ปัจจัยที่ส่งผลต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter* sp. และเทคโนโลยีที่ใช้ในกระบวนการหมัก

Factors affecting production of cellulose by *Acetobacter* sp. and fermentation technology

จุฬาลักษณ์ เขมาชีวะกุล[1*]

Julaluk Khemacheewakul[1*]

บทคัดย่อ

เซลลูโลสที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Acetobacter* sp. เป็นพอลิเมอร์ชีวภาพที่มีคุณสมบัติทางด้านโครงสร้างและทางกายภาพแตกต่างจากเซลลูโลสที่ผลิตได้จากพืช โดยมีเส้นใยที่มีความบริสุทธิ์สูง อุ้มน้ำได้มาก และแข็งแรง เซลลูโลสที่ได้จากกระบวนการหมักนี้จึงถูกนำมาใช้ประโยชน์ได้อย่างหลากหลาย อย่างไรก็ตาม การผลิตเซลลูโลสให้ได้ปริมาณสูงในกระบวนหมักด้วยแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปัจจัยต่างๆ เช่น แหล่งอาหารที่ใช้เพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ ปริมาณเชื้อที่ใช้ในการหมัก แหล่งคาร์บอน ปริมาณออกซิเจน ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก ค่าพีเอช และแหล่งอาหารไนโตรเจน ดังนั้นการศึกษาเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญและการหมักของแบคทีเรียสายพันธุ์ *A. xylinum* โดยการปรับแหล่งอาหารสำหรับแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสให้เหมาะสม เช่น การใช้อะราบิทอลเป็นแหล่งคาร์บอน การเติมสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นเพื่อยับยั้งการผลิตกรดกลูโคนิก การปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 4-6 การมีแหล่งคาร์บอนและไนโตรเจนที่เพียงพอ ตลอดจนการศึกษาเพื่อนำเทคโนโลยีใหม่ๆ มาปรับใช้ในกระบวนการหมัก เช่น การกระตุ้นให้ *A. xylinum* เกิดการกลายพันธุ์ด้วยรังสีอัลตราไวโอเลต ส่งผลให้เบคทีเรียผลิตเซลลูโลสได้สูงขึ้นมากกว่าร้อยละ 26 เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิม ซึ่งปัจจัยต่างๆ เหล่านี้มีความสำคัญต่อการพัฒนากระบวนการผลิตเซลลูโลสให้มีประสิทธิภาพและสามารถนำไปปรับใช้ในระดับอุตสาหกรรมต่อไปได้

คำสำคัญ: เซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* เซลลูโลส การหมัก เทคโนโลยี

Abstract

Bacterial cellulose from the fermentation process by *Acetobacter* sp. is a biopolymer. Since its unique structural and mechanical properties which differ from plant cellulose such as high purity, high water holding capacity and unique strength, bacterial cellulose has been used in the various applications. However, factors affecting high yield production of cellulose mainly include the culture medium, the volume of inoculums, the carbon source, the dissolved oxygen, the temperature, pH and the nitrogen source. Therefore, intense researches on bacterial cellulose mainly focus on the optimum condition for the growth and fermentation process of bacteria *A.*

[1] โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร

[1] Division of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology, Kamphaeng Phet Rajabhat University

* Corresponding author. E-mail: Looktarn005@hotmail.com

xylinum. The optimum condition for producing cellulose involves the proper fermentation media such as using arabitol as a carbon source, the addition of antioxidant compound for reducing the concentration of gluconic acid, adjusting the pH in the range of 4-6 and providing adequate carbon and nitrogen sources. Several investigations using new technology are further improvement of fermentation processes including mutagenesis of *A. xylinum* using ultraviolet radiation. The results showed that the ability of cellulose production is more 26 % higher in comparison with the productivity of wild type cells. These factors are important to enhance potential of cellulose production and application of bacterial cellulose in industry scale.

Keywords: bacterial cellulose, *Acetobacter xylinum*, cellulose, fermentation, technology

บทนำ

เซลลูโลสผลิตได้จากกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียจีนัส *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* และ *Sarcina* อย่างไรก็ตาม สายพันธุ์ที่เหมาะสมต่อการนำมาพัฒนาปรับปรุงเพื่อให้เพียงพอการต่อการผลิตเซลลูโลสในทางการค้าคือ *A. xylinum* ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสได้ปริมาณสูงและมีคุณภาพดี โดยเจริญและสังเคราะห์เซลลูโลสในสภาวะที่มีอากาศ (Pourramezan *et al*., 2009) ทั้งนี้ประสิทธิภาพในการหมักเพื่อผลิตเซลลุโลสโดยแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปัจจัยที่หลากหลาย เช่น แหล่งอาหารคาร์บอนและไนโตรเจนและการเกิดผลิตภัณฑ์ข้างเคียง การเลือกใช้สารเคมีในอาหารหมัก ปริมาณออกซิเจน ค่าพีเอช และระดับอุณหภูมิ เป็นต้น (Ramana *et al*., 2000) รวมถึงการนำแหล่งอาหารจากวัสดุเหลือใช้หรือน้ำตาลชนิดอื่นๆ ทดแทนการใช้กลูโคสเพื่อลดต้นทุนในการผลิตเนื่องจากการผลิตเซลลูโลสในปริมาณต่ำจากต้นทุนสูงเป็นข้อจำกัดในการผลิตเซลลูโลสจากการหมักในระดับอุตสาหกรรมและการประยุกต์ใช้ในทางการค้าด้านต่างๆ ดังนั้นนักวิจัยจึงได้พยายามคิดค้นการใช้วัตถุดิบต้นทุนต่ำและปรับสภาวะการหมักให้เหมาะสมเพื่อการผลิตเซลลูโลสได้ในปริมาณสูง (Esa *et al*., 2014)

วิธีการศึกษา

ผู้เขียนได้ดำเนินการจัดทำบทความวิชาการโดยรวบรวมข้อมูลจากหนังสือ บทความวิชาการและงานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์เผยแพร่ รวมถึงข้อมูลในอินเทอร์เน็ต แล้วนำประเด็นสำคัญมาเรียบเรียงและเพิ่มเติมการวิเคราะห์หรือวิพากษ์แนวความคิด รวมทั้งนำเสนอแนวคิดใหม่เพื่อมุ่งเน้นการให้ความรู้แก่ผู้อ่านโดยอ้างอิงเหตุผลที่พิสูจน์ได้เพื่อสร้างความน่าเชื่อถือทั้งนี้ผู้เขียนได้วางโครงเรื่องเพื่อจัดลำดับของการเขียนดังนี้

1. ค้นคว้าและรวบรวมข้อมูล โดยเป็นการรวบรวมเนื้อหาที่เป็นทั้งความรู้ ข้อเท็จจริง และประสบการณ์ต่างๆ ที่เกี่ยวข้องกับเรื่องที่จะเขียนจากเอกสารต่างๆ

2. จัดหมวดหมู่ของหัวข้อที่น่าสนใจ เป็นการคัดสรรประเด็นที่เกี่ยวข้องกับเรื่องที่จะเขียนรวมถึงการรวมแนวคิดใดที่เป็นเรื่องเดียวกันหรือใกล้เคียงกันให้อยู่ในกลุ่มเดียวกัน

3. จัดลำดับความคิด โดยให้สอดคล้องกับเวลาหรือเหตุการณ์

การจัดทำบทความทางวิชาการฉบับนี้ ผู้เขียนได้มุ่งเน้นให้เกิดการกระจายความรู้และการพัฒนาองค์ความรู้ที่นำมาสู่การพัฒนาสังคมและประเทศชาติในด้านต่างๆ ต่อไป

ผลการศึกษา

1. ปัจจัยที่ส่งผลต่อกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

วุ้นสวรรค์หรือวุ้นมะพร้าวมีชื่อเรียกเป็นภาษาอังกฤษว่า “Nata de coco” ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่แบคทีเรียสายพันธุ์ *A. xylinum* สร้างขึ้นประกอบไปด้วยเส้นใยละเอียดของเซลลูโลสที่อยู่ในรูปเจล ลักษณะของเซลลูโลสที่ได้เป็นเยื่อเหนียวมีสีขาวหรือครีมปริมาณการผลิตเซลลูโลสจากกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียเกี่ยวข้องกับปัจจัยต่างๆ ได้แก่ แหล่งอาหารคาร์บอนที่เลือกใช้ แหล่งอาหารเสริม ชนิดของสายพันธุ์จุลินทรีย์ และสภาวะที่ใช้ในการหมัก เป็นต้น ซึ่งมีรายละเอียดดังต่อไปนี้

1.1 แหล่งอาหารสำหรับกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลส

โดยทั่วไปแหล่งอาหารที่ใช้ในการผลิตเซลลูโลสโดยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* คือ กลูโคส นอกจากนี้ เซลลูโลสยังสังเคราะห์ได้จากแหล่งคาร์บอนชนิดอื่นๆ ได้อีก เช่น กลุ่มน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวที่มีคาร์บอนจำนวน 5 หรือ 6 อะตอม โอลิโกแซ็กคาไรด์ สตาร์ช แอลกอฮอลล์ และกรดอินทรีย์ เป็นต้น จากรายงานผลการทดลองพบว่าการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแหล่งคาร์บอนชนิดฟรักโทสและกลีเซอรอลให้ปริมาณเซลลูโลสเท่ากัน ทั้งนี้ปริมาณการเพิ่มขึ้นของเซลลูโลสที่ผลิตได้สัมพันธ์กับปริมาณการใช้ไปของกลูโคส อย่างไรก็ตาม ปริมาณเซลลูโลสลดลงเมื่อระดับความเข้มข้นเริ่มต้นของกลูโคสสูงเกินไป เนื่องจากสภาวะดังกล่าวมีการผลิตสารข้างเคียงคือ กรดกลูโคนิก ซึ่งเมื่อปริมาณของกรดกลูโคนิกเพิ่มขึ้น ส่งผลทำให้ค่าพีเอชลดลงและไม่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลส โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสอยู่ในช่วง 4-6 (Masaoka *et al*., 1993) จากการศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากอะราบิทอลโดยการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* พบสภาวะดังกล่าวสามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงมากกว่า 6 เท่าเปรียบเทียบกับการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคอร์บอน เนื่องจากค่าพีเอชไม่เปลี่ยนแปลง และไม่พบกรด-กลูโคนิก ทำให้การใช้อะราบิทอลเป็นแหล่งอาหารที่มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลส (Oikawa *et al*., 1995) อย่างไรก็ตาม Keshk and Sameshima (2006) พบว่า การใช้แหล่งอาหารคาร์บอนที่มีส่วนประกอบของสารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและสารประกอบฟีนอลิกสามารถยับยั้งการผลิตกรดกลูโคนิกได้ โดยศึกษาการเติมลิกโนซัลโฟเนตความเข้มข้นร้อยละ 1 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ในแหล่งอาหารกลูโคส พบว่าสามารถผลิตเซลลูโลสเพิ่มขึ้นร้อยละ 57 เมื่อเปรียบเทียบกับชุดควบคุม นอกจากนี้ การเลือกใช้แหล่งอาหารคาร์บอนที่มีราคาถูกนอกจากจะช่วยลดต้นทุนการผลิตแล้วยังเป็นการปรับขนาดการผลิตเซลลูโลสให้เหมาะสมในระดับอุตสาหกรรมอีกด้วย ซึ่งมีผลงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษาเกี่ยวกับการผลิต

เซลลูโลสจาปริมาณกกระบวนการหมักด้วยแอซีติกแบคทีเรียโดยใช้แหล่งอาหารคาร์บอนหลากหลายชนิดรวมถึงวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตร เช่น น้ำมะพร้าว น้ำสับปะรด เผือก น้ำกะทิ หางนม กากน้ำตาล และเปลือกองุ่น เป็นต้น (Gomes *et al*., 2013) การใช้แหล่งอาหารเหล่านี้ยังเป็นการรักษาสิ่งแวดล้อมโดยการลดปริมาณขยะและเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตรที่ล้นตลาด อนันต์และคณะ (2553) ได้ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสโดยใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *A. xylinum* และพบว่าแบคทีเรียสร้างแผ่นเซลลูโลสได้ดีในกากน้ำตาลที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 12 องศาบริกซ์ ค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.7 และใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 โดยใช้ระยะเวลาในการหมักเป็นเวลา 12 วันซึ่งจะได้แผ่นเซลลูโลสที่มีความหนาเท่ากับ 1.61 เซนติเมตร และน้ำหนัก 96.29 กรัม นอกจากนี้ Chinsamran and Suttisuwan (2015) ได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในกากน้ำตาลโดยใช้น้ำมะพร้าวเป็นสารอาหารเสริมและการเติมสารที่ทำให้เกิดเจล ได้แก่ อะการ์ เพคติน และอัลจิเนต ผลการศึกษาพบว่าแบคทีเรียสร้างเซลลูโลสได้ดีที่สุดในสภาวะที่มีกากน้ำตาลที่ละลายในน้ำมะพร้าวซึ่งปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 10 องศาบริกซ์ และเติมสารเพคตินร้อยละ 0.5 หมักเป็นเวลา 15 วัน ในอาหารเลี้ยงเชื้อปริมาตร 1 ลิตร วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสได้สูงสุดเท่ากับ 710.38 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าน้ำมะพร้าวและเพคตินช่วยส่งเสริมการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในอาหารเลี้ยงเชื้อกากน้ำตาลได้ เกรียงไกร และคณะ (2558) ทดลองผลิตเซลลูโลสจากน้ำแก้วมังกรโดยใช้อัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างน้ำแก้วมังกรและน้ำมะพร้าวเท่ากับ 1:2 ซึ่งให้ความหนาของเซลลูโลสเท่ากับ 1.01 เซนติเมตร และเมื่อวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของเซลลูโลสแก้วมังกรพบว่าประกอบด้วยความชื้น เถ้าและเส้นใยร้อยละ 95.47, 0.26 และ 1.54 ตามลำดับ นอกจากนี้ Lestari *et al*. (2014) ได้ศึกษาการผลิตเซลลูโลสจากการหมักด้วย *A. xylinum* โดยเปรียบเทียบแหล่งอาหารน้ำมะพร้าวกับน้ำสับปะรด พบว่า *A. xylinum* ผลิตเซลลูโลสจากน้ำมะพร้าวได้มากกว่าแหล่งอาหารน้ำสับปะรด (3.61 และ 0.60 กรัมต่อกรัมกลูโคส ตามลำดับ) ภายหลังการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง ซึ่งสอดคล้องกับการวิเคราะห์ประสิทธิภาพในการใช้น้ำตาลของ *A. xylinum* ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำมะพร้าวเพื่อสร้างเซลลูโลสได้ดีกว่าน้ำตาลในน้ำสับปะรด แสดงให้เห็นว่าแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อการหมักด้วย *A. xylinum* เพื่อผลิตเซลลูโลส ควรประกอบไปด้วยน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวหรือโมเลกุลคู่ ซึ่งจุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้ดี ทั้งนี้อาจมีการเติมสารประกอบอื่นๆ อาทิเช่น สารต้านปฏิกิริยาออกซิเดชั่นและเพคติน เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการหมักและทำให้ได้เซลลูโลสคุณภาพดียิ่งขึ้น

1.2 ปริมาณเชื้อที่ใช้ในการหมัก

ปริมาณของเชื้อใช้ในการผลิตเซลลูโลส (incoculum) จะต้องใช้ในปริมาณมากพอโดยปกติปริมาณเชื้อที่เหมาะสมควรอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 จะให้ผลผลิตเซลลูโลสมากที่สุดและหากใช้ปริมาณหัวเชื้อมากขึ้นผลผลิตที่ได้จะลดลง (Rangaswamy

et al., 2015) จากการศึกษาผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสจากกากน้ำตาล โดยเจือจางกากน้ำตาลให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 12 องศาบริกซ์ด้วยน้ำกลั่นแล้วเติมแอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 0.7 ปรับพีเอชด้วยกรดแอซีติกให้มีค่าเท่ากับ 5 จากนั้นถ่ายหัวเชื้อ *A. xylinum* โดยเปรียบเทียบที่ 3 ระดับความเข้มข้นคือร้อยละ 5, 10 และ 15 หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วันพบว่าปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* เริ่มต้นมีผลต่อการสร้างแผ่นเซลลูโลสจากกากน้ำตาลโดยความหนาและน้ำหนักของแผ่นเซลลูโลสเพิ่มมากขึ้นเมื่อใช้ปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* เริ่มต้นมากขึ้นผลการทดลองพบว่าความหนาและน้ำหนักของแผ่นเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 0.89 เซนติเมตร และ 80.10 กรัม ตามลำดับ ซึ่งได้จากการหมักที่ใช้ความเข้มข้นของ *A. xylinum* เริ่มต้นร้อยละ 15 (อนันต์ และคณะ, 2553) ผลการทดลองที่ได้นี้ยังสอดคล้องกับกิ่งแก้ว (2547) ที่รายงานว่าการใช้หัวเชื้อในช่วงร้อยละ 10-20 หมักในเวย์และน้ำกะทิจะทำให้การผลิตเซลลูโลสเป็นไปอย่างมีประสิทธิภาพ

1.3 แหล่งคาร์บอน

แหล่งอาหารคาร์บอนที่นิยมใช้ในการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลส โดยทั่วไปจะเป็นสารในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต เช่น ฟรักโทส มอลโทส ไซโลส สตาร์ช และกลีเซอรอล (Masaoka *et al*., 1993) ซึ่ง *Gluconacetobacter hansenii* และ *Acetobacter* sp. สามารถผลิตเซลลูโลสได้ปริมาณ 1.72 และ 4.16 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ จากแหล่งคาร์บอนชนิดกลูโคส (Son *et al*., 2003) ระดับความเข้มข้นของกลูโคสมีผลของต่อปริมาณการผลิตเซลลูโลส เมื่อมีการผลิตสารผลิตภัณฑ์ข้างเคียงได้แก่ กรดกลูโคนิก ซึ่งมีผลทำให้ค่าพีเอชของอาหารหมักลดลง และทำให้การผลิตเซลลูโลสลดลงด้วย การศึกษาความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้นที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 6, 12 และ 48 กรัมต่อลิตร ซึ่งมีผลต่อปริมาณการใช้ไปของกลูโคสเท่ากับร้อยละ 100, 68 และ 28 ตามลำดับ (Masaoka *et al*., 1993) Ishihara *et al*. (2002) ใช้ไซโลสเป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการหมักโดย *A. xylinum* IFO 15606 เพื่อผลิตเซลลูโลส ผลการทดลองพบว่าปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตได้มีความเข้มข้นเท่ากับ 3.0 กรัมต่อลิตร นอกจากนี้ยังมีแหล่งคาร์บอนชนิดอื่นๆ ที่รายงานว่าสามารถผลิตเซลลูโลสได้ปริมาณมากจากการหมักด้วย *A. xylinum* ซึ่ง Nguyen *et al*. (2008) รายงานว่าการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* โดยใช้แมนนิทอลเป็นแหล่งคาร์บอนพบว่าให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุด และเอทานอลยังถูกนำมาใช้เป็นสารเสริมแหล่งคาร์บอนในการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลส โดยมีผลการทดลองรายงานว่าการเติมเอทานอลในอาหารทำให้ปริมาณการผลิตเซลลูโลสโดย *G. hansenii* เพิ่มขึ้นจาก 1.30 เป็น 2.31 กรัมต่อลิตร (Park *et al*., 2003) และ Son *et al*. (2001) พบว่าการเติมเอทานอลความเข้มข้นร้อยละ 1.4 โดยปริมาตร ลงในอาหารหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสโดย *Acetobacter* sp. A9 สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงถึง 15.2 กรัมต่อลิตร คิดเป็นสี่เท่าของปริมาณเซลลูโลสจากอาหารหมักที่ไม่ได้เติมเอทานอล ปัจจุบันมีการนำวัตถุดิบทางเกษตรมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในการผลิตเซลลูโลส ซึ่งจากผลการทดลองของ วิจิตรา และคณะ (2555) ในการ

เปรียบเทียบการผลิตเซลลูโลสจากอาหารหมักที่ใช้ผลผลิตทางการเกษตร 6 ชนิด ได้แก่ แอปเปิ้ล องุ่น ส้ม เผือก แครอท และมันฝรั่ง พบว่าผลผลิตทางการเกษตรที่มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดสามลำดับแรกคือ แอปเปิ้ล เผือก และมันฝรั่ง และผลิตภัณฑ์ที่ให้น้ำหนักเซลลูโลสสูงสุด ได้แก่ เผือก องุ่น และมะพร้าว ตามลำดับ ดังนั้นแหล่งอาหารที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักจะต้องมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์อยู่ในระดับสูงและเพียงพอต่อการนำไปใช้ในการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย ซึ่งการเติมเอทานอลถือเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่ส่งผลให้การผลิตเซลลูโลสมีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น

1.4 ปริมาณออกซิเจน

Acetobacter xyilnum เป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นภาชนะในการหมักต้องมีพื้นผิวหน้ากว้างเนื่องจากจุลินทรีย์จะสร้างแผ่นเซลลูโลสเฉพาะส่วนบนของอาหารเท่านั้นและระหว่างการหมักต้องระวังไม่ให้มีกากระทบกระเทือนเพราะจะทำให้แผ่นเซลลูโลสจม Watanabe and Yamanaka (1995) รายงานว่าการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในอาหารเหลวที่บริเวณผิวหน้าอาหารเพาะเลี้ยง *A. xyilnum* ทำให้ได้เซลลูโลสค่อนข้างบาง นอกจากนี้ Joris *et al*. (1993) ได้พยายามเพิ่มปริมาณการผลิตเซลลูโลสโดยการเพิ่มปริมาณออกซิเจนในแหล่งอาหารเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ด้วยวิธีการเพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่า ซึ่งผลการทดลองพบว่าการผลิตเซลลูโลสลดลงมากกว่าร้อยละ 50 และปริมาณกรดกลูโคนิกเพิ่มขึ้น Tantratian *et al*. (2005) ศึกษาผลของออกซิเจนที่ละลายในอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำมะพร้าวต่อการสร้างเซลลูโลสของ *A. xyilnum* โดยเปรียบเทียบการเพาะเลี้ยงในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 50, 100 และ 150 รอบต่อนาที ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเร็ว 100 รอบต่อนาที ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 5.67 กรัมต่อลิตรของน้ำมะพร้าว และปริมาณออกซิเจนในน้ำหมักลดลงเมื่อระยะเวลาในการหมักผ่านไป 72 ชั่วโมง โดยปริมาณออกซิเจนและกรดกลูโคนิกในแหล่งอาหารที่ใช้หมักจะเพิ่มขึ้นตามระดับความเร็วของการเขย่าที่เพิ่มขึ้น จึงทำให้ที่ระดับความเร็วในการเขย่า 150 รอบต่อนาที มีปริมาณเซลลูโลสลดลง ดังนั้นในกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสในสภาวะเขย่าเพื่อเติมอากาศควรใช้ความเร็วในช่วง 100-150 รอบต่อนาที และหากใช้สภาวะการหมักแบบตั้งนิ่งควรศึกษาวิธีการเติมออกซิเจนลงในอาหารหมักให้เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการหายใจของ *A. Xyilnum*

1.5 ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก

ระดับอุณหภูมิมีผลต่อการเจริญของ *A. xyilnum* และประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลส ทั้งนี้จุลินทรีย์สายพันธุ์ดังกล่าวสามารถเจริญและสร้างเซลลูโลสได้ดีที่อุณหภูมิห้องหรืออยู่ในช่วงอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียสถ้าอุณหภูมิต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส การสร้างเซลลูโลสจะไม่เกิดขึ้น (Castro *et al*., 2011) Çoban and Biyik (2011) ศึกษาผลของอุณหภูมิที่ระดับต่างๆ ได้แก่ 4, 22, 30 และ 37 องศาเซลเซียส ต่อการผลิตเซลลูโลสของจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. pasteurianus* HBB6 และ *A. lovaniensis* HBB5 ในกากน้ำตาลจากหัวบีท ผลการทดลองพบว่าระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการ

ผลิตเซลลูโลสคือ 30 องศาเซลเซียส ซึ่งได้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 0.030 และ 0.023 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในขณะที่ระดับอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสได้ต่ำสุดเท่ากับ 0.015 และ 0.09 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สอดคล้องกับ Son *et al.* (2001) ซึ่งทำการศึกษาผลของอุณหภูมิที่ระดับต่างๆ (20-40 องศาเซลเซียส) ที่มีผลต่อการผลิตเซลลูโลส ผลการทดลองพบว่าระดับอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดคือ 30 องศาเซลเซียส และไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) กับที่ระดับอุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และที่ระดับอุณหภูมิสูงกว่า 35 องศาเซลเซียส ส่งผลให้ปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง สำหรับระดับอุณหภูมิที่ผลิตเซลลูโลสได้ในปริมาณต่ำสุดคือ 45 องศาเซลเซียส Keshk and Sameshima (2005) สามารถผลิตเซลลูโลสปริมาณ 0.03 กรัมต่อลิตร จากการหมักด้วย *A. xyilnum* ที่ระดับอุณหภูมิ 28 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชเท่ากับ 6 เป็นเวลา 168 ชั่วโมง ในสภาวะการหมักแบบตั้งนิ่ง

1.6 ค่าพีเอช

ค่าพีเอชในอาหารหมักมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์กลุ่ม *Acetobacter* sp. โดยเฉพาะการสังเคราะห์เอนไซม์และการแบ่งเซลล์ กรดที่นิยมนำมาใช้ปรับค่าพีเอชในอาหารสำหรับหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสคือ กรดแอซีติก ซึ่งสภาวะกรดในอาหารหมักยังช่วยยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการอีกด้วยระดับความเข้มข้นของกรดแอซีติกที่ใช้โดยทั่วไปเท่ากับร้อยละ 3 ซึ่งพบว่าให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดภายหลังการหมักเป็นเวลานาน 2 สัปดาห์ Masaoka *et al.* (1993) รายงานว่าค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xyilnum* TISTR 975 เท่ากับ 4.98 หรืออยู่ในช่วง 4-6 Tantratian *et al.* (2005) ศึกษาเปรียบเทียบค่าพีเอช (4.0, 5.0 และ 6.0) ของอาหารหมักที่มีผลต่อปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตได้ ผลการทดลองพบว่าค่าพีเอชเท่ากับ 4.9 ให้ปริมาณเซลลูโลสสูงสุด และเซลลูโลสที่ได้มีคุณภาพทางด้านเนื้อสัมผัสที่ดีคือมีผิวหน้าเรียบและเนื้อสัมผัสฉ่ำน้ำ นอกจากนี้ยังรายงานว่าค่าพีเอชมีผลต่อการสร้างเซลลูโลสมากกว่าระดับความเข้มข้นของซูโครสหรือแอมโมเนียมซัลเฟต Verschuren *et al.* (2000) รายงานว่า *A. xylinum* จัดอยู่ในกลุ่มจุลินทรีย์ที่ทนกรดโดยเจริญได้ที่ค่าพีเอชต่ำถึง 3.5 และที่ค่าพีเอชเท่ากับ 4.0 เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xylinum* ในสภาวะการเลี้ยงแบบตั้งนิ่ง

1.7 แหล่งอาหารไนโตรเจน

ไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบของโปรตีนที่มีความจำเป็นต่อกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์และมีปริมาณร้อยละ 8-14 ในเซลล์แห้งของแบคทีเรีย (Chawla *et al.*, 2009) การเติมสารประกอบไนโตรเจนในการหมักช่วยเร่งการผลิตเซลลูโลสให้หนาในระยะเวลาสั้นโดยแหล่งไนโตรเจนที่นำมาใช้เป็นส่วนประกอบในอาหารหมัก เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมไนเทรต ไรโบฟลาวิน ไกลซีน เพปโทน โซเดียมไนเทรต และเมไทโอนีน เป็นต้น (Panesar *et al.*, 2009) โดยทั่วไปแหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้คือ แอมโมเนียมซัลเฟตในช่วงระดับความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 0.5-0.6 จากการศึกษาผลของ

ความเข้มข้นแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมในการหมักด้วย *A. xylinum* ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เพื่อผลิตเซลลูโลสจากกากน้ำตาล โดยเปรียบเทียบการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 0, 0.3, 0.5 และ 0.7 ผลการทดลองพบว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่เติมลงไปในกากน้ำตาลจะมีผลต่อการสร้างเซลลูโลส โดยความหนาและน้ำหนักของเซลลูโลสที่แบคทีเรีย *A. xylinum* สร้างมีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตในกากน้ำตาลสูงขึ้นซึ่ง *A. xylinum* สามารถสร้างเซลลูโลสได้หนาและมีน้ำหนักมากที่สุดเท่ากับ 1.42 เซนติเมตร และ 95.21 กรัม ตามลำดับ ในกากน้ำตาลที่มีความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.7 (อนันต์ และคณะ, 2553) เมื่อเปรียบเทียบปริมาณการเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในแหล่งอาหารเวย์ พบว่าปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตเพียงร้อยละ 0.3 ในแหล่งอาหารเวย์ทำให้แบคทีเรียสร้างแผ่นเซลลูโลสได้หนามากที่สุด เนื่องจากเวย์มีปริมาณโปรตีนซึ่งมีแหล่งไนโตรเจนมากกว่าที่พบในกากน้ำตาลจึงใช้แอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณที่ต่ำกว่า (กิ่งแก้ว, 2547) Yodsuwan *et al.* (2012) เปรียบเทียบการใช้แหล่งไนโตรเจนในอาหารหมัก 5 ชนิด ได้แก่ สารสกัดจากยีสต์ (yeast extract) เพปโตนแอมโมเนียมซัลเฟต พอลิเพปโตน และเคซีน ที่ระดับความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร เพื่อผลิตเซลลูโลสโดย *A. xylinum* TISTR 975 ผลการทดลองพบว่าการใช้แหล่งไนโตรเจนที่ผสมระหว่างสารสกัดจากยีสต์และเคซีนสามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดในขณะที่การใช้สารสกัดจากยีสต์เป็นแหล่งอาหารไนโตรเจนเพียงชนิดเดียวให้ปริมาณเซลลูโลสค่อนข้างสูงเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้แอมโมเนียมซัลเฟตเพียงชนิดเดียว Ramana *et al.* (2000) รายงานว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างเซลลูโลสคือ เพปโตนและแอมโมเนียมซัลเฟต และการเติมเมไทโอนีนในการเพาะเลี้ยง *A. xylinum* ยังช่วยกระตุ้นอัตราการเจริญเติบโตและเพิ่มอัตราการผลิตเซลลูโลสอีกด้วย

2. การพัฒนาเทคโนโลยีการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum*

ในปัจจุบันนักวิจัยได้พยายามศึกษาทดลองนำเทคโนโลยีต่างๆ มาปรับใช้ในกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* เพื่อผลิตเซลลูโลสให้มีประสิทธิภาพมากยิ่งขึ้น Nugroho and Aji (2015) ศึกษาการตรึงเซลล์แบคทีเรียสายพันธุ์ *A. xylinum* ด้วยแคลเซียมอัลจิเนตก่อนนำไปหมักในน้ำมะพร้าวเพื่อผลิตเซลลูโลส ซึ่งการตรึงเซลล์จุลินทรีย์เป็นการลดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นๆ และรักษาจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตในระหว่างกระบวนการหมักในกรณีที่ระบบการเก็บรักษาเซลล์ไม่เหมาะสม นอกจากนี้เทคโนโลยีดังกล่าวยังสามารถนำไปพัฒนาเพื่อปรับใช้ในการผลิตเซลลูโลสในระบบต่อเนื่องต่อไปได้ ทั้งนี้ ผลการหมักด้วย *A. xylinum* ที่ถูกตรึงเซลล์ด้วยแคลเซียมอัลจิเนตเป็นเวลา 11 วัน พบว่าสามารถผลิตเซลลูโลสที่มีความหนาเฉลี่ยเท่ากับ 0.8 เซนติเมตร Hameed *et al.* (2012) ได้กระตุ้นให้ *A. xylinum* N2 เกิดการกลายพันธุ์ โดยใช้รังสีอัลตราไวโอเลตเป็น *A. xylinum* N2_87 และ *A. xylinus* N2_90 ซึ่งแบคทีเรียที่ถูกกระตุ้นให้กลายพันธุ์ทั้ง 2 สายพันธุ์ สามารถผลิตเซลลูโลสได้ปริมาณ 6.3

และ 6.9 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสูงขึ้นร้อยละ 26 และ 38 ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบกับสายพันธุ์เดิมก่อนกระตุ้นให้กลายพันธุ์ และเมื่อนำเบคทีเรียสายพันธุ์ *A. xylinus* N2_90 ไปศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมต่อหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสในอาหารหมักชนิด Hestrin-Schram broth medium (HS-medium) ซึ่งประกอบไปด้วยกลูโคสร้อยละ 2 สารสกัดจากยีสต์ร้อยละ 2 เปปโตนร้อยละ 0.5 โซเดียมไฮโดรเจนฟอสเฟตร้อยละ 0.27 และกรดซิตริกร้อยละ 0.115 ปรับค่าพีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 6.5 แล้วตั้งทิ้งไว้ให้หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 สัปดาห์ ทำให้ได้เซลลูโลสปริมาณ 8.5 กรัมต่อลิตร กระบวนการผลิตเซลลูโลสด้วยวิธีการหมักขนาดเล็กในสภาวะแบบเขย่าหรือแบบตั้งนิ่ง พบว่าใช้เวลาค่อนข้างนานสิ้นเปลืองแรงงาน รวมทั้งยังให้ผลผลิตเซลลูโลสในปริมาณต่ำ ดังนั้นนักวิจัยจึงได้พยายามพัฒนากระบวนการผลิตเซลลูโลสให้ได้ปริมาณสูงในระยะเวลาสั้นอาทิเช่น การหมักในถุงที่ทำจากเยื่อซิลิโคน (reactor with silicone membrane) เนื่องจากการผลิตเซลลูโลสในกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียในสภาวะตั้งนิ่งมีประสิทธิภาพสูงกว่าการหมักในสภาวะเขย่า ในขณะเดียวกันแบคทีเรียก็มีจำเป็นต้องใช้ออกซิเจนในการหายใจ ดังนั้นการศึกษาการหมักโดยใช้ถุงเยื่อซิลิโคน เพื่อนำมาปรับปรุงการผลิตเซลลูโลสให้มีอัตราการผลิตต่อปริมาตรอาหารหมักสูงขึ้น โดยลดปริมาณการใช้พื้นที่ผิวในการหมักและสามารถนำเทคโนโลยีดังกล่าวไปประยุกต์ใช้ในระดับอุตสากรรมได้ (Okiyama *et al*., 1992) โดยพบว่าการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสด้วย *A. pasteurianus* AP-1SK ในระบบตั้งนิ่งทำให้ออกซิเจนสามารถซึมผ่านเยื่อซิลิโคนเข้ามายังผิวของอาหารหมักที่บรรจุในถุงได้มากขึ้น อย่างไรก็ตามอัตราการผลิตเซลลูโลสยังขึ้นอยู่กับความขรุขระของผิวเมมเบรน ซึ่งผิวเมมเบรนที่ขรุขระสามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงมากกว่าเมมเบรนแบบเรียบ 5 เท่า (Yoshino *et al*., 1996)

อภิปรายผล

จากการนำเสนอปัจจัยที่ส่งผลต่อกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสด้วยแบคทีเรียพบว่าประกอบไปด้วยแหล่งอาหารสำหรับกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสซึ่งนอกจากแหล่งอาหารคาร์บอนที่เป็นกลูโคสแล้ว อะราบิทอลยังเป็นแหล่งคาร์บอนที่น่าสนใจ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสสูงถึง 6 เท่าเมื่อเปรียบเทียบกับการใช้กลูโคส และการเลือกใช้แหล่งคาร์บอนจากวัสดุเหลือใช้ทางเกษตรเพื่อลดต้นทุนการผลิต ควรตรวจวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ให้มีปริมาณอย่างน้อยเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ เพื่อให้เพียงพอต่อการผลิตเซลลูโลสด้วยจุลินทรีย์ ซึ่ง Khami *et al*. (2014) พบว่าการผลิตเซลลูโลสจากน้ำตาลที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 11 องศาบริกซ์ สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดเท่ากับ 19.46 กรัม และการเติมเพปโตนร้อยละ 1 ยังช่วยส่งเสริมการผลิตเซลลูโลสเช่นกัน โดยวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลสได้สูงสุดเท่ากับ 1.88 กรัมต่อน้ำมะพร้าวปริมาตร 5 มิลลิลิตร (Talawar *et al*., 2015)

สำหรับปริมาณเชื้อที่ใช้ในการหมักควรอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 ซึ่งการรายงานจากหลายๆ ผลการทดลองพบว่าช่วงความเข้มข้นดังกล่าวส่งผลให้การผลิตเซลลูโลสมีประสิทธิภาพ นอกจากนี้ยังมี

ปัจจัยอื่นๆ อาทิเช่น ปริมาณออกซิเจนที่มีบทบาทต่อการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ โดยจุลินทรีย์จะนำออกซิเจนไปใช้ในกระบวนการเมแทบอลิซึม ดังนั้นการมีปริมาณออกซิเจนที่เพียงพอจะทำให้จำนวนเซลล์จุลินทรีย์เพิ่มขึ้นและส่งผลต่อผลิตภัณฑ์เป้าหมายที่เพิ่มขึ้นด้วยเช่นกัน เทคนิคการเพาะเลี้ยงจุลินทรีย์ในสภาวะเขย่าจึงถูกนำมาใช้ในกระบวนการผลิตเซลลูโลส โดยช่วงความเร็วรอบในการเขย่าที่นิยมใช้อยู่ในช่วง 100-150 รอบต่อนาที (Tantratian *et al*., 2005) ระดับอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักยังเป็นอีกปัจจัยหนึ่งที่ส่งผลต่อปริมาณการผลิตเซลลูโลส เนื่องจากแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลสมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและการสร้างเซลลูโลสเท่ากับ 25-30 องศาเซลเซียส ซึ่งหากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านั้นจะส่งผลให้การผลิตเซลลูโลสลดลง โดย Talawar *et al*. (2015) พบว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *A. xylinum* ผลิตเซลลูโลสจากน้ำมะพร้าวได้สูงสุดเท่ากับ 1.71 กรัมต่อน้ำมะพร้าวปริมาตร 5 มิลลิลิตร ค่าพีเอชส่งผลต่อการผลิตเซลลูโลสเช่นเดียวกับปัจจัยด้านอุณภูมิ โดยค่าพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xyilnum* TISTR 975 เท่ากับ 4.98 หรืออยู่ในช่วง 4-6 สอดคล้องกับผลการทดลองของ จินตนา และคณะ (2560) ที่เพาะเลี้ยง *A. xylinum* TISTR 975 ในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้และปรับค่าพีเอชเท่ากับ 4.0 สามารถผลิตวุ้นได้ปริมาณสูงสุดโดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาได้เท่ากับ 43.83 ± 0.51 กรัม และ 5.05 ± 0.09 มิลลิเมตร ตามลำดับ

การนำประโยชน์จากเซลลูโลสมาประยุกต์ใช้ในงานด้านต่างๆ มีความหลากหลายมากยิ่งขึ้น เช่น อุตสาหกรรมอาหารอุตสาหกรรมการผลิตพลาสติกชีวภาพอุตสาหกรรมสิ่งทออุตสาหกรรมการผลิตยาและทางการแพทย์เป็นต้น ดังนั้น การพัฒนาเทคโนโลยีการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสจาก *A. xylinum* ให้มีประสิทธิภาพจึงถูกผลักดันให้มีการวิจัยศึกษาแนวทางการนำเทคโนโลยีต่างๆ มาปรับใช้ในกระบวนการผลิต เช่น การใช้ความรู้ทางเทคโนโลยีชีวภาพโดยการตรึงเซลล์ การใช้เทคนิคพันธุวิศวกรรมด้วยการใช้รังสีเร่งให้จุลินทรีย์เกิดการกลายพันธุ์ ตลอดจนการใช้เทคนิคการหมักด้วยเยื่อหุ้มซิลิโคน ซึ่งถือว่าเป็นนวัตกรรมที่น่าสนใจและเหมาะสมต่อการนำมาปรับใช้ในกระบวนการผลิตตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

สรุป

เซลลูโลสที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียมีคุณสมบัติเฉพาะแตกต่างจากเซลลูโลสที่แยกได้จากพืช ซึ่งกระบวนการหมักโดยทั่วไปยังมีข้อจำกัดในแง่ของการใช้ต้นทุนสูงและได้ผลผลิตเซลลูโลสค่อนข้างต่ำ จึงทำให้การเพิ่มระดับการผลิตเซลลูโลสเป็นไปได้ยาก ดังนั้นนักวิจัยจึงได้พยายามศึกษาโดยการนำแหล่งอาหารจากวัสดุทางการเกษตรเหลือใช้และผลพลอยได้ที่ไม่ต้องการจากกระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรม เช่น กากน้ำตาล หางนม และเปลือกองุ่น เป็นต้น มาใช้ในการหมักเพื่อให้การผลิตเซลลูโลสมีประสิทธิภาพมากขึ้น และสามารถนำเซลลูโลสไปใช้ประโยชน์ในอุตสาหกรรมต่างๆ ได้อย่างหลากหลายมากยิ่งขึ้น นอกจากนี้การหมักอาหารด้วยจุลินทรีย์ในกลุ่มแอซีโตแบคเตอร์เพื่อผลิตเซลลูโลสยังต้องคำนึงถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการหมัก อาทิเช่น ปริมาณหัวเชื้อจุลินทรีย์ ความเพียงพอ และ

ชนิดของแหล่งคาร์บอน ปริมาณออกซิเจน ปริมาณและชนิดแหล่งไนโตรเจน ค่าพีเอช และอุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นต้น โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* เพื่อผลิตเซลลูโลสต้องประกอบไปด้วยแหล่งอาหารที่มีน้ำตาลรีดิวซ์ในระดับความเข้มข้นที่เพียงพอและเติมเอทานอลเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนเสริมประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลส และเติมเพปโตนหรือแอมโมเนียมซัลเฟตเพื่อเป็นแหล่งไนโตรเจน ใช้ระดับปริมาณหัวเชื้อในช่วงร้อยละ 10-20 ปรับค่าพีเอชให้อยู่ในช่วง 4-6 และควรเติมออกซิเจนด้วยการหมักในสภาวะเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิช่วง 25-30 องศาเซลเซียส รวมถึงการนำเทคโนโลยีการหมักในรูปแบบต่างๆ มาปรับใช้ เช่น การตรึงเซลล์และการกระตุ้นให้แบคทีเรียเกิดการกลายพันธุ์ เป็นต้น ซึ่งการพัฒนากระบวนการผลิตเซลลูโลสจากกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรีย นอกจากจะเป็นการส่งเสริมให้มีการผลิตและประยุกต์ใช้เซลลูโลสในระดับอุตสาหกรรมแล้ว ยังเป็นการลดการนำเข้าผลิตภัณฑ์เซลลูโลสที่มีราคาสูงอีกด้วย

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณโปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการดำเนินงานจัดทำบทความฉบับนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

เอกสารอ้างอิง

กิ่งแก้ว เจริญพรสุข. 2547. การผลิตวุ้นสวรรค์จากเวย์. *วารสารพระจอมเกล้าลาดกระบัง 12(1)*: 36-41.

เกรียงไกร พัทยากร, อรัญญา พรหมกูล และวรรณทิชา เศวตบวร. 2558. คุณลักษณะของแบคทีเรียวุ้นสวรรค์ที่ผลิตได้จากแก้วมังกร. *แก่นเกษตร 43(1)*: 917-921.

จินตนา พรมวงษ์ป้อ, วนิดา โยคนิตย์ และจุฬาลักษณ์ เขมาชีวะกุล. 2560. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมักเพื่อผลิตวุ้นด้วย *Acetobacter xylinum* TISTR 975 จากน้ำมะม่วง. *วารสารวิจัยและพัฒนา มจธ. 40(2)*: 257-268.

วิจิตรา ใหม่จันทร์, พิชามญชุ์ กำมังละการ, สุวรรณา สุดปรึก, กุลนันท์ ปุ๊ดพรหม, ชุติมา อันชนะ, จันทร์ทิมา พงษ์พานิช และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. 2555. การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 086 โดยใช้ผลผลิตทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน. *วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ 3(2)*: 92-97.

อนันต์ บุญปาน, สิริแข พงษ์สวัสดิ์ และจิรพรรณ คำผา. 2553. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากกากน้ำตาล. น. 547-554. *ใน:* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48, 3-5 กุมภาพันธ์ 2553. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Castro, C., R. Zuluaga, J.L. Putaux, G. Caro, I. Mondragon and P.F. Gañán. 2011. Structural characterization of bacterial cellulose produced by *Gluconacetobacter swingsii* sp. from colombian agroindustrial wastes. *Carbohydr. Polym. 84(1)*: 96-102.

Chawla, P.R., I.B. Bajaj, S.A. Survase and R.S. Singhal. 2009. Microbial cellulose: fermentative production and applications. *Food Technol. Biotechnol. 47(2)*: 107-124.

Chinsamran, K. and R. Suttisuwan. 2015. Development of bacterial cellulose production in molasses by using coconut juice as the nutrient supplement and adding of gelling agent. *RMUTSB Acad. J. 3(2)*: 98-108.

Çoban, E.P. and H. Biyik. 2011. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter iovaniensis* HBB5. *Afr. J. Biotechnol. 10(27)*: 5346-5354.

Esa, F., S.M. Tasirin and N.A. Rahman. 2014. Overview of bacterial cellulose production and application. *Agric. Sci. Procedia. 2*: 113-119.

Gomes, F.P., N.H.C.S. Silva, E. Trovatti, L.S. Serafim, M.F. Duarte, A.J.D. Silvestre, C.P. Neto and C.S.R. Freire. 2013. Production of bacterial cellulose by *Gluconacetobacter sacchari* using dry olive mill residue. *Biomass and Bioenergy 55*: 205-211.

Hameed, N.D., M.H. Al-Jailawi and H.M. Jasim. 2012. Enhancement and optimization of cellulose production by *Gluconacetobacter xylinus* N2. *Sci. J. King Faisal University (Basic and Applied Sciences) 13(2)*: 77-89.

Ishihara, M., M. Matsunaga, N. Hayashi and V. Tišler. 2002. Utilization of *D*-xylose as carbon source for production of bacterial cellulose. *Enzyme Microb. Technol. 31(7)*: 986-991.

Joris, K.F., B.P. Wulfand and E. Vandamme. 1993. Enhanced bacterial cellulose yield in aerated *Acetobacter xylinum* culture by adding micro-particles. pp. 239-245. *In*: Kennedy, J.F., G.O. Philips and P.A. William (eds.). Cellulosic material for selective separation and other technology. Ellis Horwood, London.

Keshk, S.M.A.S. and K. Sameshima. 2005. Evaluation of different carbon sources for bacterial cellulose production. *Afr. J. Biotechnol. 4(6)*: 478-482.

Keshk, S. and K. Sameshima. 2006. Influence of lignosulfonate on crystal structure and productivity of bacterial cellulose in a static culture. *Enzyme Microb. Technol. 40*: 4-8.

Khami, S., W. Khamwichit, K. Suwannahong and W. Sanongraj. 2014. Characteristics of bacterial cellulose production from agricultural wastes. *Adv. Mater. Res. 1*: 693-697.

Lestari, P., N. Elfrida, A. Suryani and Y. Suryadi. 2014. Study on the production of bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* using agro-waste. *Jordan Journal of Biological Sciences 7(1)*: 75-80.

Masaoka, S., T. Ohe and N. Sakota. 1993. Production of cellulose from glucose by *Acetobacter xylinum*. *J. Ferment. Bioeng. 75(1)*: 18-22.

Nguyen, V.Y., B. Flanagan, M.J. Gidley and G.A. Dykes. 2008. Characterization of cellulose production by a *Gluconacetobacter xylinus* strain from kombucha. *Curr. Microbiol. 57(5)*: 449-453.

Nugroho, D.A. and P. Aji. 2015. Characterization of nata de coco produced by fermentation of immobilized *Acetobacter xylinum*. *Agric. Agric. Sci. Procedia. 3*: 278-282.

Oikawa, T., T. Morino and M. Ameyama. 1995. Production of cellulose from *D*-Arbitol by *Acetobacter xylinum* KU-1. *Biosci., Biotechnol., Biochem. 59(8)*: 1564-1565.

Okiyama, A., H. Shirae, H. Kano and S. Yamanaka. 1992. Bacterial cellulose I. Two-stage fermentation process for cellulose production by *Acetobacter uceti*. *Food Hydrocolloids 6(5)*: 471-477.

Panesar, P.S., Y.V. Chavan, M.B. Bera, O. Chand and H. Kumar. 2009. Evaluation of *Acetobacter* strain for the production of microbial cellulose. *Asian J. Chem. 21(10)*: 99-102.

Park, J.K., J.Y. Jung and Y.H. Park. 2003. Cellulose production by *Gluconacetobacter hansenii* in a medium containing ethanol. *Biotechnol. Lett. 25*: 2055-2059.

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

Ramana, K.V., A. Tomar and L. Singh. 2000. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter xylinum*. *World J. Microbiol. Biotechnol. 16*: 245-248.

Rangaswamy, B.E., K.P. Vanitha and B.S. Hungund. 2015. Microbial cellulose production from bacteria isolated from rotten fruit. *Int. J. Polym. Sci.2*: 1-8.

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

Son, H.J., H.G. Kim, K.K. Kim, H.S. Kim, Y.G. Kim and S.J. Lee. 2003. Increased production of bacterial cellulose by *Acetobacter* sp. V6 in synthetic media under shaking culture conditions. *Bioresour. Technol. 86*: 215-219.

Talawar, S., B. Narayanswamy and S.N. Ravindra. 2015. Optimization of fermentation conditions for Nata-de-Coco production. *J. Pure Appl. Microbio. 9*: 335-340.

Tantratian, S., P. Tammarate, W. Krusong, P. Bhattarakosol and A. Phunsri. 2005. Effect of dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter* sp. *J. Sci. Res. Chula Univ. 30(2)*: 179-186.

Verschuren, P.G., T.D. Carodona, M.J.R. Nout, K.D. de Gooijer and J.C. van den Heuvel. 2000. Location and limitation of cellulose production by *Acetobacter xylinum* established from oxygen profiles. *J. Biosci. Bioeng. 89(5)*: 414-419.

Watanabe, K. and S. Yamanaka. 1995. Effect of oxygen tension in the gaseous phase on production and physical properties of bacterial cellulose formed under static culture condition. *Biosci., Biotech., Biochem. 59(1)*: 65-68.

Yodsuwan, N., A. Owatworakit, A. Ngaokla, N. Tawichai and N. Soykeabkaew. 2012. Effect of carbon and nitrogen sources on bacterial cellulose production for bionanocomposite materials. pp. 1-6. *In*: 1st Mae Fah Luang University International Conference 2012, 29 November - 1 December 2012. Mae Fah Luang University, Chiang Rai.

Yoshino, T., T. Asakura and K. Toda. 1996. Cellulose production by *Acetobacter pasteurianus* on silicone membrane. *J. Ferment. Bioeng. 81(1)*: 32-36.