

รายงานโครงการวิจัย
เรื่อง

เซลลูโลสเสริมสุขภาพจากน้ำหางนม

(HEALTH CELLULOSE FROM WHEY)



โดย

นายาราวุฒิ ครุส่ง

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กันยายน 2538

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำ.ักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการวิจัย

ชื่อโครงการ **เซลลูโลสเสริมสุขภาพจากน้ำหางนม**

Health Cellulose from Whey

ชื่อผู้วิจัย **นายวราวุฒิ ครูส่ง**

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากงบประมาณประจำปีงบประมาณ 2536

ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ ตุลาคม ถึง กันยายน 2536

หน่วยงานที่สังกัด **ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร**

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

กรุงเทพ 10520

โทรศัพท์ **3267342**

โทรสาร **3269979**

บทคัดย่อ

ในการผลิตเซลลูโลสจากน้ำหางนมโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย Acetobacter xylinum พบว่าลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสมคือ น้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนหลังจากการฆ่าเชื้อ ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตประกอบด้วย ความเข้มข้นของน้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติก 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักในขวดบรรจุน้ำหมัก 150 มิลลิลิตร เป็นระยะเวลา 7-14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส จะได้วุ้นเซลลูโลสที่มีความหนาและน้ำหนักสูงสุด เมื่อนำวุ้นมาวิเคราะห์ทางเคมีหาปริมาณเซลลูโลส ถ้า ความชื้น พบว่ามีค่าเท่ากับ 2.92-5.64 0.1-0.19 และ 96-95.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ภายหลังจากการหมัก 7-14 วัน ในขณะที่ไม่มีการสร้างลิกนินในวันที่สร้างขึ้นมาจาก A. xylinum

ในการศึกษาการขยายขนาดการผลิตพบว่า มีความเป็นไปได้ในการขยายขนาดตามขนาดของภาชนะที่ใช้ในการหมัก โดยให้ค่าเฉลี่ยของเปอร์เซ็นต์ผลผลิตคงเดิม

สำหรับในการศึกษาการเปลี่ยนของค่า BOD ของน้ำหางนมในระหว่างการหมักพบว่า ค่า BOD จะลดลงเมื่อระยะเวลาการหมักเพิ่มขึ้น โดยค่า BOD ภายหลังจากการหมัก 14 วัน ลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหมักเริ่มต้น ซึ่งคิดเป็นประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหางนมจากโรงงาน ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าการผลิตวุ้นเซลลูโลสจากน้ำหางนมเป็นแนวทางหนึ่งในการลด BOD จากน้ำหางนมได้

เลขหมู่ RCH SF 259 03258

เลขทะเบียน 21001

วัน, เดือน, ปี 27 ส.ย. 2537

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้ภายในเพื่อการศึกษาเท่านั้น กรุณาอย่านำออกไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Health Cellulose from Whey

Warawut Krusong

Abstract

Cellulose production in whey by Acetobacter xylinum was investigated. The whey must be filtered after heat treatment for precipitate removal. Factors influencing in the cellulose production were determined. It was found that the whey medium consisted of 7.5% sugar, 4% acetic acid and 10% of A. xylinum inoculum. After fermentation in glass container, consisting of 150 ml medium, at 32°C for 7-14 days, the highest yield of cellulose was obtained. By chemical analysis, the cellulose, ash and moisture contents were 2.92-5.64%, 0.1-0.19% and 96-95.4%, respectively, during 7-14 days of fermentation time. Simultaneously, there was no lignin production from A. xylinum in this product.

For increasing the cellulose production, it was found that there was a possibility to scale up by increasing the size of fermentation tray. The average percentage of production yield obtained was not changed when compared with the previous experiment.

In the view point of waste utilization, the changes of the Biological Oxygen Demand (BOD) during fermentation were investigated. It was found that the longer fermentation time, the more BOD reduced. After 14 days of fermentation by A. xylinum in whey, 50% of BOD was reduced when compared with the starting day of fermentation. In addition, the BOD was 25% reduction from the original whey obtained from the cheese manufacturing.

กิตติคุณประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติที่ได้ให้ทุนสนับสนุนงานวิจัย
ผ่านทางงบประมาณประจำปีงบประมาณ 2536 รวมถึงโครงการส่วนพระองค์ ส่วนจิตรลดา
โดยเฉพาะคุณหมมพูนทุท สุปิยพันธ์ุ ที่ให้ความอนุเคราะห์ด้านน้ำทางนมเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการ
ทดลอง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
สารบัญตาราง	ก
สารบัญภาพ	ค
คำนำ	1
การตรวจ เอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	9
ผลการทดลองและวิจารณ์	12
สรุปผลการทดลอง	34
เอกสารอ้างอิง	35
ภาคผนวก	37



สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบของน้ำหางนม	4
2	การใช้คาร์บอนของเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> จากแหล่งต่าง ๆ	4
3	ลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสมต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	12
4	ผลของลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอชของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) กรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักด้วยเชื้อ <i>Acetobacter xylinum</i> เป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	13
5	ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	14
6	ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอชของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	16
7	ผลของความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	17
8	ผลของความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอชของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	19
9	ผลของปริมาณแอลกอฮอล์ต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	20
10	ผลของปริมาณแอลกอฮอล์ต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอชของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	22
11	ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	23

ตารางที่

หน้า

12	ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	25
13	ผลของอุณหภูมิต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลล์โลสที่ได้ ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน	26
14	ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน	28
15	ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการหมักต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลล์โลสที่ได้ ภายหลังจากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	28
16	ผลของระยะเวลาที่ใช้ต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	30
17	ผลของการขยายขนาดภาชนะบรรจุต่อความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลล์โลสที่ได้จากการหมักเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	32
18	ผลของการวิเคราะห์ค่า BOD ของน้ำหางนมและน้ำหมักภายหลังจากการหมักที่ระยะเวลา 7 10 และ 14 วัน	33

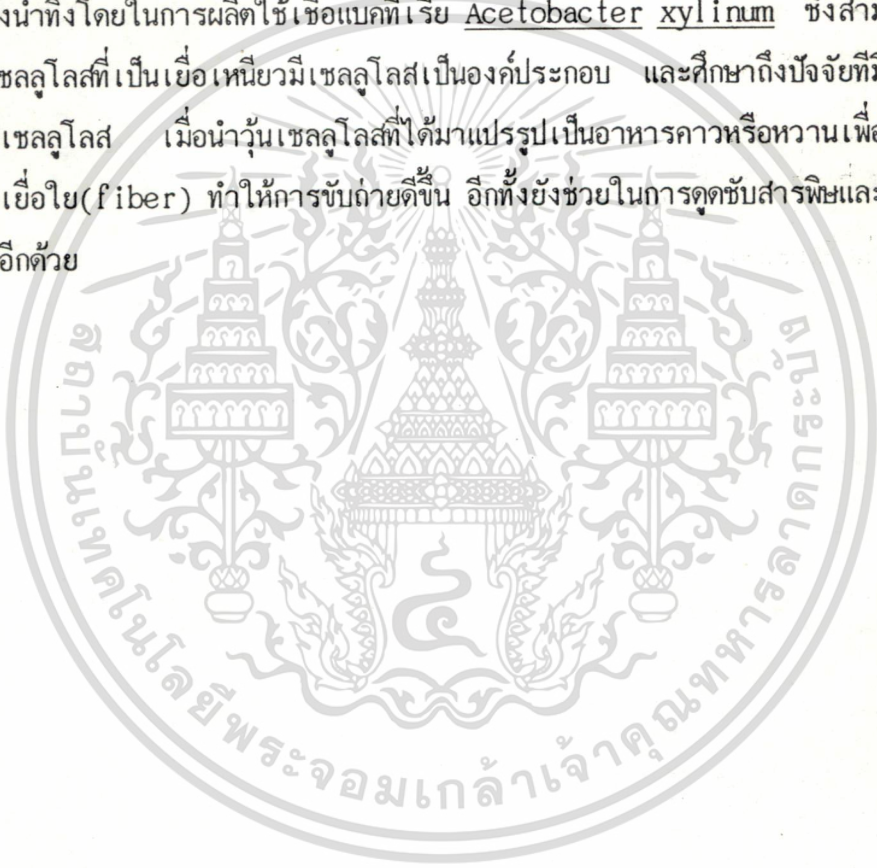
สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ขั้นตอนการผลิตเนยแข็ง	3
2	แนวทางการเปลี่ยนแปลงการใช้กลูโคสโดย <u>Acetobacter xylinum</u>	6
3	สูตรโครงสร้างของ เซลลูโลส	7
4	วุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆ	15
5	วุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่างๆ	18
6	วุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารที่ใช้ปริมาณแอลกอฮอล์ในระดับต่าง ๆ	21
7	วุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อ <u>Acetobacter xylinum</u> ในระดับต่าง ๆ	24
8	วุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (35 องศาเซลเซียส)	27
9	วุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ระยะเวลา 7 10 และ 14 วัน	29
10	ปริมาณของ เซลลูโลส เถ้า ลิกนิน และความชื้นของวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนด้วย <u>A. xylinum</u> ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน	31

คำนำ

ในปัจจุบันแนวโน้มการขยายตัวของอุตสาหกรรมการผลิตเนยแข็ง และการแยกเคซีน จากนมสดมีมากขึ้น ดังนั้นจึงทำให้น้ำหางนมในปริมาณสูง (BOD ประมาณ 12,500 มิลลิกรัม ต่อลิตร) เป็นสิ่งที่โรงงานต้องกำจัดเพื่อไม่ให้เกิดมลภาวะต่อสิ่งแวดล้อม และจากการศึกษา พบว่าน้ำหางนมยังมีคุณค่าทางอาหารอยู่สูง ซึ่งเพียงพอสำหรับจุลินทรีย์บางชนิดสามารถเจริญได้ (ชมพุกุท, 2532)

การผลิตเซลลูโลส (วุ้น) จากน้ำหางนม มีวัตถุประสงค์เพื่อช่วยลดปริมาณและเพิ่มมูลค่าของน้ำทิ้งโดยในการผลิตใช้เชื้อแบคทีเรีย Acetobacter xylinum ซึ่งสามารถสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลสที่เป็นเยื่อเหนียวมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบ และศึกษาถึงปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลส เมื่อนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้มาแปรรูปเป็นอาหารคาวหรือหวานเพื่อบริโภคจะ ช่วยเพิ่มใยใย (fiber) ทำให้การขับถ่ายดีขึ้น อีกทั้งยังช่วยในการดูดซับสารพิษและคลอเรสเตอรอลอีกด้วย



การตรวจเอกสาร

ในปัจจุบันอุตสาหกรรมการผลิตเนยแข็ง และการแยกเคซีนจากนมสดมีการขยายตัวมากขึ้น ซึ่งทำให้มีน้ำหางนมที่เป็นผลิตภัณฑ์ลอยได้อยู่ในปริมาณสูงถึง 80 -90 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหางนมที่ใช้ในการผลิตจึงอาจก่อให้เกิดปัญหาต่อสิ่งแวดล้อม (ชมพูนุท, 2532) ดังนั้นจึงมีศึกษาการใช้ประโยชน์จากน้ำหางนมเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์ต่างๆ โดยแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจ คือ การผลิตเซลล์โลส (วุ้น) จากน้ำหางนม (Gomez et. al, 1986)

น้ำหางนม

น้ำหางนม (whey) มีลักษณะเป็นของเหลวสีเขียวอมเหลือง แบ่งออกเป็น 2 ชนิดคือ

1. sweet whey หรือ cheese whey มีพีเอช 5.9-6.3 เป็นผลิตภัณฑ์ลอยได้ส่วนใหญ่จากการผลิตเนยแข็งซึ่งมีขั้นตอน ดังแสดงในภาพที่ 1
2. acid whey หรือ casien whey เป็นผลิตภัณฑ์ลอยได้จากการผลิตเคซีน มีพีเอช 4.3-4.6

ทั้งนี้เนื่องจากการผลิตเนยแข็งในปริมาณมาก ทำให้เกิดปัญหาการกำจัดน้ำหางนมที่เกิดขึ้น เพื่อไม่ให้เกิดผลเสียต่อสภาวะแวดล้อม จึงมีการวิเคราะห์องค์ประกอบต่าง ๆ ในน้ำหางนมซึ่งแสดงในตารางที่ 1

จากข้อมูลพบว่าในน้ำหางนมยังมีคุณค่าทางอาหารอยู่สูง ดังนั้นจึงมีการนำมาใช้ประโยชน์เพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์อาหาร เช่น วิตามินบี 12 จากเชื้อ Propionibacterium shermanii (Bullemand and Berry, 1966) ไโรโบฟลาวิน น้ำส้มสายชู เอซิลแอลกอฮอล์ กรดแลคติก ไขมัน และเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบ (Chandan, 1982) และต่อมาได้มีการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตเซลล์โลสโดยใช้เชื้อแบคทีเรีย Acetobacter xylinum (Gomez et.al, 1986)

คุณลักษณะของเชื้อที่ใช้

Acetobacter xylinum เป็นแบคทีเรียที่มีรูปร่างเป็นแท่งสั้น ๆ gram variable เซลล์อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นเส้นสาย ไม่มีแฟลกเจลลา ไม่เคลื่อนที่ มีความยาว 0.8-1.6 ไมครอน กว้าง 0.5 ไมครอนสามารถสร้างกรดจากกลูโคส เอซิลและโพรพิลแอลกอฮอล์ ให้ผลการทดสอบกะตะเลสเป็นบวก ไม่เปลี่ยนสีลิตมัสมิลค์ ไม่สร้างอินโดล ไม่รีดิวส์ไนเตรต สามารถออกซิไดซ์อะซิติกไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ และคุณสมบัติที่สำคัญ คือ มีความสามารถในการสร้างเยื่อเหนียวที่สามารถยึดเซลล์ให้รวมกัน และให้ผลบวกเมื่อทำการทดสอบเซลล์โลส (Dimaguila, 1967) การใช้คาร์บอนจากแหล่งต่าง ๆ แสดงในตารางที่ 2 นำไปใช้



ภาพที่ 1 ขั้นตอนการผลิตเนยแข็ง
ที่มา : รสรินทร์ และคณะ (2534)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของน้ำหางนม

องค์ประกอบ	เปอร์เซ็นต์
น้ำตาลแลคโตส	4.80
โปรตีน	0.85
ไขมัน	0.35
แร่ธาตุ	0.60
น้ำ	93.40

ที่มา : ชมพูนุท (2532)

ตารางที่ 2 การใช้คาร์บอนของเชื้อ Acetobacter xylinum จากแหล่งต่าง ๆ

แหล่งคาร์บอน	การเปลี่ยนแปลง
ไม่มีแหล่งคาร์บอน	-
กลูโคส	P, A
กาแลคโตส	P, A
มอลโตส	P
ซูโครส	P
เอธานอล 3 เปอร์เซ็นต์	A

P หมายถึง มีการสร้างเยื่อเหนียว

A หมายถึง มีการสร้างกรด

- หมายถึง ไม่มีการสร้างเยื่อเหนียวและกรด

ที่มา : Dimaguila (1967).

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อคือ ที่พีเอช 4.0-5.0 และอุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส นอกจากนี้เซลล์ของแบคทีเรียจะถูกทำลายที่อุณหภูมิ 65-70 องศาเซลเซียส (Alaban, 1962)

การสังเคราะห์เซลลูโลส

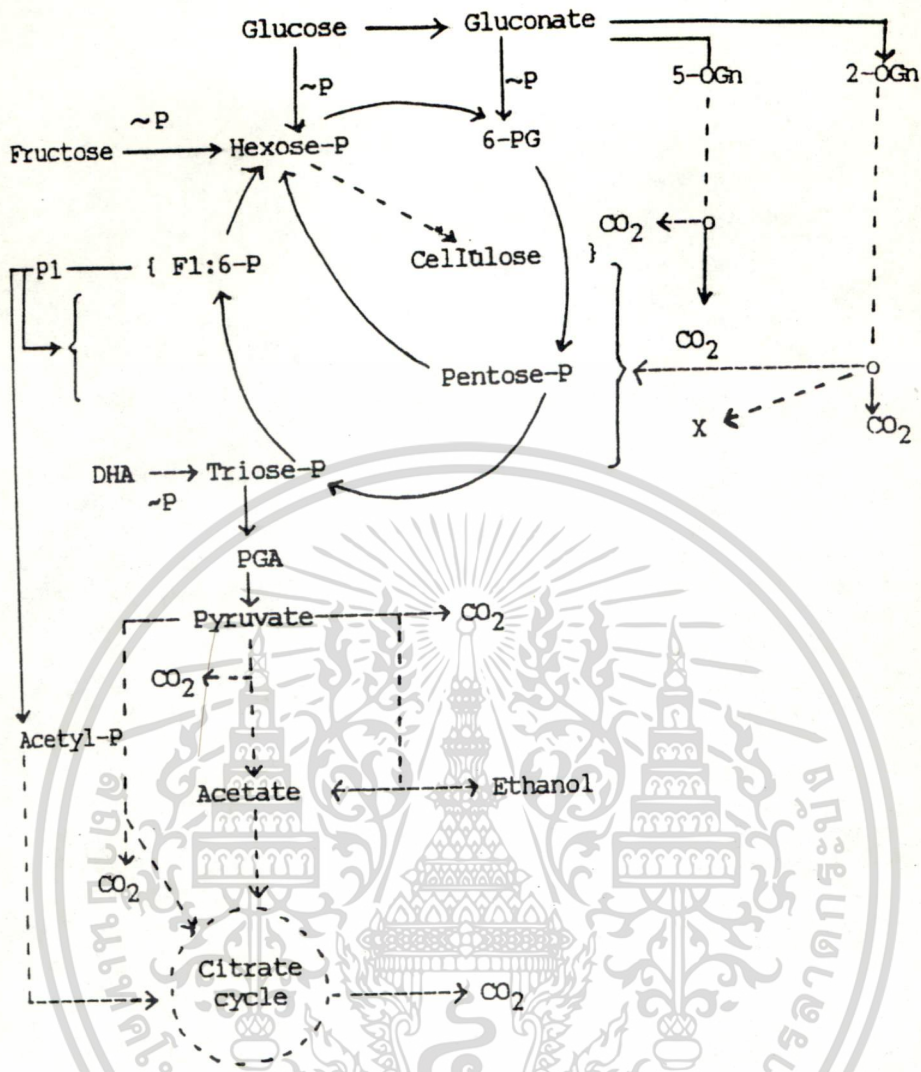
Glaser (1958) ทดลองโดยใช้ยูริดีนไดฟอสเฟตกลูโคส (uridine diphosphoglucose) เพื่อสังเคราะห์คาร์บอน-14 ในกลูโคส ซึ่งแสดงให้เห็นการรวมตัวของกลูโคสเพื่อเป็นเซลลูโลสโดยทางยูริดีนไดฟอสเฟตกลูโคส ดังแสดงในปฏิกิริยาต่อไปนี้



Gromet et.al (1957) แสดงวิธีการเปลี่ยนแปลงของการใช้กลูโคสใน *Acetobacter xylinum* ดังแสดงในภาพที่ 2 เซลล์สร้างเซลลูโลสจากเฮกโซสที่มีคาร์บอน-14 เป็นตัวชี้เฉพาะ โดยจะเข้าวงจรเพนโทสทางเดียวกับเฮกโซส-ฟอสเฟต ในการสังเคราะห์เซลลูโลส นอกจากจะใช้กลูโคสเป็นวัตถุดิบแล้วยังสามารถใช้กลูโคเนต (gluconate 2-OG_n, 5-OG_n) วัตถุดิบที่มีคาร์บอน 3 ตัว (กลีเซอรอลและไดไฮดรอกซีอะซิโตน) และฟรุกโตส เป็นต้น กลูโคสที่อยู่ในเซลล์ถูกเปลี่ยนแปลงเป็นกลูโคเนตได้อย่างรวดเร็ว จากนั้นกลูโคสในส่วนนี้จะถูกเซลล์เปลี่ยนไปเป็น 5-OG_n และ 2-OG_n ซึ่งทั้งสองตัวนี้อาจถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ซึ่งอาจเข้าร่วมหรือไม่เข้าร่วมในการสร้างเซลลูโลสก็ได้ ส่วนไพรูเวตอะซิเตตและสารตัวกลางในวงจรซีเทรตถูกเซลล์ออกซิไดซ์จนได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ แต่คาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้นี้ไม่เกี่ยวข้องกับการสร้างเซลลูโลส วัตถุดิบที่สร้างเซลลูโลสได้ต้องสามารถเข้าสู่วงจรเพนโทสได้ ในขณะที่วัตถุดิบที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์ไม่ได้เข้าร่วมในการสังเคราะห์เซลลูโลส ก็จะถือว่าเป็นส่วนที่ผ่านวงจรเพนโทสไป วงจรเพนโทสที่แสดงนี้เป็นหนึ่งในทางเข้าสู่วงจรในหลายทางที่จะต้องใช้กลูโคโคเนสต้องผ่านตัวกลางก่อนและยังมีอีกหลายวิถีทางที่ต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงจากกลูโคสไปเป็นกลูโคเนตก่อน ซึ่งกลูโคเนตนี้สามารถเข้าสู่วงจรได้ 2 วิธีคือ การเข้าโดยตรงซึ่งจะต้องใช้กลูโคโคเนส และโดยทางอ้อมซึ่งจะผ่านทาง 2-OG_n และ 5-OG_n

การสังเคราะห์เซลลูโลสสามารถถูกขัดขวางโดยตัวยับยั้งการหายใจที่เหมาะสมและสารหนูมีผลให้การสังเคราะห์ช้าลงแต่สามารถแก้ไขได้โดยการเติมสารอโทรฟอสเฟต

จากภาพที่ 3 ปฏิกิริยาที่เชื่อมต่อกันด้วยเส้นต่อเนื่อง เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์ระยะที่สกัดออกมา ปฏิกิริยาที่ไม่ได้นำมาแสดงแต่อาจเกิดได้ในเซลล์สมบูรณ์จะใช้เส้นปะแทนในขณะที่ P ใช้แทน ATP ที่ถูกใช้ไป สารตัวกลางในวงจรเพนโทสที่จุลินทรีย์พวกไม่ใช้อากาศสร้างขึ้นจะแยกออกจากวงจรแล้วเปลี่ยนแปลงจนได้อะซิติก/ฟอสเฟตโดยใช้ Pi ไป ใช้แทนด้วยลูกศรทางซ้ายมือ



ภาพที่ 2 แนวทางการเปลี่ยนแปลงของการใช้กลูโคสโดย *Acetobacter xylinum*
ที่มา : Gromet et.al (1957).

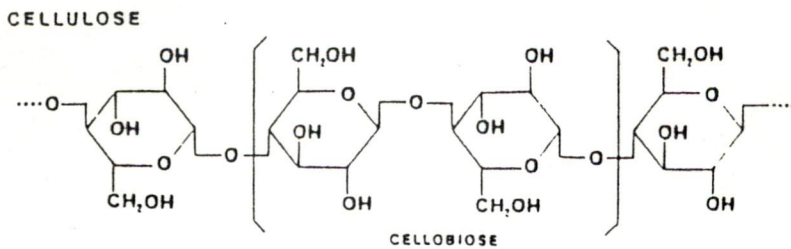
ของภาพ วิธีการเปลี่ยนแปลงของ 2-OG_n และ 5-OG_n ที่มีบางส่วนเข้าสู่จรรยาเพนโทสนั้นลูกศรจะแสดงอยู่ทางขวาของภาพ ส่วนสารที่ยังไม่ทราบแน่ชัดจะใช้ x เป็นตัวแทน

เส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากสารเริ่มต้นที่ *Acetobacter xylinum* สร้างนั้นถูกนำมา รวมกันภายนอกเซลล์โดยไม่เกิดการขยายตัว การเจริญของเส้นใยสามารถเจริญได้ที่ปลายด้านใด ด้านหนึ่งหรือทั้งสองปลายในอัตรา 0.1 ไมครอนต่อนาทีที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส การรวมตัวของเส้นใยเซลลูโลสภายนอกเซลล์บนผิวหน้าอาหารแข็งเกิดขึ้นได้ในส่วนที่ไกลออกไปจากเยื่อหุ้มเซลล์ เส้นใยแต่ละเส้นจะเจริญที่บริเวณปลายเท่านั้น อัตราการยึดเป็น 0.2 ไมครอนต่อนาที ที่ 34 องศาเซลเซียส ลักษณะการเจริญของเซลลูโลสบนผิวหน้าของแผ่นวุ้นเกิดรวมกันเป็นกลุ่มของเส้นใย พร้อมๆ กับการตัดอย่างหยาบๆ ในแนวขนาน ระบบเอนไซม์จากเชื้อนี้ที่บ่มไว้กับยูริดีนไดฟอสโฟกลูโคสแสดงให้เห็นว่า มีสารโพลิเมอร์เกิดขึ้นในระหว่างการสังเคราะห์เซลลูโลส สารตัวกลางเหล่านี้จะมีคุณสมบัติเป็นโอลิโกเมอร์ของกลูโคสโดยทั่วไป สารเหล่านี้จะอยู่ติดกับอนุภาคหนักในสารแขวนลอย แต่จะเป็นอิสระได้เมื่อถูกย่อยสลายที่เหนือกว่านั้น คือ จะมีการดูดซับส่วนที่รวมกันเป็นเซลลูโลสซึ่งอาจทำให้เกิดการก่อตัวเป็นสายใยสั้น ๆ ได้ เมื่อทำการตกตะกอนด้วยเอธานอลในสารละลายเกลือ (Kjosbakken and Colvin, 1975)

การผลิตวุ้นสวรรค์

Ocfemia (1932) พบว่าเชื้อที่สามารถสร้างวุ้นจากน้ำสับปะรด (nata de pina) โดยใช้ น้ำสับปะรดที่เป็นของเสียจากโรงงานสับปะรดกระป๋อง จากการทดสอบพบว่าวุ้นที่ได้ คือ เดกซ์แทรนและเชื้อที่ใช้สามารถเจริญได้ในผลไม้สุกและสารละลายน้ำตาล จากการศึกษาคุณลักษณะของเชื้อนี้พบว่า เป็นเชื้อ *Leuconostoc* sp. ซึ่งเป็นเชื้อที่ทำให้เกิดเมือกในการหมักผลไม้ (Dimaguila, 1967)

สูตรโครงสร้างของเซลลูโลสเป็นดังนี้



ภาพที่ 3 สูตรโครงสร้างของเซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ที่มา : Schneeman (1989).

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Dimaguila (1967) ศึกษาการผลิตวุ้นจากน้ำมะพร้าว (nata de coco) โดยแผ่นวุ้นที่เกิดขึ้นอยู่บริเวณผิวหน้าของน้ำหมัก นอกจากน้ำมะพร้าวแล้วเชื้อ *Acetobacter xylinum* ยังสามารถใช้วัตถุดิบอื่นๆ เช่น น้ำมะเขือเทศ น้ำมะนาว น้ำสับปะรด (Alaban, 1962) น้ำกะทิ (Mendoza, 1961) และน้ำหางนม (Gomez et.al, 1986) ซึ่งการใช้วัตถุดิบแต่ละชนิดต้องปรับสภาพให้เหมาะสม โดยสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นของเชื้อ คือ ที่พีเอช 4-5 อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส ซูโครส 8 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติก 2-5 เปอร์เซ็นต์ หัวเชื้อ 10-20 เปอร์เซ็นต์ (Alaban, 1962) และเอทานอล 1 เปอร์เซ็นต์ (Lapuz et.al, 1967)



อุปกรณ์และวิธีการ

1. การเตรียมเชื้อ Acetobacter xylinum

1.1 การเตรียมเชื้อในหลอดทดลอง

ถ่ายเชื้อ Acetobacter xylinum ลงในอาหารเหลวซึ่งประกอบด้วยน้ำ-มะพร้าว 5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง และผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำหลอดทดลองดังกล่าวไปเข้าเครื่องเขย่า เป็นเวลา 3 วัน

1.2 การเตรียมหัวเชื้อ

ถ่ายเชื้อ Acetobacter xylinum ลงในอาหารเหลวซึ่งประกอบด้วยน้ำ-มะพร้าว 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร และผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที นำขวดรูปชมพู่ดังกล่าวไปเข้าเครื่องเขย่า เป็นเวลา 3 วัน

2. การเตรียมน้ำหางนม

นำน้ำหางนมผ่านการฆ่าเชื้อ และตกตะกอนโปรตีนโดยใช้ความร้อน ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที ทิ้งไว้พออุ่นจึงนำส่วนใสมาใช้ในการทดลองต่อไป

3. การศึกษาลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสม

นำน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนและที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนมาเติมน้ำตาล 6 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติก 1.5 เปอร์เซ็นต์ ใส่ลงในขวดหมัก โดยใช้ปริมาตรน้ำหมัก 150 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์และปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน จึงทำการวัดความหนา น้ำหนักของแผ่นวุ้นเซลลูโลส ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดในน้ำหมัก

4. การศึกษาปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการผลิตวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ Acetobacter xylinum

4.1 การศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสม

นำน้ำหางนมที่เหมาะสมจากข้อ 3 มาเติมน้ำตาลที่มีความเข้มข้น 0.0 2.5 5.0 7.5 10.0 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติก 1.5 เปอร์เซ็นต์ ใส่ลงในขวดหมัก พื้นที่ผิว 50.24 เซนติเมตร โดยใช้ปริมาตรน้ำหมัก 150 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ และปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จึงทำการวัดความ-

หนา น้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลส ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดในน้ำหมัก

4.2 การศึกษาความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เหมาะสม

เตรียมน้ำหางนมเช่นเดียวกับข้อ 4.1 โดยใช้ความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 จากนั้นจึงเติมกรดอะซิติกที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ใส่ลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาณน้ำหมัก 150 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ และปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดความหนา น้ำหนักของแผ่นวุ้นเซลลูโลสค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดในน้ำหมัก

4.3 การศึกษาแอลกอฮอล์ที่เหมาะสม

เตรียมน้ำหางนมให้มีความเข้มข้นของน้ำตาลและกรดอะซิติกที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 1 และ 2 จากนั้นจึงเติมเอธานอล (95 เปอร์เซ็นต์) ในปริมาณต่าง ๆ คือ 0 2 4 6 8 และ 10 เปอร์เซ็นต์ ใส่ลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาณน้ำหมัก 150 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ และปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดความหนา น้ำหนักของแผ่นวุ้นเซลลูโลส ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดในน้ำหมัก

4.4 การศึกษาปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสม

เตรียมน้ำหางนมให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล กรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมาใส่ลงในขวดหมัก โดยใช้ปริมาณน้ำหมัก 150 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อในปริมาณต่าง ๆ คือ 10 20 30 และ 40 เปอร์เซ็นต์ และปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน วัดความหนา น้ำหนักของแผ่นวุ้นเซลลูโลส ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดในน้ำหมัก

4.5 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม

เตรียมน้ำหางนมให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล กรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมาใส่ลงในขวดหมัก โดยใช้ปริมาณน้ำหมัก 150 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมจากข้อ 4.4 และปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน วัดความหนา น้ำหนักของแผ่นวุ้นเซลลูโลส ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดในน้ำหมัก

4.6 การศึกษาระยะเวลาในการหมักที่เหมาะสม

เตรียมน้ำหางนมให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมา ใส่ลงในขวดหมักโดยใช้ 150 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมที่ได้รับจากการทดลองที่ 4.4 ปิดทับด้วยผ้าขาวบาง หมักไว้ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 4.5 เป็นเวลา 7 10 และ 14 วัน เมื่อครบเวลาตามที่กำหนดจึงทำการวัดความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลส ค่าพีเอช ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด กรดที่สามารถไตเตรทได้ทั้งหมดในน้ำหมัก จากนั้นจึงนำไปวิเคราะห์องค์ประกอบของวุ้นซึ่งประกอบด้วย เซลลูโลส เถ้า ลิกนิน และความชื้น

4.7 การศึกษาความเป็นไปได้ในการขยายขนาดการผลิต

เตรียมน้ำหางนมให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล กรดอะซิติก แอลกอฮอล์ ในระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมา ใส่ลงในภาชนะหมักที่ทำจากโลหะสแตนเลส ขนาด (กว้างxยาวxสูง) 10x15x5 15x20x5 และ 15x30x10 ปริมาณน้ำหมัก 500 1000 และ 2000 มิลลิลิตรตามลำดับ ถ่ายหัวเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมที่ได้รับจากการทดลองที่ 4.4 ปิดทับด้วยผ้าขาวบาง หมักไว้ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมจากการทดลองที่ 4.5 เป็นเวลา 14 วัน เมื่อครบกำหนดเวลาจึงทำการวัดความหนา และน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลส

4.8 การวิเคราะห์ค่าความต้องการออกซิเจนของแบคทีเรียในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (BOD)

นำน้ำหางนมและน้ำหางนมที่ผ่านการหมักที่เวลา 0 7 10 และ 14 วันมาวิเคราะห์ค่า BOD โดยวิธีการที่แสดงอยู่ในภาคผนวก

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลของลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสม

ในการศึกษาลักษณะของน้ำหางนม โดยแบ่งเป็น 2 ลักษณะ คือ น้ำหางนมที่ไม่ผ่านการแยกตะกอน และน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอน เมื่อนำน้ำหางนมทั้ง 2 ลักษณะมาใช้เป็นอาหารเลี้ยง เชื้อในการผลิตวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* พบว่าการผลิตวุ้นเซลลูโลสในน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนให้ผลที่ดีกว่าในน้ำหางนมที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนคือ ได้ความหนา 0.62 เซนติเมตร และน้ำหนัก 140.17 กรัม หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ในขวดหมักโดยใช้ปริมาตรน้ำหมัก 150 มล. โดยให้น้ำหมักสูงจากพื้นขวดหมัก 1 นิ้ว ดังแสดงในตารางที่ 3

จากผลการทดลองพบว่าลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสมในการทดลองครั้งต่อไปคือ น้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนออก เพราะจากการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูลแสดงให้เห็นว่าความหนาและน้ำหนักของวุ้นวันมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อทำการหมัก 14 วัน แล้วนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยวิธี Duncan's Multiple Range Test (DMRT) พบว่าการสร้างในน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนออกให้ผลดีกว่า ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Gomez (1986) ซึ่งใช้น้ำหางนมที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนด้วยความร้อนแล้วนำส่วนใสมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นเซลลูโลส

ตารางที่ 3 ลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสมต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ลักษณะของน้ำหางนม	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)
น้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอน	0.62 ^a	140.17 ^a
น้ำหางนมที่ไม่ผ่านการแยกตะกอน	0.44 ^b	118.30 ^b

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

ตารางที่ 4 ผลของลักษณะของน้ำหางนมที่เหมาะสมต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) กรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* เป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ลักษณะของน้ำหางนม	พีเอช		TSS ¹		TTA ^{2*}	
	0 วัน	12 วัน	0 วัน	12 วัน	0 วัน	12 วัน
น้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอน	3.8	5.70	12.0	24.2	0.77	0.13 ^a
น้ำหางนมที่ไม่ผ่านการแยกตะกอน	3.7	4.95	12.4	18.3	0.74	0.19 ^a

¹TSS = Total Soluble Solid มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

²TTA = Total Titratable Acidity มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดอะซิติก

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

จากการติดตามการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด(TSS) และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ก่อนและหลังการหมัก พบว่าผลของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้น และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมด (TTA) มีค่าลดลงจากน้ำหมักเริ่มต้นภายหลังจากการหมัก 14 วัน ในน้ำหางนมทั้งสองลักษณะ สำหรับในกรณีที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดมีค่าลดลงอาจเนื่องจากการเกิดออกซิเดชันในเซลล์แบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ซึ่งก่อให้เกิดการเปลี่ยนกรดอะซิติกไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ (Henrich and Ordal, 1948) นอกจากนี้แล้วเมื่อพิจารณาถึงการเปลี่ยนแปลงของทั้งพีเอช และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดในน้ำหางนมทั้งสองชนิดเห็นได้ว่า ภายหลังจากการหมักค่าพีเอชที่ต่ำลงและกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดที่สูงขึ้นในน้ำหางนมที่ไม่ผ่านการแยกตะกอนออกก่อให้เกิดสภาพที่ไม่เอื้ออำนวยต่อการเจริญของเชื้อ *Acetobacter xylinum* จนทำให้ขึ้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้มีความหนาและน้ำหนักที่ต่ำกว่าที่ได้จากน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนออก ดังผลการทดลองที่แสดงในตารางที่ 4 ข้างต้น ทั้งนี้เนื่องจากสภาพพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Acetobacter xylinum* อยู่ในช่วงพีเอช 4.0-5.0 (Alaban, 1962)

ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสม

ในการศึกษาความเข้มข้นของน้ำตาลที่เหมาะสม (0 - 12.5 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเติมลงในน้ำหวานที่ผ่านการแยกตะกอนออก โดยทำการหมักในขวดแก้วที่มีพื้นที่ผิวเท่ากับ 50.2 ตารางเซนติเมตร และใช้น้ำหมักปริมาตร 150 มิลลิลิตร (สูงจากพื้นขวด 1 นิ้ว) พบว่าที่ความเข้มข้นของน้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสร้างชั้นวุ้นเซลลูโลสได้ดีที่สุด คือ ได้ความหนา 0.53 เซนติเมตร และมีน้ำหนัก 37.4 กรัม หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 5 และภาพที่ 4

จากการทดลองพบว่า แนวโน้มความหนาของชั้นวุ้นเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น โดยชั้นวุ้นเซลลูโลสที่มีความหนามากที่สุดเป็นชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้น้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ และน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของน้ำตาลที่เพิ่มขึ้น โดยชั้นวุ้นเซลลูโลสที่มีน้ำหนักมากที่สุดเป็นชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้น้ำตาล 10 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DMRT เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้น้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมัก

ตารางที่ 5 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมัก เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของน้ำตาล (เปอร์เซ็นต์)	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)
0.0	0.24 ^C	22.87 ^C
2.5	0.32 ^{bc}	33.40 ^b
5.0	0.29 ^{bc}	30.58 ^b
7.5	0.53 ^a	37.40 ^{ab}
10.0	0.47 ^a	41.16 ^a
12.5	0.48 ^a	41.01 ^a

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ย เมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT



ภาพที่ 4 วุ้นเซลล์โลสที่ได้จากการหมักในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของน้ำตาลต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่ใช้น้ำตาล 10 และ 12.5 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเข้มข้น 7.5 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัย (Alaban, 1962) คือ ได้ผลผลิตวันเซลลูโลสสูงที่สุดเมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล 5 - 8 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการเปลี่ยนแปลงของพีเอชของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมดอยู่ในตารางที่ 6 ซึ่งให้ผลการทดลองสอดคล้องกันในน้ำหมักที่เติมน้ำตาลในระดับความเข้มข้น 7.5 - 12.5 เปอร์เซ็นต์ โดยค่าพีเอชมีแนวโน้มว่าลดลง ซึ่งสัมพันธ์กับค่ากรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมดเพิ่มขึ้นเนื่องจากการเจริญของเชื้อ *Acetobacter xylinum* สามารถสร้างกรดอะซิติกขึ้นมาด้วย (Lapuz et.al, 1967) ส่วนของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่าเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 6 ผลของความเข้มข้นของน้ำตาลต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TAA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของน้ำตาล (เปอร์เซ็นต์)	พีเอช		TSS ¹		TTA ^{2*}	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
	0.0	4.50	6.53	7.40	7.80	0.34
2.5	4.50	5.80	9.40	9.90	0.28	0.16 ^{bc}
5.0	4.55	4.90	11.00	11.40	0.31	0.29 ^{ab}
7.5	4.55	4.65	12.80	13.20	0.31	0.30 ^{ab}
10.0	4.60	4.70	16.60	16.90	0.28	0.34 ^a
12.5	4.50	4.70	16.80	17.10	0.27	0.26 ^{abc}

¹TSS = Total Soluble Solid มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

²TTA = Total Titratable Acidity มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดอะซิติก

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

ผลของความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เหมาะสม

ในการศึกษาปริมาณความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เหมาะสม (0-10 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเติมลงในน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอน และใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ ในขวดแก้วที่มีพื้นที่ผิวเท่ากับ 50.2 ตารางเซนติเมตรในการหมัก โดยใช้ น้ำหมักปริมาตร 150 มิลลิลิตร พบว่าที่ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 4 เปอร์เซ็นต์ เชื้อสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลสได้ดีที่สุด คือ ได้ความหนา 0.58 และมีน้ำหนัก 39.68 กรัม หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ทั้งนี้แสดงในตารางที่ 7 และภาพที่ 5

จากผลการทดลองพบว่า ความหนาของชั้นวุ้นเซลลูโลสเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้น 4.0 เปอร์เซ็นต์ ได้ชั้นวุ้นเซลลูโลสที่มีความหนามากที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ (Alaban, 1962) คือ ความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่เหมาะสมสำหรับเชื้อ *Acetobacter xylinum* คือ 2-5 เปอร์เซ็นต์ แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นสูงกว่า 4 เปอร์เซ็นต์ ชั้นวุ้นเซลลูโลสกลับมีความหนาลดลง เนื่องจากความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่สูงเกินไป อาจรบกวนความสามารถในการดูดซึมสาร ความสามารถในการละลายของไอออน ความสามารถในการแยกตัวของโมเลกุล และความสามารถในการส่งผ่านทางเยื่อหุ้มเซลล์ของเชื้อ *Acetobacter xylinum* (Hawker and Linton, 1979) เมื่อพิจารณาถึงน้ำหนักของ

ตารางที่ 7 ผลของความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ ภายหลังจากการหมัก เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์)	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)
0.0	0.24 ^C	21.03 ^b
2.0	0.42 ^b	31.59 ^a
4.0	0.58 ^a	39.68 ^a
6.0	0.47 ^{ab}	36.76 ^a
8.0	0.54 ^{ab}	36.53 ^a
10.0	0.48 ^{ab}	35.30 ^a

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT เท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 5 วุ้นเซลล์โลสที่ได้จากการหมักในอาหารที่มีระดับความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้พบว่า น้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของกรดอะซิติก ที่เพิ่มขึ้นจนถึงความเข้มข้นที่ระดับหนึ่งเช่นกัน เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DMRT เพื่อหาความแตกต่าง อย่างมีนัยสำคัญของค่าเฉลี่ยของน้ำหนักชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้ความเข้มข้นของกรดอะซิติก 6.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้ความเข้มข้นของ กรดอะซิติก 4.0 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้น สภาวะที่เหมาะสม ที่จะใช้ในการทดลองครั้งต่อไป คือ ใช้กรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 4.0 เปอร์เซ็นต์

นอกจากนี้แล้วเมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไตเตรตได้ทั้งหมด (TTA) พบว่า พีเอชของสภาวะที่มีความเข้มข้น ของกรดอะซิติก 4 เปอร์เซ็นต์จะอยู่ในช่วง 4-5 ซึ่งเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Aceto- bacter xylinum* (Alaban, 1962) ส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และ กรดที่สามารถไตเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 8

ตารางที่ 8 ผลของความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลาย ได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไตเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการ หมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ความเข้มข้นของกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์)	พีเอช		TSS ¹		TTA ^{2*}	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
0.0	5.90	4.63	12.8	13.6	0.07	0.22 ^a
2.0	4.70	4.90	12.6	13.0	0.16	0.20 ^a
4.0	4.55	5.00	12.8	13.2	0.31	0.17 ^a
6.0	4.30	5.03	12.8	12.9	0.39	0.17 ^a
8.0	4.20	5.10	12.8	12.6	0.49	0.14 ^a
10.0	4.10	4.93	12.6	12.7	0.59	0.18 ^a

¹TSS = Total Soluble Solid มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

²TTA = Total Titratable Acidity มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดอะซิติก

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อ

ผลของปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหมาะสม

ในการศึกษาปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหมาะสม (0-10 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเติมลงในน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนออกโดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ และกรดอะซิติก 4 เปอร์เซ็นต์ ในขวดแก้วที่มีพื้นที่ผิวเท่ากับ 50.2 ตารางเซนติเมตร ในการหมักโดยใช้ปริมาตร 150 มิลลิลิตร หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ดังแสดงในตารางที่ 9 และภาพที่ 6

จากผลการทดลองพบว่า ความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 2.0 เปอร์เซ็นต์ มีความหนาและน้ำหนักมากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์มากขึ้นชั้นวุ้นเซลลูโลสกลับมีความหนาและน้ำหนักลดลง เนื่องจากปริมาณแอลกอฮอล์ที่สูงเกินไปกลับมีผลต่อการสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลส ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lepuz et al. (1967) รายงานว่าไม่พบการเจริญของเชื้อ *Acetobacter xylinum* ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของเอทานอล 3 และ 5 เปอร์เซ็นต์ เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DMRT เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความหนาและน้ำหนัก

ตารางที่ 9 ผลของปริมาณแอลกอฮอล์ต่อความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้ ภายหลังจากการหมัก เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์)	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)
0.0	0.60a	38.17a
2.0	0.63a	39.53a
4.0	0.35ab	25.75a
5.0	0.32ab	20.25ab
6.0	0.32ab	24.49ab
8.0	0.32ab	24.11b
10.0	0.24b	19.96b

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ย เมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT



ภาพที่ 6 วุ้นเซลล์โลสที่ได้จากการหมักในอาหารที่ใช้ปริมาณแอลกอฮอล์ในระดับต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้ปริมาณแอลกอฮอล์ 2.0 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ไม่เติมแอลกอฮอล์ที่ระดับความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองครั้งต่อไปคือ สภาวะที่ไม่เติมแอลกอฮอล์

นอกจากนี้แล้วเมื่อติดตามการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไตเตรตได้ทั้งหมด (TTA) พบว่าพีเอชของสภาวะที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 0 และ 2 เปอร์เซ็นต์ ใกล้เคียงกับพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *Acetobacter xylinum* และพีเอชลดลงตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับกรดที่สามารถไตเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ที่มีค่าเพิ่มขึ้น เนื่องจากเชื้อสามารถออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติกได้ (Dimaguila, 1967) ส่วนปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) มีค่าเพิ่มขึ้นดังแสดงในตารางที่ 10

ตารางที่ 10 ผลของปริมาณแอลกอฮอล์ต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไตเตรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ปริมาณแอลกอฮอล์ (เปอร์เซ็นต์)	พีเอช		TSS ¹		TTA ^{2*}	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
0.0	4.25	5.43	11.00	12.30	0.24	0.06 ^a
2.0	4.25	3.85	11.00	12.20	0.20	0.90 ^d
4.0	4.25	3.67	11.20	12.50	0.23	1.24 ^C
5.0	4.25	3.52	11.00	12.70	0.23	1.82 ^{ab}
6.0	4.25	3.62	11.00	12.40	0.23	1.79 ^{ab}
8.0	4.25	3.63	11.00	12.60	0.23	1.57 ^b
10.0	4.25	3.50	11.00	12.40	0.22	2.06 ^a

¹TSS = Total Soluble Solid มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

²TTA = Total Titratable Acidity มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดอะซิติก

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

ผลของปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสม

ในการศึกษาปริมาณหัวเชื้อที่เหมาะสม (10 - 40 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งเติมลงในน้ำ-
 หางนมที่ผ่านการแยกตะกอนออก โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ และกรด-
 อะซิติก 4 เปอร์เซ็นต์ หมักในขวดแก้วที่มีพื้นที่ผิวเท่ากับ 50.2 ตารางเซนติเมตร โดยใช้
 น้ำหมักปริมาตร 150 มิลลิลิตร ทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส
 แสดงผลดังตารางที่ 11 และภาพที่ 7 พบว่า ความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จาก
 การหมักที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์มีความหนาและน้ำหนักมากที่สุด แต่เมื่อเพิ่มปริมาณ
 หัวเชื้อมากขึ้น ชั้นวุ้นเซลลูโลสกลับมีความหนาและน้ำหนักลดลง เนื่องจากปริมาณหัวเชื้อที่มาก
 เกินไปทำให้สารอาหารที่มีอยู่ไม่เพียงพอ และเมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DMRT เพื่อหาความแตกต่าง
 อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่า ความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้น-
 เซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อ 20 เปอร์เซ็นต์ ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ
 กับชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95
 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งเป็นไปตามงานวิจัยของ Alaban (1962) ที่รายงานว่าปริมาณหัวเชื้อที่
 เหมาะสมคือ 10-20 เปอร์เซ็นต์ แต่ถ้าใช้ปริมาณหัวเชื้อมากกว่านี้ พบว่าจำนวนเซลล์แบคทีเรีย
 จะหนาแน่นมากเกินไปทำให้เกิดภาวะแข่งขัน ทำให้การสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลสลดลง ดังนั้น
 สภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองครั้งต่อไปคือ ใช้ปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ สำหรับ
 พีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไตเตรตได้ทั้งหมดไม่มีความแตกต่างทาง
 สถิติตามปริมาณหัวเชื้อที่ใช้ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ดังแสดงในตารางที่ 12

ตารางที่ 11 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้ ภายหลังจากการหมัก เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ปริมาณหัวเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)
10	0.58 ^a	39.37 ^a
20	0.60 ^a	39.71 ^a
30	0.51 ^a	30.57 ^b
40	0.59 ^a	30.24 ^b

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ย
 เมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT
 เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับบริการเชิงวิชาการแก่เพื่อนร่วมงานในหน่วยงานที่เกี่ยวข้อง ไม่อนุญาตให้เผยแพร่ไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น ยกเว้นที่มิสมเหตุที่แปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 วุ้นเซลล์โกลีที่ได้จากการหมักที่ใช้ปริมาณหัวเชื้อ Acetobacter xylinum ในระดับต่าง ๆ

ตารางที่ 12 ผลของปริมาณหัวเชื้อต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมัก เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ปริมาณหัวเชื้อ (เปอร์เซ็นต์)	พีเอช		TSS ¹		TTA ^{2*}	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
10	4.15	5.30	12.00	11.60	0.42	0.13 ^a
20	4.15	4.65	12.00	10.70	0.42	0.27 ^a
30	4.15	4.48	12.00	10.10	0.42	0.30 ^a
40	4.15	4.28	12.00	9.10	0.42	0.27 ^a

¹TSS = Total Soluble Solid มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

²TTA = Total Titratable Acidity มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดอะซิติก

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

ผลของอุณหภูมิที่เหมาะสม

ในการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสม (32 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (RT = 27-35 องศาเซลเซียส) ในการหมักน้ำหวานที่ผ่านการแยกตะกอนออก โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติก 4 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ หมักในขวดแก้วที่มีพื้นที่ผิว 50.2 ตารางเซนติเมตร โดยใช้หัวหมักปริมาตร 150 มิลลิลิตร หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน แสดงผลดังตารางที่ 13 จากการทดลองพบว่าความหนาและน้ำหนักของชั้นวันเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส มีความหนาและน้ำหนักมากที่สุด เมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DMRT เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความหนาและน้ำหนักของชั้นวันเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญกับชั้นวันเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่อุณหภูมิห้องที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ ดังนั้นสภาวะที่เหมาะสมที่จะใช้ในการทดลองครั้งต่อไป คือ ใช้สภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส อย่างไรก็ตามทั้งสองสภาวะให้ผลการเปลี่ยนแปลง

ของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมดที่ไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 14

ตารางที่ 13 ผลของอุณหภูมิต่อความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)
32	0.60 ^a	37.25 ^a
RT	0.30 ^a	28.49 ^b

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ย เมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

ผลของระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมัก

ในการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสม (7, 10 และ 14 วัน) ในการหมักน้ำหางนม ที่ผ่านการแยกตะกอนออก โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล 7.5 เปอร์เซ็นต์ กรดอะซิติก 4 เปอร์เซ็นต์ ปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซ็นต์ หมักในขวดแก้วซึ่งมีพื้นที่ผิว 50.2 ตารางเซนติเมตร โดยใช้ น้ำหมักปริมาตร 150 มิลลิลิตร ภายหลังจากทำการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส พบว่าการหมักที่ใช้ระยะเวลา 14 วัน เชื้อสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลสได้ดีที่สุด คือ ได้ความหนา 1.09 เซนติเมตร และน้ำหนัก 67.06 กรัม ดังแสดงในตารางที่ 15 และภาพที่ 9

จากผลการทดลองพบว่าความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักเพิ่มขึ้น เมื่อใช้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้นและเมื่อวิเคราะห์โดยวิธี DMRT เพื่อหาความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ พบว่าความหนาและน้ำหนักของชั้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในระยะเวลา 14 วัน มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการหมักในระยะเวลา 7 และ 10 วัน แต่เมื่อกำหนดอัตราการสร้างวุ้นเซลลูโลสพบว่ามีความใกล้เคียงกัน คือ อยู่ในช่วง 0.07-0.08 เซนติเมตรต่อวัน ดังนั้นจึงควรใช้ระยะเวลาในการหมัก 7-14 วัน ผลการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และกรดที่สามารถไทเตรตได้ทั้งหมดไม่แตกต่างกันทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 16



ภาพที่ 8 คุ้มนเชลลูโลสที่ได้จากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (35 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 14 ผลของอุณหภูมิต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 7 วัน

อุณหภูมิ (องศาเซลเซียส)	พีเอช		TSS ¹		TTA ^{2*}	
	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน	0 วัน	7 วัน
32	4.30	5.77	12.80	11.70	0.52	0.19 ^a
RT	4.30	5.27	12.80	12.00	0.52	0.19 ^a

¹TSS = Total Soluble Solid มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

²TTA = Total Titratable Acidity มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดอะซิติก

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

ตารางที่ 15 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการหมักต่อความหนาและน้ำหนักของชั้นวันเซลลูโลสที่ได้ ภายหลังจากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)	อัตราการสร้าง (เซนติเมตร/วัน)
7	0.60 ^b	34.74 ^b	0.085 ^a
10	0.80 ^b	48.59 ^b	0.080 ^a
14	1.09 ^a	67.06 ^a	0.077 ^a

* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT



ภาพที่ 9 วันเซลลูโลสที่ได้จากการหมักที่ระยะเวลา 7 10 และ 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 ผลของระยะเวลาที่ใช้ต่อการเปลี่ยนแปลงของพีเอช ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) และกรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (TTA) ภายหลังจากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ระยะเวลา (วัน)	พีเอช*		TSS ¹		TTA ^{2*}	
	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก	ก่อนหมัก	หลังหมัก
7	4.30	4.27 ^a	12.80	12.00 ^a	0.52	0.89 ^a
10	4.30	4.08 ^a	12.80	11.20 ^a	0.52	0.90 ^a
14	4.30	3.88 ^a	12.80	10.60 ^a	0.52	0.92 ^a

¹TSS = Total Soluble Solid มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์

²TTA = Total Titratable Acidity มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ในรูปกรดอะซิติก

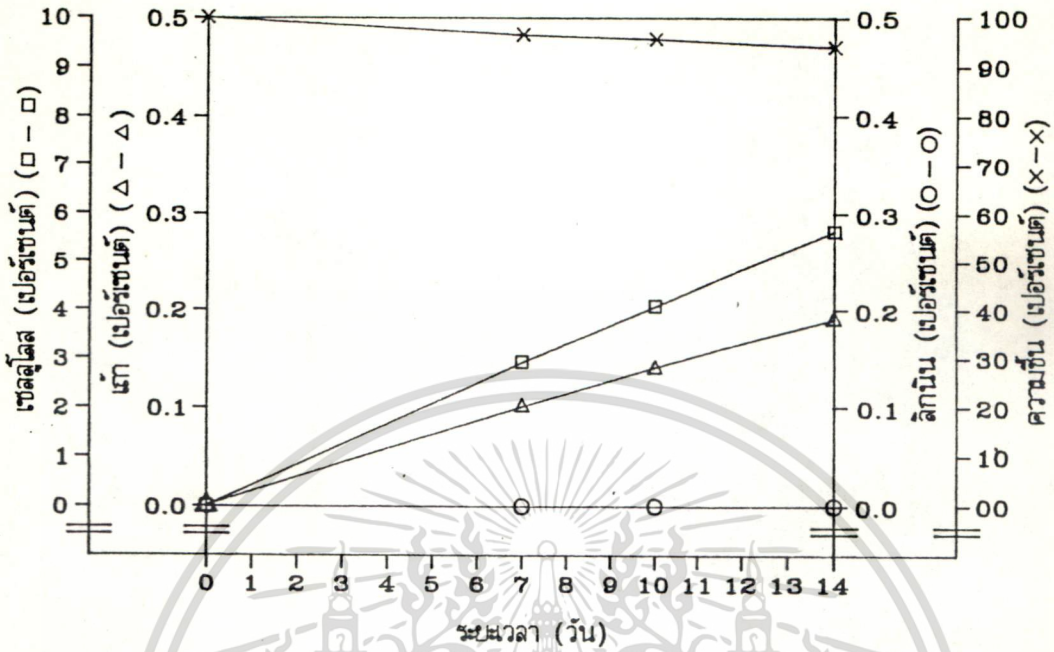
* ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

การวิเคราะห์ทางเคมีของวุ้นเซลลูโลส

จากการนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักอาหารน้ำทางนมที่ผ่านการแยกตะกอน โดยใช้ความเข้มข้นของน้ำตาล กรดอะซิติกและปริมาณหัวเชื้อเท่ากับ 7.5 4 และ 10 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ หมักในขวดแก้วที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 10 และ 14 วัน ผลของการวิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส เถ้า ลิกนิน และความชื้นในชั้นวุ้นเซลลูโลสที่เวลา 7 10 และ 14 วัน แสดงอยู่ในภาพที่ 10 พบว่าปริมาณเซลลูโลสที่มีอยู่ในวุ้นที่ผลิตจาก *A. xylinum* เท่ากับ 2.92-5.64 เปอร์เซ็นต์ในระยะเวลาการหมักระหว่าง 7-14 วันในขณะที่ปริมาณเถ้าในระยะเวลาการหมักดังกล่าวเท่ากับ 0.1-0.19 เปอร์เซ็นต์ แต่ไม่มีปริมาณลิกนินในชั้นวุ้นที่ได้จาก *A. xylinum* อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาถึงปริมาณเซลลูโลสพบว่าในวุ้นที่หมักไว้เป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสให้ปริมาณเซลลูโลสสูงกว่าผลไม้แห้ง ซึ่งเสาวถีย์ (2525) รายงานว่าในผลไม้แห้งมีเซลลูโลส 5.00 เปอร์เซ็นต์ จากการที่วุ้นที่ผลิตจาก *A. xylinum* มีปริมาณเซลลูโลสในระดับนี้ ย่อมเป็นสิ่งที่ดีที่จะนำมาใช้ในการนำมาทำเป็นผลิตภัณฑ์อาหารโดยเฉพาะอาหารเสริมสุขภาพ เนื่องจากเซลลูโลสที่มีอยู่ในอาหารจะมีส่วนช่วยในระบบขับถ่ายอีกทั้งยังช่วยในการดูดซับสารพิษและคลอโรเลสเทอร์อลด้วย (กรมอนามัย, 2532)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ของกรมส่งเสริมการค้าระหว่างประเทศ กระทรวงพาณิชย์ การค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 10 ปริมาณของเซลลูโลส แก้ว ลิแกิน และความชื้นของชิ้นวัชเซลลูโลสที่ได้จากการหมักน้ำหางนมที่ผ่านการแยกตะกอนด้วย *A. xylinum* ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

การศึกษาเบื้องต้นในการขยายขนาดการผลิต

การศึกษาความเป็นไปได้ในการขยายขนาดของการผลิต โดยใช้ภาชนะทำด้วยโลหะ สแตนเลส ขนาด (กว้างxยาวxสูง) 10x15x15 15x20x5 และ 15x30x10 เซนติเมตร โดยใช้ปริมาตร 500 1000 และ 1500 มล.ตามลำดับ โดยใช้ส่วนผสมต่าง ๆ ตามผลการศึกษำข้างต้น ผลผลิตของชิ้นวัชเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมักเป็นเวลา 14 วัน แสดงอยู่ในตารางที่ 17

จากผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูล แสดงให้เห็นว่าความหนาของชิ้นวัชเซลลูโลสที่หมักเป็นเวลา 14 วัน ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญในภาชนะบรรจุทั้ง 3 ขนาดที่ใช้ แสดงว่าสูตรอาหารและสภาวะจากผลการทดลองในห้องปฏิบัติการสามารถนำมาใช้กับการผลิตในระดับขยาย โดยค่าความหนาของชิ้นวัชไม่แตกต่างกันทางสถิติ นอกจากนี้แล้วเมื่อพิจารณาถึงผลผลิตที่ได้พบว่าเมื่อขยายขนาดการผลิตขึ้น ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของผลผลิตจะยังคงใกล้เคียงกัน ข้อมูลที่ได้จึงเป็นการยืนยันเพิ่มเติมว่าสามารถที่จะทำการขยายขนาดของการผลิตวัชเซลลูโลสจากน้ำหางนมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 17 ผลของการขยายขนาดภาชนะบรรจุต่อความหนาและน้ำหนักของชั้นขุยมะพร้าวที่ได้หลังจากการหมักเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ปริมาณบรรจุ (มิลลิลิตร)	ความหนา* (เซนติเมตร)	น้ำหนัก* (กรัม)	ผลผลิต* (เปอร์เซ็นต์)
500(1)	1.0 a	233.3 c	44.7 a
1000(2)	1.1 a	451.2 b	45.1 a
1500(3)	1.1 a	674.6 a	44.9 a

*ตัวอักษรที่เหมือนกันตามแนวตั้ง หมายถึง ความไม่แตกต่างกันของค่าเฉลี่ยเมื่อพิจารณาตาม 5 เปอร์เซ็นต์ DMRT

- (1) ถาดสี่เหลี่ยมขนาด (กว้างxยาวxสูง) เท่ากับ 10x15x5 พื้นที่ผิว 150 ตารางเซนติเมตร
- (2) ถาดสี่เหลี่ยมขนาด (กว้างxยาวxสูง) เท่ากับ 15x20x5 พื้นที่ผิว 300 ตารางเซนติเมตร
- (3) ถาดสี่เหลี่ยมขนาด (กว้างxยาวxสูง) เท่ากับ 15x30x10 พื้นที่ผิว 450 ตารางเซนติเมตร
- (4) เปอร์เซ็นต์ผลผลิต = [(น้ำหนักชั้นขุยมะพร้าว (กรัม) / ปริมาตรบรรจุ (มล.)] x 100

ผลการวิเคราะห์ค่าความต้องการออกซิเจนของแบคทีเรียในการออกซิไดส์สารอินทรีย์ (BOD)

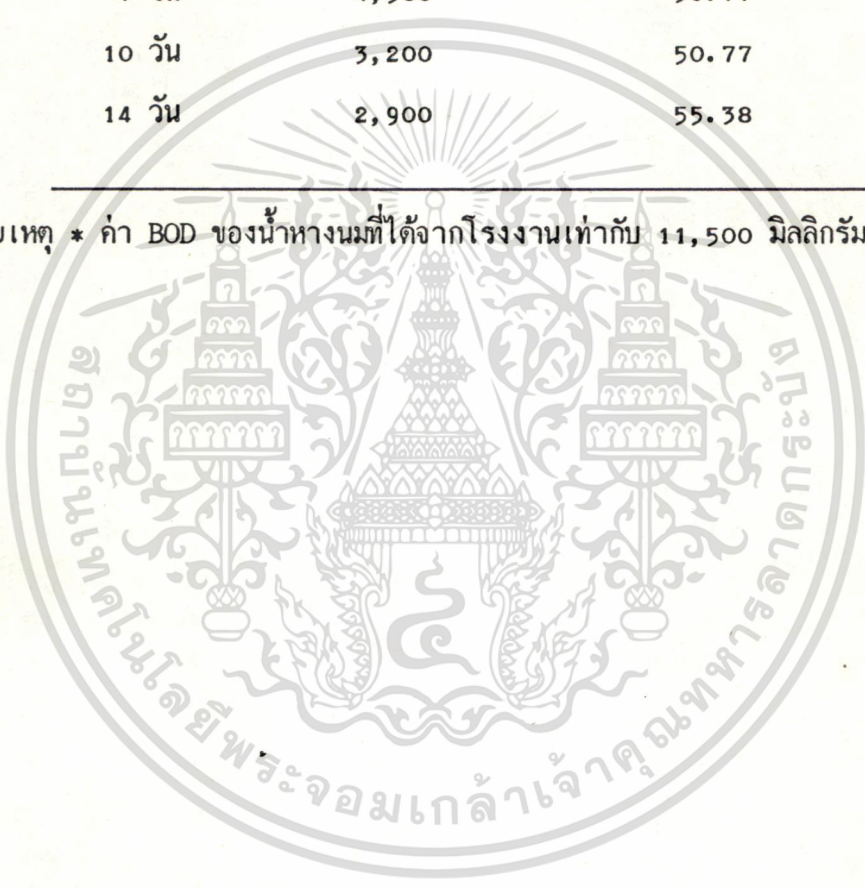
จากการวิเคราะห์ค่า BOD ของน้ำหางนมและน้ำหมักภายหลังการหมักที่ระยะเวลา 7 10 และ 14 วัน (ภาคผนวก) ผลแสดงดังตารางที่ 18

จากผลการวิเคราะห์ค่า BOD พบว่าค่า BOD ของน้ำหางนมที่ 0 วันซึ่งเป็นน้ำหมักเริ่มต้นมีค่าลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหางนมที่ได้จากโรงงาน เนื่องจากในขั้นตอนการเตรียมน้ำหมักต้องผ่านการแยกตะกอนโปรตีนซึ่งเป็นส่วนที่มีผลทำให้ค่า BOD ลดลงไป หลังจากทำการหมักเป็นเวลา 14 วัน ค่า BOD ลดลงประมาณ 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหมักเริ่มต้นซึ่งคิดเป็นประมาณ 25 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหางนมที่ได้จากโรงงาน ดังนั้นจึงสามารถกล่าวได้ว่าการผลิตขุยมะพร้าวจากน้ำหางนมเป็นแนวทางหนึ่งในการลดปริมาณ BOD ที่มีอยู่ในน้ำหางนมได้

ตารางที่ 18 ผลการวิเคราะห์ค่า BOD ของน้ำทางนมและน้ำหมักภายหลังจากการหมักที่ระยะเวลา 7 10 และ 14 วัน

น้ำหมัก	ค่า BOD (มิลลิกรัมต่อลิตร)	การเปลี่ยนแปลงของ BOD (เปอร์เซ็นต์)
0 วัน	6,500	0
7 วัน	4,500	30.77
10 วัน	3,200	50.77
14 วัน	2,900	55.38

* หมายเหตุ * ค่า BOD ของน้ำทางนมที่ได้จากโรงงานเท่ากับ 11,500 มิลลิกรัมต่อลิตร



สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาที่ผ่านมาพอที่จะสรุปรายละเอียดต่าง ๆ ได้ดังนี้

1. จากการศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นเซลล์ulos จากน้ำหางนมโดยเชื้อ Acetobacter xylinum ประกอบด้วย

น้ำตาลทราย	7.5	เปอร์เซ็นต์
กรดอะซิติก	4.0	เปอร์เซ็นต์
หัวเชื้อ	10.0	เปอร์เซ็นต์
อุณหภูมิในการหมัก	32	องศาเซลเซียส
ระยะเวลา	7-14	วัน

2. จากการศึกษาองค์ประกอบของวุ้นเซลล์ulos จากน้ำหางนมพบว่าปริมาณเซลล์ulos เถ้า และความชื้นเท่ากับ 2.92-5.64 0.1-0.19 และ 96-95.4 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ภายหลังจากการหมัก 7-14 วัน ในขณะที่ไม่มีการสร้างลิกนินในวันที่ผลิตขึ้นมา

3. มีความเป็นไปได้ในการขยายขนาดการผลิตวุ้นเซลล์ulos จากน้ำหางนมโดยที่ค่าเฉลี่ยเปอร์เซ็นต์ของผลผลิตยังคงเดิม

4. จากการวิเคราะห์ค่า BOD สรุปได้ว่าการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำหางนมสามารถลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้คือ BOD ของน้ำหางนมภายหลังจากการหมัก 14 วันลดลงจากน้ำหางนมที่ไม่ผ่านการหมักจาก 6,500 มิลลิกรัมต่อลิตร เป็น 2,900 มิลลิกรัมต่อลิตร หรือคิดเป็น 50 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งช่วยในการลดปัญหาสิ่งแวดล้อมได้ส่วนหนึ่ง

เอกสารอ้างอิง

- กรมอนามัย. 2532. ข้อกำหนดสารอาหารที่ควรได้รับประจำวันและทางการบริโภคอาหาร สำหรับคนไทย. กระทรวงสาธารณสุข. โรงพิมพ์องค์การสงเคราะห์ทหารผ่านศึก. กรุงเทพฯ. หน้า 142-144.
- ชมพูนุท สุปิยพันธุ์. 2532. การใช้ประโยชน์จากเวย์ในอุตสาหกรรม. รายงานสัมมนา ภาควิชาพัฒนาผลิตภัณฑ์ บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- รสรินทร์ สมิตะพินทุ ชมพูนุท สุปิยพันธุ์ ภัทริยา จุฑามาศ และอุตราบุษ เปรมสมาน. 2534. เนยแข็งมหาหงกล. โปรซีดิงส์แลคติกแอซิดแบคทีเรียในอุตสาหกรรมอาหารไทย. ครั้งที่ 1. คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.
- เสาวณีย์ จักรพิทักษ์. 2525. หลักโภชนาการปัจจุบัน. บริษัทไทยวัฒนาพานิช จำกัด. กรุงเทพฯ. หน้า 29.
- Alaban, A.C. 1962. Studies on the optimum conditions for "nata de coco" bacterium or "nata" formation in coconut water. *Phil. Agri.* 45:490-496.
- AOAC. 1984. Official methods of analysis. 14th ed. The Association of Official Analytical Chemists. Virginia. 1141 pp.
- Bullemand, L.B. and B.C. Berry. 1966. Use of cheese whey for vitamin B₁₂ production. *Appl. Microbiol.* 14:353-355.
- Chandan, R.C. 1982. Other fermented dairy products. In Prescott and Dunn's Industrial Microbiology, 2nd ed. AVI Publishing Com., Inc. Westport, Connecticut.
- Dimaguila, L.S. 1967. The "Nata de coco" 2. chemical nature and property of "Nata". *Phil. Agri.* 51 : 475-485.
- Glaser, L. 1958. The synthesis of cellulose in cell-free extracts of *Acetobacter xylinum*. *J. Biol. Chem.* 232 : 627-636.
- Gomez, I.V., L.D. Monogan, E.N. Almazan and F.R. Lawas. 1986. "Nata" from whey. Research at Los Banos (Abstract). 5(2).
- Gronet, Z., M. Scramm and S. Hestrin. 1957. Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum*. 4. Enzyme system present in a crude extract

เอกสารนี้ของ glucose-grown cell. *Biochem J.* 67: 679-689. วัตถุประสงค์ให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Hawker, L.E. and A.H. Linton. 1979. Microorganism function, form and environment. 2 nd.Ed. Edward Arnold. New York.
- Henrichi, A.T. and E.J. Ordal. 1948. The biology of bacteria. 3rd Ed.D.C. Health and Company. London.
- Kjosbakken, J. and J.R. Colvin. 1975. New evidence for an intermediate polymer of glucose in cellulose biosynthesis by Acetobacter xylinum. Can.J.Microbiol. 21:111-120.
- Lapuz, M.M., E.C. Gallardo and M.A. Palo. 1967. The nata organism, cultural requirements, characteristics and identity. Phil. J. Sci. 96:91-109.
- Mendoza, J.M. 1961. Phillipine Foods, their processing and manufacture. Published in Phillipines by the author.
- Schneeman, B.O. 1989. Dietary fiber. Food Tech. 33:133-139.
- TAPPI. 1954. Acid insoluble lignin in wood pulp. The Technical Association for the Pulp and Paper Industry Standard. T222m-54, 2 p.
- _____. 1961. Alpha-, beta- and gamma-cellulose in pulp. The Technical Association for the Pulp and Paper Industry Standard. T2030S-61, 3 p.
- _____. 1985. Ash in wood and pulp. The Technical Association for the Pulp and Paper Industry Standard. T2110m-85, 2 p.

ภาคผนวก

1. การวิเคราะห์

ก. ความหนาและน้ำหนัก

วัดความหนาของชั้นวุ้นด้วยไม้ฟูต 4 จุด นำค่าที่วัดได้มาหาค่าเฉลี่ย และบันทึกผลชั่งน้ำหนักชั้นวุ้น โดยล้างชั้นวุ้นให้สะอาดและรีดน้ำออกเบา ๆ ก่อนนำไปชั่งน้ำหนักบันทึกผล

ข. พีเอช

วัดค่าพีเอชด้วยเครื่องพีเอชมิเตอร์ (pHM 61)

ค. ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

วัดค่าของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย Hand refractometer

ง. กรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด (AOAC, 1984)

วัดค่ากรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด โดยปิเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่นที่ต้มไล่คาร์บอนไดออกไซด์แล้ว (พีเอช 7) 15 มิลลิลิตร หยดสารละลายฟีนอล์ฟธาลิน 0.5 เปอร์เซ็นต์ไทเทรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มอล จนกระทั่งถึงจุดยุติ นำมาคำนวณหากรดที่สามารถไทเทรตได้ทั้งหมด

วิธีคำนวณ

$$\% \text{ Total acidity} = \frac{V \times N \times MW \times 100}{1000 \times U}$$

โดยกำหนดให้ V = ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์

N = นอร์มอลลิตีของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์

U = ปริมาตรของตัวอย่าง

MW = น้ำหนักโมเลกุลของกรดอะซิติกเท่ากับ 60

จ. องค์ประกอบของวันเซลลูโลส

เซลลูโลส (TAPPI, 1961)

เตรียมตัวอย่างที่อบแห้งหนัก 1.5 กรัมใส่บีกเกอร์ เติม 7.5 มล. ของ 17.5

เปอร์เซ็นต์ NaOH คน 1 นาที แล้วจึงเติม 17.5 เปอร์เซ็นต์ NaOH อีก 5.0 มล. คนอีก 15

วินาที ตั้งทิ้งไว้ 3 นาที แล้วเติม 17.5 เปอร์เซ็นต์ NaOH อีก 5.0 มล. คน 10 นาที โดย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระหว่างคนให้เติม 17.5 เปอร์เซ็นต์ NaOH ลงไป 5.0 มล. ทุกๆ 2.5 นาที จากนั้นจึงปิดด้วยกระจกนาฬิกา ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที จึงเติมน้ำกลั่น 50 มล. พร้อมทั้งคนให้ทั่ว ตั้งทิ้งไว้อีก 30 นาที จึงนำไปกรองและล้างบีกเกอร์ด้วย 8.3 เปอร์เซ็นต์ NaOH ปริมาตร 12.5 มล. ต่อด้วยการล้างด้วยน้ำกลั่น 25 มล. อีก 5 ครั้ง นำไปกรองและล้างด้วยน้ำกลั่นจนหมดความเป็นกรด แล้วนำไปอบที่ 105 องศาเซลเซียสจนน้ำหนักคงที่

$$\% \text{ เซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า} = \frac{\text{น้ำหนักอบแห้ง}}{\text{น้ำหนักเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\% \text{ เซลลูโลส} = (\% \text{ เซลลูโลส ลิกนิน และเถ้า}) - (\% \text{ ลิกนิน}) - (\% \text{ เถ้า})$$

ลิกนิน (TAPPI, 1954)

เตรียมตัวอย่างที่อบแห้งหนัก 2 กรัมใส่ลงในหลอด thimble แล้วนำไปสกัดด้วยสารละลายแอลกอฮอล์-เบนซิน(อัตราส่วน 1:2) เป็นเวลา 5-6 ชั่วโมง จากนั้นนำตัวอย่างไปผึ่งให้แห้งแล้วถ่ายใส่บีกเกอร์ เติม 40 มล. ของ 72 เปอร์เซ็นต์ H₂SO₄ (ที่มีอุณหภูมิ 12-15 องศาเซลเซียส) อย่างช้าๆ ผสมให้เข้ากันได้ดี ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 18-20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง โดยคนตัวอย่างเป็นระยะๆ ภายในใส่ flat bottom flask ขนาด 2 ลิตร พร้อมทั้งเติมน้ำกลั่น 1500 มล. ต้มนาน 4 ชั่วโมง จากนั้นตั้งให้เย็นและตกตะกอนนำไปกรองและล้างตะกอนจนหมดความเป็นกรดด้วยน้ำร้อน 500 มล. นำตะกอนที่ได้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมงหรือจนน้ำหนักคงที่ กำหนดเปอร์เซ็นต์ลิกนินจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก

เถ้า (TAPPI, 1985)

ชั่งตัวอย่างที่อบแห้งชนิด 1 กรัม ใส่ใน crucible ที่ผ่านการเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หรือจนน้ำหนักคงที่ นำไปเผาในเตาเผาที่อุณหภูมิ 550-600 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาวหรือเป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นในโถดูดความชื้น จากนั้นจึงนำไปชั่งน้ำหนัก กำหนดเปอร์เซ็นต์เถ้าจากการเปลี่ยนแปลงของน้ำหนัก

ความชื้น (AOAC, 1984)

ชั่งตัวอย่างหนัก 2 กรัม ใส่ aluminium can พร้อมฝาที่ผ่านการอบแห้งจนน้ำหนักคงที่ นำไปอบที่อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ตัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โคดดูความชื้น จากนั้นจึงนำไปชั่งน้ำหนัก กำหนดเปอร์เซ็นต์ความชื้นจากการเปลี่ยนแปลงของ น้ำหนัก

2. การวิเคราะห์ค่า BOD

ใช้วิธี Dilution method ซึ่งมีขั้นตอนดังนี้

1. ปรับพีเอชให้เป็น 7 ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มัล
2. เจือจางตัวอย่าง 3 ระดับ คือ 1:10 1:100 และ 1:1000 (ระดับละ 3 ขวด)
3. นำไปเก็บในตู้มืดที่ 20 องศาเซลเซียสระดับละ 2 ขวด และที่เหลืออีกระดับ ละ 1 ขวด นำไปวัดค่า DO ทันทีเพื่อทราบค่า DO ที่จุดเริ่มต้นโดยวิธี Azine modification
4. นำตัวอย่างที่เก็บในตู้มืดเป็นเวลา 5 วันมาวัดค่า DO เพื่อใช้คำนวณค่า BOD

$$\text{BOD (mg/l)} = \frac{(\text{DO เริ่มต้น}) - (\text{DO หลังเก็บ 5 วัน})}{\text{ระดับความเจือจาง}}$$