วาวาน อกุสติน่า: การปรับปรุงกระบวนการหมักชาไทยเพื่อผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลสสำหรับใช้ในลูกกวาดเยลลี่ (OPTIMIZATION OF THAI TEA FERMENTATION TO PRODUCE BACTERIAL CELLULOSE FOR APPLICATION IN JELLY CANDY) อาจารย์ที่ปรึกษา: รองศาสตราจารย์ ดร.อภิชาติ บุญทาวัน, 328 หน้า

คำสำคัญ: เส้นใยนาโนเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (BCNF)/การหมักคอมบูชา/ชาแดงไทย/การเพิ่มประสิทธิภาพด้วยวิธี CCD-RSM/ผลิตภัณฑ์เสริมอาหาร/เยลลี่แคนดี้/โปรไฟล์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ/การจำลองการย่อยในทางเดินอาหาร

เซลลูโลสเป็นพอลิเมอร์ที่หมุนเวียนได้และย่อยสลายทางชีวภาพ มีการใช้งานอย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหารและยา เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (BC) ซึ่งผลิตจากกระบวนการหมัก เช่น *Komagataeibacter xylinum* มีคุณสมบัติเด่นด้านความบริสุทธิ์ ความยืดหยุ่น และสมบัติเชิงกล ในระบบอาหาร สาร BC ทำหน้าที่เป็นสารเพิ่มความข้นเหนียวที่ให้พลังงานต่ำ สารเพิ่มความคงตัว สารทดแทนไขมัน และตัวพารส ช่วยสนับสนุนการพัฒนาผลิตภัณฑ์ฟังก์ชันและเพื่อสุขภาพได้ อย่างไรก็ตาม การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียยังถูกจำกัดด้วยต้นทุนที่สูง จึงมีความต้องการวัตถุดิบทางเลือกที่มีต้นทุนต่ำ เช่น ชา มาใช้ในกระบวนการผลิตดังกล่าว ด้วยเหตุนี้งานวิจัยนี้มุ่งศึกษาการผลิต BC จากคอมบูชาชาไทย โดยเน้นการพัฒนาให้ได้ผลผลิตและ คุณสมบัติของ BC ที่ดี และการผลิตเส้นใยนาโนผ่านกระบวนการไมโครฟลูอิไดเซชันแรงดันสูง เพื่อให้ได้เส้นใยนาโนเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (BCNF) และการประยุกต์ใช้ BCNF ในผลิตภัณฑ์เยลลี่แคนดี้เพื่อสุขภาพ โดยงานวิจัยนี้แบ่งการศึกษาออกเป็น 4 ส่วน ดังรายละเอียดต่อไปนี้

การศึกษาส่วนที่ 1 ศึกษาการใช้คอมบูชาชาไทย ซึ่งเป็นวัตถุดิบต้นทุนต่ำ สำหรับการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (BC) ภายใต้สภาวะการเพาะเลี้ยงแบบนิ่ง ที่อุณหภูมิ 30 °C เป็นเวลา 15 วัน โดยใช้ SCOBY เชิงพาณิชย์ และตัวอย่างชา 4 ชนิด ได้แก่ ชาจีนดำ ชาอัสสัมดำ ชาเขียว และชาแดงไทย พบว่าชาแดงไทย (RTC) ให้ผลผลิต BC แบบเปียกสูงสุด (168.00 ± 2.93 กรัม/ลิตร) จึงถูกเลือกมาศึกษาต่อ เพื่อวิเคราะห์แนวทางการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตต่อไป การศึกษาการเติมสารเสริมบางชนิดส่งผลให้ปริมาณผลผลิต BC เพิ่มขึ้นอย่างมีนัยสำคัญ เช่น การเติมเอทานอล (RTC-EtOH) หรือ ส่วนผสมซูโครส-กลูโคส (RTC-SGlu) ให้ผลผลิต BC แบบเปียก เท่ากับ 218.36 ± 12.85 และ 259.54 ± 8.92 กรัม/ลิตร ตามลำดับ นอกจากนี้ การเพิ่มประสิทธิภาพการผลิต BC สามารถทำได้จากการปรับค่า pH ความเข้มข้นของชา ความถี่ในการเก็บเกี่ยว และวิธีการเพาะเลี้ยง ซึ่งพบว่าสภาวะที่ให้ผลผลิตดีที่สุดคือ pH ~5.20, ความเข้มข้นชา 2% การเก็บเกี่ยวทุก 2 สัปดาห์ และการเพาะเลี้ยงแบบนิ่ง การวิเคราะห์สมบัติทางเคมีกายภาพและสมบัติเชิงกล (SEM, FTIR, XRD, TGA, nanoindentation) ยืนยันว่า BC ที่ได้มีคุณสมบัติโดยรวมที่ดี แสดงให้เห็นว่าคอมบูชาชาแดงไทยเป็น วัตถุดิบที่มีศักยภาพสำหรับการผลิต BC

การศึกษาส่วนที่ 2 ได้นำระเบียบวิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM) ร่วมกับการออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD) มาใช้เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (BC) โดยใช้คอมบูชาชาแดงไทย มีการทดลองทั้งหมด 34 ครั้ง เพื่อศึกษาอิทธิพล

ของอัตราส่วนซูโครส-กลูโคส ความเข้มข้นของชา และปริมาณเอทานอล ต่อผลผลิต และสมบัติของ BC โดยโมเดลดังกล่าวได้ทำนายสูตรที่ให้ประสิทธิภาพการผลิตที่สูงขึ้นทั้งหมด 53 สูตร ซึ่งมี 3 สูตรที่ได้รับการยืนยันผล ทั้งนี้ สูตรแนะนำ (RTC-V1) ให้ผลผลิต BC แบบเปียกสูงถึง 621.71 ± 24.06 กรัม/ลิตร ซึ่งเพิ่มขึ้น 238% เมื่อเทียบกับสูตร RTC-SGlu นอกจากนี้ การวิเคราะห์สมบัติต่างๆ ของตัวอย่าง BC ที่ได้ ยืนยันว่า BC มีค่าการตกผลึกสูง (83.23–85.97%) ความเสถียรทางความร้อน และสมบัติทางกลที่ดี แสดงให้เห็นว่าการใช้ RSM-CCD เป็นวิธีที่มีประสิทธิภาพในการเพิ่มผลผลิตจากการผลิต BC โดยใช้คอมบูชาชาแดงไทย

การศึกษาส่วนที่ 3 ศึกษาอิทธิพลของกระบวนการไมโครฟลูอิไดเซชันแรงดันสูง (10,000 psi, 10, 15 และ 20 รอบ) ต่อสมบัติต่างๆ ของ BC พบว่าขนาดเส้นใยลดลง (~25 nm) ความสามารถในการอุ้มน้ำลดลง (จาก 96.6 เหลือ ~31.0 g/g) ขนาดอนุภาคเล็กลงและมีความสม่ำเสมอเพิ่มขึ้น การวิเคราะห์ด้วย SEM, XRD และ TGA แสดงให้เห็นถึงการเปลี่ยนแปลงเชิงโครงสร้างและสมบัติทางความร้อน ดังนั้น กระบวนการนี้สามารถปรับปรุงคุณสมบัติของ BC เพื่อการใช้งานที่กว้างขึ้นได้

การศึกษาส่วนที่ 4 ได้นำ BCNF จากการศึกษาก่อนหน้านี้มาใช้ในผลิตภัณฑ์เยลลี่ลูกอมร่วมกับส่วนผสมที่มีฤทธิ์ทางชีวภาพ (วิตามินซี วิตามิน อี อัญชัน และ สารสกัดจากมะเขือเทศ) โดย BCNF มีผลต่อเนื้อสัมผัสของเยลลี่ลูกอม โดยการเติมวิตามินอีให้เนื้อสัมผัสที่แน่นที่สุด ในขณะที่สารสกัดจากมะเขือเทศและวิตามินซีทำให้เนื้อสัมผัสนิ่มลง ในการจำลองการย่อย พบว่าตัวอย่างที่เติม BCNF เพิ่มการคงอยู่ของสารต้านอนุมูลอิสระในสูตรที่มีวิตามินซี แต่อิทธิพลของ BNCF จะแตกต่างกันไปตามส่วนประกอบที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นถึงศักยภาพของ BCNF ในการเป็นสารให้โครงสร้างและสารให้ประโยชน์เชิงหน้าที่ในผลิตภัณฑ์เยลลี่เสริมสุขภาพ

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ
ปีการศึกษา 2567

ลายมือชื่อนักศึกษา..
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา..
ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษาร่วม..

WAWAN AGUSTINA: OPTIMIZATION OF THAI TEA FERMENTATION TO PRODUCE BACTERIAL CELLULOSE FOR APPLICATION IN JELLY CANDY. THESIS ADVISOR: ASSOC. PROF. APICHAT BOONTAWAN, Ph.D., 328 PP.

Keywords: Bacterial Cellulose Nanofibrils (BCNF)/Kombucha Fermentation/Thai Red Tea/CCD-RSM Optimization/Nutraceutical/Jelly Candy/Bioactive Compounds Profile/Gastrointestinal Simulation

Cellulose is a renewable, biodegradable polymer with broad applications in food and pharmaceuticals. Bacterial cellulose (BC), produced by fermentation (e.g., *Komagataeibacter xylinum*), is valued for its purity, flexibility, and mechanical strength. In food systems, BC can serve as a low-calorie thickener, stabilizer, fat replacer, and flavor carrier, thus supporting the development of functional and health-oriented products. However, high production cost limits its use, prompting further exploration of cost-effective substrates, such as tea. Therefore, this study investigates BC production from Thai tea kombucha, focusing on its yield, physicochemical and mechanical properties, and nanofibril (BCNF) production via high-pressure microfluidization. The resulting BCNF is then applied in jelly candy as a model nutraceutical delivery system. The research comprises four main studies as follows.

Study 1 evaluated Thai tea kombucha as a low-cost and culturally relevant medium for BC production under static conditions at 30 °C for 15 days using a commercial SCOBY. Among four tea varieties tested—Chinese black, Assamica black, green, and red—Thai red tea (RTC) produced the highest wet BC yield (168.00 ± 2.93 g/L) and was selected for further optimization. Its yield was enhanced through additives such as ethanol (RTC-EtOH) (218.36 ± 12.85 g/L) and a sucrose-glucose combination (RTC-SGlu) (259.54 ± 8.92 g/L). Additional optimization of pH, tea concentration, harvest frequency, and cultivation methods showed that unadjusted pH (~5.20), 2% tea, biweekly harvests, and static cultivation gave the best results. Its property characterization (SEM, FTIR, XRD, TGA, nanoindentation) confirmed RTC kombucha as a promising medium for BC production.

Study 2 applied a response surface methodology (RSM) with a central composite design (CCD) model to optimize BC production from Thai red tea kombucha. A total of 34 experiments were conducted to evaluate the effects of the sucrose-glucose ratio, tea concentration, and ethanol level. The model generated 53 optimized formulations, three of which were validated. The recommended formulation (RTC-V1)

achieved a wet BC yield of 621.71 ± 24.06 g/L, a 238% increase over the RTC-SGlu formulation. Further characterization on the obtained BC properties confirmed high crystallinity (83.23–85.97%), thermal stability, and strong mechanical properties, confirming the effectiveness of RSM-CCD in maximizing the BC production.

Study 3 examined the effects of high-pressure microfluidization (HPM, at 10,000 psi, for up to 20 cycles) on BC. The resulting BC nanofibril (BCNF) showed reduced fiber diameter (from ~37 nm to ~25 nm), decreased WHC (from 96.6 to ~31.0 g water/g cellulose), reduced particle size, and improved particle uniformity. SEM, XRD, and TGA analyses confirmed structural and thermal modifications, demonstrating HPM's role in tailoring BC properties for wider applications.

Study 4 incorporated BCNF into jelly candy along with bioactive ingredients (vitamins C, E, butterfly pea, and tomato extract). BCNF impacted jelly candy texture, especially firmness and chewiness. Vitamin E yielded the firmest texture, while tomato extract and vitamin C softened it. In simulated digestion experiment, BCNF-enhanced jellies improved antioxidant retention in vitamin C formulations, though the effects varied across bioactive ingredients. These findings highlight BCNF's potential as a structural and functional component in nutraceutical jelly candy products.

School of Biotechnology
Academic Year 2024

Student's Signature ....
Advisor's Signature ....
Co-Advisor's Signature ....