การผลิตเซลลูโลสจากน้ำคั้นยอดปาล์มน้ำมันโค่นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่โดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086

Cellulose Production from Oil Palm Shoot Juices Felled for Replanting by *Acetobacter xylinum* TISTR 086

เฉลิมเกียรติ แก้วนุ่น[1] สมพงศ์ โอทอง[2] และนันทรัตน์ พฤกษาพิทักษ์[3*]

Chalermkiet Kaewnun[1], Sompong O-Thong[2] and Nantharat Phruksaphithak[3*]

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาความเป็นไปได้ของการใช้น้ำคั้นยอดปาล์มน้ำมันโค่นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่ (OPSJ) เพื่อเป็นสารอาหารในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส (BC) โดยใช้เชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 โดยพบว่า OPSJ มีน้ำตาลทั้งหมด 53.93 กรัมต่อลิตร ทั้งนี้เมื่อใช้กล้าเชื้อแบคทีเรียที่ 20 ร้อยละโดยปริมาตร สามารถผลิต BC ได้ 4.14 ± 0.08 กรัมต่อลิตร ถูกเลือกใช้ในการศึกษาต่อ ในการทดลองผลิต BC ในอาหารเลี้ยงเชื้อ OPSJ ผสมกับ 50 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าวให้ผลผลิต BC สูงสุดเท่ากับ 4.70 ± 0.22 กรัมต่อลิตร เมื่อนำ OPSJ ย่อยด้วยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ที่ความเข้มข้น 650 ยูนิตต่อลิตร ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่าได้ปริมาณน้ำตาล 73.93 ± 0.12 กรัมต่อลิตร เมื่อนำ OPSJ ที่ผ่านการย่อยเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสผสมกับ 50 เปอร์เซ็นต์ น้ำมะพร้าวสามารถผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสสูงสุดที่ 4.94 ± 0.07 กรัมต่อลิตร ดังนั้นสามารถสรุปได้ว่า OPSJ สามารถเป็นแหล่งอาหารที่เหมาะสมและราคาถูกสำหรับการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส

ABSTRACT

The possibility of using oil palm shoot juices (OPSJ) as nutrient and carbon source for the bacterial cellulose (BC) production by *Acetobacter xylinum* TISTR 086 was investigated. OPSJ was mainly composed of total sugars (53.93 g/L). The effects of different inoculums on BC production highest yield was obtained at inoculums 20% (v/v) (4.14 ± 0.08 g/L). The highest yield was obtained at OPSJ with coconut juice at mixing ratios 50% (4.70 ± 0.06 g/L). OPSJ was digested with 650 IU/L of enzyme α-amylase at concentration enzyme at 37 °C for 24 h the highest sugar concentration of 73.93±0.12 g/L was obtained. OPTS digested by α-amylase was mixed with coconut juice gave the highest bacterial cellulose production at OPSJ with coconut juice at mixing ratios 50% (4.94 ± 0.07 g/L). OPSJ was suitable and cheap carbon source for bacterial cellulose production.

Keywords: Bacterial cellulose, *Acetobacter xylinum*, Oil Palm Shoot Juices

* Corresponding author; e-mail address: katenant@gmail.com

[1] นิสิตปริญญาโทสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

[1] Master degree, Department of Biotechnology, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210

[2] สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

[2] Department of Biotechnology, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210

[3] สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ พัทลุง 93210

[3] Department of Chemistry, Faculty of Science, Thaksin University, Phatthalung, 93210

คำนำ

เซลลูโลสเป็น Polysaccharide หรือ Carbohydrate-Polymer ที่พบมากในประเทศเขตร้อนโดยเฉพาะที่มีการเจริญเติบโตของพืช ถึงแม้ว่าจะเป็นโครงสร้างหลักของพืช แบคทีเรียก็สามารถที่จะสร้างเซลลูโลสได้ (Tanskul *et al*., 2013) เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial Cellulose) เป็นวัสดุชีวภาพซึ่งผลิตจากแบคทีเรียโดยมีคุณสมบัติที่น่าพอใจ เช่น มีความบริสุทธิ์สูงปราศจากพวกลิกนิน และเฮมิเซลลูโลส มีความเป็นผลึกสูง มีระดับความเป็นพอลิเมอร์สูง มีโครงสร้างระดับนาโน มีความต้านทานแรงดึง มีประสิทธิภาพในการจุน้ำสูง และมีความเข้ากันได้ทางชีวภาพได้ดี ทำให้มีการพัฒนาประยุกต์ใช้ในด้านอุตสาหกรรมการแพทย์ อุตสาหกรรมเครื่องสำอาง อุตสาหกรรมกระดาษ อุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหกรรมสิ่งทอ โดยการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสก็ต้องมีแหล่งคาร์บอนเพื่อใช้ในกระบวนการหมัก เช่น น้ำตาลกลุ่มน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว น้ำตาลโมเลกุลคู่ และแอลกอฮอล์ แต่วัตถุดิบเหล่านี้มักมีราคาแพง และบางครั้งให้ผลผลิตได้ไม่ดีเท่าที่ควรโดยปัญหาเหล่านี้นำไปสู่ต้นทุนที่สูง จึงได้พยายามที่จะผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียโดยใช้วัตถุดิบทางเลือก เช่น น้ำทิ้งจากการแปรรูปอาหาร กากน้ำตาล น้ำผลไม้ เปลือกข้าว ฟางข้าวสาลี เฮมิเซลลูโลสจากน้ำเสียการหมักสุรา (Hong *et al*., 2012) กากน้ำตาลจากอ้อย กากผลไม้ต่างๆ และพบว่าแหล่งคาร์บอนต่าง ๆ ก็นำไปสู่การเพิ่มผลผลิต และการลดค่าใช้จ่ายทางเศรษฐกิจ

ปาล์มน้ำมันเมื่อครบอายุการเก็บเกี่ยวประมาณ 20- 25 ปี จะต้องตัดทิ้ง เพื่อปลูกทดแทนต้นเดิมหรือปล่อยให้ย่อยสลายไปเองในระยะเวลาที่ยาวนาน คีย์ (Kee. 2004) พบว่าต้นปาล์มน้ำมันจะถูกโค่นทิ้งประมาณ 70 ตันของน้ำหนักแห้งต่อไร่ ทำให้ปัจจุบันประเทศไทยจึงมีปริมาณต้นปาล์มน้ำมันที่ไม่ก่อให้เกิดมูลค่าเป็นจำนวนมากพร้อมโค่นทิ้งประมาณ 20,000-45,000 ไร่ต่อปี ดังนั้นในแต่ละปีจะมีมวลชีวภาพจากลำต้นปาล์มประมาณ 1 ล้านตันต่อปี (อลิศรา และสมพงศ์. 2552) โดยต้นปาล์มน้ำมันมีเซลล์เก็บน้ำตาล (Sap Cell) ประมาณร้อยละ 70 ของน้ำหนักต้นเมื่อนำไปคั้นสดได้น้ำตาลมีความเข้มข้น 83 กรัมต่อลิตร น้ำคั้นลำต้นปาล์มประกอบด้วยน้ำตาล กลูโคส ซูโครส ฟรุกโตส และกาแลกโตส (Kosugi et al., 2010) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่คาดว่าสามารถนำไปหมักด้วยแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 086 ในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสได้

การศึกษาครั้งนี้มีความสนใจจะศึกษาการใช้ประโยชน์จากน้ำคั้นยอดปาล์มน้ำมันโค่นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่ ในการหมักร่วมกับน้ำมะพร้าวเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อหาสภาวะที่เหมาะสมในผลิตเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 เพื่อเป็นทางเลือกใหม่ที่จะใช้ทดแทนแหล่งอาหารที่มีราคาแพงและแหล่งเซลลูโลสจากพืชที่ใช้ระยะเวลาในการผลิตนานกว่าการผลิตจากแบคทีเรียที่ใช้เวลาน้อย และให้ผลผลิตที่มีคุณภาพดีทดแทนการใช้พืชลดการทำลาย ต้นไม้นอกจากนี้อาจช่วยลดภาวะโลกร้อนได้

อุปกรณ์และวิธีการ

เตรียมตัวอย่างน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมัน

นำยอดต้นปาล์มน้ำมันที่ถูกโค่นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่ (อายุประมาณ 25 ปี) มาตัดเป็นชิ้นเล็ก ๆ จากนั้นนำมาบดด้วยเครื่องบด (Hammer Mill) นำมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใช้วิธี Anthrone Method (Ashwell.1957) และเก็บน้ำคั้นไว้ที่อุณหภูมิ -20 องศาเซลเซียส เพื่อนำไปใช้ในการผลิตเซลลูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 ต่อไป

ศึกษาปริมาณน้ำตาลของน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-Amylase

นำน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันมาใส่ขวดรูปชมพู่ 100 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เติมเอนไซม์ α-Amylase ที่ความเข้มข้น 0, 130, 390, 650, 910, 1170 และ 1300 ยูนิตต่อลิตร เก็บผลทุก ๆ 6 ชั่วโมง นำไปวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดใช้วิธี Anthrone Method (Ashwell. 1957) เลือกความเข้มข้น และชั่วโมงของเอนไซม์ α-Amylase ที่ให้ปริมาณน้ำตาลสูงสุดทำการทดลองผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส

ศึกษาการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086

เริ่มต้นทดสอบความสามารถในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสกับปริมาณกล้าเชื้อโดยใช้กล้าเชื้อที่ความเข้มข้นร้อยละ 10, 20 และ 30 (v/v) เลือกความเข้มข้นที่ผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสได้สูงสุดไปใช้ในการทดลองต่อไป จะผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใส่ในขวดดูแรน ขนาด 250 มิลลิมิตร โดยใช้น้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันร่วมกับน้ำมะพร้าวโดยมีการใช้รหัสตัวอย่างเป็น P0(0:100), P90(90:10), P80(80:20), P70(70:30), P60(60:40), P50(50:50) และ P100(100:0) (%v/v) และใช้น้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันที่ผ่านการย่อยเอนไซม์ α-Amylase ที่ความเข้มข้นและเวลาที่ให้ผลของน้ำตาลมากที่สุดหมักร่วมกับน้ำมะพร้าวโดยมีการใช้รหัสตัวอย่างเป็น EP0(0:100), EP90(90:10), EP80(80:20), EP70(70:30), EP60(60:40), EP50(50:50) และ EP100(100:0) (%v/v) ปรับ pH เท่ากับ 4 ด้วย Acetic Acid นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที เติมเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 086 ที่ปริมาณเชื้อตั้งต้นที่ผลิตเซลลูโลสได้ดีที่สุด บ่มทิ้งไว้เลี้ยงเชื้อบ่มในสภาวะนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ในสถานที่ที่ไม่มีมดหรือแมลงหวี่ ทิ้งไว้เป็นเวลา 10 วัน ควรมาตรวจดูการปนเปื้อนจากเชื้อราทุกๆ 2 วัน หากพบการปนเปื้อนให้กำจัดทิ้ง เมื่อบ่มเสร็จจะมีแผ่นวุ้นแบคทีเรียเซลลูโลสที่ผิวหน้าอาหารและจะมีการผลิตกรดอะซิติกขึ้น

ทำบริสุทธิ์เซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086

หลังจากการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียแล้ว นำแผ่นเซลลูโลสมาตัดเป็นชิ้นเหมือนลูกเต๋านำมาต้มเดือดด้วยน้ำกลั่นจนกว่า pH ประมาณ 7 แล้วต้มด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดเซลล์ที่เจือปนออก นำชิ้นของเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาต้มด้วยน้ำกลั่นอีกครั้งเพื่อกำจัดส่วนประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและสารตกค้างอื่นออก จนได้เซลลูโลสสีใสที่ pH ประมาณ 7 สุดท้ายเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่บริสุทธิ์ถูกทำให้แห้งที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส อบไว้จนกว่าจะแห้งและได้น้ำหนักที่คงที่

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเซลลูโลสด้วยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโตรโฟโทมิเตอร์ (Fourier Transforms Infrared Spectrometry ; FT-IR)

เซลลูโลสจากแบคทีเรียบริสุทธิ์จะถูกวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันด้วยเครื่อง Fourier Transforms Infrared Spectrometer ในโหมด Attenuated Total Reflectance (ATR) เพื่อยืนยันโครงสร้างของเซลลูโลสโดยต้องนำแบคทีเรียเซลลูโลสที่อบแห้งไว้ นำไปเก็บไว้ในโถดูดความชื้นเป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนกว่าแผ่นแบคทีเรียเซลลูโลสจะมีน้ำหนักคงที่ จากนั้นนำตัวอย่างมาวางบนกระจก ZnSe แล้วทำการวิเคราะห์ในช่วงความยาวคลื่น 4000-650 เซนติเมตร โดยมีความละเอียดของการวิเคราะห์ (Scan) เท่ากับ 16 รอบและความละเอียดของการวิเคราะห์เท่ากับ 4

ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง

ผลของปริมาณน้ำตาลของน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-Amylase

จากการศึกษาการย่อยน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันด้วยเอนไซม์ที่ความเข้มข้นต่างกัน ซึ่งทดลองโดยเลือกตัวอย่างที่มีการย่อยเป็นเวลา 6, 12, 18, 24, 30, 36, 42 และ 48 ชั่วโมง พบว่าการย่อยน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันด้วยเอนไซม์ ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์ 650 ยูนิตต่อลิตร ให้ผลของน้ำตาลทั้งหมดได้ดีที่สุด และเมื่อมาดูระยะเวลาที่ใช้ในการย่อยพบว่าที่ 24 ชั่วโมง จะมีค่าความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดมากที่สุดที่ 73.93 กรัมต่อลิตร รองลงมาคือชั่วโมงที่ 30 และ 36 ตามลำดับ (Figure 1)เมื่อใช้ความเข้มข้นปริมาณของเอนไซม์ต่อซับสเตรดมากกว่าหรือน้อยกว่าที่ไม่เหมาะสม อัตราการเกิดปฏิกิริยาลดลงเนื่องจากไม่มีเอนไซม์และซับสเตรดเหลือพอที่จะทำปฏิกิริยา ปฏิกิริยาเคมีอาจหยุดชะงัดได้ด้วยสารประเภทหนึ่งที่เราเรียกว่า “ตัวยับยั้งเอนไซม์” ทั้งนี้การย่อยน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันด้วยเอนไซม์ ซึ่งใช้เอนไซม์ α-Amylase ช่วยในการย่อยสลายกลุ่มแป้งที่อยู่ในน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันเพื่อเลือกตัวอย่างที่มีการย่อยได้ปริมาณน้ำตาลดีที่สุดใช้เป็นแหล่งอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส

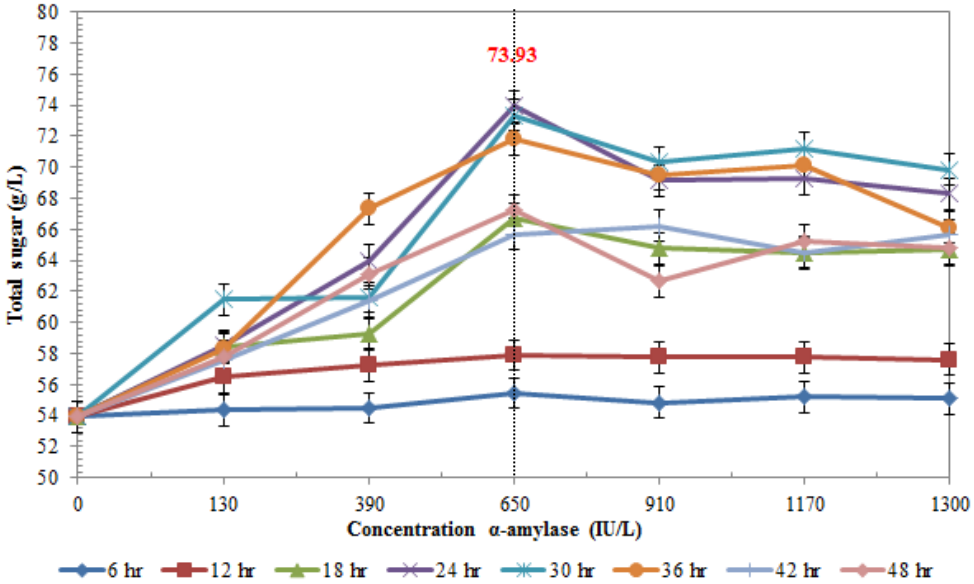

Figure 1 The total sugar contents obtained from various concentration of enzyme α-amylase and digestion time.

ผลของการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086

จากการศึกษาผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยใช้หัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 ที่ 10, 20 และ 30 % บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน พบว่าปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นจะมีผลต่อการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยความหนาและน้ำหนัก โดยพบว่าที่หัวเชื้อ 20% จะให้ผลในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสมากที่สุดที่ 4.14±0.12 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มปริมาตรหัวเชื้อเป็น 30% จะทำให้การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสลดลง ดังนั้นปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสคือ 20 % (Table 1) หากมีการใช้เชื้อเริ่มต้นในปริมาณมากกว่านี้จะทำให้การผลิตเซลลูโลสของเชื้อลดลง และพบว่าจำนวนเซลล์

แบคทีเรียจะหนาแน่นมากเกินไป ทำให้เกิดภาวะการแข่งขัน ทำให้มีการผลิตเซลลูโลสลดลง (พันทิพา โพธิ์วัน. 2547).

Table 1 Results of inoculums in different rates for yields of production.

Inoculums	Initial sugar (g/L)	Final sugar (g/L)	Initial pH	Final pH	Thickness of BC(mm)	BC (g/l)	Yield (g BC/g Sugar
10%	84.39	45.15	4.50	3.62	18.4±0.11	3.59±0.11	0.0425± 0.003
20%	84.39	43.72	4.50	3.48	21.7±0.14	4.14±0.12	0.0490±0.001
30%	84.39	49.29	4.50	3.42	18.8±0.13	3.46±0.15	0.0410±0.001

จากการศึกษาการผลิตเซลลูโลสด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 ในอาหารเลี้ยงเชื้อร่วมของน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันกับน้ำมะพร้าวที่อัตราส่วน P100 (100:0), P90 (90:10), P80 (80:20), P70 (70:30), P60 (60:40), P50 (50:50) และ P0 (0:100) ตามลำดับ และน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์กับน้ำมะพร้าวที่อัตราส่วน EP100 (100:0), EP90 (90:10), EP80 (80:20), EP70 (70:30), EP60 (60:40), EP50 (50:50) และ EP0 (0:100) โดยบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 วัน พบว่าตัวอย่าง P50 (น้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมัน 50 : 50 น้ำมะพร้าว) ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดที่ 4.70 ± 0.22 กรัมต่อลิตร มีค่า Yield เท่ากับ 0.0743 ± 0.001 g Bacterial Cellulose /g Sugar โดยมีความหนา 27.00 มิลลิเมตร และมี pH ที่ลดลงอยู่ที่ 4.18 และในตัวอย่าง EP50 (น้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์ α-Amylase ที่ความเข้มข้น 650 IU/L เป็นเวลา 24 ชั่วโมง 50% : น้ำมะพร้าว 50%) ให้ผลผลิตเซลลูโลสสูงสุดที่ 4.94 ± 0.07 กรัมต่อลิตร มีค่า Yield เท่ากับ 0.0637 ± 0.005 g Bacterial Cellulose /g Sugar โดยมีความหนา 30.75 มิลลิเมตร และมี pH ที่ลดลงอยู่ที่ 3.80 (Table 2, Figure 2) จากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าน้ำคั้นจากยอดปาล์มน้ำมันสามารถเป็นแหล่งอาหารเพื่อใช้เป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งอาจส่งผลต่อการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสได้ และพบว่าค่า pH ก็จะลดลงเมื่อมีการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสเนื่องจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 จะผลิตกรดอะซิติกออกมา

Table 2 Yield of bacterial cellulose production in fermentation media OPSJ and OPSJ was digested with enzyme amylase.

Sample	Initial sugar (g/L)	Final sugar (g/L)	Initial pH	Final pH	Thickness of BC(mm)	BC (g/l)	Yield (g BC/g Sugar)
P100	50.31	10.31	4.50	4.35	19.50±1.06	3.54±0.35	0.0704±0.008
P90	51.33	10.56	4.50	4.31	19.50±1.77	3.56±0.41	0.0694±0.009
P80	53.88	15.56	4.50	4.30	21.00±0.71	3.72±0.13	0.0689±0.002
P70	55.61	14.23	4.50	4.28	23.00±0.00	4.11±0.05	0.0739±0.003
P60	61.48	10.71	4.50	4.23	23.50±0.35	4.11±0.07	0.0669±0.003
P50	63.21	13.42	4.50	4.18	27.00±0.71	4.70±0.22	0.0743±0.001
P0	75.41	17.50	4.50	3.56	24.00±0.71	4.18±0.08	0.0555±0.003

EP100	73.78	32.76	4.50	3.96	23.50±0.70	4.31±0.09	0.0584±0.001
EP90	71.73	30.97	4.50	3.93	25.50±0.70	4.41±0.21	0.0615±0.001
EP80	74.64	30.87	4.50	3.94	24.50±0.70	4.39±0.03	0.0590±0.003
EP70	75.71	32.04	4.50	3.83	25.50±0.70	4.59±0.24	0.0606±0.000
EP60	76.73	27.19	4.50	3.83	26.25±0.35	4.67±0.00	0.0610±0.004
EP50	77.70	27.14	4.50	3.80	30.75±1.06	4.94±0.07	0.0637±0.005
EP0	83.06	20.26	4.50	3.77	24.00±1.41	4.18±0.06	0.0504±0.002

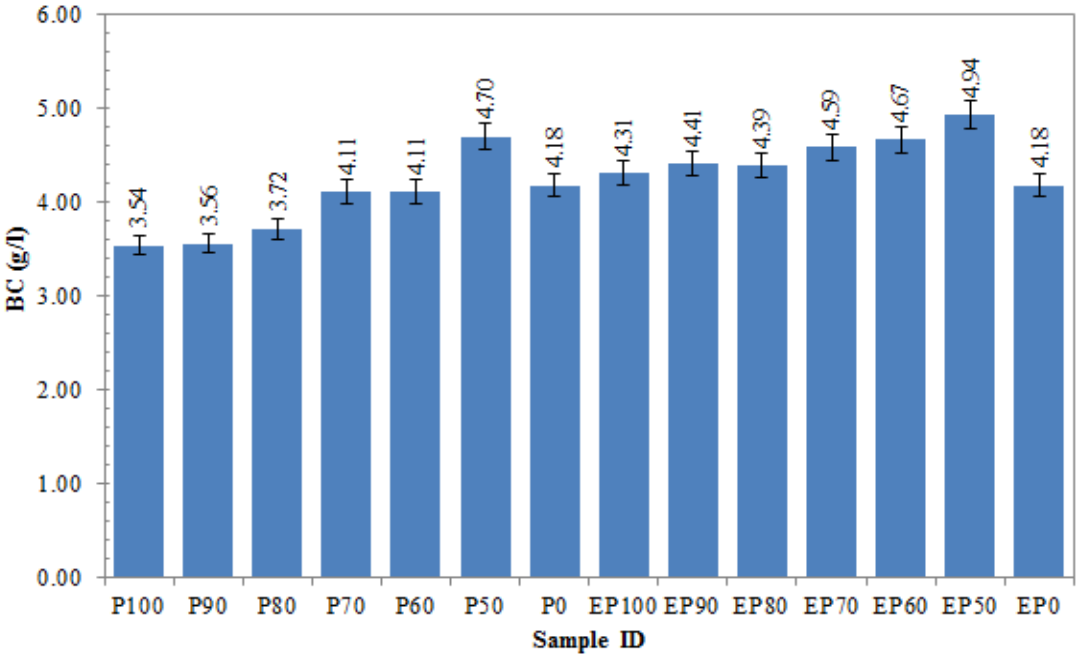

Figure 2 Bacterial cellulose production in fermentation media OPSJ and OPSJ was digested with enzyme amylase.

การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชันของเซลลูโลสด้วยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปกโตรโฟโทมิเตอร์ (Fourier Transforms Infrared Spectrometry ; FT-IR)

การพิสูจน์เอกลักษ์ของเซลลูโลสที่ผลิตโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 ด้วยเครื่อง Fourier Transforms Infrared Spectrometer ในโหมด Attenuated Total Reflectance (ATR) แสดงผลการศึกษาดัง (Figure 3) พบสัญญาณการดูดกลืนที่กว้างในช่วงความยาวคลื่นประมาณ 3000 และ 3600 cm^{-1} ซึ่งแสดงแถบการยืดของหมู่ไฮดรอกซิล (-OH group) ของหน่วยกลูโคส ซึ่งซ้อนทับกับแถบการยืดของหมู่เมททิล (-CH group) จึงพบสัญญาณการดูดกลืนเล็กน้อยในช่วงความยาวคลื่น 2800 – 2900 cm^{-1} นอกจากนี้ยังพบการดูดกลืนที่ความยาวคลื่นประมาณ 1076 - 1023 cm^{-1} เป็นการสั่นของพันธะ C-O-C ของ anhydroglucose การดูดกลืนที่ความถี่ประมาณ 1150 cm^{-1} นั้นแสดงถึงพันธะ C-C (Castro *et al.*, 2012)

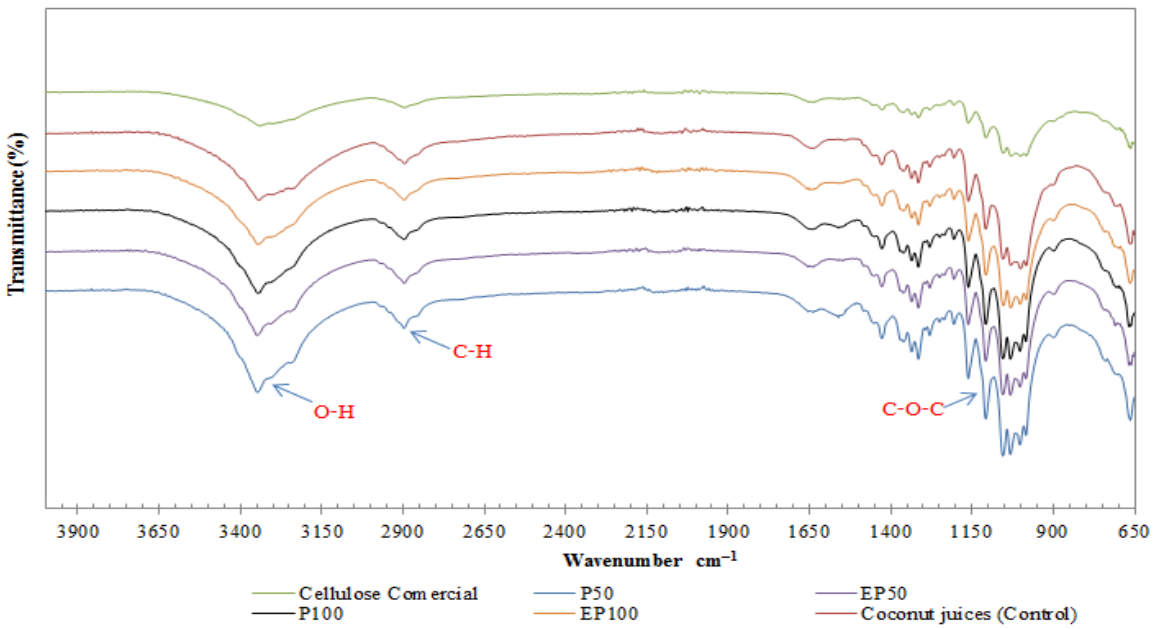

Figure 3 FT-IR spectrum of the BC membrane obtained from OPSJ with coconut juice.

สรุป

น้ำคั้นยอดปาล์มน้ำมันโค่นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่ (OPSJ) ซึ่งส่วนใหญ่ประกอบด้วยน้ำตาลทั้งหมด 53.93 กรัมต่อลิตร สามารถใช้เป็นแหล่งอาหารในการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086 ได้ 4.70 ± 0.06 และ 4.94 ± 0.07 กรัมต่อลิตร ดังนั้น OPSJ สามารถเป็นแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมและราคาถูกสำหรับแบคทีเรียเซลลูโลส และงานนี้สามารถใช้ในการศึกษาการผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสเพื่อเป็นวัสดุในการประยุกต์ใช้ต่อไป

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณสถาบัน วิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัยทักษิณ ที่สนับสนุนทุนในการวิจัย และขอขอบคุณหน่วยวิจัยการจักการทรัพยากรจุลินทรีย์ มหาวิทยาลัยทักษิณ และสาขาเทคโนโลยีชีวภาพ ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่และเครื่องมือวิจัย

เอกสารอ้างอิง

สมพงศ์ โอทอง และ อลิศรา เรืองแสง. 2552. **การพัฒนากระบวนการผลิตพลังงานชีวภาพจากลำต้นปาล์มอย่างมีประสิทธิภาพ**. รายงานการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติและภาควิชาชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยทักษิณ.

พันทิพา โพธิ์วัน. (2547). **การผลิตเซลลูโลสโดย *Acetobacter Xylinum* ที่อุณหภูมิสูง**. วิทยานิพนธ์ วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

Castro C., Zuluaga R., Alvarez C., Putaux J., Caro G., Rojas O., Mondragon I. and Ganan P. 2012. "Bacterial cellulose produced by a new acid-resistant strain of *Gluconacetobacter* genus," **Carbohydrate Polymers**. 89 : 1033 – 1037.

Hong F., Guo X., Zhang S., Han S., Yang G. and Jonsson L. 2012. "Bacterial cellulose production from cotton-based waste textiles: Enzymatic saccharification enhanced by ionic liquid pretreatment," **Bioresource Technology**. 104 : 503 – 508.

Kee K.K. (2004). "Nutrient reserves and recycling from oil plam trunk at replanting," In: Proceedings of the Fourth International Crop Science Congress on New Direction For a Diverse Plant, Brisbane, Retrieved May 25,2011,from http://www.regional.org.au/au/asa/2004/poster/2/3/376_keekk.htm

Kosugi A., Tanaka R., Magara K., Murata Y., Arai T., Sulaiman O.,Hashim R., Hamid Z.A.A., Yahya M.K.A., Yusof M.N.M., Ibrahim W.A., and Mori Y. (2010). "Ethanol and lactic acid production using sap squeezed from old oil palm trunks felled for replanting," **Bioscience and Bioengineering**. 110 : 322–325

Tanskul S., Amornthatree K. and Jaturonlak N. (2013). "A new cellulose-producing bacterium, *Rhodococcus* sp. MI 2: Screening and optimization of culture conditions," **Carbohydrate Polymers**. 92 : 421 – 428.