 4.3 ลักษณะแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายหลังการอบแห้งที่ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน, ก: ลักษณะแผ่นเซลลูโลสก่อนการอบแห้ง, ข: ลักษณะแผ่นเซลลูโลสหลังการอบแห้ง

4.2 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP 1 ในสูตรอาหารที่คัดเลือก

4.2.1 ค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อ

เตรียมสูตรอาหารที่คัดเลือกได้จากการศึกษาขั้นต้น คือ อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 (สูตรที่ 8) มีการแปรผันพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ 4.0 5.0 6.0 7.0 และ 8.0 จากการทดลองพบว่า พีเอชเริ่มต้นของอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เลี้ยงเชื้อ 7.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 7.15 ± 1.28 กรัมต่อลิตร ขณะที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 5.0 6.0 และ 8.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 2.59 ± 0.17 4.28 ± 0.75 6.38 ± 0.54 และ 6.29 ± 0.87 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเริ่มต้น 7.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีพีเอชเริ่มต้น 4.0 5.0 6.0 และ 8.0 แสดงดังตารางที่ 4.2 และรูปที่ 4.4 ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Pourramezan และคณะ (2009) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 พบว่าพีเอชที่เหมาะสมสำหรับการหมักเซลลูโลสคือ 7.0 มีการวัดความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมัก พบว่าความหนาที่ได้ไม่สัมพันธ์กับผลผลิตเซลลูโลส ทั้งนี้อาจเกิดจากลักษณะการบวมน้ำของแผ่นเซลลูโลส ส่งผลให้ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้มีค่าน้อย

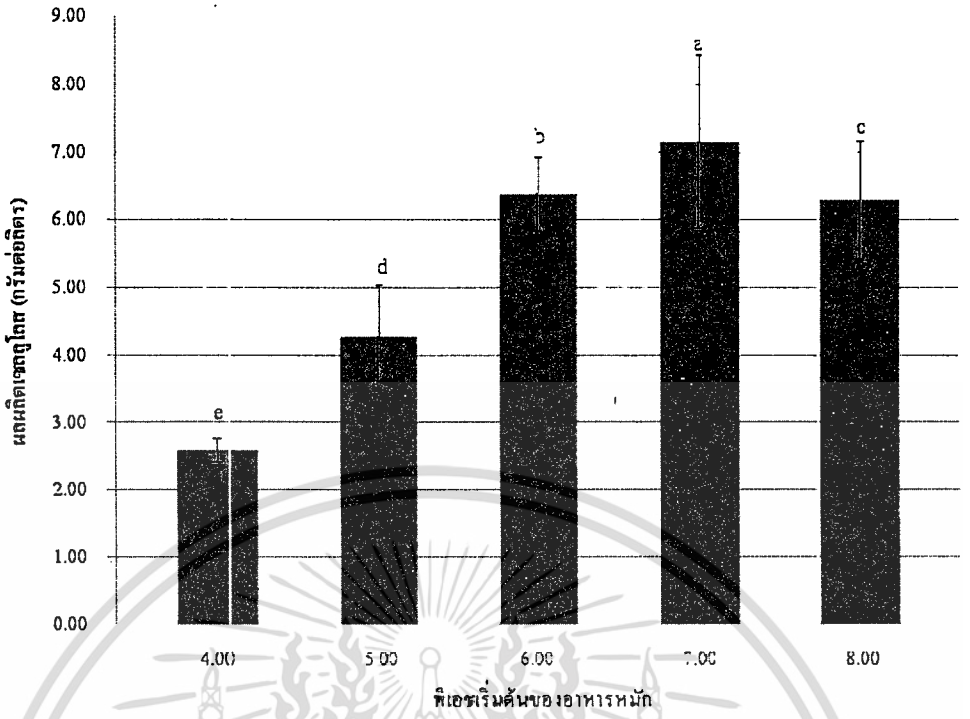
ตารางที่ 4.2 พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

pH เริ่มต้นที่ใช้	pH ของอาหารหมัก (1)	ความหนาของแผ่นเซลลูโลส (มิลลิเมตร) (1)	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร) (1)
pH 4.00	$3.37^{e(2)} \pm 0.01$	$7.10^{e} \pm 0.40$	$2.59^{e} \pm 0.17$
pH 5.00	$4.60^{d} \pm 0.03$	$9.21^{a} \pm 0.18$	$4.28^{d} \pm 0.75$
pH 6.00	$4.87^{c} \pm 0.02$	$9.02^{b} \pm 0.74$	$6.38^{b} \pm 0.54$
pH 7.00	$4.88^{b} \pm 0.04$	$8.80^{c} \pm 0.52$	$7.15^{a} \pm 1.28$
pH 8.00	$4.97^{a} \pm 0.01$	$8.72^{d} \pm 0.08$	$6.29^{c} \pm 0.87$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์กัน แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.4 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยใช้พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4.2.2 แหล่งคาร์บอน

เตรียมสูตรอาหารที่คัดเลือกได้ในขั้นต้น คือ อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ1 (สูตรที่ 8) มีการศึกษาแหล่งคาร์บอนดังนี้ น้ำตาลกลูโคส น้ำตาลแมนนิทอล น้ำตาลทราย น้ำตาลฟรุกโตส และกลีเซอรอล โดยใช้ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) บ่มที่สภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการใช้น้ำตาลแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักเซลลูโลสจากเชื้อ *G. nataicola* PAP1 ให้ผลผลิตสูงที่สุด 5.71 ± 1.48 กรัมต่อลิตร รองลงมาเป็นน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลทราย กลีเซอรอล และน้ำตาลฟรุกโตส ซึ่งให้ผลผลิตเซลลูโลส 5.02 ± 0.39 4.95 ± 0.39 3.47 ± 0 .31 และ 2.49 ± 0.26 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้น้ำตาลแมนนิทอลมีผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงดังตารางที่ 4.3 และ รูปที่ 4.5 ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับการทดลองของ Ameyama และคณะ (1995) ได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากน้ำตาลดี-แมนนิทอล โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* KU-1พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* KU-1 คือใช้น้ำตาลแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน โดยผลผลิตที่ได้จากอาหารหมักที่มีน้ำตาลแมนนิทอลเป็นองค์ประกอบสูงกว่าผลผลเซล่ลูโลสที่ได้จากอาหารหมักที่มีน้ำตาลกลูโคสเป็นองค์ประกอบ 3 เท่า Dean และคณะ (2012) ได้ศึกษาการเปลี่ยนแปลงสภาวะการเจริญของเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* เพื่อเพิ่มผลผลิตของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย พบว่าการใช้น้ำตาลแมนนิทอลให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงกว่าการใช้น้ำตาลกลูโคสและซูโครส โดยการใช้น้ำตาลทั้งสองชนิดทำให้แผ่นเซลลูโลสที่ได้มีลักษณะบวมน้ำ ความหนาของแผ่นมาก แต่ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้ต่ำกว่าการใช้น้ำตาลแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน

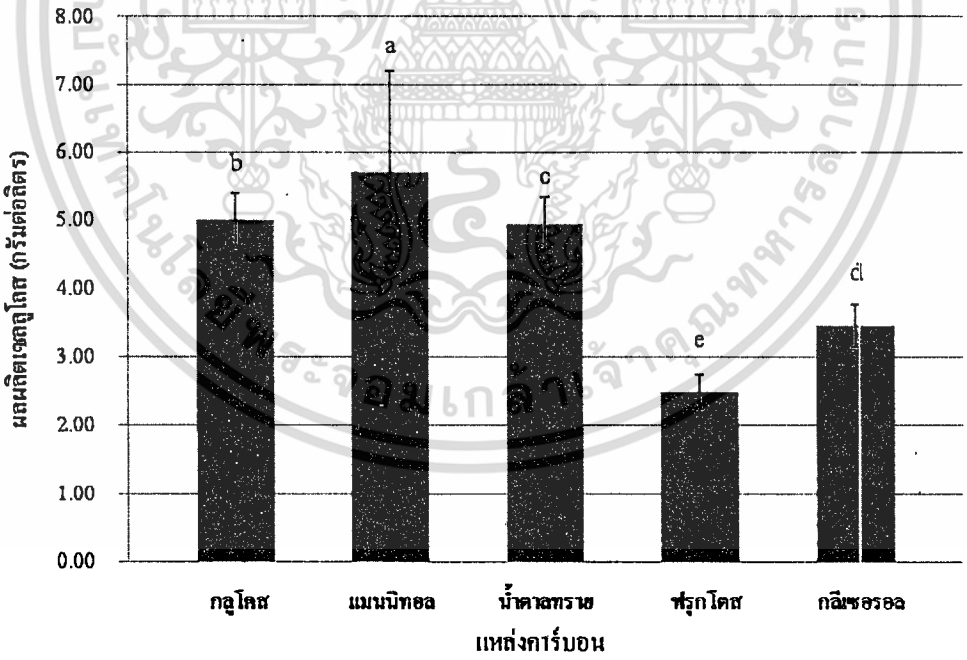
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

แหล่งคาร์บอน	pH ของอาหารหมัก (1)	ความหนาของแผ่นเซลลูโลส (มิลลิเมตร) (1)	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร) (1)
กลูโคส	$4.57^{d(2)} \pm 0.01$	$9.63^{a} \pm 0.69$	$5.02^{b} \pm 0.39$
แมนนิทอล	$4.79^{b} \pm 0.04$	$8.73^{c} \pm 1.01$	$5.71^{a} \pm 1.48$
น้ำตาลทราย	$4.84^{a} \pm 0.02$	$9.02^{b} \pm 0.26$	$4.95^{c} \pm 0.39$
ฟรุกโตส	$4.69^{c} \pm 0.01$	$4.56^{e} \pm 0.59$	$2.49^{e} \pm 0.26$
กลีเซอรอล	$4.79^{b} \pm 0.01$	$8.72^{d} \pm 0.84$	$3.47^{d} \pm 0.31$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์กัน แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.5 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยใช้แหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันหมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.3 แหล่งไนโตรเจน

เตรียมสูตรอาหารที่คัดเลือกได้ในขั้นต้น คือ อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 (สูตรที่ 8) มีการศึกษาแหล่งไนโตรเจน ดังนี้ สารสกัดเนื้อ (Beef Extract) ยีสต์สกัด เปปโตน น้ำแช่ข้าวโพด (Corn Steep Liquor) และแอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) บ่มที่สภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่า การใช้สารสกัดเนื้อเป็นแหล่งไนโตรเจนเติมลงในอาหารสูตรที่คัดเลือกแทนแหล่งไนโตรเจนเดิมในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 8.38 ± 0.53 กรัมต่อลิตร และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับการใช้แหล่งไนโตรเจนอื่นที่ระดับเชื่อมั่นร้อยละ 95 การใช้เปปโตนและน้ำแช่ข้าวโพดเป็นแหล่งไนโตรเจนทำให้แผ่นเซลลูโลสที่ได้มีลักษณะบวมน้ำ ทำให้มีความหนาสูงกว่าการใช้สารสกัดเนื้อ เมื่อนำมาหาผลผลิตเซลลูโลสกลับมีค่าน้อยกว่า แสดงดังตารางที่ 4.4 และ รูปที่ 4.6

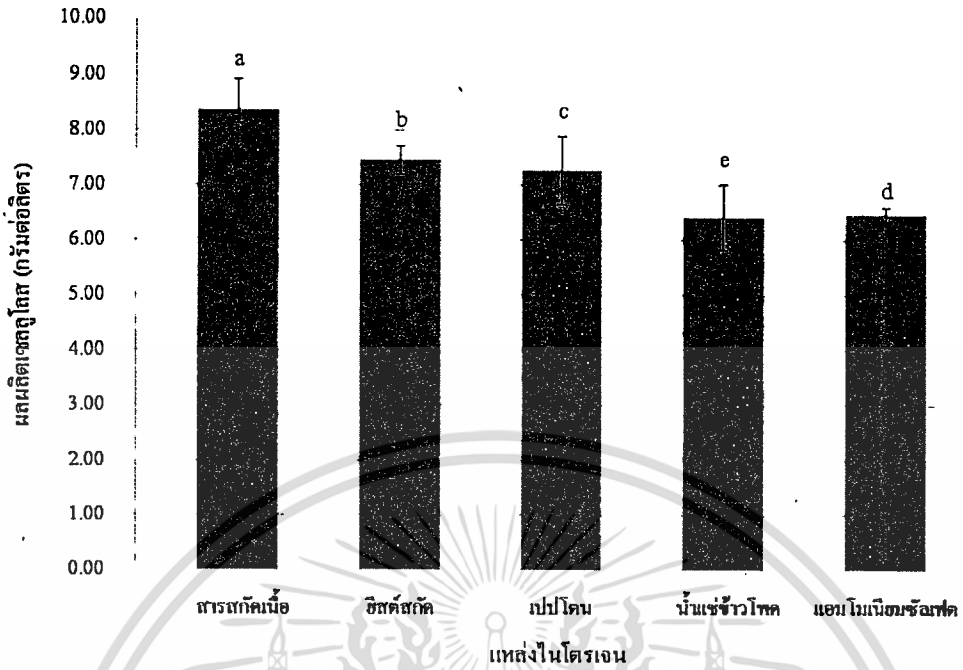
ตารางที่ 4.4 พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลส ที่ได้จากการหมักโดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

แหล่งไนโตรเจน	pH ของอาหารหมัก[1]	ความหนาของแผ่นเซลลูโลส (มิลลิเมตร)[1]	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)[1]
สารสกัดเนื้อ	$4.73^{c(2)} \pm 0.02$	$8.55^{c} \pm 0.35$	$8.38^{a} \pm 0.53$
ยีสต์สกัด	$4.75^{a} \pm 0.03$	$8.54^{c} \pm 0.12$	$7.46^{b} \pm 0.25$
เปปโตน	$4.74^{b} \pm 0.01$	$9.24^{b} \pm 0.16$	$7.27^{c} \pm 0.61$
น้ำแช่ข้าวโพด	$4.65^{e} \pm 0.01$	$9.80^{a} \pm 0.51$	$6.43^{e} \pm 0.60$
แอมโมเนียมซัลเฟต	$4.71^{d} \pm 0.01$	$7.70^{d} \pm 1.02$	$6.48^{d} \pm 0.13$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์กัน แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.6 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยใช้แหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันหมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4.2.4 ความเข้มข้นของเอทานอล

เตรียมสูตรอาหารที่คัดเลือกได้ในขั้นต้น คือ อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 (สูตรที่ 8) นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำมาเติมเอทานอลร้อยละ 95 ความเข้มข้นดังนี้ ร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 จากนั้นเติมเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ร้อยละ 10 โดยปริมาตร นำไปบ่มที่สภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 6.70 ± 0.37 กรัมต่อลิตร ขณะที่การเติมเอทานอลร้อยละ 0 1.0 1.5 และ 2.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 1.66 ± 0.36 6.30 ± 0.60 3.30 ± 0.24 และ 1.63 ± 0.15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และเมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับการใช้เอทานอลความเข้มข้นอื่น แสดงดังตารางที่ 4.5 และรูปที่ 4.7 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Small และคณะ (2011) ซึ่งได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียจากน้ำเชื่อมเมเปิ้ลโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* BPR 2001 ซึ่งพบว่าปริมาณเอทานอลที่เหมาะสมใช้ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร

Kouda และคณะ (1998) ได้ศึกษาผลของเอทานอลต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียจากน้ำตาล ฟรุกโตสในการเลี้ยงประเภทต่อเนื่อง พบว่าเอทานอลสามารถกระตุ้นการเจริญของเซลล์และมีหน้าที่เปรียบเสมือนแหล่งพลังงานสำหรับการสังเคราะห์ ATP แต่เอทานอลไม่ได้เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตเซลลูโลส เอทานอลที่เติมลงไปนั้นจะมีหน้าที่กระตุ้นการเจริญของเซลล์และเพิ่มผลผลิตของเซลลูโลส (Heo และคณะ, 2001)

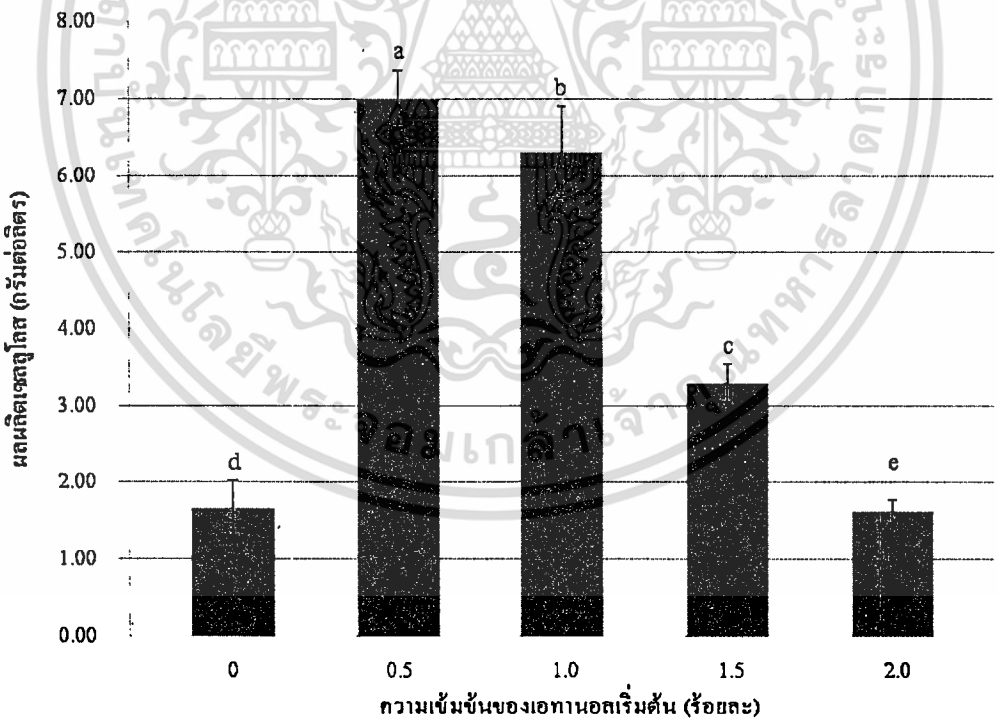
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 พีเอชของอาหารหมัก ความหนาของแผ่นเซลลูโลส และผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมัก โดยการเติมเอทานอลความเข้มข้นที่แตกต่างกันหมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของเอทานอลเริ่มต้น	pH ของอาหารหมัก[1]	ความหนาของแผ่นเซลลูโลส (มม.)[1]	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)[1]
เอทานอลร้อยละ 0	$8.09^{a(2)} \pm 0.26$	$3.28^{e} \pm 0.26$	$1.66^{d} \pm 0.36$
เอทานอลร้อยละ 0.5	$5.31^{b} \pm 0.05$	$9.44^{a} \pm 0.22$	$6.70^{a} \pm 3.74$
เอทานอลร้อยละ 1.0	$4.65^{c} \pm 0.00$	$8.02^{b} \pm 0.95$	$6.30^{b} \pm 0.60$
เอทานอลร้อยละ 1.5	$4.38^{d} \pm 0.02$	$6.44^{c} \pm 0.51$	$3.30^{c} \pm 0.24$
เอทานอลร้อยละ 2.0	$4.20^{d} \pm 0.00$	$5.19^{d} \pm 0.11$	$1.63^{e} \pm 0.15$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในสดมภ์กัน แสดงถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.7 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกโดยเติมเอทานอลความเข้มข้นแตกต่างกัน หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.5 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสูตรอาหารที่คัดเลือก

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจาก *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในอาหารสูตรที่คัดเลือกคือ อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และเอทานอลร้อยละ 1 (สูตร 8) พบว่า พีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อคือ 7.0 แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมคือ น้ำตาลแมนนิทอล แหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมคือ สารสกัดเนื้อ (Beef extract) และความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสมคือ ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ปัจจัยเหล่านี้ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูง เมื่อนำปัจจัยเหล่านี้มาศึกษาพร้อมกันในกระบวนการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อแบคทีเรียนี้ในสูตรอาหารน้ำต้มขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าว และเอทานอลร้อยละ 1 (สูตร 8) หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เปรียบเทียบกับสูตรอาหารชนิดนี้เช่นกันก่อนนำมาศึกษาสภาวะที่เหมาะสม พบว่า อาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่ใช้สภาวะที่เหมาะสมมีผลผลิตเซลลูโลส 9.72 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าอาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 (ก่อนศึกษาสภาวะที่เหมาะสม) โดยมีผลผลิตเซลลูโลส 5.53 ± 0.03 กรัมต่อลิตร ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากสูตรอาหารน้ำต้มเส้นขนมจีนในสภาวะที่เหมาะสมสูงกว่าสูตรก่อนใช้สภาวะที่เหมาะสม 1.76 เท่า แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลผลิตเซลลูโลสจากสูตรอาหารน้ำต้มเส้นขนมจีนก่อน และหลังใช้สภาวะที่เหมาะสม หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

สูตรอาหาร	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)
ก่อนใช้สภาวะที่เหมาะสม	5.53 ± 0.03
หลังใช้สภาวะที่เหมาะสม	9.72 ± 0.04

4.3 ผลการศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. ในสูตรอาหารที่คัดเลือกและใช้สภาวะที่เหมาะสมในการหมัก

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสูตรอาหารที่คัดเลือกคือ สูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเติมเอทานอลร้อยละ 1 หมักในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น คือ ปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 7.0 ใช้น้ำตาลแมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน ใช้สารสกัดเนื้อ (Beef extract) เป็นแหล่งไนโตรเจน และเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน พบว่า ในวันที่ 0 เมื่อเติมหัวเชื้อลงไปในอาหารหมัก ทำให้ค่าพีเอชของอาหารหมักลดลงจากพีเอชเริ่มต้น 7.0 ลดลงเหลือ 5.57 อาจเนื่องจากสารละลายหัวเชื้อที่เติมลงไปมีพีเอช 3.0 – 4.0 มีผลให้พีเอชของอาหารหมักลดลง หลังจากนั้นพีเอชลดลงตลอดระยะการหมัก เนื่องจากในการเจริญของเชื้อชนิดนี้จะมีการผลิตเซลลูโลสโดยใช้น้ำตาลที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ และเกิดกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะกรดอะซิติก มีผลทำให้น้ำหมักมีค่าพีเอชลดลง ระยะสุดท้ายของการหมักค่าพีเอชของอาหารเลี้ยงเชื้อจะเพิ่มขึ้นเล็กน้อย อาจเนื่องจากเชื้อชนิดนี้ใช้สารกลูโคเนตที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก (Jung และคณะ, 2003) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Pourramezan และคณะ (2009) ซึ่งได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 เลี้ยงเชื้อในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

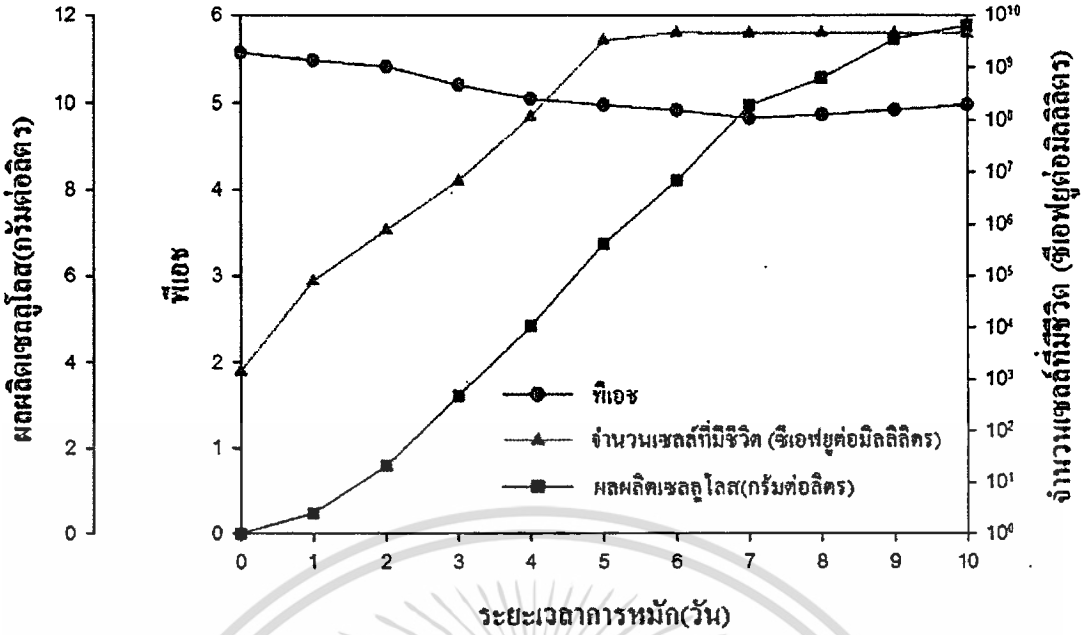
วัน วัดพีเอชของอาหารหมักทุกวัน พบว่าค่าพีเอชที่เหมาะสมของอาหารหมักที่ให้ผลผลิตสูงที่สุดคือ พีเอช 7 และจากการศึกษาการเจริญของเชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 เป็นเวลา 10 วัน พบว่าค่าพีเอชของอาหารหมัก มีการลดลงอย่างช้าๆ ตลอดระยะการหมัก โดยพีเอชลดลงต่ำสุดในวันที่ 7 หลังจากนั้นในช่วงสุดท้ายของการหมักมีการเพิ่มขึ้นของพีเอชเล็กน้อย

สำหรับผลผลิตเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-7 วันของการหมัก หลังจากนั้นอัตราการเพิ่มผลผลิตเซลลูโลสจะลดลง วันที่ 10 มีผลผลิตเซลลูโลส 11.76 กรัมต่อลิตร ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าช่วงแรกปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 1-7 วันแรก มีปริมาณเซลล์สูงสุด 4.64×10^9 CFU/มิลลิลิตร หลังจากนั้นปริมาณเซลล์ค่อนข้างคงที่ แสดงดังตารางที่ 4.7 และรูปที่ 4.8

ตารางที่ 4.7 ค่าพีเอชของการหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสม ในสภาวะนิ่งอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน

วันที่	pH	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (CFU/มิลลิลิตร)
0	5.57	0	1.42×10^3
1	5.49	0.48	8.00×10^4
2	5.41	1.59	7.80×10^5
3	5.21	3.22	6.80×10^6
4	5.05	4.83	1.18×10^8
5	4.98	6.75	3.28×10^9
6	4.92	8.21	4.56×10^9
7	4.83	9.94	4.64×10^9
8	4.87	10.56	4.60×10^9
9	4.92	11.45	4.44×10^9
10	4.98	11.76	4.48×10^9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.8 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 เลี้ยงในอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสม หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 วัน

4.4 ผลการหมักเซลลูโลสในอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสมกับการหมักในสูตรอาหารมาตรฐาน HS

จากการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสูตรอาหารที่คัดเลือกและใช้สภาวะที่เหมาะสม และหมักในสูตรอาหารมาตรฐาน HS โดยหมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าอาหารที่คัดเลือกและใช้สภาวะที่เหมาะสมให้ผลผลิตเซลลูโลส 11.76 ± 0.34 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการหมักในอาหารสูตรมาตรฐาน HS โดยให้ผลผลิต 2.67 ± 0.65 กรัมต่อลิตร คิดเป็น 4.40 เท่า แสดงดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสม และอาหารสูตรมาตรฐาน HS โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 หมักในสภาวะนิ่ง อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

สูตรอาหาร	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)
สูตรอาหารที่คัดเลือกใช้สภาวะที่เหมาะสม	11.76 ± 0.34
สูตรอาหารมาตรฐาน HS	2.67 ± 0.65

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะเขย่า

4.5.1 ความเร็วรอบในการเขย่า

เตรียมอาหารหมักสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีน เติมส่วนประกอบดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5.0 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 อะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 และเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 6.0 ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ที่ความเร็วรอบ 100 120 และ 200 รอบต่อนาที จากการทดลองพบว่าเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 0.94 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ขณะที่ความเร็วรอบ 100 และ 120 รอบต่อนาที ให้ผลผลิต 0.75 ± 0.03 และ 0.65 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.9 และรูปที่ 4.9 สำหรับเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.00 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ขณะที่ความเร็วรอบ 100 และ 120 รอบต่อนาที ให้ผลผลิต 0.80 ± 0.04 และ 0.70 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.10 และรูปที่ 4.10 เมื่อวิเคราะห์ผลทางสถิติพบว่า เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 และ 120 รอบต่อนาที สอดคล้องกับการทดลองของ Mukataka และคณะ (1983) รายงานว่าเมื่อเพิ่มความเร็วรอบมากกว่า 200 รอบต่อนาที พบว่าให้ผลผลิตเซลลูโลสต่ำ ในขณะที่เมื่อใช้ความเร็วรอบในช่วง 100-200 รอบต่อนาที อัตราการย่อยสับสเตรทเร็วและเปลี่ยนไปเป็นเซลลูโลสได้สูง เช่นเดียวกับการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสโดยใช้ *Acetobacter xylinum* TISTR976 ได้ทำการทดลองที่สภาวะนิ่งเปรียบเทียบกับการใช้ความเร็วรอบ 50 และ 200 รอบต่อนาที พบว่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด (Suwannapinunt และคณะ, 2007) จากผลการทดลองนี้จึงได้ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาทีมาใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.9 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ที่ความเร็วรอบแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ความเร็วรอบในการเขย่า (รอบต่อนาที)	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอชอาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
100	0.75[b(2)] ± 0.03	5.01[b] ± 0.04	0.34[a] ± 0.04
120	0.65[b] ± 0.04	5.17[a] ± 0.05	0.31[a] ± 0.06
200	0.94[a] ± 0.08	5.12[a] ± 0.06	0.34[a] ± 0.03

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

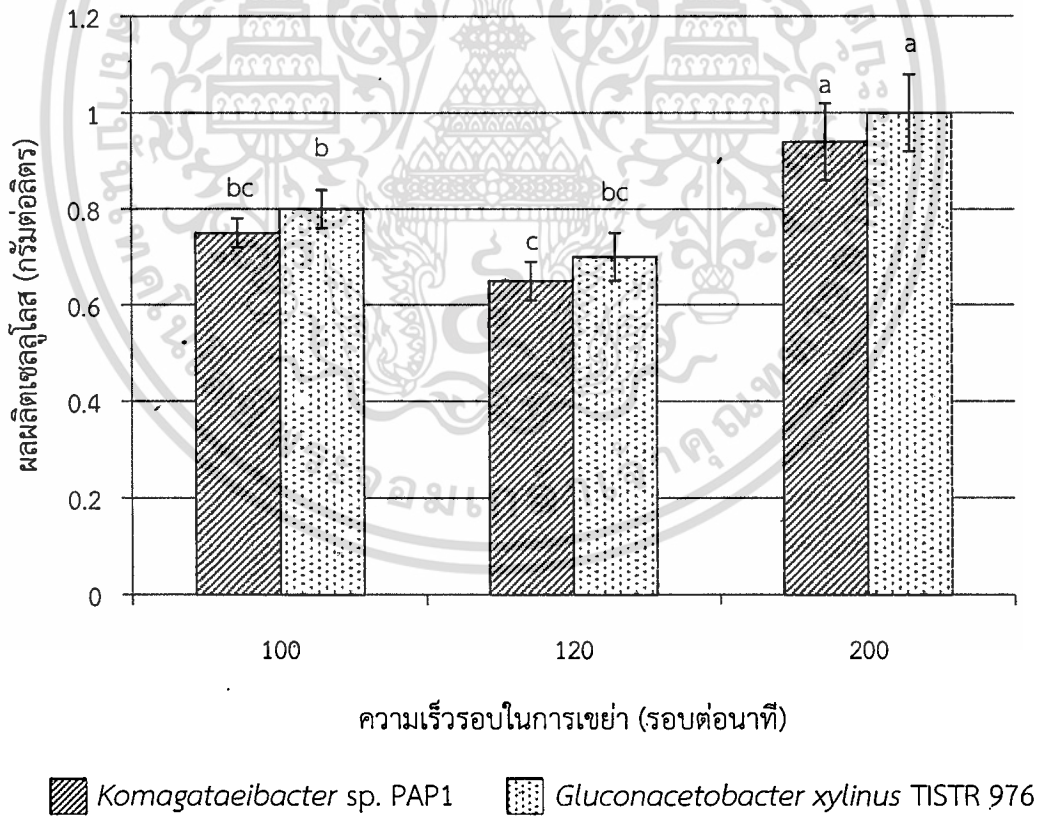
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่ความเร็วรอบแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ความเร็วรอบในการเขย่า (รอบต่อนาที)	ผลผลิตเซลลูโลส[1] (กรัมต่อลิตร)	พีเอชอาหารหมัก[1]	ปริมาณกรดอะซิติก[1] (ร้อยละ)
100	$0.80^{b(2)} \pm 0.04$	$5.21^{a} \pm 0.02$	$0.32^{a} \pm 0.02$
120	$0.70^{b} \pm 0.05$	$5.16^{ab} \pm 0.32$	$0.28^{a} \pm 0.03$
200	$1.00^{a} \pm 0.08$	$5.12^{b} \pm 0.06$	$0.28^{a} \pm 0.06$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

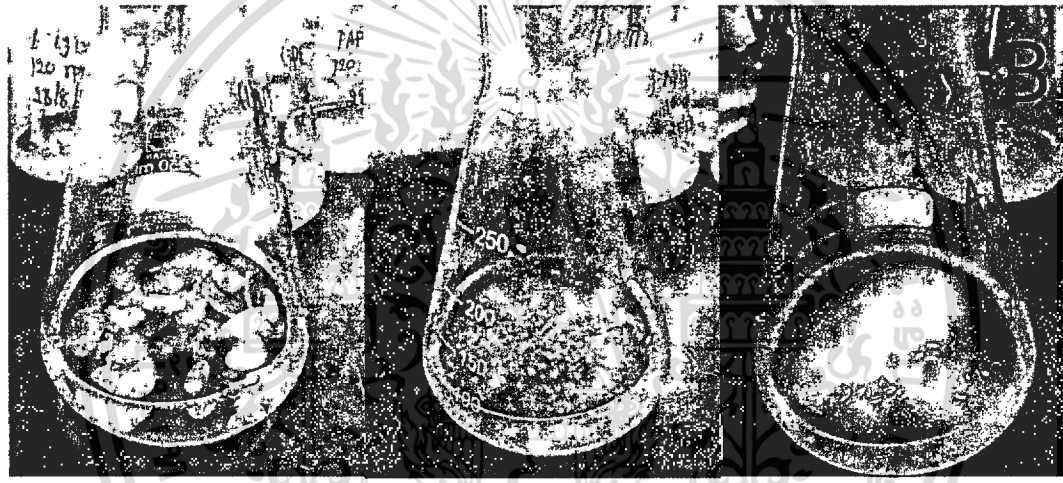
(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.9 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่ความเร็วรอบแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

100 รอบต่อนาที 120 รอบต่อนาที 200 รอบต่อนาที



100 รอบต่อนาที 120 รอบต่อนาที 200 รอบต่อนาที

รูปที่ 4.10 ลักษณะของเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยใช้ความเร็วรอบแตกต่างกันคือ 100 120 และ 200 รอบต่อนาที ตามลำดับ หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน
A: เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1
B: เชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR976

4.5.2 พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก

เตรียมอาหารหมักสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีน เติมส่วนประกอบดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5.0 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 อะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 และเอทานอลร้อยละ 1.0 โดยมีการแปรผันพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักดังนี้ 4.0 5.0 และ 6.0 โดยใช้โซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากการทดลองพบว่ากระบวนการหมักโดยใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก 5.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.08 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ขณะที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 และ 6.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.60 ± 0.13 และ 0.81 ± 0.13 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.11 และรูปที่ 4.11 สำหรับเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.14 ± 0.02 กรัมต่อลิตร ขณะที่พีเอชเริ่มต้น 4.0 และ 6.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.78 ± 0.08 และ 0.81 ± 0.12 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.12 และรูปที่ 4.11 เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 เลี้ยงในอาหารหมักที่มีพีเอชเริ่มต้น 5.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Hwang และคณะ (1999) ศึกษาผลกระทบของพีเอชในการผลิตเซลลูโลสโดยใช้เชื้อ *Acetobacter* BRC5 ปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารเป็น 4.0-6.0 พบว่าการปรับพีเอชเป็น 5.0 มีการเจริญเติบโตของเซลล์และผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด เช่นเดียวกับการทดลองของ Pokalwar และคณะ (2011) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสด้วยเชื้อ *Gluconacetobacter intermedius* ที่แยกได้จากองุ่นอินเดีย โดยเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีพีเอชเริ่มต้น 2.0 3.0 4.0 5.0 6.0 7.0 8.0 และ9.0 พบว่า ที่พีเอช 5.0 ให้ผลผลิตสูงที่สุด Norhayati และคณะ (2011) ได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* ในถังหมักแบบกวนที่พีเอชแตกต่างกัน คือ 4.0 5.0 และ 6.0 พบว่าที่พีเอช 5.0 ให้ผลผลิตสูงที่สุด ระหว่างกระบวนการหมักมีค่าพีเอชลดลงเนื่องจากเกิดการสะสมของกรดกลูโคนิก กรดอะซิติก หรือกรดแลกติกในอาหารหมัก (Kongruang, 2008) ดังนั้นในการทดลองจึงใช้พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก 5.0 มาใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในขั้นตอนต่อไป

ตารางที่ 4.11 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

พีเอชเริ่มต้น	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอช อาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
4.0	$0.60^{b(2)} \pm 0.13$	$3.56^{c} \pm 0.04$	$0.57^{b} \pm 0.04$
5.0	$1.08^{a} \pm 0.05$	$4.22^{b} \pm 0.07$	$0.88^{a} \pm 0.09$
6.0	$0.81^{b} \pm 0.13$	$5.10^{a} \pm 0.07$	$0.37^{c} \pm 0.05$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

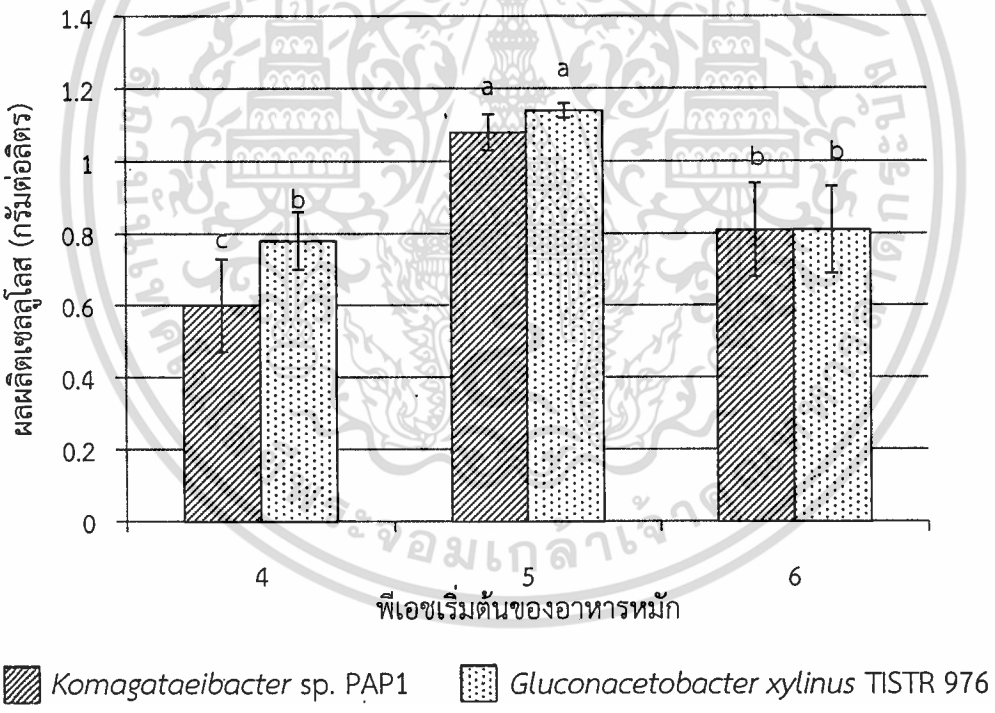
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.12 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

พีเอชเริ่มต้น	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอช อาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
4.0	$0.78^{b(2)} \pm 0.08$	$3.62^{c} \pm 0.05$	$1.58^{a} \pm 0.06$
5.0	$1.14^{a} \pm 0.02$	$4.19^{b} \pm 0.09$	$0.97^{b} \pm 0.09$
6.0	$0.81^{b} \pm 0.12$	$5.08^{a} \pm 0.03$	$0.35^{c} \pm 0.01$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95



รูปที่ 4.11 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักที่แตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5.3 แหล่งคาร์บอน

เตรียมอาหารหมักสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีน เติมส่วนประกอบดังนี้ แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 อะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 และเอทานอลร้อยละ 1.0 โดยมีการศึกษาแหล่งคาร์บอนดังนี้ กลูโคส แมนนิทอล ซูโครส(น้ำตาลทราย) ฟรุกโตส และกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 5.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปรับพีเอชเริ่มต้น 5.0 ซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 4.1.2 ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 7 วัน จากการทดลองพบว่าการใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ในการหมักเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ให้ผลผลิตสูงที่สุด 1.05 ± 0.04 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ แมนนิทอล กลูโคส กลีเซอรอล และฟรุกโตส ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.77 ± 0.15 0.76 ± 0.13 0.64 ± 0.12 และ 0.62 ± 0.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.13 และ รูปที่ 4.12 สำหรับการหมักด้วยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 พบว่าซูโครสให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.11 ± 0.05 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ กลูโคส แมนนิทอล กลีเซอรอล และฟรุกโตส ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.90 ± 0.06 0.85 ± 0.08 0.81 ± 0.12 และ 0.30 ± 0.15 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.15 และ รูปที่ 4.12 เมื่อนำมาวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดและมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สอดคล้องกับการทดลองของ Pourramezan และคณะ (2009) ซึ่งได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 ได้นำน้ำตาลหลายๆ ชนิดได้แก่ กลูโคส ซูโครส ไซโลส และแลกโตส มาใช้แทนแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ HS พบว่าซูโครสให้ผลผลิตสูงสุด คือ 11.98 กรัมต่อลิตร ตามด้วยกลูโคส ไซโลส และแลกโตส ดังนั้นจึงใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.13 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

แหล่งคาร์บอน	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอชอาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
ซูโครส (Sucrose)	$1.05^{a(2)} \pm 0.04$	$4.22^{c} \pm 0.09$	$1.02^{b} \pm 0.11$
กลูโคส (Glucose)	$0.76^{b} \pm 0.13$	$4.00^{d} \pm 0.08$	$1.62^{a} \pm 0.06$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน (ต่อ)

แหล่งคาร์บอน	ผลผลิตเซลลูโลส[1] (กรัมต่อลิตร)	พีเอชอาหารหมัก[1]	ปริมาณกรดอะซิติก[1] (ร้อยละ)
ฟรุกโตส (Fructose)	$0.62^{b} \pm 0.06$	$4.68^{a} \pm 0.08$	$0.56^{c} \pm 0.07$
แมนนิทอล (Mannitol)	$0.77^{b} \pm 0.15$	$4.57^{ab} \pm 0.03$	$0.36^{d} \pm 0.02$
กลีเซอรอล (Glycerol)	$0.64^{b} \pm 0.12$	$4.55^{b} \pm 0.04$	$0.42^{d} \pm 0.04$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

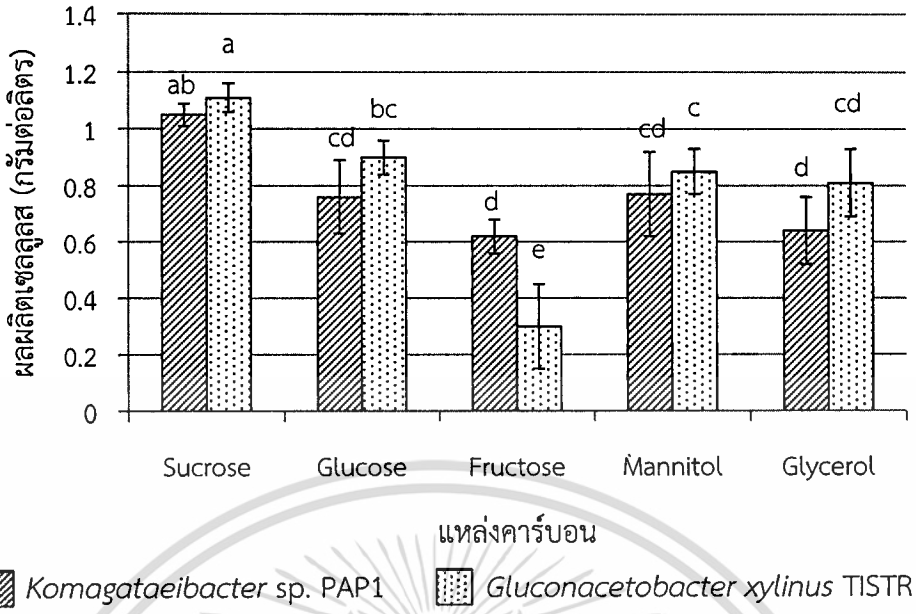
ตารางที่ 4.15 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

แหล่งคาร์บอน	ผลผลิตเซลลูโลส[1] (กรัมต่อลิตร)	พีเอช อาหารหมัก[1]	ปริมาณกรดอะซิติก[1] (ร้อยละ)
ซูโครส (Sucrose)	$1.11^{a(2)} \pm 0.05$	$4.19^{c} \pm 0.08$	$0.98^{b} \pm 0.05$
กลูโคส (Glucose)	$0.90^{b} \pm 0.06$	$3.93^{d} \pm 0.06$	$1.77^{a} \pm 0.04$
ฟรุกโตส (Fructose)	$0.30^{c} \pm 0.15$	$4.84^{a} \pm 0.02$	$0.48^{c} \pm 0.08$
แมนนิทอล (Mannitol)	$0.85^{b} \pm 0.08$	$4.64^{b} \pm 0.02$	$0.41^{cd} \pm 0.04$
กลีเซอรอล (Glycerol)	$0.81^{b} \pm 0.12$	$4.59^{b} \pm 0.02$	$0.33^{d} \pm 0.02$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้แหล่งคาร์บอนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4.5.4 แหล่งไนโตรเจน

เตรียมอาหารหมักสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีน เติมส่วนประกอบดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5.0 ซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 4.1.3 อะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 และเอทานอลร้อยละ 1.0 โดยมีการศึกษาแหล่งไนโตรเจนดังนี้ ยีสต์สกัด (yeast extract) น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) สารสกัดเนื้อ (beef extract) และแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) โดยใช้ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ปรับพีเอชเริ่มต้น 5.0 ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากการทดลองพบว่าการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักด้วยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 แทนแหล่งไนโตรเจนเดิมทำให้ได้ผลผลิตสูงสุด 1.10 ± 0.08 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ แอมโมเนียมซัลเฟต สารสกัดเนื้อ และน้ำแช่ข้าวโพด ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.89 ± 0.04 0.67 ± 0.13 0.52 ± 0.11 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.16 และ รูปที่ 4.13 สำหรับเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 สามารถใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.15 ± 0.16 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือ แอมโมเนียมซัลเฟต น้ำแช่ข้าวโพด และสารสกัดเนื้อ ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.92 ± 0.11 0.59 ± 0.04 และ 0.58 ± 0.03 ตามลำดับ ดังตารางที่ 4.8 และรูปที่ 4.5 ซึ่งจากการนำข้อมูลมาวิเคราะห์หางสถิติพบว่าการใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงที่สุดเหมือนกันทั้งสองเชื้อ และมีความแตกต่างกับการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่นที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สอดคล้องกับการทดลองของ Coban และ Biyik (2011) ได้ศึกษาผลกระทบของแหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่แตกต่างกันในการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter lovaniensis* HBB5 โดยเลือกใช้ยีสต์สกัด แอมโมเนียมซัลเฟต และคาเซอีนแทนแหล่งไนโตรเจนในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ HS พบว่าใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนให้ผลผลิตเซลลูโลสดีที่สุดที่ 0.04 กรัมต่อลิตร และในการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารสูตรน้ำทิ้งจากการผลิตเต้าหู้แผ่น โดยศึกษาแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด ในสภาวะเขย่า ได้แก่ เปปโตน ยีสต์สกัด น้ำแช่ข้าวโพด และแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่ายีสต์สกัดให้ผลผลิตเซลลูโลสได้ดีที่สุด เช่นเดียวกัน (กล่องเพชร และคณะ, 2547) ดังนั้นจึงนำยีสต์สกัดไปใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมขั้นต่อไป

ตารางที่ 4.16 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้แหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

แหล่งไนโตรเจน	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอช อาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
สารสกัดเนื้อ (Beef extract)	$0.67^{c(2)} \pm 0.13$	$4.33^{a} \pm 0.04$	$0.94^{c} \pm 0.03$
สารสกัดยีสต์ (Yeast extract)	$1.10^{a} \pm 0.08$	$4.31^{ab} \pm 0.08$	$1.03^{ab} \pm 0.07$
น้ำแช่ข้าวโพด (Corn steep liquor)	$0.52^{c} \pm 0.11$	$4.21^{bc} \pm 0.03$	$0.98^{ab} \pm 0.04$
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	$0.89^{b} \pm 0.04$	$4.18^{c} \pm 0.08$	$1.04^{a} \pm 0.04$

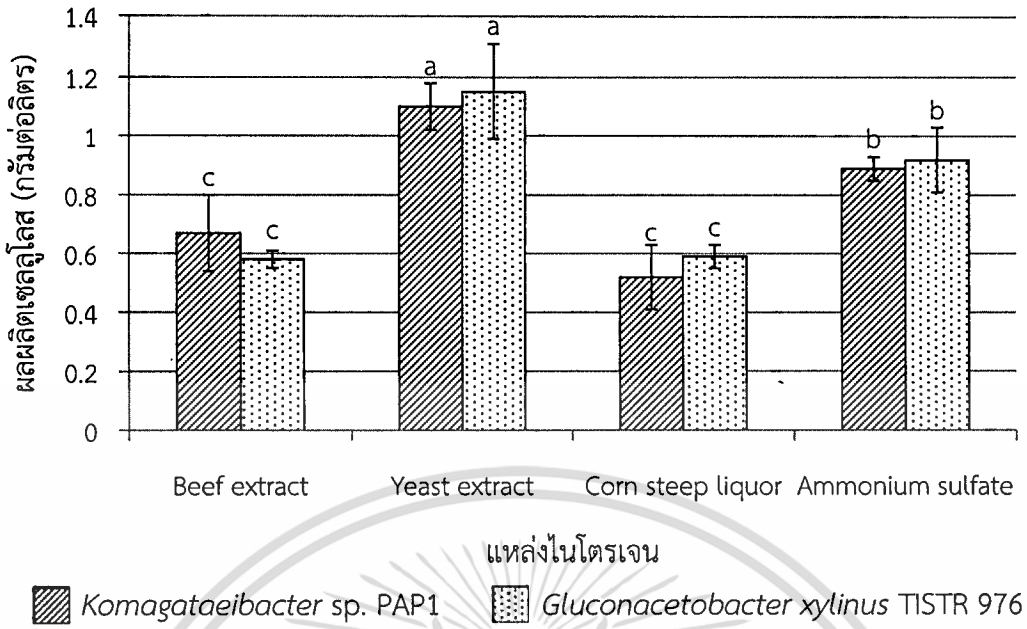
หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.17 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้แหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

แหล่งไนโตรเจน	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอช อาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
สารสกัดเนื้อ (Beef extract)	$0.58^{c(2)} \pm 0.03$	$4.20^{b} \pm 0.03$	$1.04^{ab} \pm 0.04$
สารสกัดยีสต์ (Yeast extract)	$1.15^{a} \pm 0.16$	$4.34^{a} \pm 0.12$	$0.97^{b} \pm 0.04$
น้ำแช่ข้าวโพด (Corn steep liquor)	$0.59^{c} \pm 0.04$	$4.12^{b} \pm 0.01$	$1.07^{a} \pm 0.03$
แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$)	$0.92^{b} \pm 0.11$	$4.19^{b} \pm 0.08$	$1.04^{ab} \pm 0.07$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.13 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้แหล่งไนโตรเจนแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4.5.5 ความเข้มข้นของเอทานอล

เตรียมอาหารหมักสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีน เติมส่วนประกอบดังนี้ น้ำตาลซูโครสร้อยละ 5.0 ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 ซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 4.1.4 อะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 และศึกษาความเข้มข้นของเอทานอลร้อยละ 95 ที่ความเข้มข้นดังนี้ ร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 ปรับพีเอชเริ่มต้น 5.0 ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 ในอาหารหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.30 ± 0.17 กรัมต่อลิตร ขณะที่การเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.85 ± 0.08 0.61 ± 0.05 และ 0.41 ± 0.06 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.18 และรูปที่ 4.14 สำหรับการหมักเซลลูโลสโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดเช่นกันที่ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ขณะที่ความเข้มข้นเอทานอลร้อยละ 1.0 1.5 และ 2.0 ให้ผลผลิตเซลลูโลส 0.95 ± 0.10 0.87 ± 0.12 0.59 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.10 และ รูปที่ 4.6 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าการเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Zeng และคณะ (2011) ได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียจากน้ำเชื่อมเมเปิ้ลโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* BPR 2001 ซึ่งพบว่าปริมาณเอทานอลที่เหมาะสมใช้ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร ซึ่งการเติมเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มากเกินไปจะส่งผลให้มีปริมาณอะซิเตรทในอาหารเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณเซลล์ในระยะ Stationary phase ลดลง ส่งผลให้การผลิตเซลลูโลสลดลงด้วย (Naritomi และคณะ, 1998)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ)	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอชอาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
0.5	$1.30^{a(2)} \pm 0.17$	$4.67^{a} \pm 0.07$	$0.61^{d} \pm 0.06$
1.0	$0.85^{b} \pm 0.08$	$4.35^{b} \pm 0.02$	$1.05^{c} \pm 0.01$
1.5	$0.61^{c} \pm 0.05$	$4.21^{c} \pm 0.03$	$1.42^{a} \pm 0.06$
2.0	$0.41^{c} \pm 0.06$	$4.14^{c} \pm 0.02$	$1.07^{b} \pm 0.06$

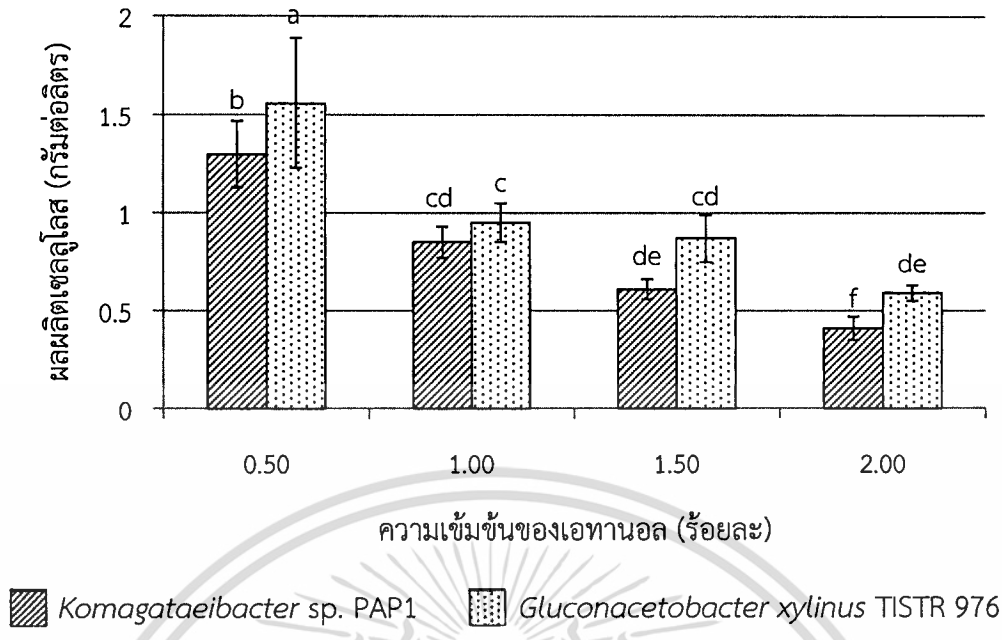
หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตารางที่ 4.19 ผลผลิตเซลลูโลส พีเอชของอาหารหมัก และปริมาณกรดอะซิติก ที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลแตกต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ความเข้มข้นของเอทานอล (ร้อยละ)	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)	พีเอชอาหารหมัก[(1)]	ปริมาณกรดอะซิติก[(1)] (ร้อยละ)
0.5	$1.56^{a(2)} \pm 0.33$	$4.66^{a} \pm 0.04$	$0.63^{d} \pm 0.04$
1.0	$0.95^{b} \pm 0.10$	$4.44^{b} \pm 0.02$	$0.98^{c} \pm 0.11$
1.5	$0.87^{b} \pm 0.12$	$4.33^{c} \pm 0.04$	$1.20^{b} \pm 0.04$
2.0	$0.59^{b} \pm 0.04$	$4.18^{d} \pm 0.03$	$1.67^{a} \pm 0.08$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 ผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการหมักโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ใช้ความเข้มข้นของเอทานอลที่ต่างกัน หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

4.6 เปรียบเทียบผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 หมักในสภาวะที่เหมาะสม

หลังจากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 พบว่าเชื้อทั้งสองสายพันธุ์สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดในสภาวะเดียวกันคือ ใช้แหล่งคาร์บอนเป็นซูโครส ใช้แหล่งไนโตรเจนเป็นยีสต์สกัด (Yeast extract) พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก 5.0 และเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที นำผลผลิตเซลลูโลสที่ได้มาเปรียบเทียบโดยวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตเซลลูโลสแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงดังตารางที่ 4.20 และ รูปที่ 4.15

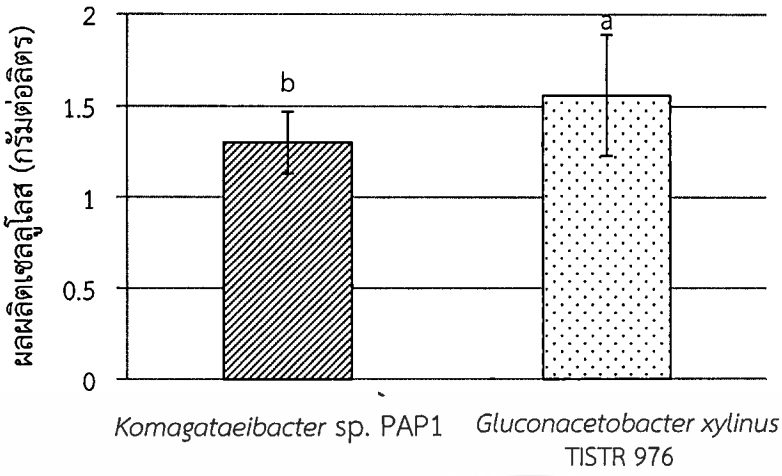
ตารางที่ 4.20 ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะที่เหมาะสม

สายพันธุ์ของแบคทีเรีย	ผลผลิตเซลลูโลส[(1)] (กรัมต่อลิตร)
Komagataeibacter sp. PAP1	$1.30^{b(2)} \pm 0.17$
Gluconacetobacter xylinus TISTR 976	$1.56^{a} \pm 0.33$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

(2) ค่าที่กำกับด้วยตัวอักษรต่างกันในแถวแนวตั้ง แสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.15 ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 หมักในสภาวะที่เหมาะสม

4.7 ผลการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะที่เหมาะสมในการหมัก

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่มีการหมักในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้นคือ ปรับพีเอชเริ่มต้นอาหารเลี้ยงเชื้อเป็น 5.0 ใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอน ใช้ยีสต์สกัด(Yeast extract) เป็นแหล่งไนโตรเจน และเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร หมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน เก็บตัวอย่างทุก 2 วัน พบว่า ในวันที่ 0 เมื่อเติมหัวเชื้อลงไปในอาหารหมักทำให้ค่าพีเอชของอาหารหมักลดลงเล็กน้อย เนื่องจากสารละลายหัวเชื้อที่เติมลงไปมีพีเอช อยู่ในช่วงประมาณ 4.0-4.2 จึงส่งผลให้พีเอชของอาหารหมักลดลง หลังจากนั้นเมื่อทำการหมักพบว่าพีเอชของอาหารหมักลดลงตลอดระยะเวลาการหมักโดยมีแนวโน้มไปในทางเดียวกันทั้งสองเชื้อ เนื่องจากในการเจริญของเชื้อเหล่านี้จะมีการผลิตเซลลูโลสโดยใช้น้ำตาลที่มีในอาหารเลี้ยงเชื้อ และเกิดกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ โดยเฉพาะกรดอะซิติก ทำให้น้ำหมักมีค่าพีเอชลดลง หลังจากนั้นระยะสุดท้ายของการหมักค่าพีเอชของอาหารหมักอาจมีค่าเพิ่มขึ้นเนื่องมาจากเชื้อใช้สารกลูโคเนตที่เป็นผลพลอยได้จากการหมัก (Jung และคณะ 2003) ซึ่งผลการทดลองสอดคล้องกับผลการทดลองของ Pourramezan และคณะ (2009) ซึ่งได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้เชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 ในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 10 วัน พบว่าค่าพีเอชของอาหารหมักมีการลดลงอย่างช้าๆ ตลอดระยะเวลาการหมัก หลังจากนั้นในช่วงสุดท้ายของการหมักพบว่าพีเอชมีค่าเพิ่มขึ้นจากเดิม

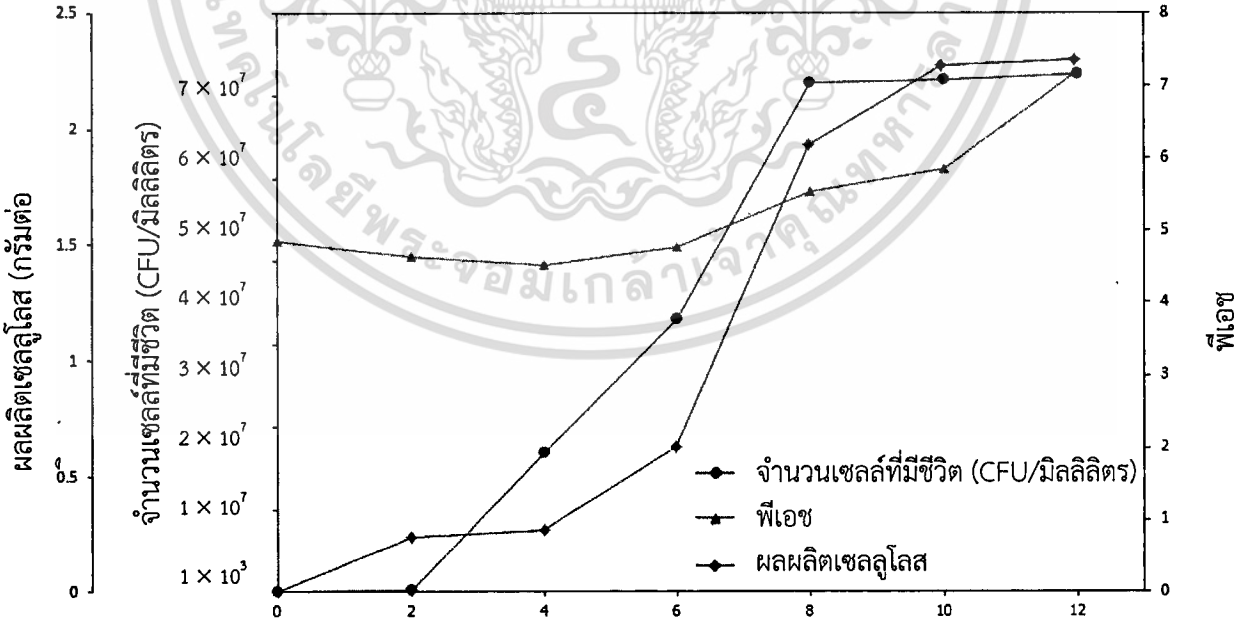
สำหรับผลผลิตเซลลูโลสในการหมักของทั้งสองเชื้อ พบว่าเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ผลผลิตเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 4-8 วันของการหมัก ส่วนเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ผลผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2-8 วัน วันสุดท้ายของการหมักเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 2.30 และ 2.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าในช่วงแรกปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2-8 วันแรก หลังจากนั้นปริมาณเซลล์ค่อนข้างคงที่โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 มีปริมาณเซลล์สูงสุด 6.27 ×

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10^7 CFU/มิลลิลิตร แสดงดังตารางที่ 4.21 และรูปที่ 4.16 และเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 มีปริมาณเซลล์สูงสุด 6.43 × 10^7 CFU/มิลลิลิตร แสดงดังตารางที่ 4.22 และรูปที่ 4.17 สอดคล้องกับการทดลองของอมรรัตน์ (2557) ที่ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร HS จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและผลผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นค่อนข้างช้าใน 2 วันแรก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วระหว่างวันที่ 3-7 หลังจาก 7 วัน เป็นต้นไปเชื้อเริ่มเข้าสู่ Stationary phase และ ปริมาณเซลลูโลสมีการผลิตลดลง

ตารางที่ 4.21 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

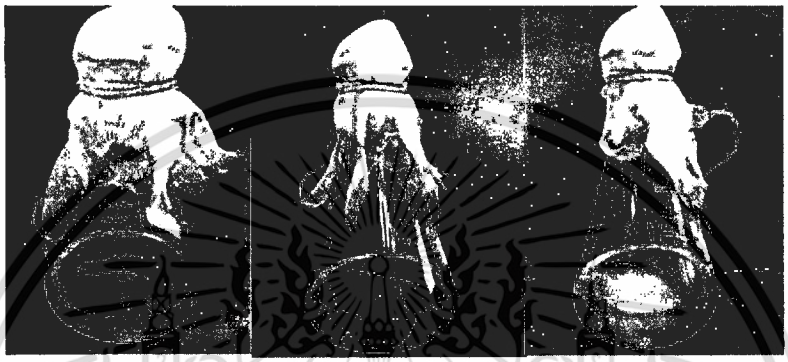
ระยะเวลาการหมัก (วัน)	พีเอชของอาหารหมัก	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (CFU/มิลลิลิตร)
0	4.85	0	8.45×10^3
2	4.63	0.24	2.05×10^5
4	4.51	0.27	1.69×10^7
6	4.77	0.63	3.30×10^7
8	5.54	1.93	6.17×10^7
10	5.84	2.28	6.20×10^7
12	7.20	2.30	6.27×10^7



รูปที่ 4.16 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วันที่ 2 วันที่ 4 วันที่ 6



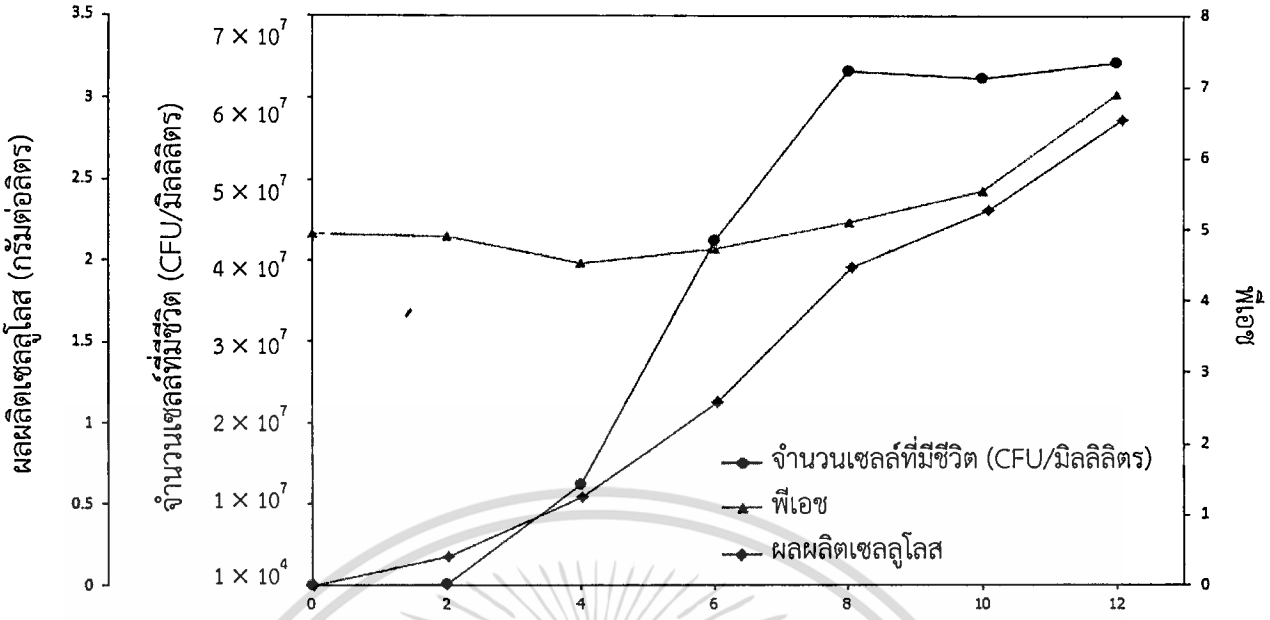
วันที่ 8 วันที่ 10 วันที่ 12

รูปที่ 4.17 ลักษณะของเซลลูโลสที่ได้จากการหมักของเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เป็นเวลา 12 วัน

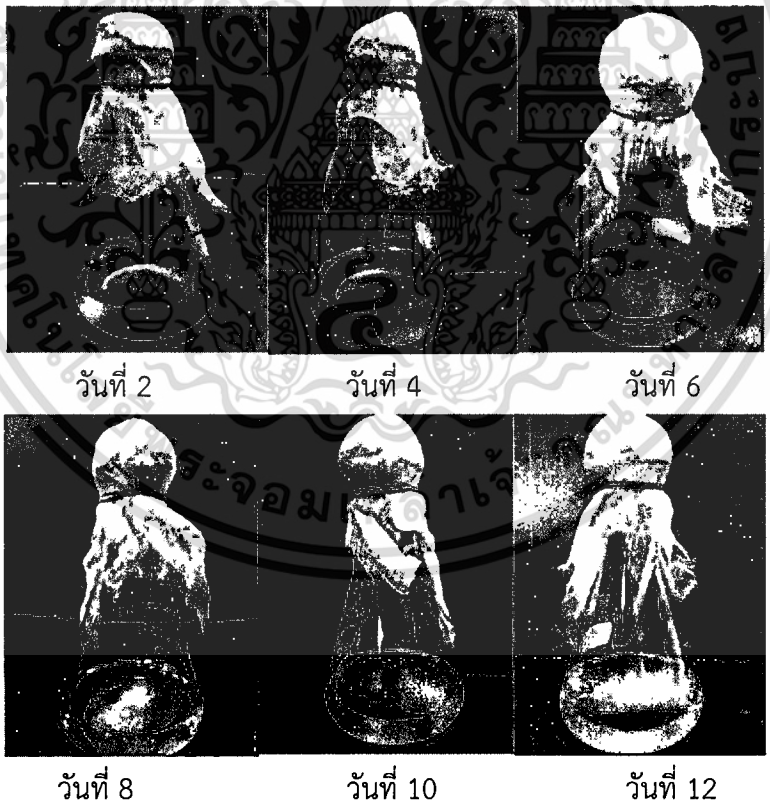
ตารางที่ 4.22 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักของเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	พีเอชของอาหารหมัก	ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (CFU/มิลลิลิตร)
0	4.94	0	2.11×10^4
2	4.90	0.18	1.58×10^5
4	4.53	0.55	1.25×10^7
6	4.73	1.13	4.23×10^7
8	5.10	1.96	6.32×10^7
10	5.54	2.31	6.23×10^7
12	6.89	2.86	6.43×10^7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.18 ค่าพีเอชของอาหารหมัก ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในการหมักของเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม ใช้ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน



รูปที่ 4.19 ลักษณะของเซลลูโลสที่ได้จากการหมักของเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เป็นเวลา 12 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8 ศึกษาสมบัติของกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม

เมื่อนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสมและจากการหมักในอาหารมาตรฐาน HS มาทำการแช่ในสารละลายแอมโมเนียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 ข้ามคืน จากนั้นนำไปต้มด้วยน้ำเดือด 30 นาที ทำการอัดรีดน้ำ แล้วนำไปต้มด้วยสารละลายไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ร้อยละ 1.0 นาน 30 นาที นำไปอัดรีดน้ำ และอบให้แห้งที่ 60-65 องศาเซลเซียส นาน 3-5 ชั่วโมง นำกระดาษที่ได้ไปศึกษาสมบัติของกระดาษดังนี้

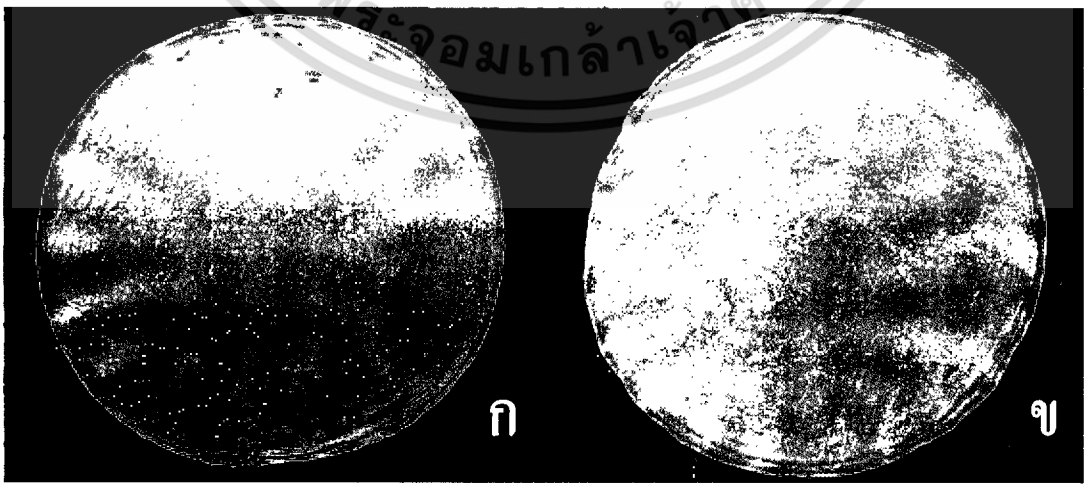
4.8.1 สมบัติเชิงกลของกระดาษจากเซลลูโลส

เมื่อนำกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสม และที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรมาตรฐาน HS มาศึกษาสมบัติเชิงกลของกระดาษพบว่า กระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกหมักในสภาวะที่เหมาะสม จะมีค่าแรงดึง (Tensile Strength) 302 นิวตัน/มม^2 ค่าการยืด ณ จุดขาด 12 เปอร์เซ็นต์ ค่ามอดูลัสของยังส์ 2834 นิวตัน/มม^2 ซึ่งสูงกว่ากระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารมาตรฐาน HS ที่มีค่าแรงดึง (Tensile Strength) 213 นิวตัน/มม^2 ค่าการยืด ณ จุดขาด 8 เปอร์เซ็นต์ ค่ามอดูลัสของยังส์ 2468 นิวตัน/มม^2 ดังตารางที่ 4.23

ตารางที่ 4.23 ค่าแรงดึง ค่าการยืด ณ จุดขาด และค่ามอดูลัสของยังส์ ของกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากสูตรอาหารที่คัดเลือก หมักในสภาวะที่เหมาะสม และกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารสูตรมาตรฐาน HS

ชนิดกระดาษ	ค่าแรงดึง (Tensile strength) (นิวตัน/มม^2)	ค่าการยืด ณ จุดขาด (ร้อยละ)	ค่ามอดูลัสของยังส์ (นิวตัน/มม2)
กระดาษจากการใช้สูตรอาหารที่คัดเลือก หมักในสภาวะที่เหมาะสม	302$^{(1)}$	12$^{(1)}$	2834$^{(1)}$
กระดาษจากการหมักในอาหาร มาตรฐาน HS	213$^{(1)}$	8$^{(1)}$	2468$^{(1)}$

หมายเหตุ (1) ค่าเฉลี่ยของตัวอย่างจำนวน 5 ตัวอย่าง

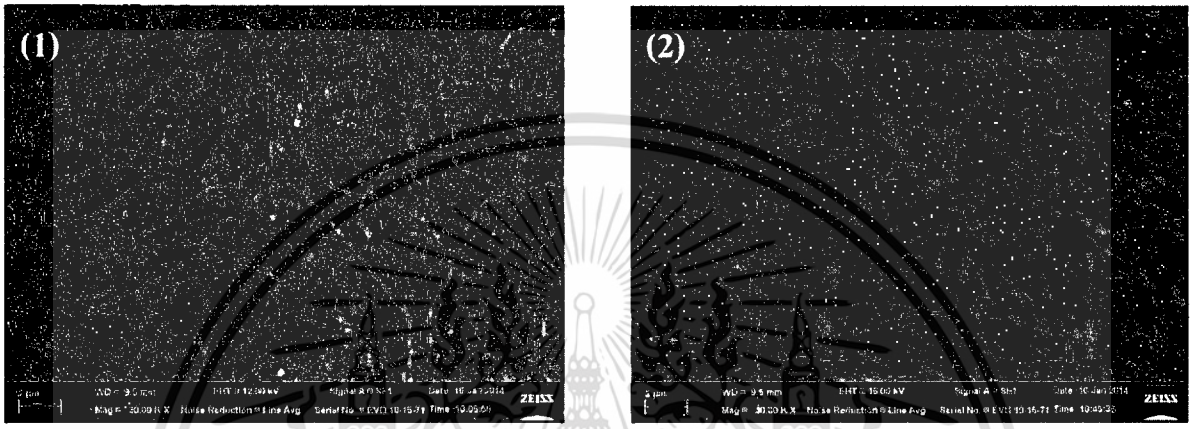


รูปที่ 4.20 ลักษณะกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากอาหารหมัก ก. อาหารสูตรที่คัดเลือกหมักในสภาวะที่เหมาะสม ข. อาหารสูตรมาตรฐาน HS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.8.2 ศึกษาลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเซลลูโลสในแผ่นกระดาษเซลลูโลส

นำกระดาษที่ได้จากสูตรอาหารที่คัดเลือกหมักในสภาวะที่เหมาะสมและกระดาษจากอาหารสูตรมาตรฐาน HS ศึกษาลักษณะโครงสร้างของเส้นใยเซลลูโลสโดยใช้เครื่อง Scanning electron microscope (SEM) ที่กำลังขยาย 30,000 เท่า พบว่ากระดาษที่ได้จากสูตรอาหารที่คัดเลือก หมักในสภาวะที่เหมาะสม มีลักษณะเส้นใยเซลลูโลสขนาดเล็ก มีการจัดเรียงของเส้นใยอย่างแน่นหนากว่ากระดาษที่ได้จากอาหารสูตรมาตรฐาน HS ดังแสดงในรูปที่ 4.21



รูปที่ 4.21 ลักษณะเส้นใยเซลลูโลสโดยเครื่อง Scanning electron microscope (SEM) (1) กระดาษที่ได้จากสูตรอาหารมาตรฐาน HS (2) กระดาษที่ได้จากสูตรอาหารที่คัดเลือกหมักในสภาวะที่เหมาะสม

4.9 ศึกษาองค์ประกอบของน้ำต้มเส้นขนมจีน

นำน้ำต้มเส้นขนมจีนซึ่งเป็นน้ำเสียจากโรงงานผลิตเส้นขนมจีน และเป็นน้ำเสียที่ถูกคัดเลือกมาใช้ตลอดการทดลอง การศึกษาองค์ประกอบของน้ำต้มเส้นขนมจีนนั้น ทำโดยนำน้ำต้มเส้นขนมจีนมากรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นส่งตัวอย่างไปตรวจวิเคราะห์ ณ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ พบว่า น้ำต้มเส้นขนมจีนมีค่าความชื้นร้อยละ 98.56 (AOAC 925.45, 2008) มีโปรตีนร้อยละ 0.10 (AOAC 992.23, 2005) ไขมันร้อยละ 0.02 (AOAC 989.05, 2005) ปริมาณเถ้าร้อยละ 0.21 (AOAC 938.08, 2005) ใยอาหาร 0.00 (AOAC 978.10, 2005) ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมดร้อยละ 1.11 (AOAC, 2005) ปริมาณพลังงานทั้งหมด 5.02 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม (AOAC, 2005) พลังงานจากไขมัน 0.18 กิโลแคลอรีต่อ 100 กรัม (AOAC, 2005) แต่ทั้งนี้ไม่พบน้ำตาลมอลโตส (AOAC 982.14, 2006) แสดงดังตารางที่ 4.10 ซึ่งจะเห็นได้ว่าน้ำต้มเส้นขนมจีนมีสารอาหารประเภทคาร์โบไฮเดรต โปรตีน ไขมัน เพียงพอต่อการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจาก *Komagataeibacter* sp. PAP1 จึงสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเซลลูโลสได้ เมื่อมีการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อชนิดนี้โดยใช้น้ำต้มเส้นขนมจีนเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.24 องค์ประกอบของน้ำต้มเส้นขนมจีน

องค์ประกอบ	ปริมาณ
ความชื้น	ร้อยละ 98.56
โปรตีน	ร้อยละ 0.10
ไขมัน	ร้อยละ 0.02
เถ้า	ร้อยละ 0.21
ปริมาณคาร์โบไฮเดรตทั้งหมด	ร้อยละ 1.11
ปริมาณพลังงานทั้งหมด	5.02 Kcal/100 g
ใยอาหาร	ร้อยละ 0.00
มอลโตส	ไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมีอยู่ 2 ส่วน คือน้ำซาวข้าว และน้ำต้มเส้นขนมจีน มาผสมกับส่วนประกอบของอาหารสูตร HS และสูตรน้ำมะพร้าว รวมทั้งใช้น้ำทิ้งเพียงอย่างเดียวมาศึกษาศักยภาพการนำน้ำทิ้งมาใช้ในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย โดยเชื้อ *Gluconacetobacter nataicola* PAP1 ซึ่งน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 น้ำซาวข้าวที่เติมส่วนประกอบของอาหาร HS และเติมเอทานอลร้อยละ 1 ให้ผลผลิตสูงสุด 5.59 ± 0.49 และ 4.54 ± 0.41 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ และได้เลือกอาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 มาใช้ในการศึกษาต่อไป

นำสูตรอาหารน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวและเอทานอลร้อยละ 1 มาศึกษาสภาวะที่เหมาะสม ทำการศึกษาทีละปัจจัย โดยเปลี่ยนแหล่งคาร์บอนจากน้ำตาลทรายเป็นน้ำตาลชนิดอื่น น้ำตาลแมนนิทอลให้ผลผลิตสูงสุด 5.71 ± 1.48 กรัมต่อลิตร แหล่งไนโตรเจนจากแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นสารสกัดเนื้อ ให้ผลผลิต 8.38 ± 0.53 กรัมต่อลิตร ปริมาณเอทานอลจากเดิมที่เติมลงในอาหารร้อยละ 1 เมื่อได้สภาวะที่เหมาะสมแล้วปรับเป็นเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 ซึ่งได้ผลผลิต 6.70 ± 3.74 กรัมต่อลิตร และค่าพีเอชของอาหารหมักจาก 6.0 เปลี่ยนเป็น 7.0 ได้ผลผลิต 7.15 ± 1.28 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้นทำการหมักเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนที่เติมส่วนประกอบของอาหารสูตรน้ำมะพร้าวที่เติมเอทานอลร้อยละ 1 ที่ใช้สภาวะที่เหมาะสมเปรียบเทียบกับสูตรอาหารก่อนใช้สภาวะที่เหมาะสม พบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้สภาวะที่เหมาะสมให้ผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย 9.72 ± 0.04 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่า 1.76 เท่า ของอาหารสูตรก่อนใช้สภาวะที่เหมาะสมที่ได้ปริมาณผลผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย 5.53 ± 0.03 กรัมต่อลิตร

จากการศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในสูตรอาหารที่คัดเลือกและใช้สภาวะที่เหมาะสมในการหมักเป็นเวลา 10 วัน พบว่า ในช่วงวันที่ 1 – 7 ผลผลิตเซลลูโลสมีการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ภายหลังวันที่ 7 ผลผลิตเซลลูโลสมีอัตราการเพิ่มลดลงและปริมาณเซลล์คงที่ ค่าพีเอชลดลงอย่างช้าๆ และลดต่ำสุดในวันที่ 7 หลังจากนั้นค่าพีเอชมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย ผลการหมักเซลลูโลสในอาหารสูตรที่คัดเลือกในสภาวะที่เหมาะสมและการหมักในสูตรอาหารมาตรฐาน HS พบว่าอาหารที่คัดเลือกและใช้สภาวะที่เหมาะสมให้ผลผลิตเซลลูโลส 11.76 ± 0.34 กรัมต่อลิตร ซึ่งสูงกว่าการหมักในอาหารสูตรมาตรฐาน HS 4.40 เท่า

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากน้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีน นำมาคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลส โดยมีปัจจัยต่างๆ ดังนี้ ความเร็วรอบ พีเอชเริ่มต้นของอาหารหมัก แหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน และความเข้มข้นของเอทานอล โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ คือ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมและคัดเลือกปัจจัยที่ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด เพื่อนำไปศึกษาสภาวะที่เหมาะสมขั้นต่อไป พบว่าความเร็วรอบที่ 200 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด ซึ่งเชื้อแบคทีเรีย *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิต 0.94 ± 0.08 และ 1.00 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปรับพีเอชเริ่มต้นของอาหารหมักจาก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.0 เป็น 5.0 พบว่าทั้งสองเชื้อให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด โดย *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตเป็น 1.08 ± 0.05 และ 1.14 ± 0.02 ตามลำดับ ใช้แหล่งคาร์บอนด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ พบว่าซูโครสให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดโดยกระบวนการหมักด้วย *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิต 1.05 ± 0.04 และ 1.11 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สารสกัดยีสต์ (Yeast extract) ให้ผลผลิตสูงกว่าแหล่งไนโตรเจนอื่น โดยกระบวนการหมักด้วยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตสูงสุด 1.10 ± 0.08 และ 1.15 ± 0.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงกว่าที่ความเข้มข้นอื่น โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตสูงสุด 1.30 ± 0.17 และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

นำปัจจัยที่เหมาะสมมาทำการศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสโดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นซูโครส แหล่งไนโตรเจนเป็นสารสกัดยีสต์ (Yeast extract) ปรับพีเอชเริ่มต้นเป็น 5.0 เติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน ภายใต้สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที พบว่าเชื้อทั้ง 2 สายพันธุ์มีแนวโน้มไปในทางเดียวกันคือ มีการผลิตเซลลูโลสอย่างต่อเนื่องจนกระทั่งวันที่ 8 อัตราการเพิ่มของเซลลูโลสลดลง สัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงแรกและเริ่มคงที่ภายหลังวันที่ 8 ค่าพีเอชลดลงอย่างช้าๆ ในช่วงแรกของการหมัก หลังจากนั้นค่าพีเอชมีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย วันสุดท้ายของการหมัก (วันที่ 12) เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุด 2.30 กรัมต่อลิตร และเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 2.86 กรัมต่อลิตร

จากผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการศึกษาข้างต้นแสดงให้เห็นว่าน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมีศักยภาพนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียได้ และเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากมะละกอที่เน่าเสียในประเทศไทย (Suwanposri และคณะ, 2013) มีความสามารถในการผลิตเซลลูโลสได้ใกล้เคียงกับเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำต้มเส้นขนมจีนในสภาวะเขย่า ซึ่งเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 เป็นเชื้อที่นิยมใช้ในการผลิตเซลลูโลส ดังนั้น เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการศึกษาพัฒนาเพื่อให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงและเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

เมื่อนำกระดาษจากเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสมมาศึกษาสมบัติเชิงกลและลักษณะโครงสร้างของเส้นใย พบว่า มีความหนาแน่นของเส้นใยมากกว่ากระดาษที่ได้จากอาหารสูตรมาตรฐาน HS ส่งผลให้กระดาษจากการหมักในอาหารสูตรที่คัดเลือกที่ใช้สภาวะที่เหมาะสมมีความแข็งแรงสูงกว่าสูตรอาหารมาตรฐาน HS

จากผลผลิตเซลลูโลสที่ได้และคุณสมบัติของกระดาษที่ศึกษามาแสดงให้เห็นว่าน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมีศักยภาพ สามารถนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรียได้ และสามารถนำเซลลูโลสที่ได้จากการหมักมาผลิตกระดาษได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กลุ่มเทคโนโลยีการป้องกันมลพิษ สำนักเทคโนโลยีน้ำและการจัดการมลพิษโรงงาน. 2549. หลักปฏิบัติเทคโนโลยีการผลิตที่สะอาด (การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตและการป้องกันมลพิษ): อุตสาหกรรมรายสาขาแป้งขนมจีน. ม.ป.ท..

กันตพัฒน์ กสิบุตร กาญนา จุลวงษ์ พัชรียา อุตมา และวิมลมาศ มาสมบูรณ์. 2554. การผลิตแบคทีเรียในน้ำเสียสังเคราะห์และน้ำเสียจากโรงงานผลิตขนมจีน. ปริญญานิพนธ์ วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเคมีทรัพยากรสิ่งแวดล้อม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

กาญจนา พงษ์พิษณุ. 2539. การเพาะเลี้ยงสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ในน้ำทิ้งจากโรงงานขนมจีนในสภาพกลางแจ้ง.วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

จิรารัตน์ จิตรานุวัฒน์. 2556. การศึกษาสมบัติของแผ่นฟิลม์เซลลูโลสร่วมกับซิงค์ออกไซด์เพื่อเตรียมเป็นวัสดุปิดแผล. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ดวงใจ โอชัยกุล นวลพรรณ ณ ระนอง พิชพันธ์ พงษ์สกุล และสุภารัตน์ รักชลธี. 2553. ผลของไคโตซานต่อการผลิตกระดาษจากเซลลูโลสุแบคทีเรียและสมบัติที่ได้. สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

ทิวารัตน์ ชำนาญกูล ศุภัชญา คนสมบูรณ์ และสุพัตรา เจริญทรัพย์พานิช. 2549. การศึกษาสมบัติเชิงกลและฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์ของแผ่นฟิล์มปิดแผลจากแบคทีเรียเซลลูโลส. โครงงานพิเศษ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นิภาวรรณ ทิมา และนุชนาถ ศักดิ์เสริมศิริ. 2548. การผลิตแผ่นฟิล์มจากไคโตซานร่วมกับแบคทีเรียเซลลูโลส *Acetobacter xylinum* TISTR 976. โครงงานพิเศษ ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

พจนีย์ ทองทา. 2550. ประสิทธิภาพการจัดการของเสียจากโรงงานแป้งขนมจีนจังหวัดขอนแก่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาสาธารณสุขศาสตรบัณฑิต, มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

พิพัฒน์ พรหมโลก. 2555. การศึกษาระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งขนมจีน: กรณีศึกษาในเขตอำเภอวังหิน จังหวัดศรีสะเกษ. วิทยานิพนธ์ วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

ภูมิภักดิ์ พิทักษ์เขื่อนขันธ์ และสุรพล ภูมิพระบุ. 2545. คู่มือการทำธุรกิจขนมจีนสำหรับผู้ประกอบการรายย่อย. ม.ป.ท.. หน้า 50 - 53.

ลาวัณย์ ไกรเดช. 2549. ขนมจีน: อาหารไทย-ภูมิปัญญาพื้นบ้านกับเศรษฐกิจและอุตสาหกรรมไทย. หนังสือภูมิปัญญาพื้นบ้าน สืบสารวัฒนธรรม: ที่ระลึกงานส่งเสริมศิลปวัฒนธรรม ทบวงมหาวิทยาลัย ครั้งที่ 5. มหาวิทยาลัยวลัยลักษณ์. หน้า 84 - 86.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วรพจน์ รัตนพันธุ์. 2551. สภาวะการบำบัดน้ำเสียจากการผลิตเส้นขนมจีนโดยระบบแอนแอร์โรบิคคอนแทค. วิทยานิพนธ์ วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วิเชียร จารย์รัตน์. 2539. การเจริญเติบโตของสาหร่ายเกลียวทอง (*Spirulina platensis*) ที่เพาะเลี้ยงในน้ำทิ้งจากโรงงานผลิตเส้นก๋วยเตี๋ยวและเส้นขนมจีนผสมสารอินทรีย์บางชนิด. วิทยานิพนธ์ การศึกษามหาบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

สุกัญญา ศรีดี. 2553. การผลิตกระถางย่อยสลายได้จากเซลลูโลสแบคทีเรีย. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตรสิ่งแวดล้อม มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Ameyama, M., Ohtori, T. and Oikawa, T. 1995. Production of cellulose from D-mannitol by *Acetobacter xylinum* KU-1. Bioscience Biotechnology and Biochemistry. 59(2), 331-332.

Appaiah, K.A.A. and Rani, M.U. 2011. Optimization of culture conditions for bacterial Cellulose production from *Gluconacetobacter hansenii* UAC09. Annals of Microbiology. (61), 781-787.

Appaiah, K.A.A. and Rani, M.U. 2013. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* UAC09 using coffee cherry husk. Journal of Food and Technology. 50(4), 755–762.

Araragi, M. and Isizawa, S. 1974. Actinomycetes: The Boundary Microorganisms: Chromogenicity of Actinomycetes. Tokyo, Japan: Toppan Co..

Asakura, T., Toda, K. and Yoshino, T. 1996. Cellulose production by *Acetobacter pasteurianus* on silicone membrane. Journol of Fermentation and Bioengineering. (81), 32–36.

Bae, S., Sugano, Y. and Shoda, M. 2004. Improvement of bacterial cellulose production by addition of agar in a jar fermentor. Journal of Bioscience and Bioengineering. 1(97), 33 - 38.

Bajaj, S. B., Chawla, P. R., Rekha, S. S., and Survase, S. A. 2009. Microbial cellulose: Fermentative production and applications. Food Technology and Biotechnology. 47(2), 107–124.

Bellamy, W.D. 1974. Single cell proteins from cellulosic wastes. Biotechnology and Bioengineering. (16), 869–880.

Benziman, M., Mayer, R. and Ross, P. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. Microbiology and Molecular Biology Reviews. 55, 35-58.

Catchmark, J.M., Cheng, K.C. and Demirci, A. 2009. Enhanced production of bacterial cellulose by using a biofilm reactor and its material property analysis. Journal of Biological Engineering. 3(12), 1-10.

Cavka, A., Guo, X., Hong, F., Jonsson, L.J., Tang, S.J. and Winestrand, S. 2013. Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. Biotechnology for Biofuels. 6 (25), 1-10.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chang, H.N., Jung, J.Y., Park, J.K. 2005. Bacterial cellulose production by *Gluconoacetobacter hansenii* in an agitated culture without living non-cellulose producing cells. Enzyme Microbial Technology. (37), 347–354.

Cleenwerck, I., Dellaglio, F., Engelbeen, K., Felis, G.E., Marzotto, M. and Janssens, D. 2005. Description of *Gluconacetobacter swingsii* sp. nov. and *Gluconacetobacter rhaeticus* sp. nov., isolated from Italian apple fruit. International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology. (55), 2365-2370.

Corrtell, I.W. and Kang, K.S. 1979. Polysaccharide: Microbial Technology. New York: Academic Press.

Dean, K.M., Ruka, D.R. and Simon, G.P. 2012. Altering the growth conditions of *Gluconacetobacter xylinus* to maximize the yield of bacterial cellulose. Carbohydrate Polymers. (89), 613-622.

Doi, Y. and Steinbuchel, A. 2005. Biotechnology of Biopolymers: From Synthesis to Patents. Weinheim: Wiley-VCH.

Faria-Tischer, P.C.S., Goelzer, F.D.E., Sierakowsk, M.R., Tischer, C.A. and Vitorino, J.C. 2008. Production and characterization of nanospheres of bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* from processed rice bark. Materials Science and Engineering. (29), 546–551.

Gromet-Elhanan, Z. and Hestrin, S. 1963. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum* VI. Growth on citric acid-cycle intermediates. Journal of Bacteriology. (85), 284–292.

Gupta, A., Sharma, P.C. and Tilakratne, B.M.K.S. 2010. Utilization of wild apricot kernel press cake for extraction of protein isolate. Journal of Food Science and Technology. (47), 682–685.

Ha, J.W., Khan, T., Park, J.K., Shah, N. and Ul-Islam, M. 2011. Bacterial cellulose production from a single sugar α-linked glucuronic acid-based oligosaccharide. Process Biochemistry. (46), 1717-1723.

Heo, M.S., Kim, Y.G., Lee, S.J. and Son, H.J. 2000. Characteristics of cellulose production by *Acetobacter* sp. A9 in static culture. Korean Society for Biotechnology and Bioengineering Journol. (15), 573-577.

Heo, M.S., Kim, Y.G., Lee, S.J. and Son, H.J. 2001. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by a newly isolated *Acetobacter* sp. A9 in shaking cultures. Applied Biochemistry and Biotechnology. (33), 1-5.

Jahan, F., Kumar, V., Rawat, G. and Saxena, R.K. 2012. Production of microbial cellulose by a bacterium isolated from fruit. Applied Biochemistry and Biotechnology. (167), 1157-1171.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Jeong, J.H., Jung, H.I., Kim, K.K., Kim, Y.G., Lee, O.M., Lee, S.M., Park, G.T., Park, H.C. and Son, H.J. 2010. Influence of glycerol on production and structural-physical properties of cellulose from *Acetobacter* sp. V6 cultured in shake flasks. Bioresource Technology. 10(101), 3602-3608.

Jonas, R., and Farah, L.F. 1998. Production and application of microbial cellulose. Biodegradable Polymers and Macromolecules. (59). 101–106.

Jung, J.Y., Park, J.K. and Park, Y.H. 2003. Cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in a medium containing ethanol. Biotechnology Letters. (25), 2055–2059.

Jung, J.Y., Park, J.K. and Park, Y.H. 2003. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter hansenii* PJK isolated from rotten apple. Biotechnology and Bioprocess Engineering. (8), 83-88.

Kennedy, J.F., Phillips, G.O., Williams, P.A. 1989. Cellulose Structural and Functional Aspects. England: Ellis Horwood Limited.

Kouda, T., Naritomi, T., Yano, H. and Yoshinaga, F. 1998. Effect of ethanol on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. Journal of Fermentation and Bioengineering. 6(85), 598-603.

Liu, R-H. and Wu, J-M. 2012. Thin stillage supplementation greatly enhances bacterial cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus*. Carbohydrate Polymers. (90). 116-121.

Morinaga, Y., Tabuchi, M., Watanabe, K., and Yoshinaga, F. 1998. Structural features and properties of bacterial cellulose produced in agitated culture. Cellulose. 5, 187-200.

Nazeri, M.A. and Zakaria, J. 2012. Optimization of bacterial cellulose production from pineapple waste: Effect of temperature, pH and concentration. 5th Engineering Conference, Engineering Towards Change.

Ochaikul, D., Suwanposri, A., Yamada, Y. and Yukphan, P. 2013. Identification and biocellulose production of *Gluconacetobacter* strains isolated from tropical fruits in Thailand. Maejo International journal of science and technology. 7(01), 70-82.

Ochaikul, D., Suwanposri, A., Yamada, Y. and Yukphan, P. 2014. Statistical optimization of culture conditions for biocellulose production by *Komagataeibacter* sp. PAP1 using soya bean whey. Maejo International journal of science and technology. 8(01), 1-14.

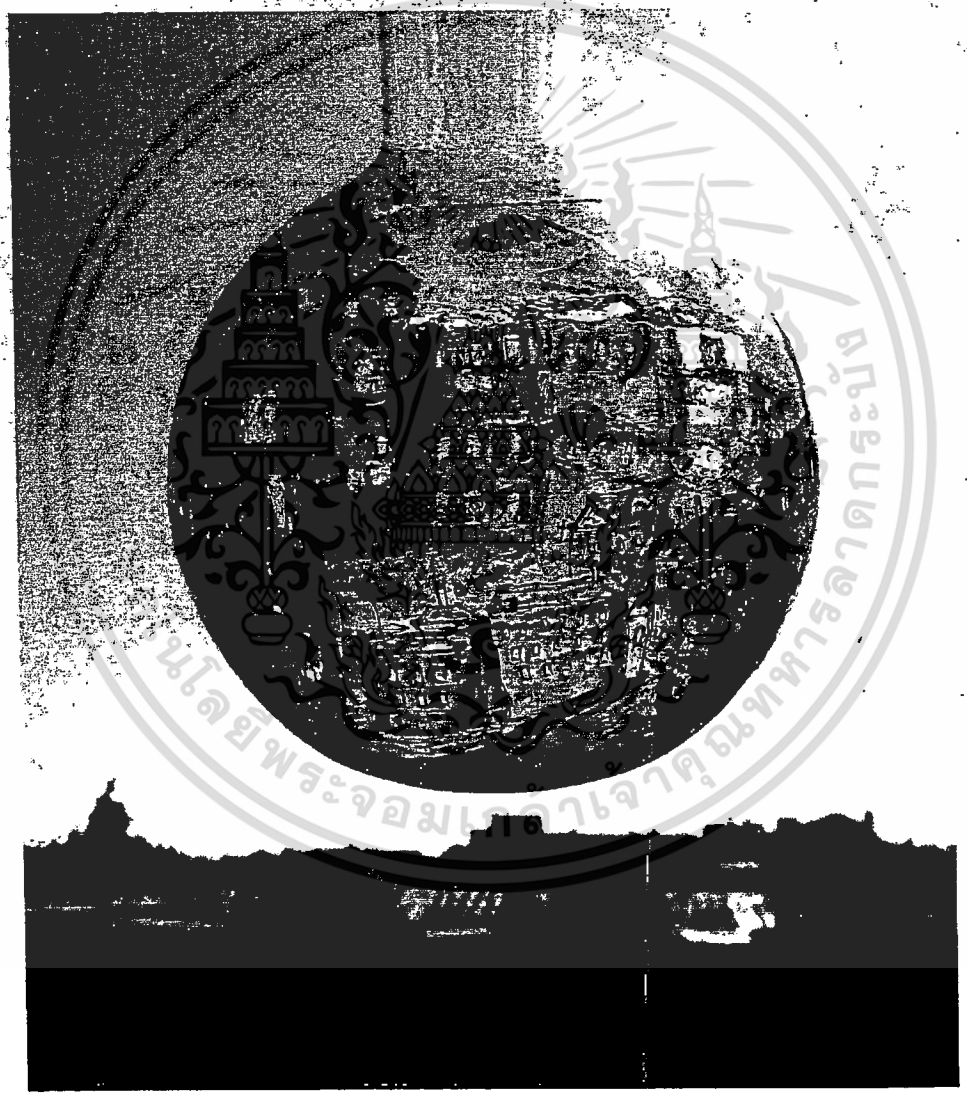
Pourramezan, G.Z., Roayaei, A.M. and Qezelbash, Q.R. 2009. Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. 4B-2. Biotechnology 8(1), 150-154.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE 14th INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOCONTROL AND BIOTECHNOLOGY

14th ISBB

November 6-9, 2016
Saint-Petersburg – Pushkin, Russia



Organized by
All-Russian Institute of Plant Protection

All-Russian Institute of Agricultural Microbiology
Harbin Institute of Technology (China)
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (Thailand)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

THE 14TH INTERNATIONAL SYMPOSIUM ON BIOCONTROL AND BIOTECHNOLOGY

Saint-Petersburg – Pushkin, Russia

November 6 -9, 2016

PROGRAM AND ABSTRACTS

organized by

All-Russian Institute of Plant Protection

All-Russian Institute of Agricultural Microbiology
Harbin Institute of Technology (China)
King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (Thailand)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Chairman:

Prof. Vladimir Pavlyushin,

Director of All-Russian Institute of Plant Protection, Russia

Program Committee

Prof. Yang Qian,

School of Life Science and Technology, Harbin Institute of Technology,

President of Heilongjiang Society for Microbiology, P.R. China

Prof. Vladimir Pavlyushin,

Director of All-Russian Institute of Plant Protection, Russia

Prof. Igor Tikhonovich,

Director of Institute of Agricultural Microbiology, Russia

Assoc. Prof. Dr. Dusanee Thanaboripat,

Dean of Faculty of Science, KMITL, Thailand

Prof. Vladimir Nadykta,

Director of All-Russian Research Institute of Biological Plant Protection, Russia

Dr. Alexander Berestetskiy,

Head of Research Department of Phytotoxicology and Biotechnology, All-Russian Institute of Plant Protection, Russia

Local Organizing Committee

Prof. Vladimir Pavlyushin, Director of All-Russian Institute of Plant Protection, Russia

Dr. Alexander Berestetskiy, Head of Research Department of Phytotoxicology and Biotechnology, All-Russian Institute of Plant Protection, Russia

Dr. Ekaterina Poluektova, junior researcher

Ms. Anna Dalinova, junior researcher

Dr. Sofia Sokornova, senior researcher

Dr. Georgy Lednev, leading researcher

Dr. Igor Belousov, leading researcher

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Optimization of Bacterial Cellulose Production from Wastewater of Noodles Processing by *Komagataeibacter* sp. PAP1

Duangjai Ochaikul* and Tanyarat Akepatcha

Department of Bilogy, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Chalongkrung Rd. Ladkrabang Bangkok, 10520, Thailand

Abstract

Bacterial cellulose (BC) production from Noodle Wastewater (NW) was fermented by *Komagataeibacter* sp. PAP1. In order to increase BC production, NW – based medium was prepared and optimized for the cultivation of this bacteria. The optimized NW - based medium was composed of 5% (w/v) mannitol, 0.1% (w/v) beef extract, 0.5% (v/v) ethanol, 1% (v/v) acetic acid, pH 7.0 and incubated at 30°C for 7 days. Under these conditions, BC yield was 11.76 $\pm$ 0.34 g/L (4.40 fold) higher than in standard HS medium. The study on growth and BC production by *Komagataeibacter* sp. PAP1 fermented in optimized culture condition. This result showed that BC production by *Komagataeibacter* sp. PAP1 was growth – associated. Our results demonstrate that NW can be used as an alternative low – cost substrate for BC production.

Keywords : bacterial cellulose, Noodle Wastewater, optimization, *Komagataeibacter* sp. PAP1

*Corresponding author: E-mail address: daungjai.oc@kmitl.ac.th

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสจากน้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีน ด้วย *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะเขย่า

Optimization of Bacterial Cellulose from Wastewater of Noodle Process by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 in Shaking Culture

ดวงใจ โอชัยกุล[1*] วรัญญา บินอานัด[1] และ พรภัสสร มูลสูงเนิน[1]

Duangjai Ochaikul[1*], Waranya Binarnat[1] and Pronpatsorn Moonsongnoen[1]

บทคัดย่อ

เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่ผลิตจาก *Acetobacter xylinum* มีความแข็งแรงเชิงกล มีความบริสุทธิ์และความสามารถในการดูดซับสูง งานวิจัยนี้ใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนเป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในสภาวะเขย่า โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 สภาวะที่เหมาะสม คือ ใช้น้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีนเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จากการเพาะเลี้ยงในสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *G. xylinus* TISTR 976 สามารถผลิตเซลลูโลส 1.30 ± 0.17 กรัมต่อลิตร และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จุลินทรีย์ทั้งสองสายพันธุ์ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดในวันที่ 12 ของการหมักโดยมีผลผลิต 2.30 และ 2.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

ABSTRACT

Bacterial cellulose (BC) is a type of biopolymer produced by *Acetobacter xylinum* in good mechanical strength, high purity and high water holding capacity. In this research, noodle wastewater is used as the carbon sources for the synthesis of bacterial cellulose. The objective of this study is to investigate on optimization of culture conditions for BC production by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 in shaking culture. The results showed the optimized noodle wastewater-based medium was composed of 5 % (w/v) sucrose, 0.1 % (w/v) yeast extract, 0.5 % (v/v) ethanol and incubated at 200 rpm, 30 °C for 7 days. Under these conditions, BC yield was 1.30 ± 0.17 g/L and 1.56 ± 0.33 g/L, respectively. BC yield was fermented by *Komagataeibacter* sp. PAP1 and *G. xylinus* TISTR 976 were the highest of 2.30 g/L and 2.86 g/L, respectively. After 12 days of cultivation.

Key words: bacterial cellulose, Waste Water of Noodles, *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976, *Komagataeibacter* sp. PAP1

*Corresponding author ; e-mail address: daungjai.oc@kmitl.ac.th

[1]ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพฯ 10520

[1]Department of Biology, Faculty of Science, King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang, Bangkok, 10520

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย หรือวุ้นมะพร้าว หรือเห็ดรัสเซีย เป็นวัสดุที่มีโครงสร้างระดับนาโนผลิตโดยแบคทีเรียอะซิติกสายพันธุ์ต่างๆ เซลลูโลสจากแบคทีเรียก่อตัวขึ้นจากเส้นใยไมโครไฟบิล ซึ่งมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2-4 นาโนเมตร รวมตัวเป็นเส้นใยขนาดประมาณน้อยกว่า 100 นาโนเมตร (Cavka *et al.*, 2013) โดยจุลินทรีย์จะสร้างออกมาภายนอกเซลล์ (Nazeri, 2012) มีลักษณะสีขาวคล้ายหนัง ก่อตัวเป็นฝ้าที่ผิวหน้าอาหาร เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีโครงสร้างโมเลกุลเหมือนกับเซลลูโลสจากพืชแต่เซลลูโลสจากพืชเป็นเซลลูโลสที่มีความบริสุทธิ์ต่ำ อีกทั้งยังมีลิกนินและเฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบด้วย (Nazeri, 2012) เซลลูโลสจากแบคทีเรียมีคุณสมบัติที่เด่น คือ มีความแข็งแรงเชิงกล ความพรุน ความบริสุทธิ์ และความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าเซลลูโลสจากพืช จากคุณสมบัติเหล่านี้ทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นวัตถุดิบที่สำคัญที่สามารถนำไปประยุกต์ใช้งานในอุตสาหกรรมด้านต่างๆ เช่น แผ่นฟิล์มคาร์บอนที่นำไฟฟ้าได้ ผลิตภัณฑ์สำหรับผิวหนังเทียมและการรักษาเนื้อเยื่อ แผ่นกรอง อาหารปราศจากแคลอรี่ (Jeong *et al.*, 2010) นำไปใช้ในการเสริมเนื้อกระดาษเพื่อให้คุณภาพสูง ไดอะเฟรมสำหรับอุปกรณ์แปลงเสียง สารเติมแต่งสี สารเคลือบ เป็นตัวเสริมในแผ่นฟิล์มโปร่งแสงและเยื่อหุ้มเหนี่ยวนำโปรตอนของเซลล์พลังงาน เป็นต้น (Cavka *et al.*, 2013) แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิดในการผลิตเซลลูโลส (Faria-Tischer *et al.*, 2008) ความพยายามหาวัสดุทางเลือกที่มีต้นทุนต่ำและไม่ก่อให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม โดยใช้ของเหลือทิ้งทางการเกษตรหรือของเหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมเป็นสิ่งที่น่าสนใจในการศึกษานี้

กระบวนการผลิตขนมจีนมีการใช้น้ำเป็นจำนวนมาก ทำให้มีปริมาณน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตมากตามไปด้วย ซึ่งน้ำทิ้งมีองค์ประกอบต่างๆ มากมาย ส่วนใหญ่เป็นสารประกอบอินทรีย์ เช่น คาร์โบไฮเดรต จำพวกแป้งและน้ำตาล รวมทั้งโปรตีนและธาตุอาหาร เช่น ไนโตรเจน ฟอสฟอรัส น้ำเสียจะมีสภาพเป็นกรด ส่วนใหญ่อยู่ในรูปของแข็งที่ละลายน้ำได้และคอลลอยด์ และมีของแข็งแขวนลอยอยู่ไม่มากนัก จึงทำให้มีสารอินทรีย์ในรูปบีโอดี และซีโอดีปริมาณมาก หากปล่อยลงสู่แหล่งน้ำหรือสิ่งแวดล้อมโดยไม่มีการบำบัดคุณภาพน้ำ จะส่งผลต่อคุณภาพแหล่งน้ำและสิ่งแวดล้อม (พิพัฒน์, 2555)

งานวิจัยนี้ได้สนใจนำน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมาผลิตเซลลูโลสในสภาวะเขย่าโดยใช้เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่แยกได้จากมะละกอที่เน่าเสียในประเทศไทย (Suwanposri *et al.*, 2013) เปรียบเทียบกับ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูโลสสูง

อุปกรณ์และสารเคมี

1. การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

Komagataeibacter sp. PAP1 ซึ่งแยกได้จากมะละกอในประเทศไทย (Suwanposri *et al.*, 2013) และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย นำมาขีด(Streak)บนอาหารแข็งสูตร HS medium (ประกอบด้วย กลูโคสร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 สารสกัดยีสต์ร้อยละ 0.5 ไดโซเดียมฟอสเฟตร้อยละ 0.27 กรดซิตริกร้อยละ 0.12 และผงวุ้นร้อยละ 1.5) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ 2 ลูปลงในอาหารเหลว HS medium บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การเตรียมอาหารหมักและหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

น้ำทิ้งกระบวนการผลิตขนมจีน ได้มาจากส่วนของน้ำต้มเส้นขนมจีน ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากโรงงานทำขนมจีนที่นิคมอุตสาหกรรมขนมจีน จ.ฉะเชิงเทรา นำมากรองด้วยผ้าขาวบาง เพื่อกำจัดเศษตะกอนแป้งออก จากนั้นนำมาเตรียมอาหารหมัก ดังนี้ น้ำต้มเส้นขนมจีนที่มีการเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 และกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 1.0 เติมเอทานอลร้อยละ 1.0 ปรับพีเอชเป็น 6.0 โดยแบ่งอาหารหมัก 90 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ(autoclave)ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที จากนั้นเติมหัวเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 10 มิลลิลิตรลงในอาหารหมัก บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 7 วัน ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เก็บตัวอย่างวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส พีเอช และปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิติก สำหรับการหมักเซลลูโลสด้วยหัวเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ทำด้วยวิธีการเช่นเดียวกัน

3. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักเซลลูโลสโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976

3.1 ความเร็วรอบในการเขย่า

เตรียมอาหารหมักโดยนำน้ำต้มขนมจีนผสมส่วนประกอบดังสูตรข้างต้น ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอ(autoclave)ที่ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เติมหัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตร หมักที่ความเร็วรอบ 100 120 และ 200 รอบต่อนาที ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ผลเช่นเดียวกับข้อที่ 2 คัดเลือกความเร็วรอบในการเขย่าที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.2 แหล่งคาร์บอน

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีส่วนประกอบดังข้างต้น โดยแปรผันแหล่งคาร์บอนมีดังนี้ น้ำตาลกลูโคส แมนนิทอล น้ำตาลซูโครส(น้ำตาลทราย) ฟรุคโตส และกลีเซอรอล ความเข้มข้นร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อและเติมหัวเชื้อ บ่มที่ความเร็วรอบที่เหมาะสม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.3 แหล่งไนโตรเจน

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีส่วนประกอบดังข้างต้น โดยใช้แหล่งคาร์บอนที่เหมาะสม แปรผันแหล่งไนโตรเจนที่ศึกษามีดังนี้ ยีสต์สกัด (yeast extract) น้ำแช่ข้าวโพด (corn steep liquor) สารสกัดเนื้อ (beef extract) และแอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) ความเข้มข้นร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร)จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อและเติมหัวเชื้อ บ่มที่ในสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 ความเข้มข้นเอทานอล

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีส่วนประกอบดังข้างต้น โดยใช้แหล่งคาร์บอนและแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสม แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อ จากนั้นเติมหัวเชื้อและเติมเอทานอลความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0.5 1.0 1.5 และ 2.0 โดยปริมาตร บ่มในสภาวะความเร็วรอบที่เหมาะสม อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน คัดเลือกความเข้มข้นเอทานอลที่เหมาะสมที่ทำให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงมาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสจากเชื้อทั้งสองในสภาวะที่เหมาะสม

เตรียมอาหารหมักโดยใช้น้ำต้มขนมจีนที่มีแหล่งคาร์บอน แหล่งไนโตรเจน ความเข้มข้นเอทานอล ที่เหมาะสม นำไปนึ่งฆ่าเชื้อและเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตร บ่มที่ความเร็วรอบที่ได้จากการศึกษาในขั้นต้น ควบคุมอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 วัน โดยเก็บตัวอย่างทุก 2 วัน เพื่อวิเคราะห์ผลผลิตเซลลูโลส และจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต โดยวิธีการ spread plate technique

ผลและวิจารณ์

ผลการศึกษาความเร็วรอบในการเขย่า

เชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ที่บ่มในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 0.94 ± 0.08 และ 1.00 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตเซลลูโลสมีความแตกต่างจากการใช้สภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 และ 120 รอบต่อนาที อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 1) Mukataka *et al.* (1983) รายงานว่า เมื่อใช้ความเร็วรอบในช่วง 100-200 รอบต่อนาที อัตราการย่อยสับสเตรทเร็วและเปลี่ยนไปเป็นเซลลูโลสได้สูง แต่เมื่อเพิ่มความเร็วรอบมากกว่า 200 รอบต่อนาที พบว่าให้ผลผลิตเซลลูโลสลดลง

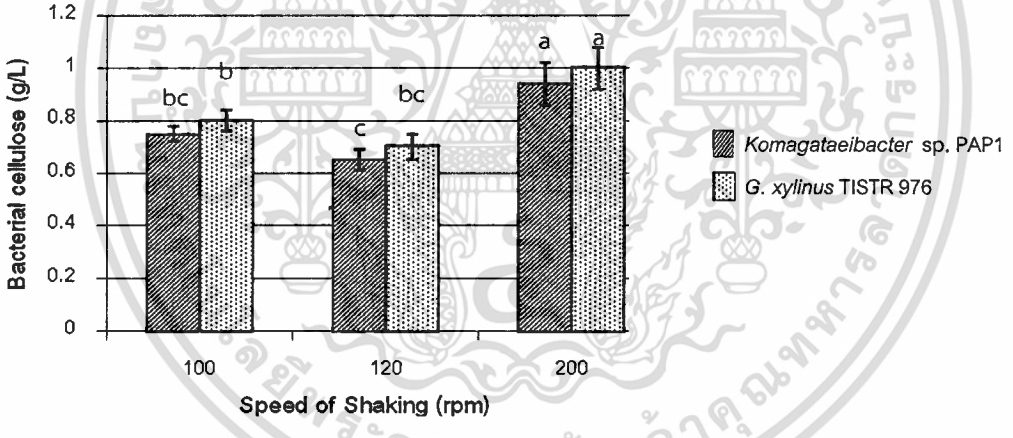


Figure 1 Effect of speed of shaking on bacterial cellulose production

ผลการศึกษาแหล่งคาร์บอน

การใช้ซูโครสเป็นแหล่งคาร์บอนในการหมักเซลลูโลสจากเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตสูงที่สุด 1.05 ± 0.04 และ 1.11 ± 0.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ มีความแตกต่างกันกับน้ำตาลชนิดอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 2) สอดคล้องกับการทดลองของ Pourramezan *et al.* (2009) ซึ่งได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Acetobacter* sp. 4B-2 ได้นำน้ำตาลหลายๆ ชนิดได้แก่ กลูโคส ซูโครส ไซโลส และแลกโตส มาใช้แทนแหล่งคาร์บอนในสูตรอาหาร HS พบว่าซูโครสให้ผลผลิตสูงสุด ตามด้วยกลูโคส ไซโลส และแลกโตส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

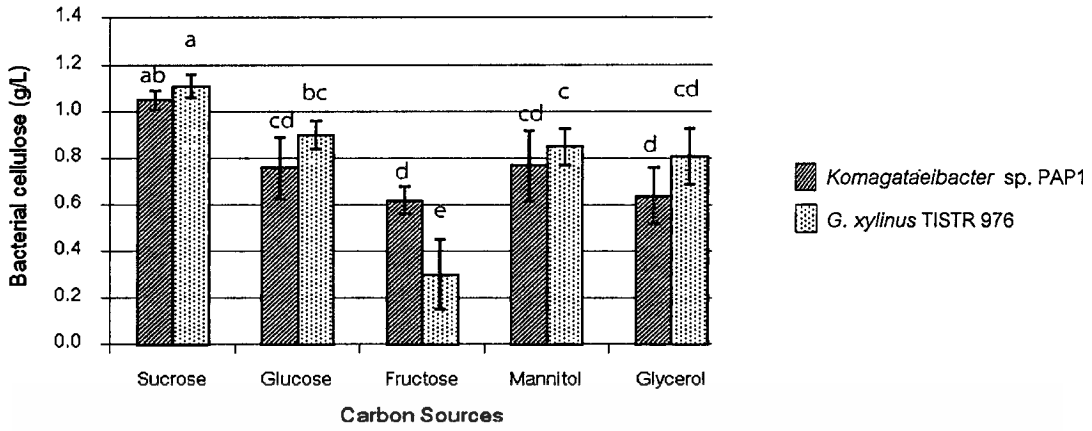


Figure 2 Effect of different carbon sources on bacterial cellulose production

ผลการศึกษาแหล่งไนโตรเจน

การใช้ยีสต์สกัดเป็นแหล่งไนโตรเจนในการหมักด้วยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ทำให้ได้ผลผลิตสูงสุด 1.10 ± 0.08 และ 1.15 ± 0.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกับการใช้แหล่งไนโตรเจนชนิดอื่นที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 3) อาจเนื่องมาจากยีสต์สกัดมีกรดอะมิโนชนิดต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อทั้งสอง ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของกล่องเพชร และคณะ (2547) ได้เลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำทิ้งจากการผลิตเต้าหู้แผ่น โดยศึกษาแหล่งไนโตรเจน 4 ชนิด ในสภาวะเขย่า ได้แก่ เปปโตน ยีสต์สกัด น้ำแช่ข้าวโพด และแอมโมเนียมซัลเฟต พบว่ายีสต์สกัดให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด

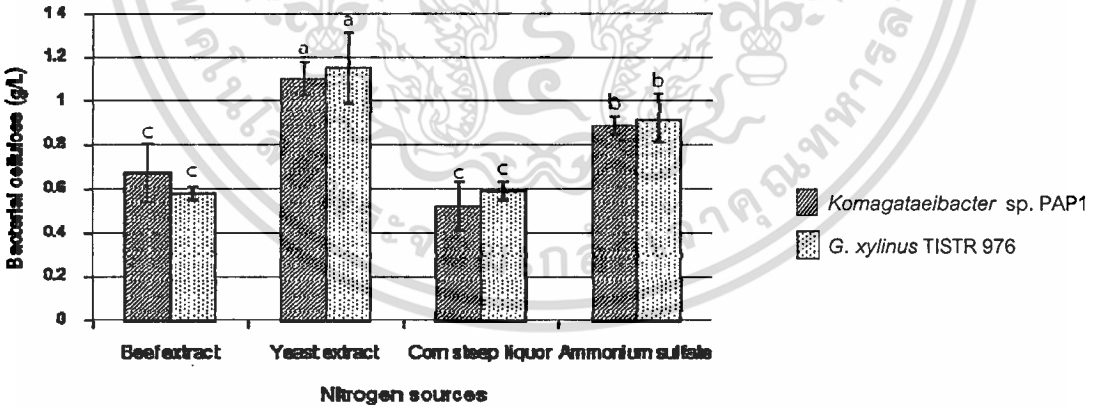


Figure 3 Effect of different nitrogen sources on bacterial cellulose production

ผลการศึกษาความเข้มข้นของเอทานอล

อาหารสูตรน้ำต้มขนมจีนที่มีการเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร หมักด้วยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 1.30 ± 0.17 และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้สูงกว่าการเติมเอทานอลที่ความ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เข้มข้นอื่นอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (Figure 4) ทั้งนี้เนื่องจากเอทานอลมีผลไปกระตุ้นการผลิตเซลลูโลสให้เพิ่มขึ้น (Heo and Son, 2002) ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของ Zeng *et al.* (2011) ได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากน้ำเชื่อมเมเปิ้ลโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* BPR 2001 ซึ่งพบว่าปริมาณเอทานอลที่เหมาะสมใช้ร้อยละ 0.5 โดยปริมาตร การเติมเอทานอลในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มากเกินไปจะส่งผลให้มีปริมาณอะซิเตรทในอาหารเพิ่มขึ้น ทำให้ปริมาณเซลล์ในระยะ Stationary phase ลดลง ส่งผลให้การผลิตเซลลูโลสลดลงด้วย (Naritomi *et al.*, 1998)

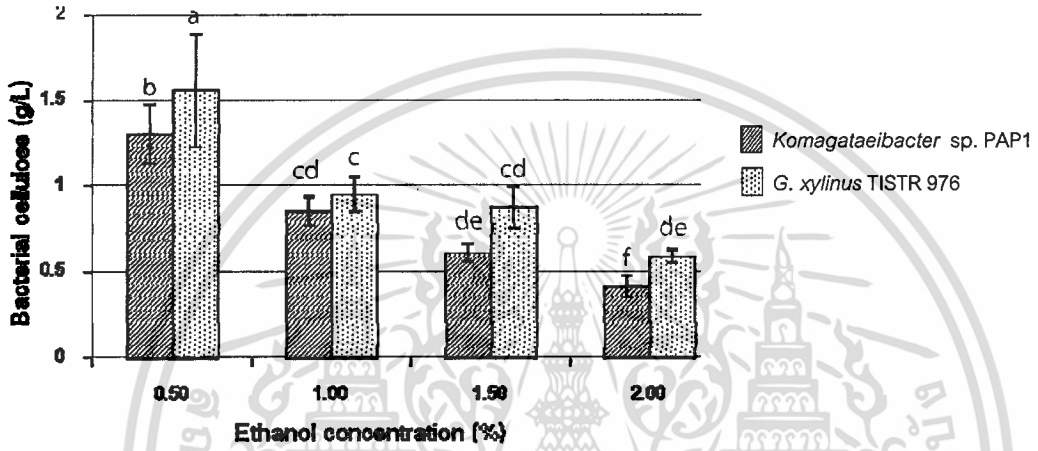


Figure 4 Effect of ethanol concentration on bacterial cellulose production

ผลการเจริญและการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ในสภาวะที่เหมาะสม

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีน พบว่า ใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนในส่วนของน้ำต้มขนมจีน เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลส โดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 และ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 จากการทดลองพบว่า *Komagataeibacter* sp. PAP1 ผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6-8 วันของการหมัก สำหรับเชื้อ *G. xylinus* TISTR 976 ผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 6-12 วัน โดยวันสุดท้ายของการหมักให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด 2.30 และ 2.86 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณเซลล์ที่เพิ่มขึ้น โดยพบว่าในช่วงแรกปริมาณเซลล์เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 2-8 วันแรก หลังจากนั้นปริมาณเซลล์ค่อนข้างคงที่ โดยมีปริมาณเซลล์สูงสุด 6.27×10^7 และ 6.43×10^7 CFU/มิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 5) สอดคล้องกับการทดลองของ Suwanposri *et al.* (2013) ที่ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร HS จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตและผลผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นค่อนข้างช้าใน 2 วันแรก และเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วระหว่างวันที่ 3-7 หลังจาก 7 วัน เชื้อเริ่มเข้าสู่ Stationary phase และผลผลิตเซลลูโลสจะคงที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

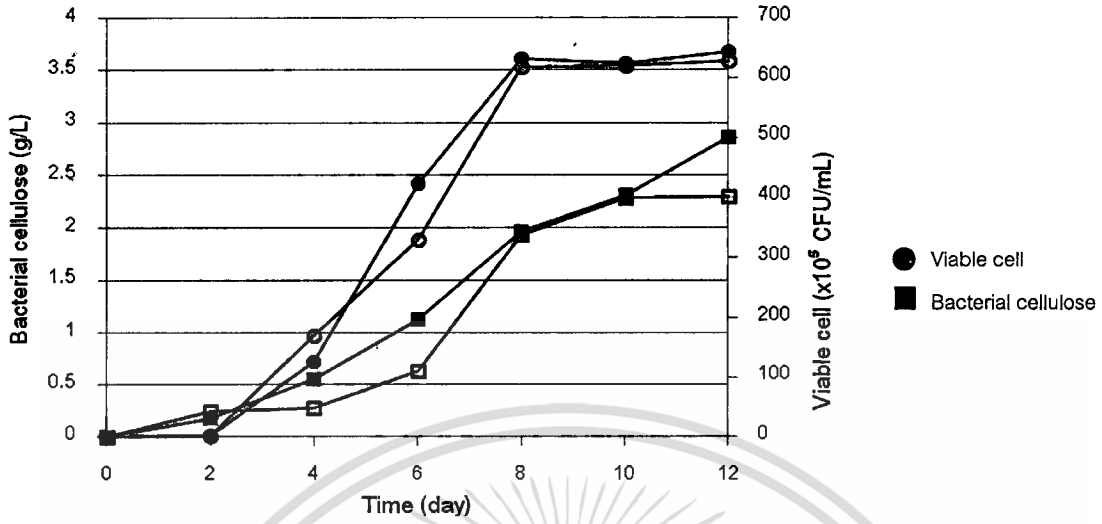


Figure 5 Growth and bacterial cellulose production of *Komagataeibacter* sp. PAP1 (white dot)and *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 (black dot) in optimized medium based on noodle wastewater.

สรุป

น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนมีศักยภาพในการนำมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อสำหรับหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย และเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่แยกได้จากมะละกอที่เน่าเสียในประเทศไทย มีความสามารถในการผลิตเซลลูโลสได้ใกล้เคียงกับเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* TISTR 976 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมนำไปใช้ในการผลิตเซลลูโลส สภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการศึกษา คือ ใช้น้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนในส่วนของน้ำต้มขนมจีนเติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ยีสต์สกัดร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และเติมเอทานอลร้อยละ 0.5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ให้ผลิตเซลลูโลส 1.30 ± 0.17 กรัมต่อลิตร และ 1.56 ± 0.33 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียสัมพันธ์กับการเจริญของจุลินทรีย์ ดังนั้นน้ำทิ้งจากกระบวนการผลิตขนมจีนและเชื้อ *Komagataeibacter* sp. PAP1 จึงเป็นอีกทางเลือกหนึ่งในการศึกษาพัฒนาเพื่อให้ได้ผลผลิตเซลลูโลสสูงและเป็นแนวทางในการนำไปใช้ในอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารอ้างอิง

กล่องเพชร เลาวนากิจกุล วลัยลักษณ์ จันทร์สกุลทิพย์ และเอกจิต ร่วมพฤกษ์. 2547. **การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสจากน้ำทิ้งจากการผลิตเต้าหู้แผ่น โดยใช้** *Acetobacter xylinum* TISTR 976 **ในสภาวะนิ่งและสภาวะเขย่า**. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิพัฒน์ พรหมโลก. 2555. **การศึกษาระบบบำบัดน้ำเสียจากโรงงานผลิตแป้งขนมจีน: กรณีศึกษาในเขตอำเภอวังหิน จังหวัดศรีสะเกษ.** วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิศวกรรมสิ่งแวดล้อม, มหาวิทยาลัยอุบลราชธานี.

Cavka, A., X. Gao, F. Hong, L.J. Jonsson, S.J. Tang and S. Winestrand. 2013. Production of bacterial cellulose and enzyme from waste fiber sludge. **Biotechnol Biofuels** 6: 1-10.

Faria-Tischera, P.C.S., F.D.E. Goelzera, J.C. Vitorinoa, M.R. Sierakowskib and C.A.Tischer. 2008. Production and characterization of nanospheres of bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* from processed rice bark. **Materials science and engineering** 29: 546–551.

Heo, M.S. and H.J. Son. 2002. Development of an optimized, simple chemically defined medium for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. A9 in shaking cultures. **Biotechnology and Applied Biochemistry** 36: 41-45.

Jeong. J.H., H.I. Jung, K.K. Kim, Y.G. Kim, O.M. Lee, S.M. Lee, G.T. Park, H.C. Park and H.J. Son. 2010. Influence of glycerol on production and structural–physical properties of cellulose from *Acetobacter* sp. V6 cultured in shake flasks. **Bioresource Technology** 101: 3602–3608

Mukataka, S., M. Tada and J. Takahashi. 1983. Effects of agitation on enzymatic hydrolysis of cellulose in a stirred tank reactor. **Journal of Fermentation Technology** 61: 615–621.

Naritomi, T., T. Kouda, H. Yano and F. Yoshinaka. 1998. Effect of ethanol on bacterial cellulose production from fructose in continuous culture. **Journal of Fermentation and Bioengineering** 85: 598-603.

Nazeri, M. A. and J. Zakaria. 2012. Optimization of bacterial cellulose production from pineapple waste: Effect of temperature, pH and concentration. **In: 5th Engineering Conference.**

Pourramezan, G.Z., A.M. Roayaei and Q.R. Qezelbash. 2009. Optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter* sp. 4B-2. **Biotechnology** 8: 150-154.

Suwanposri, A., P. Yukphan, Y. Yamada and D. Ochaikul. 2013. Identification and biocellulose production of *Gluconacetobacter* strains isolated from tropical fruits in Thailand. **Maejo International journal of science and technology** 7: 70-82.

Zeng, X., D.P. Small and W. Wan. 2011. Statistical optimization of culture conditions for bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* BPR 2001 from maple syrup. **Carbohydrate Polymers** 85: 506-513.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้