การผลิตแผ่นมาส์กจากแบคทีเรียลเซลลูโลสที่สังเคราะห์โดยใช้แบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 โดยใช้กากกาแฟเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ

The Production Of Bacterial Cellulose skin masks synthesized by *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 bacteria using coffee grounds as a culture medium

นางสาววรวินันท์ หนูนุ่ม

นายราชัน เหลืองกระโทก

นางสาวศศิธร เพิ่มอนันต์ชัย

โครงงานวัสดุศาสตร์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวัสดุศาสตร์

ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2564

การผลิตแผ่นมาส์กจากแบคทีเรียลเซลลูโลสที่สังเคราะห์โดยใช้แบคทีเรีย
***Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 โดยใช้กากกาแฟเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ**

The Production Of Bacterial Cellulose skin masks synthesized by *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 bacteria using coffee grounds as a culture medium

นางสาววินันท์ หนูนุ่ม

นายราชัน เหลืองกระโทก

นางสาวศศิธร เพิ่มอนันต์ชัย

โครงงานวัสดุศาสตร์ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวัสดุศาสตร์

ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

ปีการศึกษา 2564

หัวข้อโครงงาน **การผลิตแผ่นมาส์กจากแบคทีเรียลเซลลูโลสที่สังเคราะห์โดยใช้แบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 โดยใช้กากกาแฟเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ**
The Production Of Bacterial Cellulose skin masks synthesized by *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 bacteria using coffee grounds as a culture medium

ชื่อผู้วิจัย **นางสาววินันท์ หนูนุ่ม**

นายราชัน เหลืองกระโทก

นางสาวศศิธร เพิ่มอนันต์ชัย

อาจารย์ที่ปรึกษา **ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัครินทร์ บุญสมบัติ**

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม **รองศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ พริ้งศุลกะ**

โครงงานทางวัสดุศาสตร์นี้ ให้นับเป็นส่วนหนึ่งของหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวัสดุศาสตร์

ภาควัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

.... อาจารย์ที่ปรึกษา

(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัครินทร์ บุญสมบัติ)

.... อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม

(รองศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ พริ้งศุลกะ)

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานวิจัยเรื่องการผลิตแผ่นมาส์กจากแบคทีเรียเซลลูโลสที่สังเคราะห์โดยใช้ แบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 โดยใช้กากกาแฟเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ สามารถสำเร็จลุล่วงได้ด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อัครินทร์ บุญสมบัติ ที่ให้ความช่วยเหลือ ปรึกษาหารือให้คำแนะนำ ให้กำลังใจสร้างแรงผลักดัน และแก้ไขข้อบกพร่องของงานวิจัยนี้ ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการทำการศึกษาวิจัย คณะผู้วิจัยจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.อรอนงค์ พริ้งศุลกะ อาจารย์ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำและให้ความรู้เรื่องเชื้อแบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 ตลอดจนอำนวยความสะดวกในการทำการศึกษางานวิจัย ซึ่งผู้วิจัยนำความรู้มาปรับใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อไป

ขอขอบพระคุณ คณะอาจารย์ภาควิชาวัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่กรุณาให้ข้อเสนอแนะ คำติชม ตลอดจนให้กำลังใจและสร้างแรงผลักดันให้กับผู้วิจัย ซึ่งผู้วิจัยน้อมรับฟังเพื่อมาปรับปรุงการศึกษางานวิจัยจนสำเร็จลุล่วง

ขอขอบพระคุณนิสิตปริญญาโท ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่คอยให้คำปรึกษาแนะนำและแก้ไขข้อบกพร่อง ตลอดจนช่วยเหลือขั้นตอนการศึกษางานวิจัย ซึ่งผู้วิจัยได้ทำการศึกษาเพิ่มเติมตามคำแนะนำที่ได้รับ

ขอขอบพระคุณเจ้าหน้าที่คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ที่คอยอำนวยความสะดวกในการใช้สถานที่ทำการศึกษางานวิจัย ซึ่งผู้วิจัยมีความซาบซึ้งและขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูงมา ณ ที่นี้ด้วย

บทคัดย่อ

แบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านการสังเคราะห์โดยใช้เชื้อแบคทีเรียชนิด *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 ได้แสดงให้เห็นถึงศักยภาพที่ดีในการใช้งานได้หลากหลาย เช่น ระบบการรักษาบาดแผลแบบใหม่ โดยที่มีความแข็งแรงสูง หรือแม้แต่การมาส์กผิวหน้าที่มีกลิ่นและสารอาหารสำคัญให้แก่ผิว งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตมาส์กหน้าเซลลูโลสที่ผ่านการหมักของเชื้อแบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 จากกากกาแฟที่ผ่านการไฮโดรไลเสต ที่อุดมไปด้วยกลิ่นหอมของกาแฟและโพลีฟีนอล เซลลูโลสที่ผลิตได้จากการไฮโดรไลเสตตมีความแข็งแรงเชิงกลสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับเซลลูโลสที่เกิดจากอาหารเลี้ยงเชื้อแบบเหลว เมื่อทดสอบด้วยเครื่องทดสอบแรงอเนกประสงค์ (Universal testing machine) นอกจากนี้ความสามารถในการกักเก็บน้ำยังเพิ่มขึ้นอีกด้วย ผลลัพธ์เหล่านี้เป็นผลดีต่อการมาสก์หน้า เนื่องจากสารอาหารจากมาสก์จะกระจายสู่ผิวในขณะที่ความชุ่มชื่นยังคงอยู่ ดังนั้นมาสก์บำรุงผิวหน้าเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ทำมาจากกากกาแฟที่ใช้แล้วเป็นแนวทางที่สำคัญในการใช้ชีวมวลอย่างมีประสิทธิภาพ

คำสำคัญ : *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975, แบคทีเรียลเซลลูโลส, แผ่นมาส์กหน้า, ลักษณะของผิว, กากกาแฟ

Abstract

Synthesized bacterial cellulose (BC) by *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 has shown considerable potential in many applications, such as a novel wound healing system, an ultra-strength paper, or even a facial mask that smells and nutrients are important. This work aims to produce the cellulose facial mask via the crystalline fermentation of *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 from hydrolyzed spent coffee grounds that are rich in coffee aroma and polyphenols. The produced cellulose from hydrolysate showed higher mechanical strength when tested by the Universal testing machine compared with the cellulose generated from the commercial broth. Moreover, the water holding capacity was also enhanced. These results are positive for facial masks since nutrients from the mask diffuse to the skin while moisture is persisted. Then this bacterial cellulose facial mask made from spent coffee grounds is a prominent route to utilize biomass efficiently.

Keywords: *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975, bacterial cellulose, facial masks, skin characteristics, spent coffee grounds

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย ....ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ ....ข

สารบัญ ....ค

สารบัญตาราง ....ฉ

สารบัญรูป....................ช

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหางานวิจัย....................1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย....................2

1.3 ขอบเขตงานวิจัย....................3

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ....................3

1.5 ระยะเวลาที่ทำการวิจัย....................3

1.6 สถานที่ทำงานวิจัย....................3

บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....................4

2.1 Bacterial cellulose 4

2.2 *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975....................6

2.3 การปรับสภาพ....................6

2.3.1 วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)....................7

2.3.2 วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment)....................7

2.3.3 วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment) 7

2.3.4 วิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pretreatment)....................8

2.4 การย่อยเอนไซม์ 8

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.5 กาแฟและกากกาแฟ....9
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย.... 11
3.1 สารเคมี....11
3.2 เครื่องมือ 11
3.3 อุปกรณ์อื่น ๆ....12
3.4 เชื้อจุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อแบคทีเรีย....12
3.4.1 เชื้อจุลินทรีย์ 12
3.4.2 การเตรียมวัตถุดิบ 13
3.5 ย่อยกากกาแฟ 13
3.6 SOP for Glucose Assay Test....14
3.7 การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลส (BC)....15
3.7.1 การล้างแบคทีเรียลเซลลูโลส(BC)....15
3.8 การศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียลเซลลูโลส....16
3.8.1 การวิเคราะห์ทางเคมี 16
3.8.2 จลนพลศาสตร์การหมัก.... 16
3.8.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแผ่นฟอร์ม BC.... 17
3.8.4 Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR).... 17
3.8.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ 17
3.9 การวัดความทึบแสงและโปร่งแสง....17
3.10 การวัดค่าวัดชุ่มชื้นของผิวหนัง....18

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 4 ผลการดำเนินงานวิจัย 19

4.1 การศึกษาตัวอย่างน้ำกากกาแฟ 19

4.2 การลงเชื้อแบคทีเรียเพื่อนำมาผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส 20

4.2.1 ความเข้มข้นน้ำตาล 24

4.2.2 BC production 25

4.2.3 Substrate conversion ratio 26

4.2.4 BC production yield 27

4.2.5 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity) 28

4.2.6 ความสามารถในการให้ความชุ่มชื้นต่อผิว 29

4.3 การศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียลเซลลูโลส 30

4.3.1 การวิเคราะห์ความหนาของแบคทีเรียลเซลลูโลสด้วยเครื่องไมโครมิเตอร์ 30

4.3.2 การวิเคราะห์สมบัติความทึบแสง-โปร่งแสงด้วยเครื่อง Colorimeter 31

4.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด 32

4.3.4 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีด้วยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรมิเตอร์ 34

บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ 35

บรรณานุกรม 36

ภาคผนวก 40

ภาคผนวก ก ข้อมูลดิบการทดลอง 41

ประวัติผู้วิจัย 49

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ 3.1 แสดงอัตราส่วนการวัดน้ำตาลรีดิวซ์ 14
ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟโรบัสต้าและกากกาแฟอราบิก้า 20
ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลวันที่ลงเชื้อวันแรก และวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง.. 24
ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ 34

สารบัญรูปภาพ

หน้า

ภาพประกอบที่ 2.1 ลักษณะโครงสร้างโดยรวมของแบคทีเรียลเซลลูโลส 5
ภาพประกอบที่ 2.2 ส่วนประกอบของเมล็ดกาแฟ..9
ภาพประกอบที่ 3.1 ขั้นตอนการย่อยกากกาแฟด้วย KOH...13
ภาพประกอบที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส (BC)..15
ภาพประกอบที่ 3.3 ขั้นตอนการล้างแบคทีเรียลเซลลูโลส 15
ภาพประกอบที่ 3.4 การวัดค่าวัดชุ่มชื้นของผิวหนัง..18
ภาพประกอบที่ 4.1 A) กากกาแฟอราบิก้าและโรบัสต้าที่ผ่านการปรับสภาพและ B) เครื่องปั่นเหวี่ยง................ 19
ภาพประกอบที่ 4.2 A) เชื้อแบคทีเรีย *K. nataicola* 975 ที่ปริมาตร 10 ml B) เชื้อแบคทีเรีย *K. nataicol* 975 ที่ปริมาตร 100 ml C) ทำการบ่มที่สภาวะแบบเขย่าทำให้เกิดการฟอร์มตัวแบบก้อน และD) ทำการบ่มที่สภาวะแบบนิ่งทำให้เกิดการฟอร์มตัวแบบแผ่น. 21
ภาพประกอบที่ 4.3 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 0% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่งระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง.................... 21
ภาพประกอบที่ 4.4 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 25% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่งระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง......... 22
ภาพประกอบที่ 4.5 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 50% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่ง ระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง......... 22
ภาพประกอบที่ 4.6 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 75% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่ง ระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง......... 23
ภาพประกอบที่ 4.7 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 100% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่ง ระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105 °C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง 23

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

หน้า

ภาพประกอบที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปในสร้างแบคทีเรียลเซลลูโลส 24
ภาพประกอบที่ 4.9 การศึกษาผลผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรที่ใช้การหมักคือ 0.029 25
ภาพประกอบที่ 4.10 พื้นผิวของแบคทีเรียลเซลลูโลสที่โตขึ้นมาเทียบกับอัตราการใช้น้ำตาล........ 26
ภาพประกอบที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป (g/L) กลายเป็นแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส........ 27
ภาพประกอบที่ 4.12 แสดงความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity) 28
ภาพประกอบที่ 4.13 การเปรียบเทียบความสามารถในการให้ความชุ่มชื้นต่อผิวของแต่ละตัวอย่าง 29
ภาพประกอบที่ 4.14 ค่าเฉลี่ยความชุ่มชื้นและความมันของตัวอย่างแบคทีเรียลเซลลูโลสที่มีค่า BC Production สูงสุด 2 อันดับแรก 29
ภาพประกอบที่ 4.15 ค่าเฉลี่ยความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสจากเครื่องไมโครมิเตอร์ 30
ภาพประกอบที่ 4.16 ค่าเฉลี่ยความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส........31
ภาพประกอบที่ 4.17 โดย (A), (B) ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ HS ที่สภาวะการเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 30°C ด้วยเทคนิค SEM กำลังขยาย 15,000 เท่า (C) และกำลังขยาย 70,000 เท่า (D) และผลการวิเคราะห์เส้นใยที่มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.073 μm........32
ภาพประกอบที่ 4.18 โดย (A), (B) ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ASCG 50% ที่สภาวะการเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 30°C ด้วยเทคนิค SEM กำลังขยาย 15,000 เท่า (C) และกำลังขยาย 70,000 เท่า (D) และผลการวิเคราะห์เส้นใยที่มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.051 μm........33
ภาพประกอบที่ 4.19 โดย (A), (B) ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ RSCG 50% ที่สภาวะการเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 30°C ด้วยเทคนิค SEM กำลังขยาย 15,000 เท่า (C) และกำลังขยาย 70,000 เท่า........33
ภาพประกอบที่ 4.20 Fourier Transform Infrared Spectroscopy ; FT-IR........34

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหางานวิจัย

ในช่วงปี พ.ศ. 2554 – พ.ศ. 2558 มีการขยายตัวอย่างมากในตลาดกาแฟ ล่าสุดในปี พ.ศ. 2563 ตลาดกาแฟมีมูลค่าที่มากขึ้นเรื่อยๆ ในปี พ.ศ. 2570 มีการคาดการว่าจะสูงถึงหลายพันล้านดอลลาร์สหรัฐ ซึ่งในประเทศไทยการบริโภคกาแฟของคนไทยในปี พ.ศ. 2563 มีอัตรามากโดยเฉลี่ยอยู่ที่ 300 แก้วต่อคนต่อปี จากการที่มีการบริโภคกาแฟมากขึ้นนั้นส่งผลให้มีกากกาแฟที่เป็นของเหลือทิ้งจากการชงกาแฟนั้นมีปริมาณมาก ซึ่งได้มีผู้นำเอากากกาแฟมาใช้ประโยชน์ในหลายด้าน [20] เช่น การนำกากกาแฟมาผลิตเป็นแก้วกาแฟ การขัดผิวด้วยกาแฟ รวมไปถึง นำกากกาแฟมาปลูกต้นไม้ เป็นต้น ซึ่งในกากกาแฟมีเส้นใยเฮมิเซลลูโลส และเซลลูโลสเป็นส่วนประกอบหลัก [29]

ปัจจุบันผลิตภัณฑ์มาส์กหน้าเป็นอีกหนึ่งทางเลือกของกลุ่มผู้ใช้ผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้าที่ได้รับการยอมรับว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ช่วยเพิ่มสารอาหารบำรุงให้แก่ผิวหน้าโดยตรง [1] ทำให้ผิวหน้านุ่มชุ่มชื้น อิ่มน้ำ และมีความเปล่งปลั่ง เนื่องจากความนิยมของผู้บริโภคนั้นต้องการดูแลผิวหน้าอย่างล้ำลึกปลอดภัย และต้องการความสะดวกสบายในการใช้งาน ทำให้แผ่นมาส์กหน้าที่วางจำหน่ายในปัจจุบันนั้นมีหลากหลายรูปแบบและมีมูลค่าทางการตลาดสูง จากการอ้างอิงข้อมูลของ Euromonitor พบว่า ตลาดความงามในไทยในปี พ.ศ. 2562 มีการเติบโตจากปีก่อนหน้านี้ 6.7% คิดเป็นมูลค่าตลาดรวม 2.18 แสนล้านบาท โดยกลุ่มผลิตภัณฑ์ดูแลผิวยังครองส่วนแบ่งการตลาดเป็นอันดับ 1 ด้วยสัดส่วน 42% จากกลุ่มผลิตภัณฑ์อื่น [26] โดยผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้า (Facial Mask) มีมูลค่าการตลาดที่มากที่สุดในบรรดาผลิตภัณฑ์ดูแลผิวและมีมูลค่าการตลาดเติบโตอย่างต่อเนื่องทุกปี [8] แต่ในปี พ.ศ. 2563 ถึง พ.ศ. 2564 ได้มีการแพร่ระบาดของโควิด 19 จึงทำให้มีการล็อกดาวน์ประเทศส่งผลให้มีการชะลอตัวด้านเศรษฐกิจจึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ตลาดความงามกลุ่มผลิตภัณฑ์ดูแลผิวอยู่ในสภาวะติดลบ คาดการว่าภายในอีก 3 - 5 ปี ข้างหน้าตลาดความงามจะกลับมามียอดขายทางการตลาดเติบโตอีกครั้ง

ผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้าจัดเป็นกลุ่มสกินแคร์ที่มีอัตราการเติบโตและยอดขายขยายตัวอย่างต่อเนื่องในทิศทางที่เพิ่มมากขึ้นทุกปี อีกทั้งยังมีคู่แข่งทางธุรกิจทำให้มีการแข่งขันสูงตลอดเวลาเพราะฉะนั้นจึงจำเป็นจะต้องสร้างสรรค์พัฒนาผลิตภัณฑ์ดูแลผิวหน้าใหม่ ๆ [30] ที่มีประสิทธิภาพดีมากกว่าเดิมและมีความแปลกใหม่อยู่เสมอเพื่อดึงดูดกลุ่มลูกค้าให้มีการใช้งานอย่างต่อเนื่องนั่นคือผลิตภัณฑ์ประเภทมาส์กหน้า (Facial Mask) สำหรับแผ่นมาส์กหน้านั้นจะแบ่งตามความแตกต่างของตัวแผ่นมาส์กซึ่งสามารถแบ่งออกเป็น 2 ประเภท คือ แผ่นมาส์กที่ทำ

จากเยื่อกระดาษ และแผ่นมาส์กที่ทำจากไบโอเซลลูโลสซึ่งลักษณะคล้ายแผ่นเจลมีความยืดหยุ่น แผ่นมาส์กมีการยึดเกาะ เรียบไปกับผิวหนังทำให้เซรั่มในมาส์กซึมเข้าสู่ผิวหน้าได้อย่างมีประสิทธิภาพ ในระหว่างการใช้งานแผ่นมาส์กเซลลูโลสจะไม่แห้งและยังคงความชุ่มชื้นตลอดเวลาขณะที่ใช้แผ่นมาส์ก โดยในปัจจุบันแผ่นมาส์กที่ทำจากไบโอเซลลูโลสสามารถผลิตได้จากแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ได้จากกรรมวิธีการหมักด้วยแบคทีเรียสกุล *Komagataeibacter, Acetobacter, Agrobacterium* และ *Sarcina* เป็นต้น โดยส่วนใหญ่จะนิยมในการใช้สายพันธุ์ *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 โดยเป็นแบคทีเรียในวงศ์ *Acetobacteraceae* ซึ่งเป็นแบคทีเรียแกรมลบมีรูปร่างเป็นรูปไข่และรูปแท่ง อยู่เป็นทั้งเซลล์เดี่ยวและเซลล์คู่หรือเรียงต่อกันเป็นสาย ต้องการอากาศในการเจริญเติบโตสามารถผลิตกรดอะซิติก (Acetic acid) สามารถเจริญได้ดีที่สภาวะอุณหภูมิ 25 - 30°C มีความเป็นกรดด่าง และมี pH 3 - 7 มีการใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต เป็นแบคทีเรียที่สามารถสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ [6] และมีประโยชน์อย่างมากในการผลิตเซลลูโลสในเชิงอุตสาหกรรม เนื่องจากปริมาณการผลิตเซลลูโลสของ *K. nataicola* TISTR 975 นั้นมีปริมาณมากกว่าและระยะเวลาในการหมักที่เวลาน้อยกว่าแบคทีเรียชนิดอื่น ๆ [17] สำหรับอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียปัจจุบันได้มีการใช้สารประกอบราคาสูงหลายประเภทเช่น Glucose, Peptone, Yeast extract, Citric acid ทำให้งานวิจัยนี้ผู้วิจัยได้สนใจนำเอากากกาแฟมาใช้เป็นวัตถุดิบในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียลเซลลูโลสเพราะเป็นวัตถุดิบต้นทุนต่ำสามารถช่วยลดต้นทุนในการผลิตเซลลูโลส และได้มีงานวิจัยก่อนหน้าแสดงให้เห็นว่าสามารถเลือกนำกากกาแฟมาใช้เป็นเชื้อในการเพาะเลี้ยงแบคทีเรียลเซลลูโลสได้ [19]

งานวิจัยนี้จึงมีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนามาส์กเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *K. nataicola* TISTR 975 โดยหมักกับกากกาแฟเหลือใช้ เพื่อทำให้ได้วัสดุแผ่นมาส์กหน้าเซลลูโลสที่มีประสิทธิภาพการกักเก็บความชุ่มชื้นได้ดีและมีระยะเวลาการเก็บรักษาได้นานขึ้น อีกทั้งวัสดุแผ่นมาส์กหน้าเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *K. nataicola* TISTR 975 ยังช่วยเพิ่มมูลค่ากากกาแฟที่เป็นวัสดุเหลือใช้ให้เกิดประโยชน์อีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 เพื่อศึกษาการย่อยกากกาแฟเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ผ่านการปรับสภาพด้วยเบสและการย่อยด้วยเอนไซม์

1.2.2 เพื่อศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสโดย *K. nataicola* TISTR 975 เมื่อใช้น้ำตาลที่ย่อยจากกากกาแฟเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.2.3 เพื่อศึกษาความสามารถการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity, WHC) และคุณลักษณะทางกายภาพรวมถึงคุณลักษณะทางเคมีของแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ได้จาก *K. nataicola* TISTR 975

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 กากกาแฟที่ใช้ย่อยเป็นน้ำตาลรีดิวซ์ คือ กากกาแฟชนิด Arabica และ Robusta ผ่านการปรับสภาพด้วย KOH และการย่อยด้วยเอนไซม์เซลลูเลส

1.3.2 ศึกษาสัดส่วนของน้ำย่อยกากกาแฟที่ผสมกับอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรมาตรฐาน คือ 0%, 25%, 50%,75% และ 100%

1.3.3 สมบัติการอุ้มน้ำสามารถคำนวณได้จากความสามารถในการกักเก็บน้ำของแบคทีเรียลเซลลูโลส สำหรับคุณลักษณะทางกายภาพตรวจสอบด้วย SEM และคุณลักษณะทางเคมีตรวจสอบด้วย FT-IR

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 สามารถผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสจากเชื้อที่คัดแยกได้โดยใช้กากกาแฟที่ผ่านการปรับสภาพ

1.4.2 สามารถย่อยกากกาแฟด้วยเอมไซม์เพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนสำหรับแบคทีเรียลเซลลูโลสได้

1.4.3 สามารถนำแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ได้ไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า

1.5 ระยะเวลาที่ทำการวิจัย

มกราคม พ.ศ. 2565 – พฤษภาคม พ.ศ. 2565

1.6 สถานที่ทำงานวิจัย

ห้องปฏิบัติภาควัสดุศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

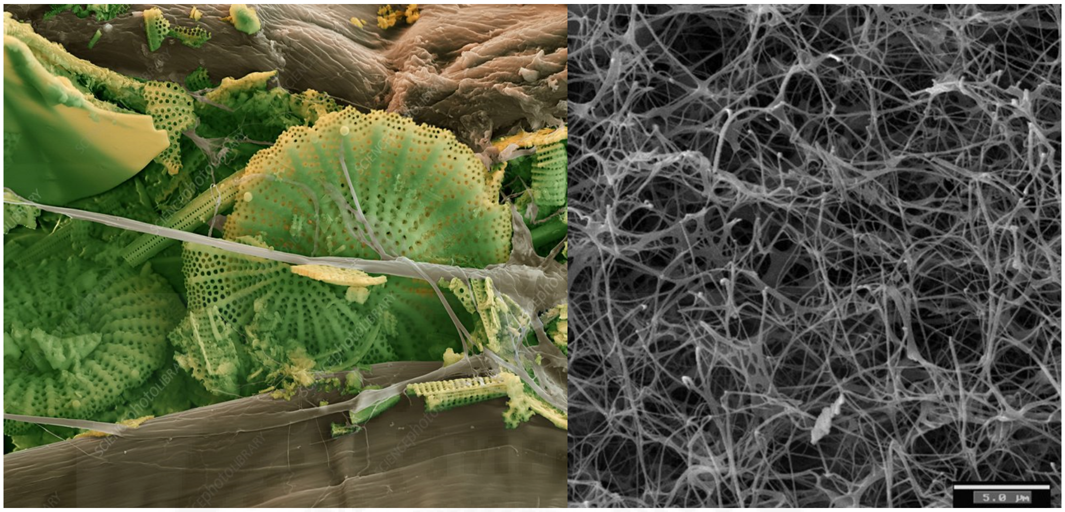
บทที่ 2

เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

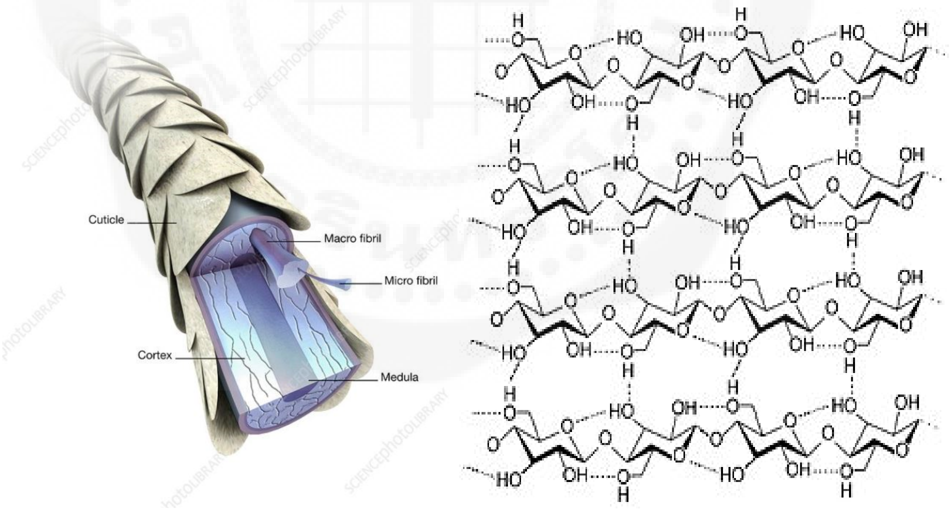
2.1 Bacterial cellulose

แบคทีเรียลเซลลูโลสคล้ายคลึงกับเซลลูโลสจากพืชซึ่งมีสูตรโมเลกุล ($C_6H_{10}O_5$)N แตกต่างกันตรงที่แบคทีเรียลเซลลูโลสมีสมบัติที่เป็นความบริสุทธิ์สูงกว่า ปราศจากเฮมิเซลลูโลส เพคติน และลิกนิน มีเสถียรภาพทางเคมีและมีความเป็นผลึกสูง [5] มีระดับการเกิดพอลิเมอร์ (Degree of polymerization; DP) [35] ซึ่งโมเลกุลของเซลลูโลสจะอยู่ในลักษณะเป็นเส้นยาวเรียงขนานกันเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนและรวมกันมีลักษณะเป็นเส้นใยเล็ก ๆ เรียกว่าไฟบริล (Fibril) [33] โดยทั่วไปจะไม่พบเซลลูโลสที่เรียงตัวเป็นเส้นเดียว แต่จะพบเซลลูโลสลักษณะเป็นกลุ่มเรียงตัวขนานและเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไฮโดรเจนระหว่างคาร์บอน ตำแหน่งที่ 3 ของโมเลกุลหนึ่งกับออกซิเจนอะตอมที่อยู่ในวงแหวนของโมเลกุลอื่นอย่างมีระเบียบเรียกว่าผลึกไมเซล (Crystalline micelle) ซึ่งแต่ละไมเซลประกอบด้วยโมเลกุลของเซลลูโลสประมาณ 100 โมเลกุลและมีลักษณะรูปร่างเป็นริบบิ้นหนาในรูปไมโครไฟบริล (Microfibril) ซึ่งในไมโครไฟบริลจะมีลักษณะเป็นพาราเจล (Paragel) หมุนไปทางซ้ายเกิดจากการเรียงตัวของไมเซลประมาณ 10-20 ไมเซลหรือทับกับเป็นเกลียวรอบแกนของเส้นใยโดยมีพันธะไฮโดรเจน 2 ตำแหน่งในแต่ละเส้นสายของเซลลูโลสเซลลูโลสคือระหว่างออกซิเจนตำแหน่งที่ 5 ของน้ำตาลกลูโคสกับหมู่ไฮดรอกซิลตำแหน่งที่ 2 ของน้ำตาลกลูโคสโมเลกุลใกล้กันและระหว่างหมู่ไฮดรอกซิลตำแหน่งที่ 3 กับออกซิเจนในวงแหวนอื่นแสดงดังภาพที่ 2.1

ลักษณะโครงสร้างของแบคทีเรียลเซลลูโลส



โครงสร้างสามมิติของแบคทีเรียลเซลลูโลส



การจัดเรียงตัวของ Microfibil และพันธะไฮโดรเจนเชื่อมต่อกันระหว่างเซลลูโลส

ภาพที่ 2.1 ลักษณะโครงสร้างโดยรวมของแบคทีเรียลเซลลูโลส

ที่มา : (Sulaeva rt al. 2015)

2.2 *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975

Komagataeibacter nataicola เป็นแบคทีเรียอยู่ในวงศ์ *Acetobacteraceae* [13] มีชื่อเดิมว่า *Gluconacetobacter xylinus* [18] และชื่อ *Acetobacter xylinum* [23] เป็นแบคทีเรียแกรมลบ (Gram negative bacteria) ที่เป็นหนึ่งในจุลินทรีย์ที่มีการศึกษามากที่สุด [22] เจริญเติบโตได้ดีที่สภาวะค่า pH 5.4-6.3 ที่อุณหภูมิ 25-30℃ [13] *Komagataeibacter nataicola* มีลักษณะที่สำคัญคือ มีความสามารถในการสังเคราะห์เซลลูโลสได้ ซึ่งจะหลั่งเซลลูโลสจำนวนมากออกมาเป็นไมโครไฟบริล และรวมตัวกันเพื่อสร้างริบบิ้นเซลลูโลสขนาดใหญ่ ริบบิ้นจะก่อตัวเป็นเกล็ดลักษณะยกตัวขึ้นเพื่อสัมผัสกับออกซิเจน ทำให้สามารถเจริญเติบโตได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนสูง [13] แบคทีเรียชนิดนี้จึงมีรายงานว่าเป็นแบคทีเรียที่ผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสได้มีประสิทธิภาพมากที่สุด [22] อีกทั้งผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์ได้ออกมาสูง มีความสามารถในการออกซิไดซ์ได้ในรูปแบบพื้นผิวที่หลากหลาย สามารถทนต่อเอทานอลและทนต่อกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นสูง [18] งานวิจัยนี้จึงเลือกใช้แบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 เพื่อผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสโดยใช้อาหารเพาะเลี้ยงจากกากกาแฟ

2.3 การปรับสภาพ

กระบวนการปรับสภาพจึงมีความสำคัญและจำเป็นสำหรับการใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ในการผลิตโอลิโกแซ็กคาไรด์ในระดับอุตสาหกรรม [24] ในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบจะกระตุ้นให้มีการเปลี่ยนคุณสมบัติทางด้านกายภาพคือทำให้ชั้นแมทริกซ์ของวัสดุลิกโนเซลลูโลสถูกทำลายซึ่งมีผลทำให้เอนไซม์สามารถทำงานอย่างมีประสิทธิภาพส่งผลต่อการ เร่งปฏิกิริยาไฮโดรไลเสตสามารถทำงานได้ง่ายขึ้น ในการศึกษาจะแสดงให้เห็นถึงกระบวนการปรับสภาพมีความสำคัญจะเป็นตัววัดความสำเร็จของเทคโนโลยีในการแปลงเซลลูโลส เนื่องจากเป็นตัวช่วยแสดงให้เห็นถึง ความคุ้มค่าทางพาณิชย์ในการเปลี่ยนเซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลสที่สามารถเปลี่ยนให้เป็นเอทานอลได้ จุดประสงค์ของการปรับสภาพวัตถุดิบ คือ เป็นการกำจัดลิกนินและเฮมิเซลลูโลส ลดความเป็นผลึกของเซลลูโลส และเพิ่มความพรุนความวัสดุซึ่งกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบเป็นต้น สามารถแบ่งได้เป็น 4 วิธีหลักๆ ซึ่งแต่ละวิธีมีวิธีย่อยลงไปอีกดังนี้

2.3.1 วิธีทางกายภาพ (Physical pretreatment)

การใช้แรงทางกล (Mechanical communition) วิธีการทำให้วัตถุดิบมีขนาดเล็กลงสามารถทำได้หลายวิธีเช่น การทุบ การบด การโม การเขย่าวัตถุดิบ เป็นต้น [31], การไพโรไลซิส (Pyrolysis) วิธีการอบที่ใช้ความร้อนที่อุณหภูมิสูงให้วัตถุดิบกลายสภาพเป็นแก๊สหรือของแข็ง กระบวนการจะทำได้ช้าและการระเหยจะต่ำถ้าใช้อุณหภูมิต่ำจากการวิจัยพบว่าการใช้อุณหภูมิมากไปหรือน้อย และการใช้ความร้อน (Thermal heat treatment) เป็นการปรับสภาพของวัตถุดิบเพื่อทำลายเนื้อเยื่อของเซลลูโลส ซึ่งโดยส่วนใหญ่มักจะใช้ อุณหภูมิมากกว่า 150-180°C แต่ต้องทำให้วัสดุมีขนาดที่เล็กลง

2.3.2 วิธีการทางชีวภาพ (Biological pretreatment)

จุลินทรีย์สามารถใช้ในการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลสและยังเป็นการเพิ่ม ประสิทธิภาพในย่อยวัตถุดิบด้วยเอนไซม์ ในการใช้จุลินทรีย์ในการปรับสภาพ ยังย่อยลิกนิน รวมทั้งย่อยเฮมิเซลลูโลสด้วยส่วนเซลลูโลสถูกย่อยน้อยมากซึ่งเซลลูโลสมีความต้านทานในการถูกจุลินทรีย์ย่อยของจุลินทรีย์ได้ มากกว่าส่วนอื่นๆ ของลิกโนเซลลูโลส [25]

2.3.3 วิธีการทางเคมี (Chemical pretreatment)

การทำปฏิกิริยากับโอโซน (Ozonolysis) โอโซนเป็นตัวออกซิแดนซ์ที่มีประสิทธิภาพ และสามารถทำให้เกิดการแตกตัวของลิกนินและ เฮมิเซลลูโลสในวัสดุพวกฟางข้าวได้ วิธีนี้มีจุดเด่นคือ เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเอาลิกนินออกได้ดี ไม่มี สารพิษที่จะไปยับยั้งการทำปฏิกิริยาในส่วนต่างๆ กระบวนการนี้สามารถทำได้ที่อุณหภูมิห้อง แต่ผลเสียของวิธีนี้ คือค่าใช้จ่ายที่สูงมาก [31], การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้ด่าง (Alkali pretreatment) การใช้ด่างในกระบวนการปรับสภาพวัตถุดิบมีผลต่อวัสดุจำพวกลิกโนเซลลูโลส และผลของ ด่างที่ใช้ในกระบวนการแปลงสภาพจะขึ้นอยู่กับปริมาณของลิกนินที่มีอยู่ในวัสดุนั้นด้วย [27] ,การทำปฏิกิริยาด้วยการใช้กรด (Acid pretreatment) กระบวนการปรับสภาพโดยการใช้กรดนั้นมีจุดประสงค์คือเพื่อให้ได้น้ำตาลในปริมาณที่สูงจากวัสดุชีวมวล ชนิดของกรดที่นำมาปรับสภาพมีมากมายหลายประเภทได้แก่ กรดซัลฟิวริก ไฮโดรคลอริกไนตริก หรือฟอสฟอริก ในกระบวนการแปลงสภาพสามารถใช้ได้ทั้งกรดเข้มข้นและเจือจางเพื่อเพิ่มการทำงานของ กระบวนไฮโดรไลเสต [28]

2.3.4 วิธีทางกายภาพร่วมกับทางเคมี (Physicochemical pretreatment)

การระเบิดด้วยไอน้ำ (Steam explosion) วิธีการระเบิดด้วยไอน้ำเป็นวิธีที่ได้รับความนิยมในการปรับสภาพวัตถุดิบประเภทลิกโน เซลลูโลส [27] การระเบิดด้วยไอน้ำโดยส่วนใหญ่แล้วจะที่อุณหภูมิช่วง 160-260°C ภายใต้ความดัน 0.69-4.82 MPa. วัตถุดิบจะถูกผสมกับไอน้ำอิ่มตัวที่ความดันสูง แล้วทำการลดความดันอย่างรวดเร็ว เป็นผลทำให้เกิดการแยกเอาเซลลูโลส เฮมิเซลลูโลส และลิกนินออกจากกันที่อุณหภูมิสูง โดยส่วนของเฮมิเซลลูโสจะละลายในน้ำที่ควบแน่นจากไอน้ำปัจจัยที่มีผลในกระบวนการปรับสภาพด้วยวิธีนี้คือ เวลาที่ใช้ อุณหภูมิ ขนาดของวัสดุตั้งต้นที่ใช้และปริมาณความชื้นที่อยู่ในวัตถุดิบ และการระเบิดด้วยแอมโมเนีย (Ammonia fiber explosion, AFEX) วิธีการนี้ใช้แอมโมเนียเหลวที่อุณหภูมิระหว่าง 60-100°C ภายใต้ความดัน ระยะเวลาหนึ่ง แล้วทำการลดความดันลงซึ่งมีผลต่อวัตถุดิบโดยวัตถุดิบที่ผ่านกระบวนการนี้จะมีอัตราการเป็น น้ำตาลเพิ่มมากขึ้น แต่ไม่มีผลต่อปริมาณของเฮมิเซลลูโลส ไม่เหมาะสมกับพืชที่มีลิกนินอยู่มาก ในกระบวนการนี้ สามารถนำแอมโมเนียกลับมาใช้ได้ใหม่ และไม่ก่อให้เกิดตัวยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาไฮโดรไลเสต เมื่อเปรียบเทียบ กับการปรับสภาพด้วยวิธีอื่น และการปรับสภาพด้วยคลื่นความถี่สูงอัลตร้าซาวด์ (Ultrasonic pretreatment) วิธีการปรับสภาพด้วยคลื่นความถี่สูงอัลตร้าซาวด์ยังมีรายงานเกี่ยวกับวิธีดังกล่าวน้อย แต่ผลที่ได้จากการใช้คลื่นความถี่สูงอัลตร้าซาวด์พบว่าส่งผลให้เกิดการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลสด้วยเอนไซม์ได้มากขึ้น จากงานวิจัยของ Yachmenev และคณะ [34] พบว่าคลื่นความถี่สูงอัลตร้าซาวด์มีผลทำให้เอนไซม์เข้าทำปฏิกริยากับพื้นที่ผิวของวัสดุได้มากขึ้น

2.4 การย่อยเอนไซม์

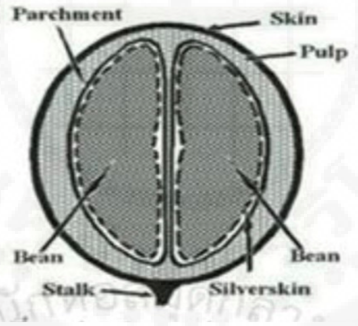
เอมไซม์เซลลูเลส (cellulase) เป็นกลุ่มเอนไซม์เชิงซ้อนที่ประกอบด้วยเอนไซม์ 3 ชนิด คือ เอนโดกลูคาเนส (endoglucanase) เอกโซกลูคาเนส (exoglucanase) และเซลโลไบเอส (cellbiose) [3] ทำหน้าที่ในการย่อยสลายเซลลูโลสให้มีขนาดโมเลกุลเล็กลงจนสลายกลายเป็นกลูโคสเพื่อเพิ่มปริมาณน้ำตาล โดยเอมไซม์เซลลูเลสสามารถถูกสร้างได้จากสิ่งมีชีวิตทั้งในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ เป็นต้น ซึ่งเอมไซม์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์นั้นจะสามารถผลิตได้ในปริมาณสูงเมื่อนำไปเปรียบเทียบกับเอมไซม์ที่ผลิตจากพืชหรือสัตว์ [2] เอมไซม์เซลลูเลสที่ถูกสร้างขึ้นนั้นไม่สามารถเข้าสู่เซลล์ของจุลินทรีย์ได้จำเป็นต้องหลั่งออกมานอกเซลล์แล้วย่อยเซลลูโลสจนได้น้ำตาลจากนั้นจึงดูดซึมเข้าสู่ภายในเซลล์ [14] ปัจจัยที่มีผลต่อเอมไซม์เซลลูเลสที่ได้จากจุลินทรีย์คือ อุณหภูมิ โดยอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการทำงานจะอยู่ในช่วง 44-55°C ซึ่งจะมีความเสถียรที่ 100°C ใน 5 นาที ที่ค่า pH 7.0 [1]

2.5 กาแฟและกากกาแฟ

จุดต้นกำเนิดของกาแฟนั้นถือกำเนิดเป็นพืชพื้นเมืองของ อาระเบีย (Arabia) และ อะบิสสิเนีย (Abyssinia) ในประเทศอาระเบียมีการค้นพบเจอในช่วงศตวรรษที่ 6 โดยทีแรกมีการเรียกว่า คะวาฮ (Kawah) ซึ่งมีความหมายว่าพลัง (Strength) หลังจากนั้นจึงเริ่มการแพร่หลายมีหลากหลายชื่อโดยจะเปลี่ยนไปตามสถานที่ต่างๆ จนกลายเป็นชื่อที่ในปัจจุบันเรียกกันคือ คอฟฟี่ (Coffee) หรือ คัฟฟี่ (Koffe)

ชื่อวิทยาศาสตร์ของกาแฟ คือ *Coffeaaeabica L.* ซึ่งมีหลากหลายชนิด เช่น กาแฟแคนิโฟรา (C.canephora Pierer ex Frochrer, C.robusta linden) กาแฟอราบิก้า (C.arabica Linn) เป็นต้น ลักษณะของต้นกาแฟจะเป็นไม้พุ่มลำต้นตั้งตรงที่มีความสูง 3-5 เมตร ส่วนที่เกิดของดอกที่ส่งกลิ่นหอมคล้ายดอกมะลิและผลนั้นคือ ส่วนกิ่งซึ่งจะขนานกับพื้นดินโดยดอกจะขึ้นที่ข้อตรงส่วนของก้านกาแฟ [12]

องค์ประกอบของกาแฟนั้นมีดังนี้ โดยจะเรียงจากข้างนอกมาด้านในสุด ภายนอกสุดคือ เปลือก (Skin) ถัดเข้ามาจะเป็นส่วนของเนื้อ (Pulp) , เมือก (mucilage) , กะลา (parchment or hull) โดยส่วนนี้จะห่อหุ้มเมล็ด , เยื่อหุ้มเมล็ด (Silver skin) และ เมล็ด (Bean) [11] แสดงดังภาพที่ 2.2



ภาพที่ 2.2 ส่วนประกอบของเมล็ดกาแฟ

ที่มา: กาจนมุนี และคณะ (2547)

ส่วนใหญ่กาแฟที่ปลูกจะมี 2 พันธุ์ คือ พันธุ์อราบิก้า *Coffea Arabica L*.cv. *Caturra* (Arabica) สามารถเติบโตในสภาพอากาศที่เย็นได้ดี หากเปรียบเทียบกับพันธุ์โรบัสต้า อราบิก้านั้นจะมีรสชาติที่ขมน้อยกว่า ส่งกลิ่นหอมมากกว่า และ เมล็ดสามารถให้น้ำมันมากกว่าทำให้สามารถสกัดน้ำมันได้ปริมาณมากกว่า [9] โดยอราบิก้านั้นสามารถเกิดการผสมกันเอง หรือผสมข้ามสปีชีส์ได้ทำให้มีหลากหลายสายพันธุ์ [32] อีกชนิดคือ พันธุ์โรบัสต้า Coffea canephora var. robus ta (Robusta) สามารถเติบโตได้ดีในสภาพที่ อากาศร้อนชื้น และ ฝนตกชุก โดยโรบัสต้าจะมีปริมาณคาเฟอีนที่มากกว่าอราบิก้า [9] ถึง 2 เท่า กาแฟโรบัสต้ารสชาติเปรี้ยวและขม ทำให้ไม่นิยมดื่ม

แต่มักนำไปเพิ่มความหลากหลายทางกลิ่นและรสชาติโดยนำไปผสมกับการชงกาแฟตามสูตรต่างๆ [8] ในงานวิจัยนี้จะใช้เป็นกากกาแฟของ อราบิก้า และ โรบัสต้า

กากกาแฟ (Spent coffe grounds, SCG) คือ ส่วนที่เหลือจากการชงหรือสกัดกาแฟ มีลักษณะเป็นผงเล็กๆละเอียดรวมตัวกันเป็นก้อนเนื่องจากมีความชื้นอยู่มาก โดยจะมีน้ำมันเกาะที่ผิวอยู่ด้วย [9] โดยองค์ประกอบทางเคมีของกากกาแฟ มีดังนี้ C ความเข้มข้นอยู่ที่ 99% , K_2O 0.33% , SO_3 0.16% , P_2O_5 0.13% , CaO 0.12% , MgO 0.12% , Al_2O_3 0.05 % , SiO_2 0.04% , Na_2O 0.01% , Cl 0.01% , MnO 0.01% และ Fe_2O_3 0.01% ตามลำดับ ซึ่งได้มีการศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและสกัดน้ำตาลจากกากกาแฟ พบว่า กากกาแฟมีธาตุที่เป็นอาหารหลักของพืชหลากหลายชนิด [12] และยังพบว่าในกากกาแฟมีสารสำคัญหลากหลายกลุ่ม ประกอบด้วยกรดไขมัน คาเฟอีน โปรตีน พอลิแซ็กคาไรด์ และพวกจำพวกแร่ธาตุต่างๆเช่น K , P , Mg , Ca , Al , Fe , Cu , Zn และ Mn [11]

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.1 สารเคมี

Ammonium sulfide $(NH_4)_2$

Citrate Buffer

Distilled Water

D-Glucose

Enzyme Cellulase

Magnesium sulfate ($MgSO_4$)

Potassium Dihydrogenphosphate (HPO_4)

Potassium dihydrogen phosphate (KH_2PO_4)

Sodium hydroxide

Sodium Potassium Tartrate

Sodium Sulphite

3, 5-dinitrosalicylic acid (DNS)

3.2 เครื่องมือ

กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning electron microscope ; SEM)

เครื่องฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรมิเตอร์ (Fourier transform infrared spectrometer ; FT-IR)

3.3 อุปกรณ์อื่น ๆ

กระบอกตวง (Cylinder)

ขวดฉีดน้ำกลั่น (Wash bottle)

ขวดใส่สารละลาย (Laboratory bottle)

คีบ (Forcep)

เครื่องดูดจ่ายสารละลาย (Dispenser)

จานเพาะเลี้ยงเชื้อขนาด (Petri dish)

ตะเกียงแอลกอฮอล์(Alcohol burner)

ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)

ตะแกรงใส่หลอดปั่นเหวี่ยงไมโคร (Micro centrifuge rack)

เทอร์โมมิเตอร์(Thermometer)

แท่งแก้วคนสาร (Stirring rod)

บีกเกอร์ขนาด 50, 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร (Beaker)

หลอดทดลองขนาด (Test tube)

3.4 เชื้อจุลินทรีย์และการเพาะเลี้ยงกล้าเชื้อแบคทีเรีย

3.4.1 เชื้อจุลินทรีย์

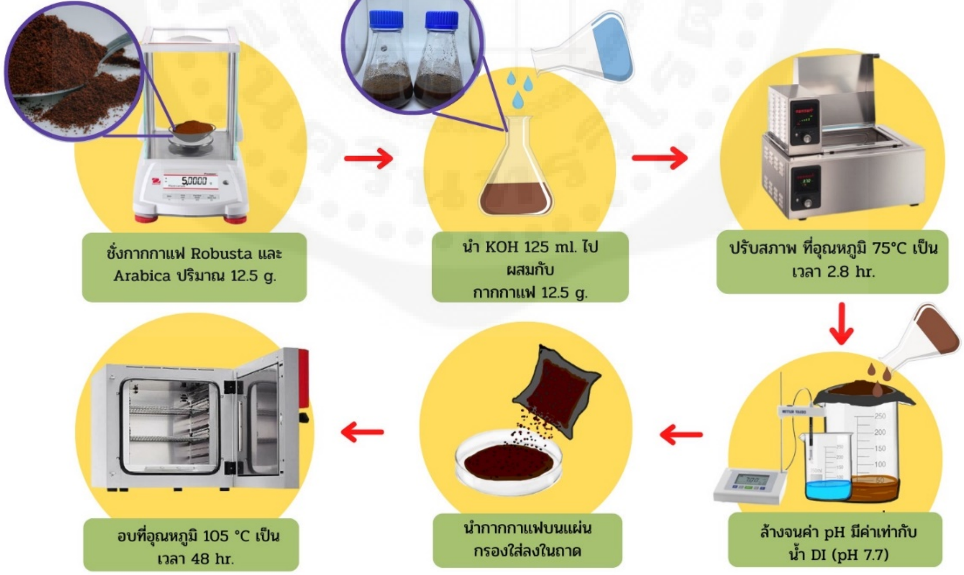
ที่ใช้ในการทดลองเป็นแบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 ได้จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย โดยเชื้อแบคทีเรียถูกเก็บไว้ที่อุณหภูมิ -5°C ใน glycerol 15% เพื่อกระตุ้นการเพาะเลี้ยง เชื้อแบคทีเรียที่เก็บไว้ 1 ml ถูกเติมลงในอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) 9 ml (ทั้งหมดเป็น g/L ในน้ำกลั่น : กลูโคส : 2 เพปโทน : 0.5, สารสกัดจากยีสต์ : 0.5, Na_2HPO_4 : 0.27 และกรดซิตริก 0.15) [15] และอบที่อุณหภูมิ 30°C และ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นเชื้อแบคทีเรียที่ได้รับการกระตุ้นไปใส่ในสาร HS 90 ml และอบที่อุณหภูมิ 30°C และ 150 rpm เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.4.2 การเตรียมวัตถุดิบ

การเตรียมวัตถุดิบของกากกาแฟอราบิก้าที่ได้จากการสั่งซื้อผ่านช่องทางอินเตอร์เน็ต และกากกาแฟโรบัสต้าได้จากร้านกาแฟ จังหวัดนนทบุรี จากนั้นนำกากกาแฟทั้งสองมาทำความสะอาด แล้วอบให้แห้งที่ 105°C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากอบเสร็จกากกาแฟจะถูกเก็บไว้ในถุง และเก็บไว้ในอุณหภูมิห้อง (30 ± 3°C)

3.5 ย่อยกากกาแฟ

นำกากกาแฟอราบิก้า และกากกาแฟโรบัสต้าปริมาณ 5 g และเติม KOH ที่ความเข้มข้น 3% w/t โดยใช้ปริมาณ 1.5 g จากนั้นเติมน้ำกลั่นปริมาณ 50 ml และนำไปใส่เครื่อง pretreatment ที่อุณหภูมิ 75°C เป็นเวลา 2.8 ชั่วโมง ระดับการเขย่าอยู่ที่ 160 รอบ/นาที [21] และหลังจากที่ได้กากกาแฟที่ผ่านกระบวนการ pretreatment แล้วนำกากกาแฟมากรองด้วยแผ่นกรองชนิดแบบพิเศษ กรองด้วยวิธีให้น้ำไหลผ่านจนให้ได้ค่า pH 7.7 จากนั้นนำไปอบ ที่อุณหภูมิ 105°C เป็นเวลา 48 ชั่วโมง และนำกากกาแฟที่ได้จากการอบปริมาณ 0.3 g มาผสมกับเอนไซม์ 10 ml และใส่ Sodium Citrate Buffer 10 ml จากนั้นนำกากกาแฟไป pretreatment ที่อุณหภูมิ 50°C และใช้ระดับการเขย่าอยู่ที่ 105 รอบ/นาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง [21] แสดงดังภาพที่ 3.1



ภาพที่ 3.1 ขั้นตอนการย่อยกากกาแฟด้วย KOH

3.6 SOP for Glucose Assay Test

นำสารละลาย NaOH 0.5 g เติมน้ำกลั่น 10 ml และเติม DNS 0.5 g, Sodium Potassium Tartrate 15 g และ Sodium Sulphite 0.025 g โดยใช้อุณหภูมิ 80°C และใช้เครื่อง VORTEX-3 เพื่อทำให้สารเป็นเนื้อเดียวกัน โดยปริมาตรของสารทั้งหมดจะอยู่ที่ 50 ml และทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเตรียม glucose 0.1 g โดยมี standard แสดงดังตาราง 3.1

ตารางที่ 3.1 แสดงอัตราส่วนการวัดน้ำตาลรีดิวซ์

Glucose concentration	Stock (µl)	DW (µl)
0.0	0	100
0.6	30	70
0.8	40	60
1.2	60	40
1.6	80	20
2.0	100	0

จากนั้นเติม DNS solution ทุกหลอดทดลอง ปริมาตรหลอดทดลองละ 100 µl และทำการผสมสารให้รวมตัวเป็นเนื้อเดียวกัน โดยใช้เครื่อง VORTEX 3 และทำการให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 15 นาที และทำการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ช่วงคลื่น 540 nm

3.7 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส (BC)

โดยอาหารเลี้ยงเชื้อที่ได้จากน้ำตาลของกากกาแฟที่สัดส่วน 0%, 25%, 50%, 75% และ100% แล้วเติมสารอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรมาตราฐาน และทำการเติมเชื้อแบคทีเรีย 10% โดยปริมาตร และทำการทดลองซ้ำสามครั้ง โดยใช้อุณหภูมิที่ 30°C เป็นเวลา 7 วัน แสดงดังภาพที่ 3.2

ภาพที่ 3.2 ขั้นตอนการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส (BC)

3.7.1 การล้างแบคทีเรียลเซลลูโลส (BC)

หลังจากการบ่มแบคทีเรียลเซลลูโลส จะนำมาล้างโดยการผ่านให้น้ำไหลผ่าน และใช้ NaOH 0.5 M [17] ที่อุณหภูมิ 90°C เป็นเวลา 15 นาที เพื่อกำจัดแบคทีเรียออก จากนั้นนำไปล้างด้วยน้ำกลั่นจนมีค่า pH 7.7 จะทำให้ขจัดด่างออกหมดรวมถึงสารตกค้าง จะทำให้ได้เซลลูโลสบริสุทธิ์ เมื่อได้เซลลูโลสที่บริสุทธิ์แล้วจึงทำให้แห้งที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และชั่งจนได้น้ำหนักคงที่ (น้ำหนักหลังอบ) แสดงดังภาพที่ 3.3

ภาพที่ 3.3 ขั้นตอนการล้างแบคทีเรียลเซลลูโลส

3.8 การศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียลเซลลูโลส

3.8.1 การวิเคราะห์ทางเคมี

เก็บตัวอย่างใน 2 ช่วงเวลา โดยเก็บที่ระยะ 0 วัน และ 7วัน จากกระบวนการผลิตเชื้อแบคทีเรียลเซลลูโลส และชนิดของน้ำตาลที่ได้จากวิเคราะห์จากสารสกัดของกากกาแฟทั้งสองชนิด ทำให้ทราบถึงข้อมูลของน้ำตาลรีดิวซ์ทั้งหมดโดยการสอบวิเคราะห์ด้วยกรด 3,5-ไดนิโตรซาลิไซลิก (DNS) เพื่อให้ทราบถึงปริมาณน้ำตาลที่ใช้ในกระบวนการผลิต

3.8.2 จลนพลศาสตร์การหมัก

ประสิทธิภาพของการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส ได้รับการประเมินหลังจากการผลิต 7 วันและอัตราส่วนการแปลงพื้นผิว Substrate conversion ratio (S_c), BC production (P), BC production rate (R_p) และ BC production yield ($Y_{p/s}$) คำนวณได้ดังนี้

-Substrate conversion ratio;

$$S_i(\%) = \frac{S_i - S_f}{S_i} \times 100$$

-BC production;

$$P(g/L) = \frac{m_{BC}}{V}$$

-BC production rate;

$$R_p(g/L \cdot day) = \frac{m_{BC}}{V \times t}$$

-BC production yield;

$$Y_{P/S}(\%) = \frac{m_{BC} / V}{S_i - S_f} \times 100$$

-WHC

$$= \frac{\text{Mass of water removed drying (g)}}{\text{Dry weight of cellulose (g)}}$$

3.8.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแผ่นฟอร์ม BC ด้วย Scanning Electron Microscopy (SEM)

โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ไปที่แผ่นฟอร์ม BC การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาจะศึกษาด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) โดยจะนำชิ้นงานมาวางบน Stub จากนั้นนำไปเคลือบ ด้วยแพลทินัมผสมทองเป็นเวลา 15-30 วินาที จากนั้น จึงนำชิ้นงานไปส่องดูโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาที่ 15 kV กำลังขยาย 15,000 เท่า และ 70,000 เท่า

3.8.4 Fourier-Transform Infrared Spectroscopy (FT-IR)

แผ่นฟอร์ม BC ที่ทำให้แห้งด้วยการอบ จะถูกตัดเป็นชิ้นขนาด 1.5×1.5 ซม. และนำไปผ่านสเปกโตรมิเตอร์ ในการสะท้อนแสงทั้งหมด (ATR) ด้วยคริสตัลเพชร ข้อมูลโหมดการดูดกลืนแสง FT-IR ถูกบันทึกด้วยความละเอียดที่ 4 cm^{-1} ในช่วงคลื่นช่วง 400–4000 cm^{-1}

3.8.5 การวิเคราะห์ทางสถิติ

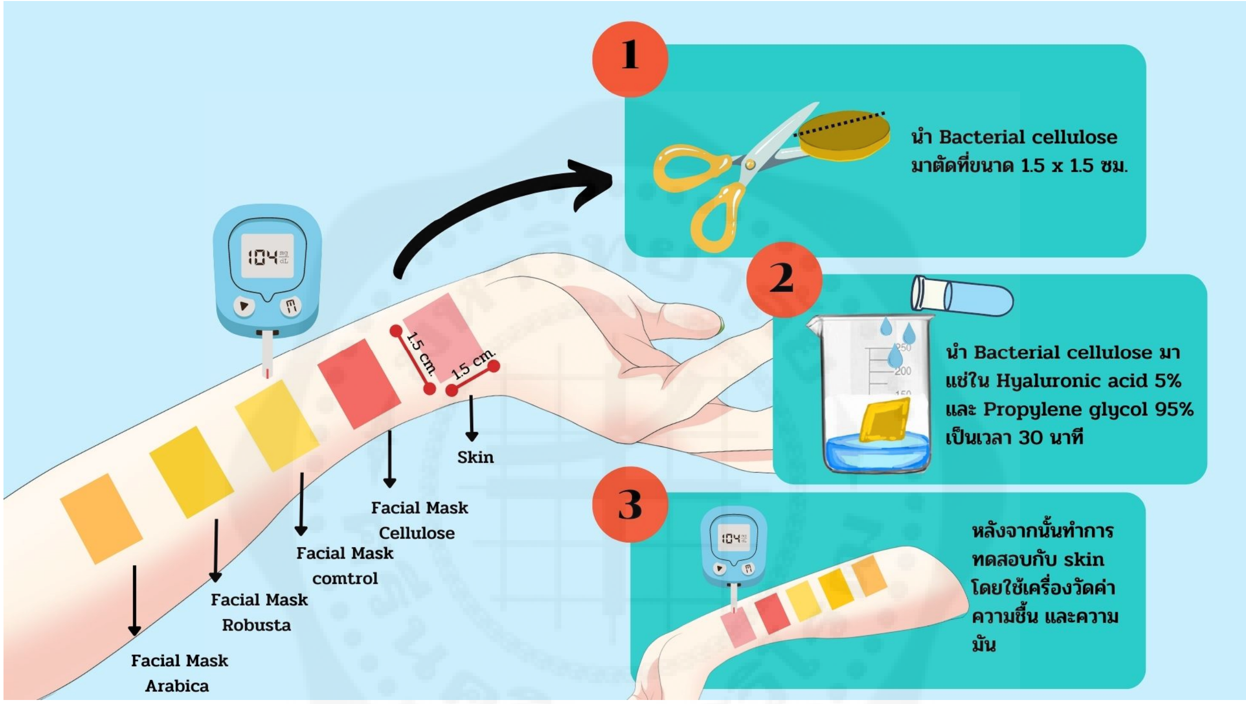
ทุกการทดลองทำ 3 ซ้ำ วิเคราะห์ข้อมูลโดยใช้ การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบทางเดียว (One Way ANOVA) กำหนดระดับนัยสำคัญ α= 0.05 และ การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป ทางสถิติ SPSS Version 23

3.9 การวัดความทึบแสงและโปร่งแสง

โดยวิเคราะห์สมบัติความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสหลังจากการอบแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 75°C ด้วยเครื่อง Colorimeter วัดที่ตำแหน่งต่างกัน 3 จุด และวัดบริเวณที่มีความเรียบมากที่สุด โดยเลื่อนจากแถบสีขาวไปยังแถบดำ เพื่อวัดความโปร่งแสงและทึบแสง

3.10 การวัดค่าวัดชุ่มชื้นของผิวหนัง

นำแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส มาตัดที่ขนาด 1.5 x 1.5 ซม.ที่เลือกมาจากลำดับค่า BC Production มากที่สุดสองอันดับแรก แช่ใน Hyaluronic acid 5% และ Propylene glycol 95% เป็นเวลา 30 นาที และกลับด้านทุกๆ 5 นาที เปรียบเทียบกับผิวที่ทาแค่สารให้ความชุ่มชื้น, sheet mask และ แบคทีเรียลเซลลูโลสจากอาหารเลี้ยงเชื้อ HS จากการวิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยที่วัดความชุ่มชื้นและความมันของผิว แสดงดังภาพที่ 3.4



ภาพที่ 3.4 การวัดค่าวัดชุ่มชื้นของผิวหนัง

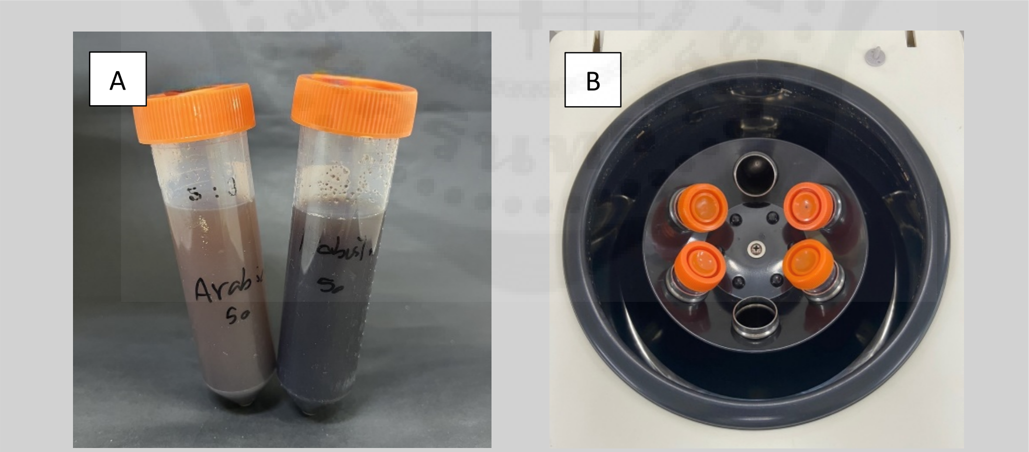
บทที่ 4

ผลการดำเนินงานวิจัย

ในงานวิจัยนี้จะกล่าวถึงผลการศึกษาสำหรับคุณลักษณะทางกายภาพที่ ตรวจสอบด้วย SEM เพื่อศึกษาการกระจายตัวของขนาดเส้นใยแบคทีเรียลเซลลูโลส (BC) สมบัติความทึบแสง-โปร่งแสง ความหนาของแผ่นฟอร์ม และ คุณลักษณะทางเคมีตรวจสอบด้วย FT-IR เพื่อตรวจสอบโครงสร้างเคมี และยืนยันความบริสุทธิ์ พฤติกรรมการกินน้ำตาลของแบคทีเรียตรวจสอบด้วย SOP for Glucose Assay Test สมบัติการอุ้มน้ำสามารถคำนวณได้จากความสามารถในการกักเก็บน้ำของ BC และยังสามารถหาได้จากเครื่องวัดความชื้น (Skin Moisture Meter) นอกจากนี้ผลของการผลิต BC ได้จากสูตรการคำนวณ ซึ่งผลการวิเคราะห์ทั้งหมดจะเป็นดังต่อไปนี้

4.1 การศึกษาตัวอย่างน้ำกากกาแฟ

ชนิดของกากกาแฟเพื่อนำไปศึกษาการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส นำไปทำการปรับสภาพด้วย KOH เพื่อนำกากกาแฟไปทำการย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 3 วัน แสดงผลลัพธ์ที่ได้คือ ขวดทดลองอราบิก้ามีสีที่อ่อนกว่าขวดทดลองโรบัสต้าที่มีสีน้ำตาลเข้ม ดังภาพ 4.1



ภาพที่ 4.1 โดย A) กากกาแฟอราบิก้าและโรบัสต้าที่ผ่านการปรับสภาพด้วย การย่อยด้วยเอนไซม์เป็นเวลา 3 วัน แล้วซึ่งมีสีที่แตกต่างกันอย่างชัดเจน และ B) เครื่องปั่นเหวี่ยง

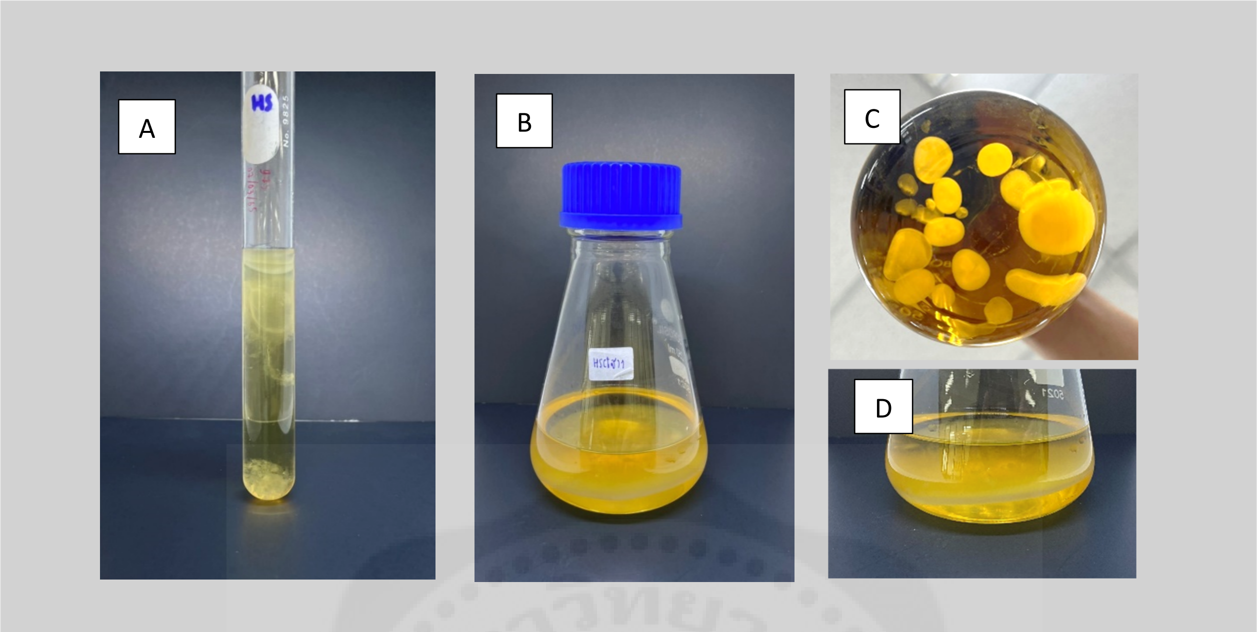
หลังจากนั้นจะทำการเข้าเครื่องปั่นเหวี่ยง ที่ความเร็ว 10,000 รอบต่อนาที ระยะเวลา 15 นาที เพื่อทำการแยกชั้นตะกอนออก ต่อมานำน้ำตาลรีดิวซ์ที่ได้มาทำ วิเคราะห์ความเข้มข้นของน้ำตาลโดยใช้วิธีการ SOP for Glucose Assay Test ตรวจสอบด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer พบว่าจากการตรวจสอบซ้ำกัน 3 ครั้ง น้ำตาลจากกากกาแฟของสายพันธุ์โรบัสต้า (RSCG) มีค่าความเข้มข้นสูงกว่าของสายพันธุ์อราบิก้า (ASCG) ซึ่งความเข้มข้นน้ำตาลของโรบัสต้ามีค่าเท่ากับ 14.07 g/l และความเข้มข้นน้ำตาลของสายพันธุ์อราบิก้ามีค่าเท่ากับ 9.22 g/l แสดงดังตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟโรบัสต้าและกากกาแฟอราบิก้า

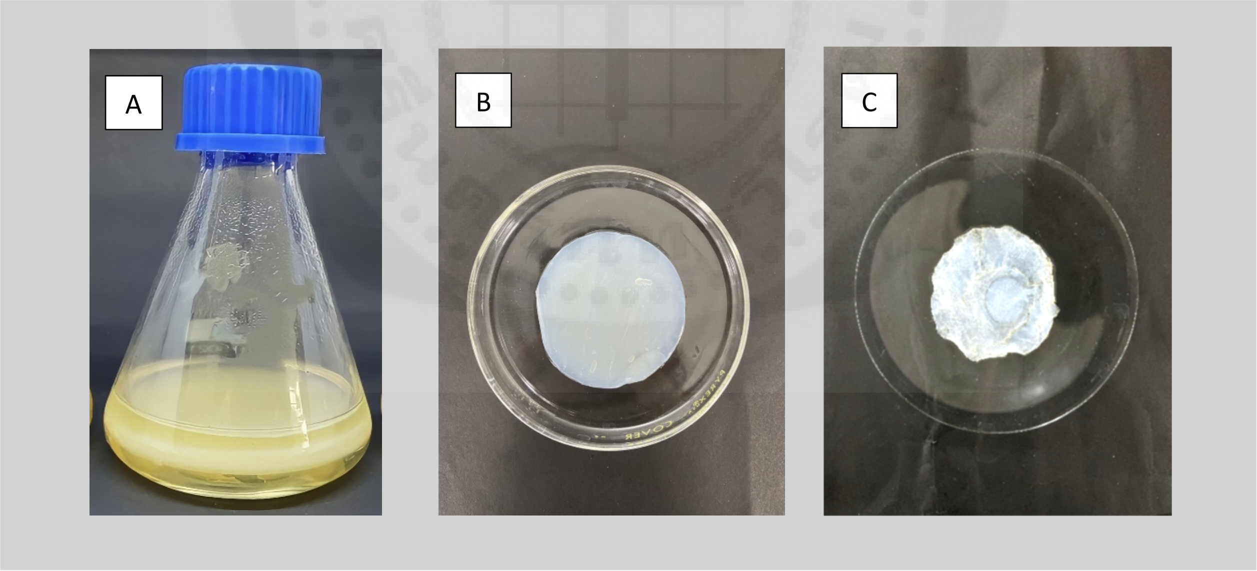
ชนิดกากกาแฟ	ค่าน้ำตาล g/l
Robusta	19.92
Arabica	12.78

4.2 ผลของการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส

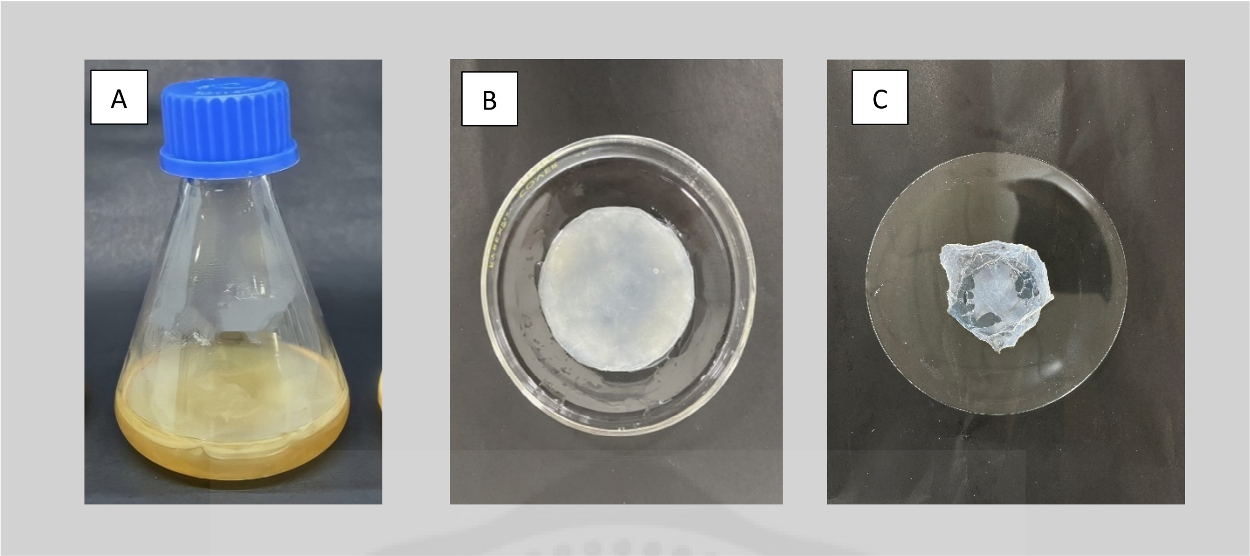
เชื้อแบคทีเรีย *K. nataicola* 975 ที่ปริมาตร 10 ml ลงในขวดรูปทรงชมพู่ในปริมาตร 100 ml พร้อมกับอาหารเลี้ยงเชื้อสูตรมาตรฐาน HS และน้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟตามสัดส่วนที่กำหนดแสดงดังภาพ 4.2 ทำการเก็บตัวอย่างปริมาณน้ำตาลของแต่ละหลอดทดลอง และบ่มเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30°C ในสภาวะการบ่มเลี้ยงแบบนิ่ง พบว่า ที่เวลา 7 วัน จากขวดทดลองอาหารเลี้ยงเชื้อ HS มีแผ่นฟอร์มเกิดขึ้นเป็นแผ่นหนา และมีความขุ่นแสดงดังภาพ 4.3 จากขวดทดลองน้ำกากกาแฟที่สัดส่วน 25% มีการฟอร์มตัวที่หนาแน่นเหมือนการใช้ อาหารเลี้ยงเชื้อ HS แสดงดังภาพ 4.4 จากขวดทดลองน้ำกากกาแฟที่สัดส่วน 50% มีการฟอร์มตัวในลักษณะฟอร์มตัวเป็นแผ่นหนา แต่ไม่มีความขุ่น แสดงดังภาพ 4.5 วันจากขวดทดลองน้ำกากกาแฟที่สัดส่วน 75% แผ่นฟอร์มได้มีการฟอร์มที่บางลง และมีความขุ่น แสดงดังภาพ 4.6 จากขวดทดลองน้ำกากกาแฟที่สัดส่วน 100% แผ่นฟอร์มไม่เกิดการฟอร์มตัวเป็นแผ่นสมบูรณ์แต่ยังคงความขุ่นอยู่แสดงดังภาพ 4



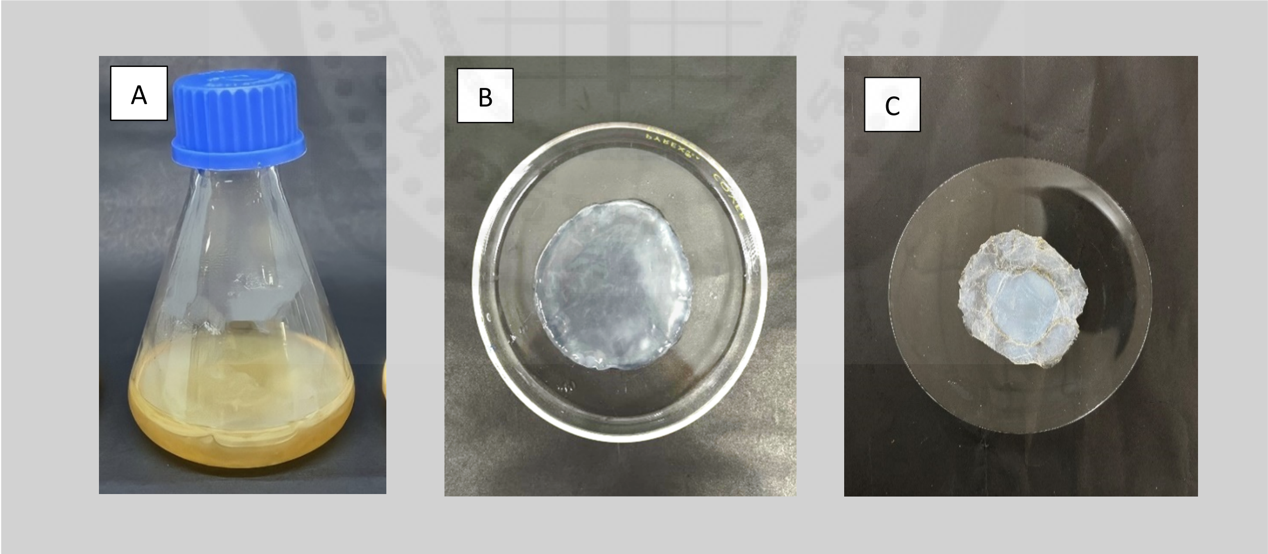
ภาพที่ 4.2 A) เชื้อแบคทีเรีย *K. nataicola* 975 ที่ปริมาตร 10 ml B) เชื้อแบคทีเรีย *K. nataicola* 975 ที่ปริมาตร 100 ml C) ทำการบ่มที่สภาวะแบบเขย่าทำให้เกิดการฟอร์มตัวแบบก้อน และ D) ทำการบ่มที่สภาวะแบบนิ่งทำให้เกิดการฟอร์มตัวแบบแผ่น



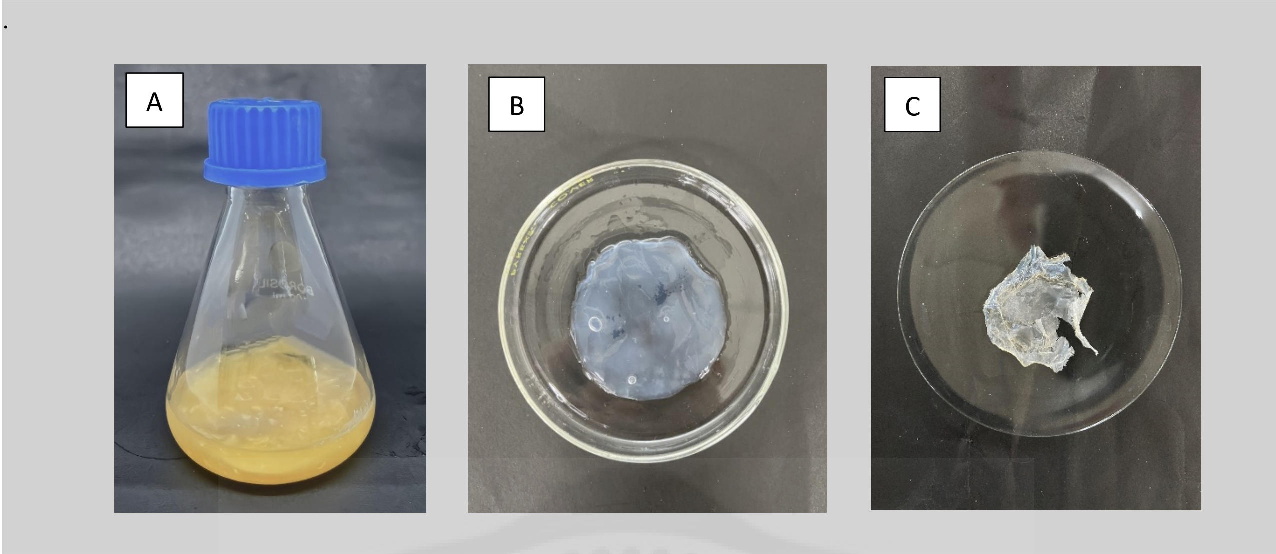
ภาพที่ 4.3 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 0% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่งระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่ากระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105^{o}C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



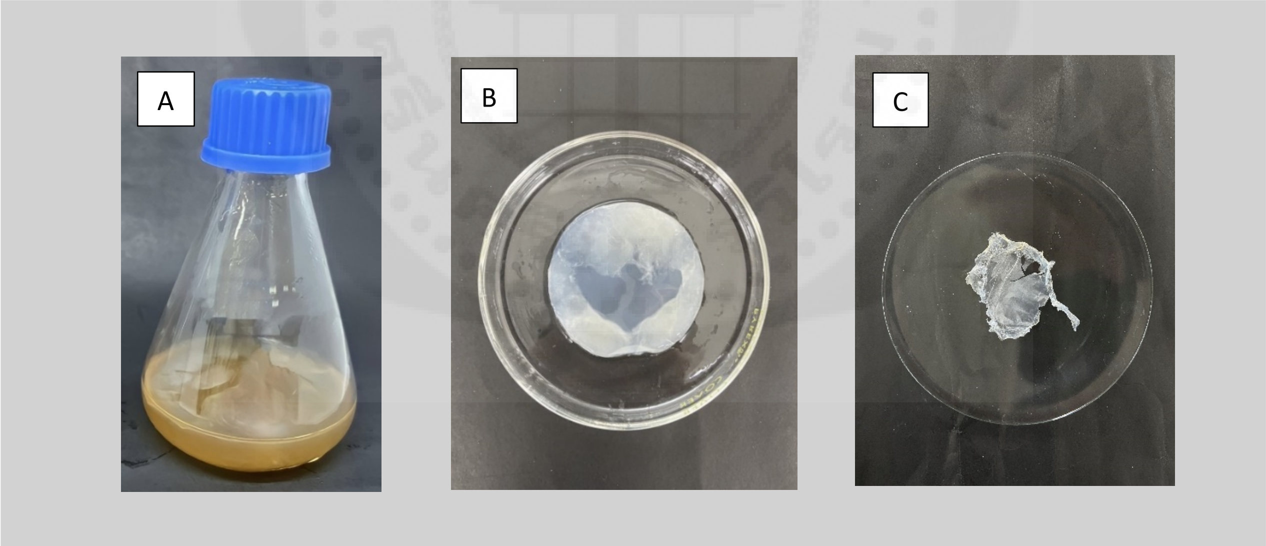
ภาพที่ 4.4 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 25% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่งระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.5 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 50% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่ง ระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.6 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 75% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลส ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่ง ระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง



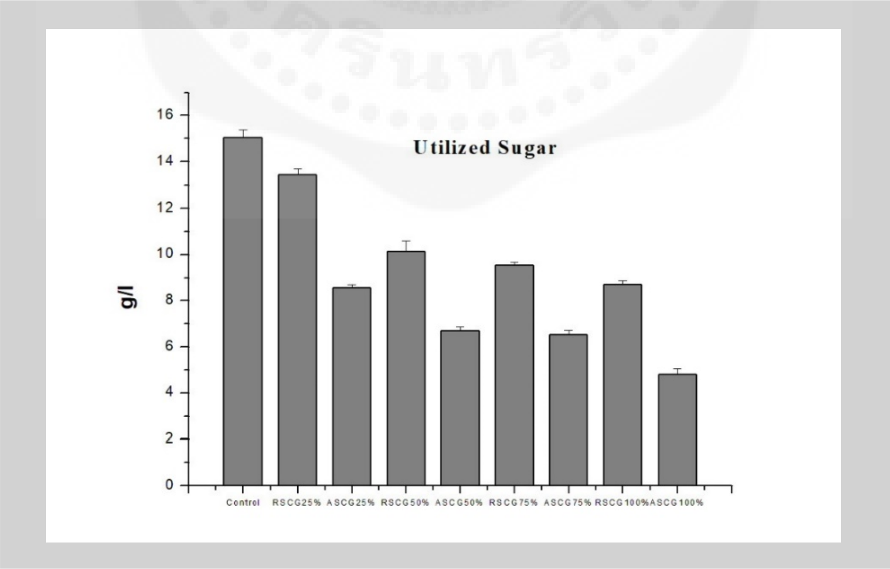
ภาพที่ 4.7 การผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสของสัดส่วน 100% A) แสดงรูปแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ที่การเลี้ยงแบบนิ่ง ระยะ 7 วัน B) แผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านกระบวนการล้างจนมีค่า pH 7.7 C) และแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสแห้งที่ผ่านการอบที่ 105°C เป็นเวลา 12 ชั่วโมง

4.2.1 ความเข้มข้นน้ำตาล

เก็บตัวอย่างน้ำตาลของวันแรกที่ลงเชื้อแบคทีเรียลงในขวดทดลอง และวันสุดท้ายก่อนเก็บแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส ตรวจสอบด้วยเครื่อง UV-VIS Spectrophotometer แสดงดังตารางที่ 4.2 พบว่าหลังจากการตรวจสอบซ้ำกัน 3 ครั้งในแต่ละตัวอย่าง ความเข้มข้นน้ำตาลวันสุดท้ายในสัดส่วน RSCG มีการลดลงจากวันแรกมากกว่าในสัดส่วน ASCG เชื้อแบคทีเรีย *K.nataicola* 975 มีการบริโภคน้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟชนิดโรบัสต้าสูงกว่ากากกาแฟชนิดอราบิก้า แสดงดังภาพที่ 4.8 ดังนี้

ตารางที่ 4.2 ปริมาณน้ำตาลวันที่ลงเชื้อวันแรก และวันสุดท้ายของการเพาะเลี้ยง

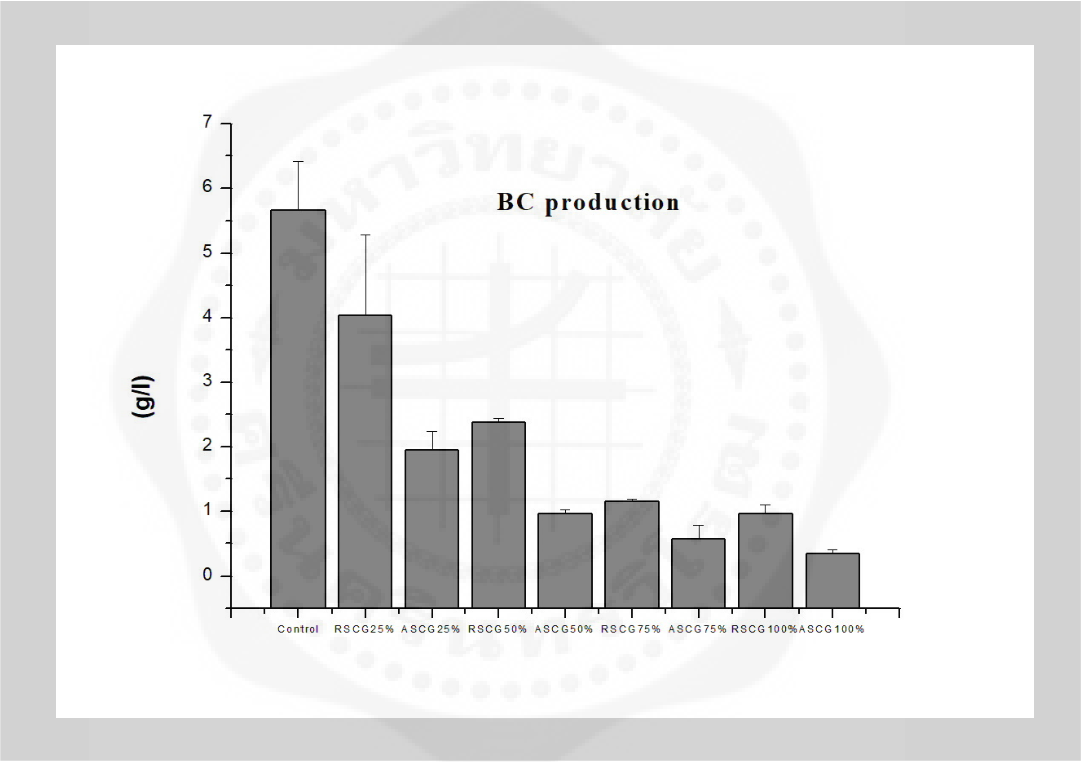
สรุป	Day	0.00	final	Day harvest
	หัวเชื้อ OD	g/l	g/l	Day
Control	0.050	23.07	8.02	7
RSCG25%	0.050	23.29	9.22	7
ASCG25%	0.050	14.64	6.08	7
RSCG50%	0.050	17.66	7.54	7
ASCG50%	0.050	13.26	6.36	7
RSCG75%	0.050	18.87	9.80	7
ASCG75%	0.050	14.80	8.28	7
RSCG100%	0.050	18.15	9.46	7
ASCG100%	0.050	12.21	7.35	7



ภาพที่ 4.8 ปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ไปในสร้างแบคทีเรียลเซลลูโลส

4.2.2 BC production

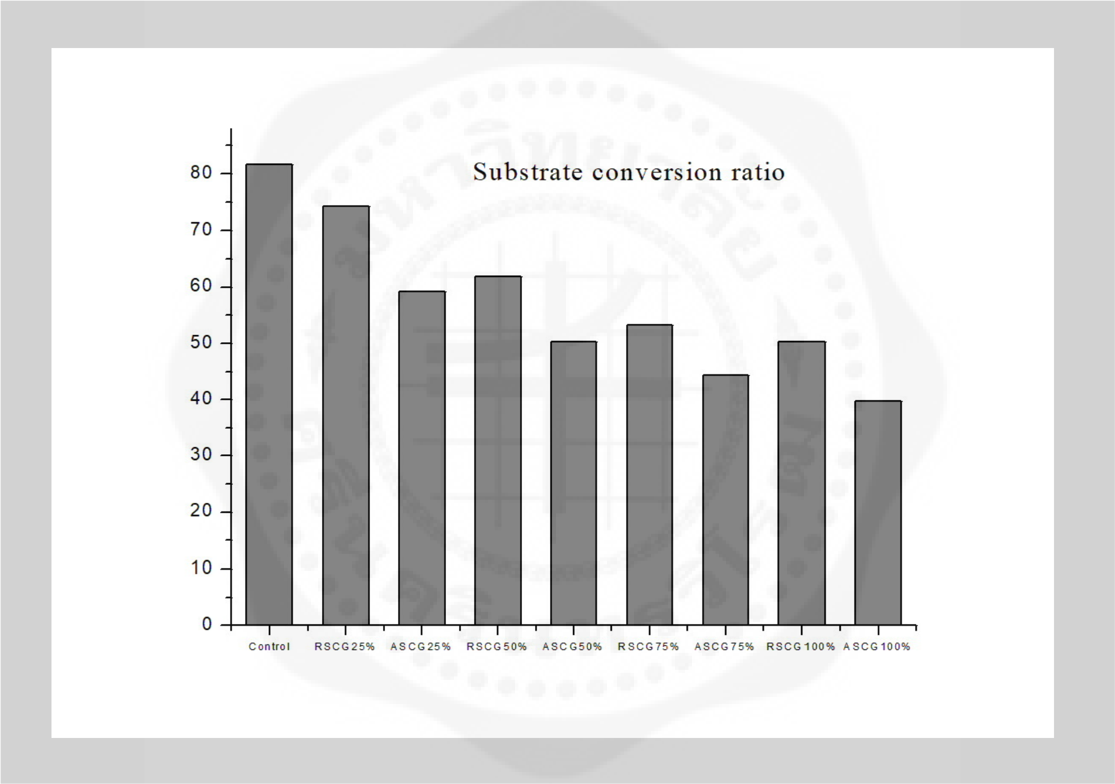
จากการวิเคราะห์ผลค่า BC production ของการผลิตแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ใช้แบคทีเรียชนิด *K.natacola* 975 พบว่าค่าที่สูงที่สุดคือ แบคทีเรียลเซลลูโลสที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ในสัดส่วนของ Control และสัดส่วนการใช้น้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟที่สูงขึ้นจะมีค่า BC production ลดลง RSCG25%, ASCG25%, RSCG50%, ASCG50%, RSCG5% ASCG75%, RSCG100% และ ASCG100% ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.9 เนื่องจากปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของกากกาแฟเข้ามาแทนที่อาหารเลี้ยงเชื้อ HS ในปริมาณที่สูงขึ้นส่งผลต่อผลผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผลิตได้



ภาพที่ 4.9 การศึกษาผลผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสน้ำหนักแห้งต่อปริมาตรที่ใช้การหมักคือ 0.029

4.2.3 Substrate conversion ratio

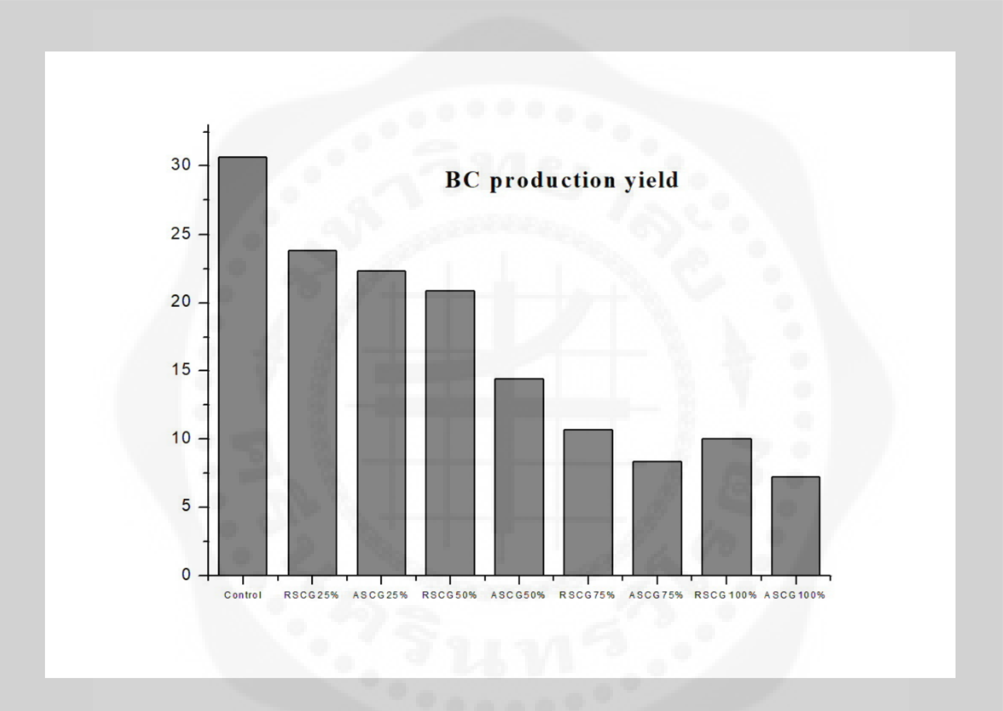
จากการเก็บตัวอย่างปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์วันแรกที่ทำการลงเชื้อแบคทีเรีย และวันสุดท้ายก่อนเก็บแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส เพื่อหาอัตราการใช้น้ำตาลเพื่อเทียบกับพื้นผิวของแบคทีเรียลเซลลูโลสที่โตขึ้นมา จากผลการวิเคราะห์ Substrate conversion ratio พบว่า เปอร์เซ็นต์น้ำตาลที่ใช้ไปที่จะทำให้แผ่นฟอร์มแบคทีเรียลเซลลูโลสโตขึ้นนั้น คือ แบคทีเรียลเซลลูโลสที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ในสัดส่วนของ Control และสัดส่วนการใช้น้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟที่สูงขึ้นจะมีเปอร์เซนต์ที่ต่ำลง คือ RSCG25%, ASCG25%, RSCG50%, ASCG50%, RSCG5% ASCG75%, RSCG100% และASCG100% ตามลำดับ แสดงดังภาพที่ 4.10



ภาพที่ 4.10 พื้นผิวของแบคทีเรียลเซลลูโลสที่โตขึ้นมาเทียบกับอัตราการใช้น้ำตาล

4.2.4 BC production yield

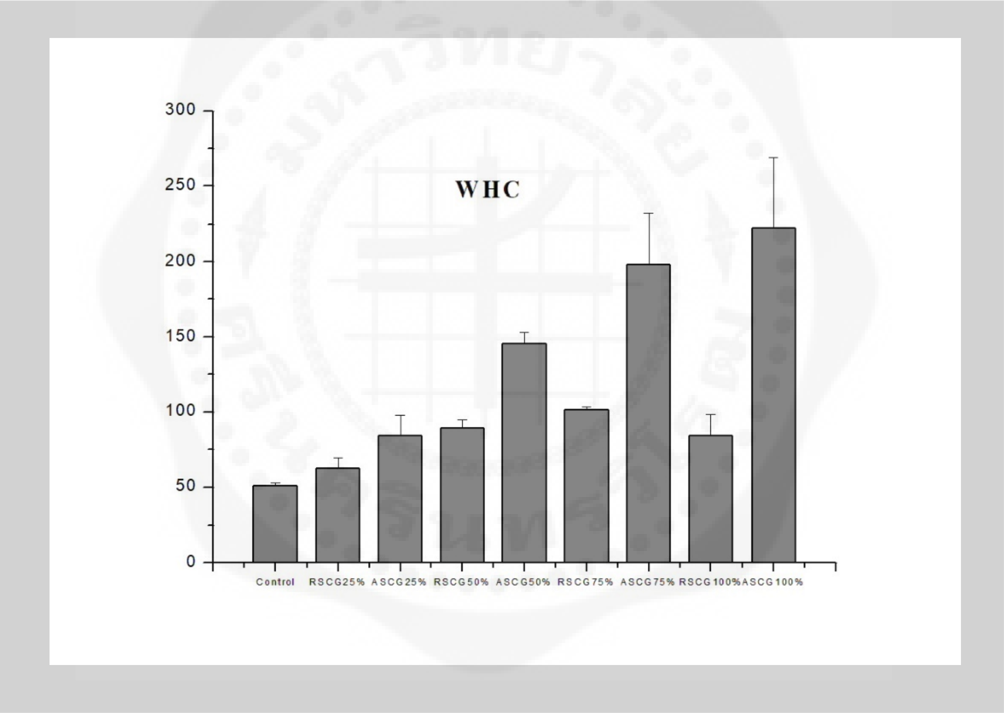
จากการรวบรวมข้อมูลของน้ำหนักแห้งของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส โดยปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์วันแรกที่ทำการลงเชื้อแบคทีเรีย และวันสุดท้ายก่อนเก็บแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส ได้ทำการวิเคราะห์ผลของปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไปจำนวนกี่กรัมเพื่อสร้างแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส พบว่าสร้างแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสจากน้ำตาลที่ใช้ไปมากที่สุดคือ แบคทีเรียลเซลลูโลสที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ในสัดส่วนของ Control แสดงดังภาพที่ 4.11 แสดงให้เห็นว่าแบคทีเรียชนิด *K.natacola* 975 มีการบริโภคน้ำตาลจากอาหารเลี้ยงเชื้อ HS มากกว่าน้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟ



ภาพที่ 4.11 ปริมาณน้ำตาลที่ใช้ไป (g/L) กลายเป็นแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส

4.2.5 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity)

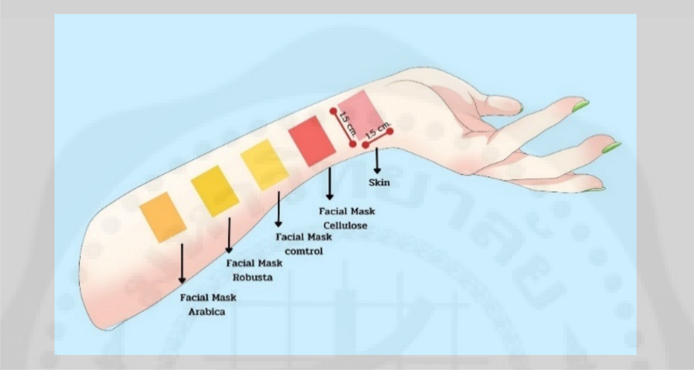
แบคทีเรียลเซลลูโลสที่ฟอร์มตัวเป็นแผ่นทำการล้างแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสด้วยน้ำจำนวน 3 ครั้ง และเติม NaOH 0.1 M ลงในแผ่นฟอร์ม นำไปบ่มที่ 90℃ เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบ 10 นาที จะนำแผ่นแบคทีเรยลเซลลูโลสล้างด้วยน้ำ 3 จนกว่าจะมีค่า pH 7.7 จึงทำการแช่น้ำ 1 ชั่วโมง ใช้ตัวหนีบ คีบแผ่นแบคทีเรยลเซลลูโลสขึ้นมาและสะบัดน้ำออกสองครั้งเพื่อทำการชั่งน้ำหนักเปียก หลังจากนั้นนำเข้าอบ ที่อุณหภูมิ 105℃ เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำออกมาชั่งน้ำหนักแห้งจากนั้น คำนวณหา Water Holding Capacity พบว่าแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อจากกากกาแฟสัดส่วน ASCG100% มีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงที่สุด ซึ่งสัมพันธ์กับความหนาของแผ่นแบคทีเรียล เช่นเดียวกับในสัดส่วน RSCG 100% ที่มีค่า WHC ต่ำลงมาซึ่งสัมพันธ์กับความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสเช่นกัน แสดงดังภาพที่ 4.12



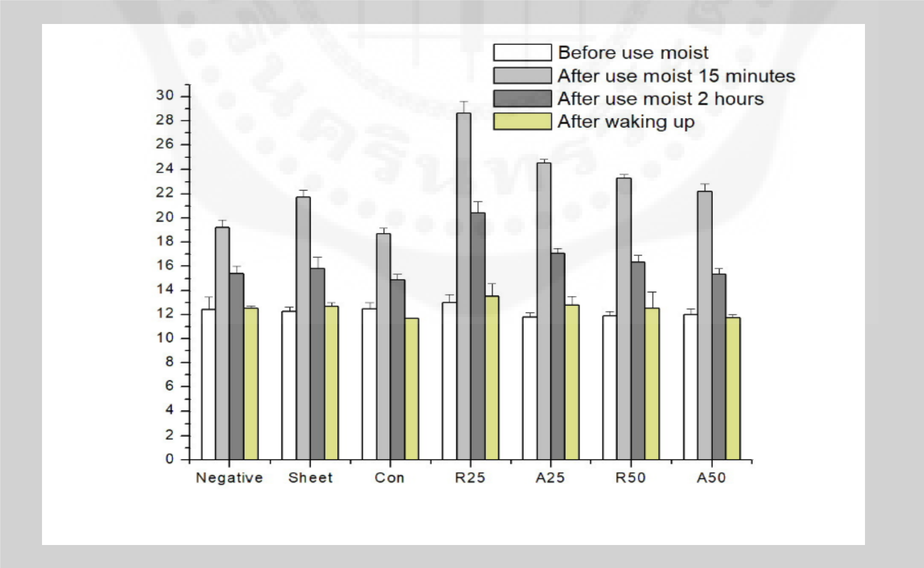
ภาพที่ 4.12 แสดงความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity)

4.2.6 ความสามารถในการให้ความชุ่มชื้นต่อผิว

ตัวอย่างแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสจากกากกาแฟ ขนาด1.5x1.5 ซม. ที่เลือกมาจากลำดับค่า BC Production มากที่สุดสองอันดับแรก แช่ใน Hyaluronic acid 5% และ Propylene glycol 95% เป็นเวลา 30 นาที และกลับด้านทุกๆ 5 นาที เปรียบเทียบกับผิวที่ทาแค่สารให้ความชุ่มชื้น, sheet mask และ แบคทีเรียลเซลลูโลสจากอาหารเลี้ยงเชื้อ HS แสดงดังภาพ 4.13 จากการวิเคราะห์ผลค่าเฉลี่ยที่วัดความชุ่มชื้นและความมันของผิว พบว่า RSCG 25% มีค่าการรักษาความชุ่มชื้นและความมันให้กับผิวสูงสุดมากกว่า Sheet mask และแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ HS และสัมพันธ์กับค่า BC Production ที่มีค่ามากที่สุด แสดงดังภาพ 4.14



ภาพที่ 4.13 การเปรียบเทียบความสามารถในการให้ความชุ่มชื้นต่อผิวของแต่ละตัวอย่าง

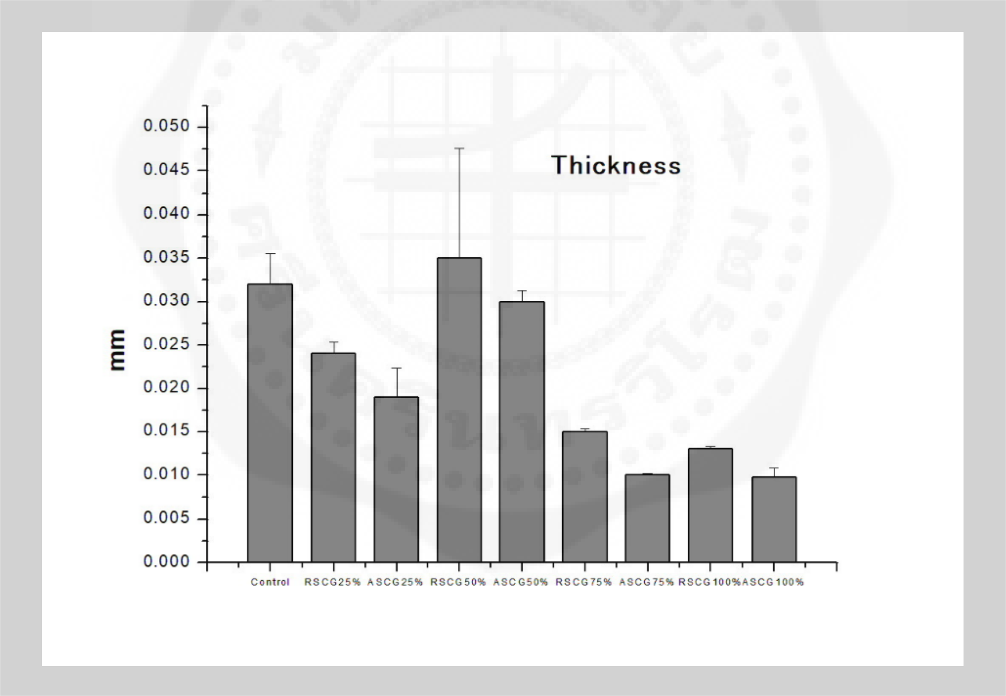


ภาพที่ 4.14 ค่าเฉลี่ยความชุ่มชื้นและความมันของตัวอย่างแบคทีเรียลเซลลูโลสที่มีค่า BC Production สูงสุด 2 อันดับแรก

4.3 การศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียลเซลลูโลส

4.3.1 การวิเคราะห์ความหนาของแบคทีเรียลเซลลูโลสด้วยเครื่องไมโครมิเตอร์

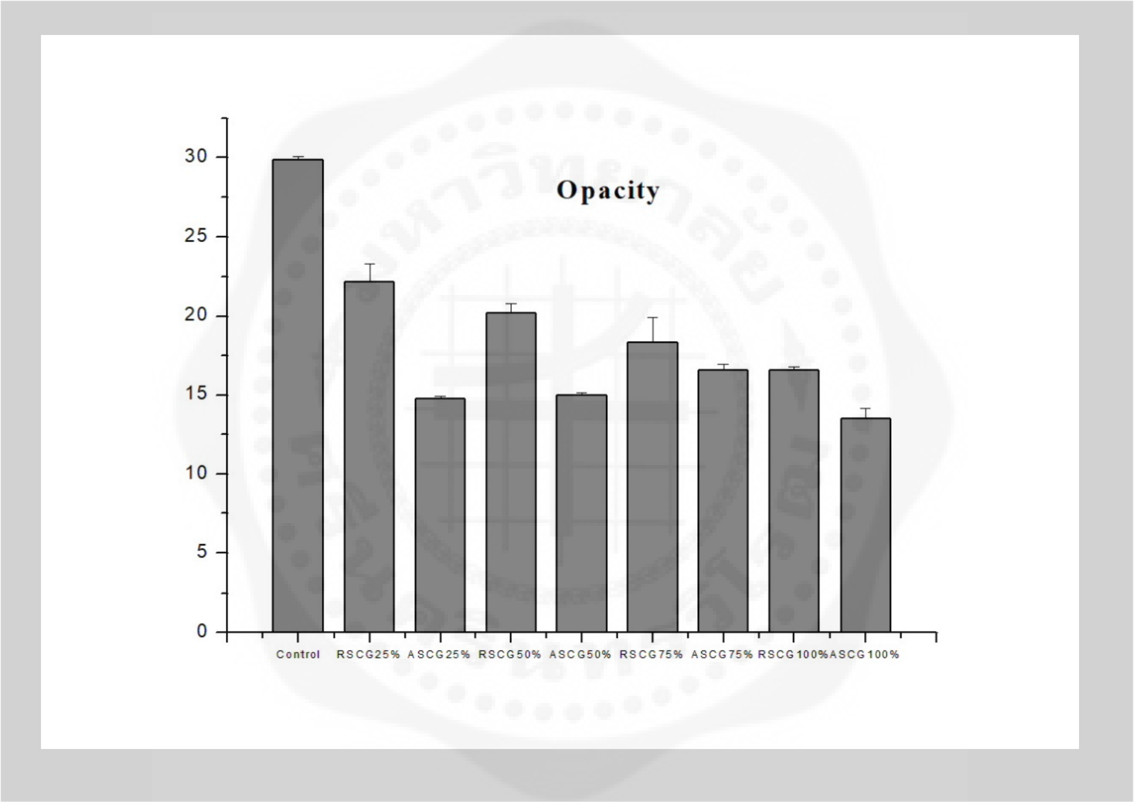
จากการตรวจสอบความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่ผ่านการอบแห้งด้วยเครื่องไมโครมิเตอร์ โดยได้ทำการวัดค่าเฉลี่ยความหนาจากการวัดแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสที่จุดต่างกัน 3 จุด โดย Control มีค่าเฉลี่ยคือ 0.032 mm และในสัดส่วน RSCG25%, RSCG50%, RSCG75% และ RSCG100% ได้ค่าเฉลี่ย 0.024, 0.035, 0.015, 0.013 mm ตามลำดับ และในสัดส่วน ASCG25%, ASCG50%, ASCG75% และ ASCG100% ได้ค่าเฉลี่ย 0.019, 0.030, 0.010, 0.0098 mm ตามลำดับ โดยผลค่าเฉลี่ยที่ได้สูงสุดคือสัดส่วนกากกาแฟที่ RSCG 50% และ ASCG50% ซึ่งไม่เป็นไปตามลำดับสัดส่วนที่ใส่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟ ปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ที่เข้ามาแทนที่อาหารเลี้ยงเชื้อ HS จึงไม่มีผลทำให้ความหนาของแผ่นฟอร์มเปลี่ยนไปซึ่งทำให้ไม่สามารถควบคุมขนาดของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสได้ แสดงดังภาพ 4.15



ภาพที่ 4.15 ค่าเฉลี่ยความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสจากเครื่องไมโครมิเตอร์

4.3.2 การวิเคราะห์สมบัติความทึบแสง-โปร่งแสงด้วยเครื่อง Colorimeter

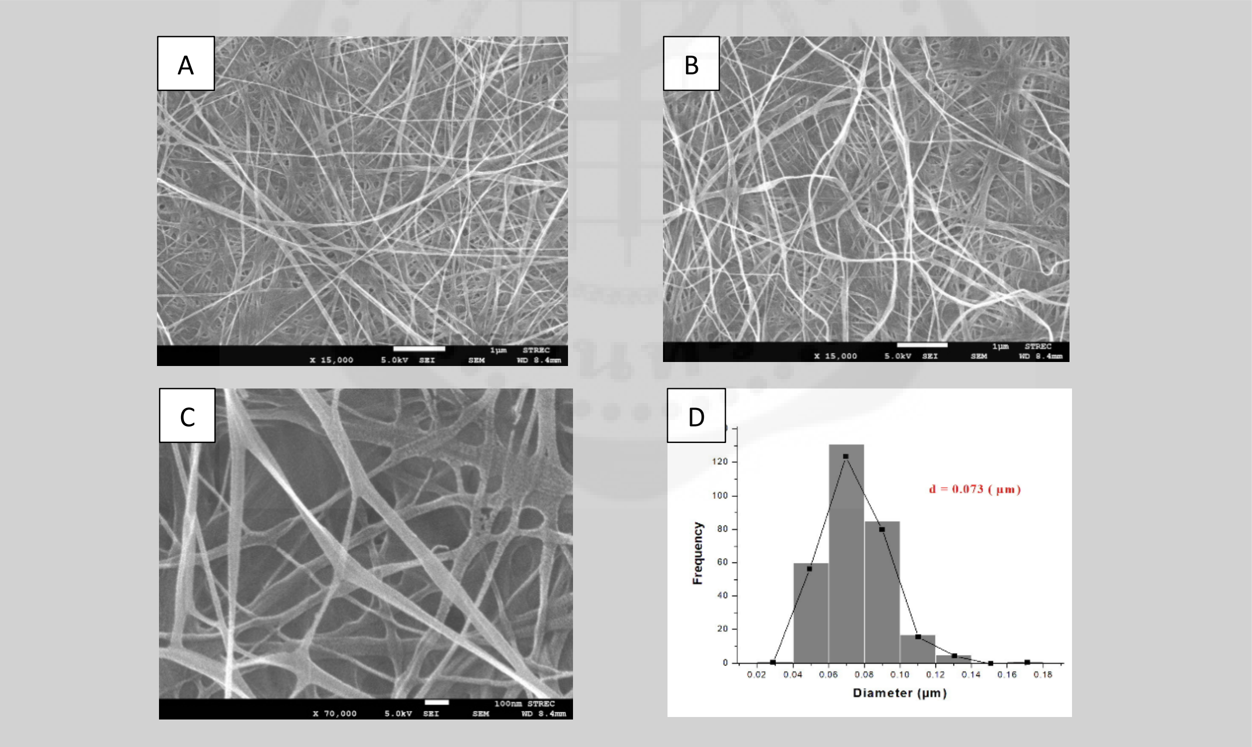
จากการวิเคราะห์สมบัติความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสหลังจากการอบแห้งเป็นเวลา 12 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 75°C ด้วยเครื่อง Colorimeter พบว่าค่าความทึบสูงที่สุด คือ แบคทีเรียลเซลลูโลสที่ใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ Hestrin & Schramn (HS) ในสัดส่วนของ Control แสดงดังภาพ 4.16 ซึ่งสัมพันธ์กับค่าความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส แสดงให้เห็นว่าความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสส่งผลต่อสมบัติความทึบแสง-โปร่งแสง



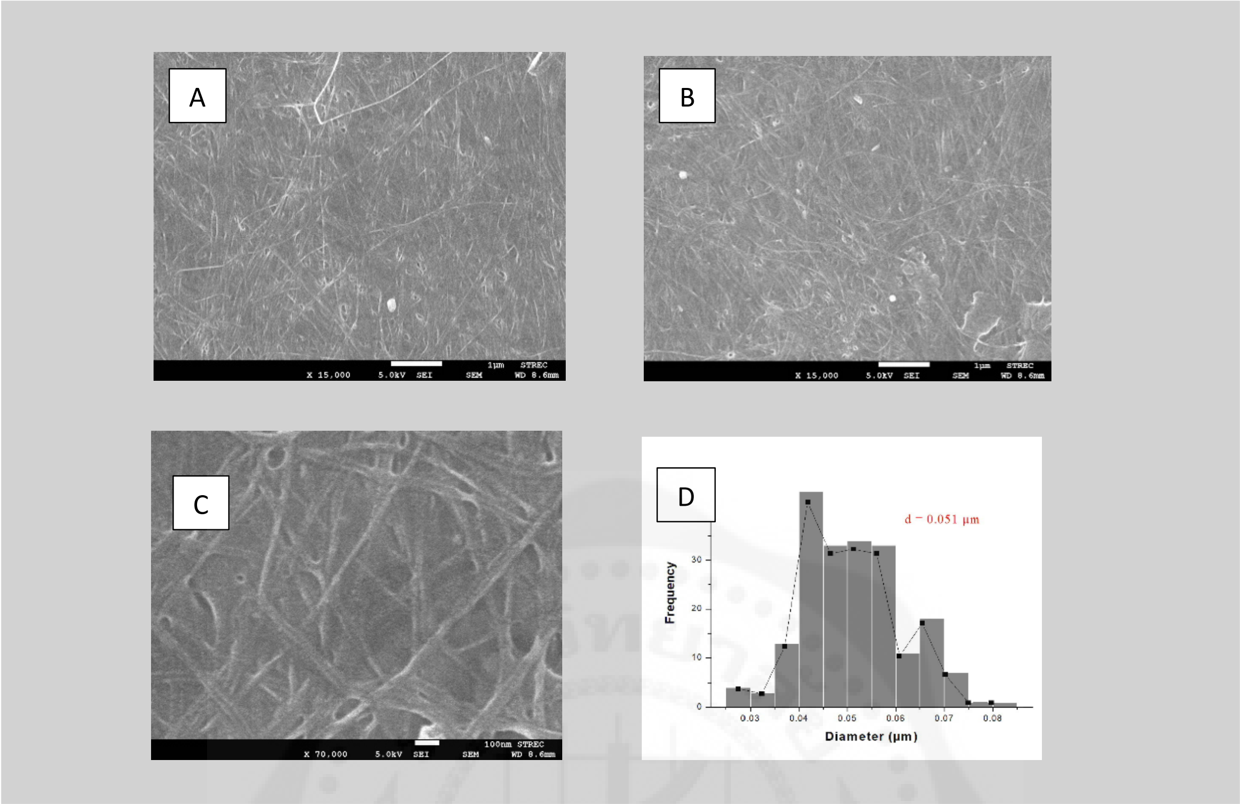
ภาพที่ 4.16 ค่าเฉลี่ยความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส

4.3.3 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางกายภาพด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope; SEM)

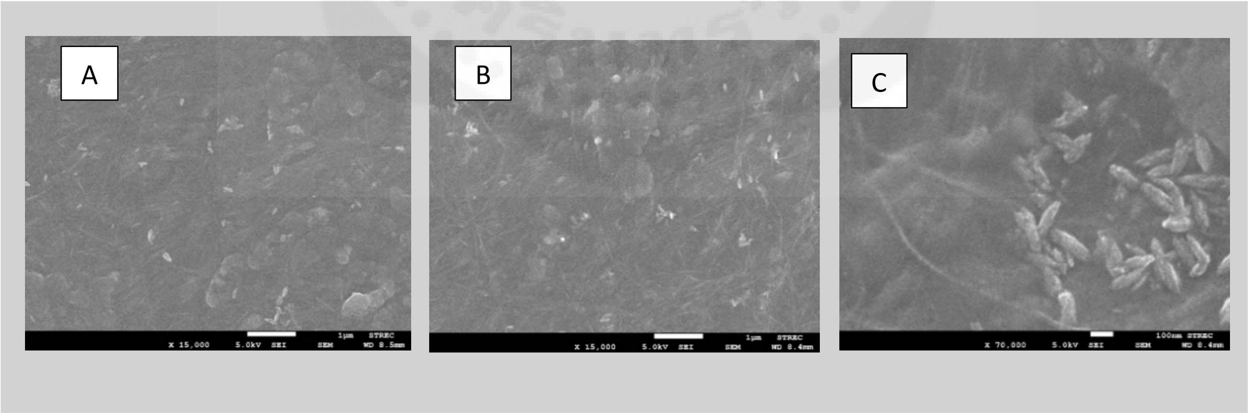
จากการวิเคราะคุณลักษณะทางกายภาพลักษณะแบคทีเรียลเซลลูโลส ที่สภาวะการเลี้ยงแบบนิ่งภายใต้อุณหภูมิ 30°C ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด ที่กำลังขยาย 15,000 เท่า และกำลังขยาย 70,000 เท่า พบว่าเส้นใยจากแผ่นฟอร์ม BC ในอาหารเลี้ยงเชื้อ HS เส้นใยที่เกิดขึ้นมีลักษณะอยู่กันแบบแน่นหนา รูพรุนน้อย เส้นใยมีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.073 µm การกระจายตัวของขนาดลักษณะแคบ แสดงดังภาพที่ 4.17 เส้นใยจากแผ่นฟอร์ม BC ในอาหารเลี้ยงเชื้อ ASCG 50% เส้นใยที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่เล็กลงมา เส้นใยอยู่กันอย่างหนาแน่นมากกว่าแต่ยังมีรูพรุนซึ่งดักจับโมเลกุลของน้ำได้ ส่งผลให้ค่า WHC สูง เส้นใยมีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเฉลี่ยเท่ากับ 0.051 µm การกระจายตัวของขนาดมีลักษณะแคบ แสดงดังภาพที่ 4.18 เส้นใยจากแผ่นฟอร์ม BC ในอาหารเลี้ยงเชื้อ RSCG 50% เส้นใยที่เกิดขึ้นมีลักษณะที่เล็กเมื่อเทียบกับ ASCG 50% โครงข่ายมีความหนาแน่นมากขึ้นช่องว่างในการดักน้ำน้อยลง ค่า WHC จึงต่ำกว่า ASCG 50% แสดงดังภาพ 4.19



ภาพที่ 4.17 โดย (A), (B) ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ HS ที่สภาวะการเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 30°C ด้วยเทคนิค SEM กำลังขยาย 15,000 เท่า (C) และกำลังขยาย 70,000 เท่า (D) และผลการวิเคราะห์เส้นใยที่มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.073 µm



ภาพที่ 4.18 โดย (A), (B) ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ ASCG 50% ที่สภาวะการเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 30°C ด้วยเทคนิค SEM กำลังขยาย 15,000 เท่า (C) และกำลังขยาย 70,000 เท่า (D) และผลการวิเคราะห์เส้นใยที่มีค่าเฉลี่ยขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางเท่ากับ 0.051 µm



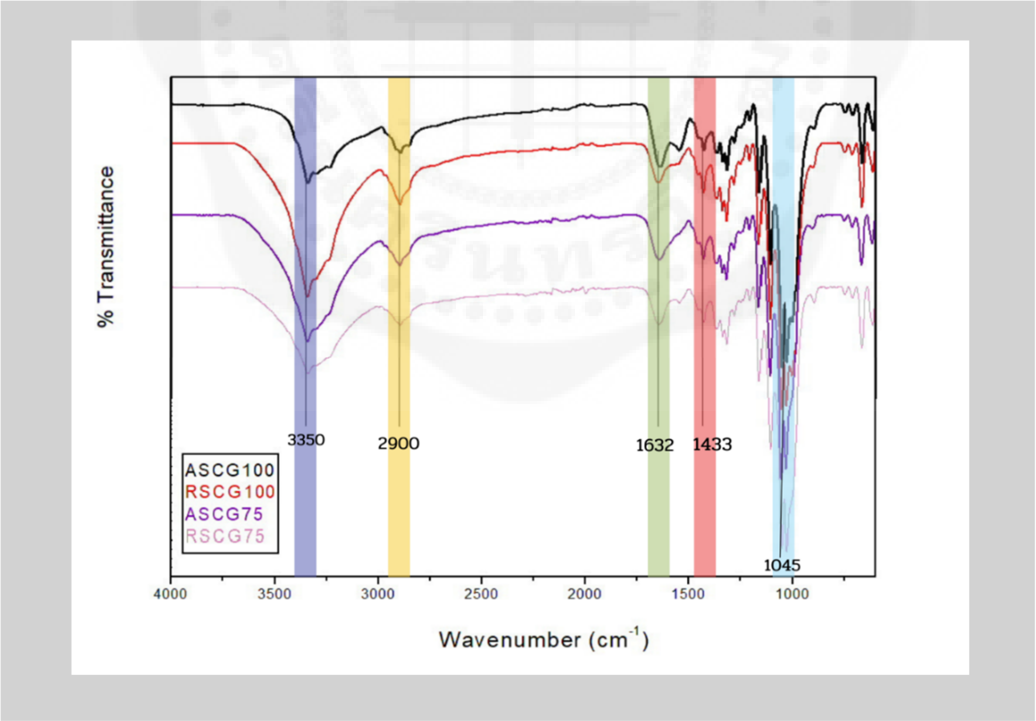
ภาพที่ 4.19 โดย (A), (B) ลักษณะสัณฐานวิทยาของแบคทีเรียลเซลลูโลสในอาหารเลี้ยงเชื้อ RSCG 50% ที่สภาวะการเลี้ยงภายใต้อุณหภูมิ 30°C ด้วยเทคนิค SEM กำลังขยาย 15,000 เท่า (C) และกำลังขยาย 70,000 เท่า

4.3.4 การวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีด้วยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรด สเปคโตรมิเตอร์ (Fourier Transform Infrared Spectroscopy; FT-IR)

จากการวิเคราะห์คุณลักษณะทางเคมีด้วยฟูเรียร์ทรานสฟอร์มอินฟราเรดสเปคโตรมิเตอร์ หรือ FT-IR โดยทำการตรวจสอบตัวอย่าง RSCG75% ASCG75% RSCG100% และASCG100% โดยพีคเทียบกับพีคมาตราฐาน ทำให้ทราบถึงพีคดังนี้ ที่เลขคลื่น 3350 แสดงหมู่ hydroxyl groups stretching และที่เลขคลื่น 2900 แสดงหมู่ C–H stretching และที่เลขคลื่น 1632 แสดงหมู่ carbonyl amide ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการล้างแบคทีเรียลเซลลูโลส และที่เลขคลื่น 1433 แสดงหมู่ C–H bending และที่เลขคลื่น 1045 แสดงหมู่ C–O–C และ C–O–H stretching แสดงดังภาพที่ 4.20 จากที่กล่าวมานั้นสามารถยืนยันความบริสุทธิ์ของแบคทีเรียลเซลลูโลสแสดงดังตาราง 4.3 ที่มีค่าใกล้เคียง 1 มากที่สุดคือ LOI = 0.98 แสดงดังตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์ความบริสุทธิ์

	Control	ASCG	RSCG
Tot Crl	1.00	1.00	1.00
LOI	0.97	0.98	0.98



ภาพที่ 4.20 Fourier Transform Infrared Spectroscopy ; FT-IR

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากปัญหากากกาแฟที่เป็นของเหลือทิ้งจากการบริโภคเป็นปริมาณสูงต่อปี และการก้าวหน้าทางเครื่องสำอางค์ที่กลายมาเป็นแนวคิดการนำกากกาแฟเหลือทิ้งมาเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแบคทีเรีย ที่สามารถสร้างเป็นแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสมาส์กเพื่อลดปัญหาที่มีผลต่อสิ่งแวดล้อมและแทนที่แผ่นมาส์กทั่วไป งานวิจัยนี้จึงนำกากกาแฟซึ่งเป็นของเสียที่ใช้แล้วมาย่อยด้วยเอนไซม์ออกมาเพื่อเป็นน้ำตาลหรือแหล่งคาร์บอน ค่าน้ำตาลรีดิวซ์จากการไฮโดรไลเสตของน้ำกากกาแฟโรบัสต้ามีค่าสูงกว่าอราบิก้าคือมีค่าที่ 19.92 g/l และใช้แบคทีเรีย *Komagataeibacter nataicola* TISTR 975 สามารถทำการผลิตแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสในสัดส่วน RSCG-ASCG0%, 25%, 50%, 75% และ 100% ที่การเพาะเลี้ยงสภาวะแบบนิ่งซึ่งผลผลิตจากการแทนที่ด้วยไฮโดรไลเสตในสัดส่วนที่ RSCG25% มีผลผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสสูงสุดจากการวิเคราะห์ของปริมาณน้ำตาลที่แบคทีเรียใช้ไป คือ 14.07 g/l และ BC production, Substrate conversion ratio, BC production yield และผลวิเคราะห์ความสามารถในการอุ้มน้ำ (WHC) ที่มีสัมพันธ์กับความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส

จากการศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียลเซลลูโลส พบว่าความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสไม่สามารถควบคุมได้จากการเพิ่มสัดส่วนปริมาณน้ำตาลที่เติมลงไปในการเลี้ยงเชื้อแบคทีเรียทำให้สัดส่วน ASCG100% มีค่าสูงที่สุดคือ 222.12 และการวิเคราะห์สมบัติความทึบแสง-โปร่งแสง จากการแทนที่ด้วยไฮโดรไลเสตในสัดส่วน RSCG25% มีค่าความทึบแสงที่มากที่สุดคือ 22.17 และในส่วนของคุณลักษณทางกายภาพจากการวิเคราะห์ด้วย SEM พบว่าค่าเฉลี่ยเส้นผ่านศูนย์กลางของเส้นใยแบคทีเรียลเซลลูโลสจากอาหารเลี้ยงเชื้อ HS และน้ำตาลรีดิวซ์จากกากกาแฟ คือ 0.073 μm และ 0.051 μm ตามลำดับ ซึ่งมีลักษณะโครงสร้างเส้นใย มีรูพรุน ไม่แตกต่างกันมาก การกระจายตัวเป็นแบบแคบ และจากการวิเคราะห์โครงสร้างทางเคมีด้วยวิธีการ FT-IR โดยทำการตรวจสอบตัวอย่าง RSCG75% ASCG75% RSCG100% และ ASCG100% โดยพีคเทียบกับพีคมาตราฐานทำให้ทราบถึงพีคดังนี้ ที่เลขคลื่น 3350 แสดงหมู่ hydroxyl groups stretching และที่เลขคลื่น 2900 แสดงหมู่ C–H stretching และที่เลขคลื่น 1632 แสดงหมู่ carbonyl amide ซึ่งอาจเกิดจากกระบวนการล้างแบคทีเรียลเซลลูโลส และที่เลขคลื่น 1433 แสดงหมู่ C–H bending และที่เลขคลื่น 1045 แสดงหมู่ C–O–C และ C–O–H stretching จากที่กล่าวมานั้นสามารถยืนยันความบริสุทธิ์ของแบคทีเรียลเซลลูโลสแสดงดังตาราง 4.3 ที่มีค่าใกล้เคียง 1 มากที่สุดคือ LOI = 0.98 ทำให้สามารถนำแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสไปพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์แผ่นมาส์กหน้า และผลิตภัณฑ์ทางความงามได้

บรรณานุกรม

1. ขนิษฐา หิรัญคำ. การสกัดสารแซนโทฟิลจากดอกดาวเรืองโดยเอนไซม์เซลลูเลส. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์; คณะวิทยาศาสตร์. 2543;9.
2. ชฎาพร ผิวทอง, สุดารัตน์ ทองแดง, สัมฤทธิ์ ประวิทย์ธนา. การคัดเลือกแบคทีเรียทนร้อนที่มีสมบัติในการผลิตเซลลูเลสเพื่อการย่อยสลายชานอ้อย. มหาวิทยาลัยราชภัฏอุบลราชธานี คณะวิทยาศาสตร์. 2558;1
3. ชนิดาภา ธนะศรีรางกูร, เพชรดา ปินใจ และ พิลานี ไวถนอมสัตย์. การคัดเลือกแบคทีเรียผลิตเอนไซม์เซลลูเลสและประสิทธิภาพ ในการย่อยสลายวัสดุลิกโนเซลลูโลส. วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 2561;2
4. ณัฏฐ์ปภาณ ยาวุฒิ, อนิรุท ไชยจารวณิช และ สุรักษ์ อุดมสม. การวิเคราะห์ปัจจัยที่ส่งผลต่อความเป็นพิษของเซลล์ผิวหนังของแผ่นมาส์กหน้าจากไฟโบรอิน. Naresuan University Engineering Journal. 2017;121.
5. นันทรัตน์ พฤกษาพิทักษ์, สมพงษ์ โอทอง และ เฉลิมเกียรติ แก้วนุ่น. [อินเตอร์เน็ต]. การผลิตเซลลูโลสจากน้ำคั้นยอดปาล์มน้ำมันโค่นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่โดยเชื้อ Acetobecter xylinum TISTR 086. [เข้าถึงเมื่อ 10 มกราคม 2565]. เข้าถึงได้จาก : https://tinyurl.com/2p8te6jh
6. บุปผาชาติ ยศคันโท, คมกฤต เล็กสกุล, มลทิรา ต๊ะบุญธง และ วลัยลักษณ์ ไชยสกูล. การศึกษาคุณสมบัติของเซลลูโลสแบคทีเรียเพื่อการผลิตกระถางย่อยสลายได้. การประชุมวิชาการข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหการ. 2555;1282.
7. ประมวล ทรายทอง. บทบาทของแบคทีเรียกรดอะซิติกในอุตสาหกรรมอาหาร. ธุรกิจและอุตสาหกรรม. 2554;316-321.
8. ปริญดา ทองพันธุ์. ปัจจัยส่วนประสมการตลาดที่ส่งผลต่อการตัดสินใจเลือกใช้แผ่นมาส์กบำรุงผิวหน้า (Sheet Mask). มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์; คณะพาณิชยศาสตร์และการบัญชี. 2559;2.
9. พิชัย เอี่ยวเล็ก. การสกัดน้ำมันจากกากกาแฟด้วยวิธีการสลัดของแข็งด้วยของเหลว. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์ คณะวิศวกรรมศาสตร์มหาบัณฑิต 2559;1-162.
10. พิพัฒน์ สุดยิ่ง. การผลิตและประเมินคุณลักษณะของนาโนแบคทีเรียลเซลลูโลส จาก Komagataeibacter nataicola โดยใช้น้ำซาวข้าว.มหาวิทยาลัยศิลปากร คณะวิทยาศาสตร์. 2560;1-130

11. รพีพรรณ กองตูม. กากกาแฟ : มูลค่าเพิ่มและการใช้ประโยชน์. การประชุมวิชาการระดับชาติ ครั้งที่ 5; ราชภัฏหมู่บ้านจอมบึงวิจัย. 2560;345.

12. วรรณวิภา ไชยชาญ, วีระศักดิ์ ไชยชาญ, อเนก สาวะอินทร์. กระถางเพาะชำจากกากกาแฟ ปูนขาวจากเปลือกหอย และขี้เลื่อยไม้ยางพารา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลศรีวิชัย. 2560;15-16.

13. สาขาวิชาเคมี ภาควิชาวิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์. [อินเตอร์เน็ต]. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากผลไม้พื้นบ้าน. [เข้าถึงเมื่อ 9 มกราคม 2565]. เข้าถึงได้จาก : https://tinyurl.com/3njuvc8f

14. เสาวภา สรุาวธุ, ประสาน แสงไพบลูย์, วิญญู ภักดี, เดือนเต็ม ทองเผือก, กาญจนา ราชสุวรรณ, วิระ ศรีมาลา. การคัดแยกเชื้อราที่สร้างเอนไซม์เซลลูเลสในพื้นที่ป่าโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช อันเนื่องมาจากพระราชดำริสมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี มหาวิทยาลัยราชภัฏรำไพพรรณี. การประชุมวิชาการ ทรัพยากรไทย : ก้าวสู่โลกกว้างอย่างมั่นใจ. 2555;48-58.

15. Adisak Jaturapiree, Ekrachan Chaichana, Thanunya Saowapark, Bongkot Chuenpraphai, Phimchanok Jaturapiree. Production and Characteri[ation of Bacterial Cellulose Produced by Acetobacter xylinum TISTR 975 from Pineapple Peel Juice. RMUTP Research Journal. 2019;183.

16. Bodin, A., Bäckdahl, H., Petersen, N. and Gatenholm, P. Bacterial Cellulose as Biomaterial A2 - Ducheyne, Paul. In Comprehensive Biomaterials. 2011;405-410.

17. Churairat Moukamnerd, Keeratiya Ounmuang, Natthakan Konboa, Chayatip Insomphun. Bacterial Cellulose Production by Komagataeibacter nataicola TISTR 2661 by Agro-waste as a Carbon Source. Chiang Mai J. Sci. 2020;16-27.

18. Heng Zhang, Xuran Xu, Xiao Chen, Fanshu Yuan, Bianjing Sun, Yunhua Xu, et al. Complete genome sequence of the cellulose-producing strain Komagataeibacter nataicola RZS01. Scientific Reports. 2017;1-8.

19. Hudeckova H, Neureiter M, Obruca S, Frühauf S, Marova I. Biotechnological conversion of spent coffee grounds into lactic acid. Letters in Applied Microbiology. 2018;306.

20. Jinnapat A, Rattanasing A. การศึกษาประสิทธิภาพการดูดซับสังกะสีไอออนด้วยถ่านกัมมันต์ที่ได้จากกากกาแฟ. NKRAFA JOURNAL OF SCIENCE AND TECHNOLOGY. 2021 Dec 30;17(2):69-78.

21. Kang Hyun Lee, Ye Won Jang, Jeongho Lee, Seunghee Kim, Chulhwan Park, Hah Young Yoo. Statistical Optimization of Alkali Pretreatment to Improve Sugars Recovery from Spent Coffee Grounds and Utilization in Lactic Acid Fermentation. Processes. 2021;2-3.
22. Karol Fijałkowski, Anna zywicka, Radosław Drozd, Marian Kordas and Rafał Rakoczy. Effect of Gluconacetobacter xylinus cultivation conditions on the selected properties of bacterial cellulose. Polish Journal of Chemical Technolog. 2016;1.
23. Keshk SMAS. Bacterial Cellulose Production and its Industrial Applications. Journal of Bioprocessing & Biotechniques. 2014;1.
24. Kim,Taylor, Hicks. Bioethanol Production from Barley Hull Using SSA (Soaking in Aqueous Ammonia) Pretreatment. Bioresource Technology. 2018; :5694-5702.
25. Kumar, Singh, Mishra, Adhikari. Continuous ethanol production by Kluyveromyces sp. Journal of Petroleum Technology and AlternativeFuels. 2011;1-6.
26. Marketingoops [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพมหานคร: สำนักงาน; 2563. อัพเดทมูลค่า-เทรนด์ ‘ตลาดความงาม’ ในยุคที่คน(ต้อง)สวย ภายใต้หน้ากาก. [เข้าถึงเมื่อ 5 พฤษภาคม 2564]. เข้าถึงได้จาก: https://www.marketingoops.com/reports/industry-insight/value-and-trend-beauty-market-2020/
27. McMillan. Pretreatment of lignocellulosic biomass. In:Himmel, M.E., Baker, J.O., Overend, R.P. (Eds.), Enzymatic Conversion of Biomass for Fuels Production. American Chemical Society, Washington, D.C., pp. 292–324.
28. Palmqvist. Fermentation of Lignocel-lulosic Hydrolysates. Bioresource Tech. 2002;17.
29. Rocio Campos-Vega, Guadalupe Loarca-Piña, Haydé A. Vergara-Castañeda, and B. Dave Oomah. Spent coffee grounds: A review on current research and future prospects. Trends in Food Science & Technology. 2015;24–36.
30. Smart SME [อินเทอร์เน็ต]. กรุงเทพมหานคร: สำนักงาน; 2563. เครื่องสำอางใหม่ครบวงจรสวย รวยด้วยแบรนด์ตัวเอง. ไมโครคอมพิวเตอร์. [เข้าถึงเมื่อ 15 พฤษภาคม 2564]. เข้าถึงได้จาก: http://www.smartsme.tv/
31. Sun, Cheng. Hydroloysis of lignocellulosic materials for bioethanol production: review. Bioresour. 2002;1-11.

32. Tummakate A. พันธุ์กาแฟอาราบิก้าในประเทศไทย. Thai Agricultural Research Journal. 1985 May 1;3(2):128-136.

33. Ul-Islam, M., Khan, T. and Park, J. K. Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. Carbohydrate Polymers. 2012;596-603.

34. Yachmenev, Condon, Klasson, Lambert. Accerelation of enzymatic hydrolysis of corn stover and sugar cane baggasse by low intensity uniform ultrasound. Bioenergy. 2009;25-31.

35. Zhou, L., Sun, D., Hu, L., Li, Y. and Yang, J. Effect of addition of sodium alginate on bacterial cellulose production by Acetobacter xylinum. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology.2007;483-489.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

ข้อมูลดิบการทดลอง

ตารางที่1 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้ายของ Control

Raw data		Day0	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error	Day7	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
	หัวเชื้อ OD	g/l	g/l	g/l	g/l		g/l	g/l	g/l	g/l	
Control	0.05	22.36	22.98	22.53	22.62	1.42	8.01	8.2	8.38	8.20	2.26
Control	0.05	23.65	23.46	23.87	23.66	0.87	8.52	7.75	8.21	8.16	4.75
Control	0.05	22.95	23.05	22.74	22.91	0.69	7.21	7.88	8.03	7.71	5.67

ตารางที่2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้ายของ ASCG-RSCG25%

Raw data		Day0	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error	Day7	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
	หัวเชื้อ OD	g/l	g/l	g/l	g/l		g/l	g/l	g/l	g/l	
ASCG25%	0.05	14.10	14.51	14.56	14.39	1.75	6.13	6.09	6.48	6.23	3.44
ASCG25%	0.05	14.56	15.27	14.78	14.87	2.44	6.28	5.94	5.97	6.06	3.10
ASCG25%	0.05	14.84	14.65	14.50	14.66	1.16	5.80	6.10	5.90	5.93	2.57
RSCG25%	0.05	21.89	21.79	22.49	22.06	1.72	9.87	9.79	9.44	9.70	2.36
RSCG25%	0.05	21.98	21.49	22.79	22.09	2.97	8.87	8.97	8.25	8.70	4.48
RSCG25%	0.05	23.63	25.81	22.23	23.89	7.55	9.57	9.30	8.89	9.25	3.70

ตารางที่3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้ายของ ASCG-RSCG50%

Raw data		Day0	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error	Day9	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
	หัวเชื้อ OD	g/l	g/l	g/l	g/l		g/l	g/l	g/l	g/l	
ASCG50%	0.05	13.53	14.23	13.76	13.84	2.58	6.51	6.24	6.89	6.55	4.99
ASCG50%	0.05	12.29	12.67	13.08	12.68	3.12	5.98	5.63	6.42	6.01	6.59
ASCG50%	0.05	12.53	11.98	13.35	12.62	5.46	6.22	6.45	6.93	6.53	5.54
RSCG50%	0.05	17.64	17.12	18.54	17.77	4.04	7.17	7.28	7.20	7.22	0.79
RSCG50%	0.05	17.01	17.42	17.23	17.22	1.19	8.16	8.21	7.21	7.86	7.17
RSCG50%	0.05	17.64	18.36	17.94	17.98	2.01	7.57	7.59	7.30	7.49	2.16

ตารางที่4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้ายของ ASCG-RSCG75%

Raw data		Day0	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error	Day7	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
	หัวเชื้อ OD	g/l	g/l	g/l	g/l		g/l	g/l	g/l	g/l	
ASCG75%	0.05	14.56	14.75	15.20	14.84	2.22	8.52	8.23	8.69	8.48	2.74
ASCG75%	0.05	14.91	15.88	14.02	14.94	6.23	8.25	8.67	8.54	8.49	2.53
ASCG75%	0.05	14.12	14.98	14.77	14.62	3.07	7.86	7.89	7.87	7.87	0.19
RSCG75%	0.05	18.04	18.56	18.55	18.38	1.62	9.64	9.45	9.88	9.66	2.23
RSCG75%	0.05	19.02	19.87	19.45	19.45	2.19	9.90	9.94	9.97	9.94	0.35
RSCG75%	0.05	19.87	19.15	19.03	19.35	2.35	9.52	9.72	9.28	9.51	2.32

ตารางที่5 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สุดท้ายของ ASCG-RSCG100%

Raw data		Day0	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error	Day7	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
	หัวเชื้อ OD	g/l	g/l	g/l	g/l		g/l	g/l	g/l	g/l	
ASCG100%	0.05	12.29	11.89	13.95	12.71	8.59	6.71	7.75	7.78	7.41	8.22
ASCG100%	0.05	11.15	12.13	11.82	11.70	4.28	7.27	6.71	6.61	6.86	5.18
ASCG100%	0.05	11.53	11.78	12.79	12.03	5.54	7.81	7.97	7.54	7.77	2.80
RSCG100%	0.05	18.03	18.85	17.68	18.19	3.30	9.89	9.78	9.45	9.71	2.36
RSCG100%	0.05	18.13	18.65	18.57	18.45	1.52	9.88	9.25	9.67	9.60	3.34
RSCG100%	0.05	17.25	18.30	17.88	17.81	2.97	9.36	8.91	8.97	9.08	2.69

ตารางที่ 6 น้ำหนักแบคทีเรียลเซลลูโลสและความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส Control

Raw data	นน.เปียก	นน.แห้งของถ้วย	นน.แห้งของ Bac Cell	นน แห้งรวม	WHC	ความหนา	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย	% Error
	g	g	g			mm	mm	mm	mm	mm	mm	
Control	8.9352	0.4178	0.2405	0.6583	36.1526	0.0350	0.0360	0.0370	0.0370	0.0420	0.0374	7.2242
Control	9.8692	0.2443	0.1856	0.4299	52.1746	0.0300	0.0340	0.0310	0.0330	0.0340	0.0324	5.6068
Control	7.7098	0.3502	0.1533	0.5035	49.2922	0.0290	0.0270	0.0250	0.0270	0.0270	0.0270	5.2378

ตารางที่ 7 น้ำหนักแบคทีเรียลเซลลูโลสและความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสของ ASCG-RSCG25%

Raw data	นน.เปียก	นน.แห้งของถ้วย	นน.แห้งของ Bac Cell	นน แห้งรวม	WHC	ความหนา	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย	% Error
	g	g	g			mm	mm	mm	mm	mm	mm	
ASCG25%	9.4359	0.3978	0.0517	0.4495	181.513	0.024	0.023	0.022	0.02	0.025	0.0228	8.43657
ASCG25%	6.0974	0.3462	0.0644	0.4106	93.6801	0.02	0.012	0.014	0.014	0.015	0.015	20
ASCG25%	5.8453	0.2969	0.0773	0.3742	74.6184	0.018	0.017	0.02	0.017	0.019	0.0182	7.16396
RSCG25%	12.3848	0.3962	0.1813	0.5775	67.3111	0.029	0.03	0.027	0.024	0.025	0.027	9.44263
RSCG25%	8.7539	0.3898	0.0533	0.4431	163.238	0.03	0.028	0.029	0.03	0.028	0.029	3.44828
RSCG25%	7.4692	0.3755	0.128	0.5035	57.3531	0.018	0.017	0.016	0.017	0.018	0.0172	4.8643

ตารางที่ 8 น้ำหนักแบคทีเรียลเซลลูโลสและความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสของ ASCG-RSCG50%

Raw data	นน.เปียก	นน.แห้งของถ้วย	นน.แห้งของ Bac Cell	นน แห้งรวม	WHC	ความหนา	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย	% Error
	g	g	g			mm	mm	mm	mm	mm	mm	
ASCG50%	5.7787	0.3976	0.0381	0.4357	150.672	0.026	0.033	0.031	0.03	0.033	0.0306	9.41494
ASCG50%	7.1706	0.4432	0.0077	0.4509	930.247	0.027	0.034	0.023	0.031	0.029	0.0288	14.4003
ASCG50%	5.7125	0.5373	0.0406	0.5779	139.702	0.032	0.032	0.032	0.032	0.03	0.0316	2.83047
RSCG50%	5.5541	0.5047	0.0568	0.5615	96.7835	0.024	0.019	0.02	0.021	0.023	0.0214	9.68993
RSCG50%	6.3487	0.6167	0.0772	0.6939	81.237	0.044	0.035	0.033	0.045	0.039	0.0392	13.5469
RSCG50%	5.891	0.5847	0.0798	0.6645	72.8221	0.04	0.046	0.044	0.05	0.042	0.0444	8.66459

ตารางที่ 9 น้ำหนักแบคทีเรียลเซลลูโลสและความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสของ ASCG-RSCG75%

Raw data	นน.เปียก	นน.แห้งของถ้วย	นน.แห้งของ Bac Cell	นน แห้งรวม	WHC	ความหนา	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย	% Error
	g	g	g			mm	mm	mm	mm	mm	mm	
ASCG75%	3.8933	0.7541	0.0257	0.7798	150.49	0.012	0.0112	0.01	0.011	0.011	0.01104	6.45599
ASCG75%	3.4122	0.7838	0.0172	0.801	197.384	0.009	0.009	0.008	0.008	0.008	0.0084	6.52051
ASCG75%	2.0971	0.7906	0.0085	0.7991	245.718	0.012	0.011	0.009	0.01	0.012	0.0108	12.0726
RSCG75%	4.8855	0.7851	0.0351	0.8202	138.188	0.017	0.019	0.018	0.018	0.019	0.0182	4.59703
RSCG75%	3.6832	0.7829	0.0318	0.8147	114.824	0.012	0.013	0.012	0.012	0.011	0.012	5.89256
RSCG75%	4.0877	0.7802	0.0363	0.8165	111.609	0.018	0.017	0.019	0.017	0.018	0.0178	4.70034

ตารางที่ 10 น้ำหนักแบคทีเรียลเซลลูโลสและความหนาของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลสของ ASCG-RSCG100%

Raw data	นน.เปียก	นน.แห้งของถ้วย	นน.แห้งของ Bac Cell	นน แห้งรวม	WHC	ความหนา	ซ้ำ2	ซ้ำ3	ซ้ำ4	ซ้ำ5	เฉลี่ย	% Error
	g	g	g			mm	mm	mm	mm	mm	mm	
ASCG100%	7.408	0.8326	0.0722	0.9048	101.6039	0.012	0.013	0.012	0.011	0.01	0.0116	9.829098
ASCG100%	4.1237	1.0882	0.012	1.1002	342.6417	0.011	0.009	0.011	0.01	0.01	0.0102	8.202549
ASCG100%	3.8961	0.8379	0.0095	0.8474	409.1158	0.009	0.008	0.008	0.007	0.008	0.008	8.838835
RSCG100%	5.1103	0.8217	0.0537	0.8754	94.16387	0.014	0.015	0.014	0.014	0.012	0.0138	7.938008
RSCG100%	4.5522	0.7733	0.0606	0.8339	74.11881	0.012	0.014	0.012	0.012	0.014	0.0128	8.558165
RSCG100%	4.7173	1.0404	0.0148	1.0552	317.7365	0.012	0.011	0.015	0.013	0.015	0.0132	13.55193

ตารางที่ 11 แสดงค่าการวัดความชุ่มชื้น

Moist ก่อนใช้				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
Ex.				
Negative	12.90	11.20	13.10	12.40
Sheet	12.50	11.80	12.40	12.23
Control	11.90	12.90	12.60	12.47
ASCG100	12.30	13.70	12.90	12.97
ASCG50	11.70	11.50	12.20	11.80
RSCG50	11.60	11.80	12.30	11.90
RSCG25	11.90	11.60	12.50	12.00

Moist หลัง15นาที				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
Ex.				
Negative	19.30	18.60	19.80	19.23
Sheet	22.40	21.30	21.50	21.73
Control	19.20	18.40	18.50	18.70
ASCG100	28.20	27.90	29.80	28.63
ASCG50	24.90	24.50	24.20	24.53
RSCG50	23.40	22.90	23.50	23.27
RSCG25	22.60	21.40	22.50	22.17

Moist หลัง120นาที				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
Ex.				
Negative	15.20	16.10	14.80	15.37
Sheet	16.50	16.20	14.70	15.80
Control	14.30	15.10	15.20	14.87
ASCG100	21.50	19.80	20.00	20.43
ASCG50	16.70	17.50	17.00	17.07
RSCG50	15.90	17.00	16.10	16.33
RSCG25	14.90	15.30	15.80	15.33

Moist หลังตื่น				
	1	2	3	ค่าเฉลี่ย
Ex.				
Negative	12.30	12.50	12.70	12.50
Sheet	12.40	12.60	13.00	12.67
Control	11.60	11.70	11.70	11.67
ASCG100	13.00	12.90	14.70	13.53
ASCG50	13.20	12.00	13.20	12.80
RSCG50	13.40	13.20	11.00	12.53
RSCG25	11.70	11.50	12.00	11.73

ตารางที่ 12 แสดงความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส Control

Raw data	ความทึบ	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
Control	30.80	29.50	29.60	29.97	2.41
Control	29.70	29.80	30.40	29.97	1.26
Control	28.90	30.00	29.70	29.53	1.93

ตารางที่ 13 แสดงความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส ASCG-RSCG25%

Raw data	ความทึบ	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
ASCG25%	15.00	14.90	14.80	14.90	0.67
ASCG25%	14.60	14.50	15.20	14.77	2.56
ASCG25%	14.30	13.90	15.40	14.53	5.34
RSCG25%	21.10	20.60	20.80	20.83	1.21
RSCG25%	22.90	21.40	23.60	22.63	4.97
RSCG25%	20.50	24.70	23.90	23.03	9.68

ตารางที่ 14 แสดงความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส ASCG-RSCG50%

Raw data	ความทึบ	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
ASCG50%	14.60	15.50	16.80	15.63	7.07
ASCG50%	15.60	14.50	14.20	14.77	4.99
ASCG50%	14.30	13.90	15.40	14.53	5.34
RSCG50%	19.10	20.60	19.80	19.83	3.78
RSCG50%	20.90	18.40	17.60	18.97	9.08
RSCG50%	20.50	20.70	23.90	21.70	8.79

ตารางที่ 16 แสดงความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส ASCG-RSCG75%

Raw data	ความทึบ	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
ASCG75%	17.10	16.90	15.80	16.60	4.22
ASCG75%	15.40	16.50	16.20	16.03	3.55
ASCG75%	17.50	18.10	15.40	17.00	8.34
RSCG75%	19.60	18.50	19.30	19.13	2.97
RSCG75%	18.60	15.40	16.60	16.87	9.58
RSCG75%	17.50	19.70	19.90	19.03	7.00

ตารางที่ 17 แสดงความทึบแสง-โปร่งแสงของแผ่นแบคทีเรียลเซลลูโลส ASCG-RSCG100%

Raw data	ความทึบ	ซ้ำ2	ซ้ำ3	เฉลี่ย	% Error
ASCG100%	14.20	14.60	12.60	13.80	7.67
ASCG100%	14.60	13.40	13.50	13.83	4.81
ASCG100%	13.20	12.90	12.70	12.93	1.95
RSCG100%	17.40	16.30	17.20	16.97	3.45
RSCG100%	16.80	15.70	17.40	16.63	5.18
RSCG100%	16.90	15.30	16.20	16.13	4.97

ตารางที่ 18 ตารางสรุปข้อมูลทั้งหมดชองสัดส่วน Control, ASCG และRSCG

สรุป	Day	0.00	final	Day harvest	m		BC production		Substrate conv ratio	BC production rate	BC production yield	WHC		Thickness		ความทึบ	
	หัวเชื้อ OD	g/l	g/l	Day	mg	sd	g/l	sd		g/l.d			sd	mm	sd		sd
Control	0.05	23.07	8.02	7.00	0.17	0.02	5.65	0.76	65.22	0.81	37.54	50.73	2.04	0.03	0.00	29.82	0.25
RSCG25%	0.05	23.29	9.22	7.00	0.12	0.04	4.03	1.26	60.42	0.58	28.63	62.33	7.04	0.02	0.00	22.17	1.17
ASCG25%	0.05	14.64	6.08	7.00	0.06	0.01	1.94	0.30	58.50	0.28	22.59	84.15	13.48	0.02	0.00	14.73	0.19
RSCG50%	0.05	17.66	7.54	7.00	0.07	0.00	2.38	0.06	57.30	0.34	23.48	89.01	5.95	0.04	0.01	20.17	0.61
ASCG50%	0.05	13.26	6.36	7.00	0.03	0.00	0.96	0.06	52.01	0.14	13.92	145.19	7.76	0.03	0.00	14.98	0.16
RSCG75%	0.05	18.87	9.80	7.00	0.04	0.01	1.37	0.44	48.07	0.20	15.09	101.24	2.27	0.01	0.00	18.34	1.60
ASCG75%	0.05	14.80	8.28	7.00	0.02	0.01	0.57	0.21	44.05	0.08	8.76	198.10	34.18	0.01	0.00	16.54	0.40
RSCG100%	0.05	18.15	9.46	7.00	0.04	0.03	1.43	0.92	47.86	0.20	16.51	84.14	14.17	0.01	0.00	16.58	0.24
ASCG100%	0.05	12.21	7.35	7.00	0.01	0.00	0.36	0.06	39.78	0.05	7.38	222.12	47.00	0.01	0.00	13.52	0.64

ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ สกุล นางสาววรินันท์ หนูนุ่ม

วัน เดือน ปีเกิด 29 กันยายน พ.ศ. 2542

สถานที่เกิด กรุงเทพมหานคร

วุฒิการศึกษา มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสายปัญญา ในพระบรมราชินูปถัมภ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2560

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวัสดุศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พ.ศ. 2564

ชื่อ สกุล นายราชัน เหลืองกระโทก

วัน เดือน ปีเกิด 17 มีนาคม พ.ศ. 2543

สถานที่เกิด ชัยภูมิ

วุฒิการศึกษา มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนชัยภูมิภักดีชุมพล จังหวัดชัยภูมิ พ.ศ. 2560

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวัสดุศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พ.ศ. 2564

ชื่อ สกุล นางสาวศศิธร เพิ่มอนันต์ชัย

วัน เดือน ปีเกิด 5 มิถุนายน พ.ศ. 2542

สถานที่เกิด กรุงเทพมหานคร

วุฒิการศึกษา มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสายปัญญา ในพระบรมราชินูปถัมภ์ จังหวัดกรุงเทพมหานคร พ.ศ. 2560

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวัสดุศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ พ.ศ. 2564