สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

รายงานโครงการวิจัย

การผลิตเซลลูโลสเสริมสุขภาพจากน้ำกากส่า

(PRODUCTION OF HEALTH CELLULOSE FROM SLOP WASTE)

เสนอ

สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

นายวราวุฒิ ครูส่ง

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
TP
248.65
C45

กันยายน 2538

b10308568
110374723

เลขหมู่ ๐๓ ๕
เลขทะเบียน 24731
วัน, เดือน, ปี 17 ม.ค. 2539

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่จัดทำขึ้นสำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามทำการดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	(ก)
สารบัญตาราง	(ข)
สารบัญภาพ	(ค)
บทนำ	1
การตรวจเอกสาร	2
อุปกรณ์และวิธีการ	10
ผลและวิจารณ์ผลการทดลอง	12
สรุปผลการทดลอง	25
เอกสารอ้างอิง	26
ภาคผนวก	28
ภาคผนวก ก	29
ภาคผนวก ข	31
ภาคผนวก ค	33

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

จากการผลิตเซลลูโลสจากน้ำกากส่า โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตประกอบด้วย ความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เติมลงในอาหารน้ำกากส่าเท่ากับร้อยละ 12.0 กรดอะซิติก(ความเข้มข้นร้อยละ5.0) ในปริมาณร้อยละ 4.5 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 13.0 และแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.4 ทำการหมักในขวดบรรจุน้ำหมัก 35 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน ทำให้ได้วุ้นที่มีความหนาและน้ำหนักสูงสุด และเมื่อนำชิ้นวุ้นมาวิเคราะห์ทางเคมีหาปริมาณเซลลูโลส เถ้า ความชื้น พบว่ามีค่าเท่ากับร้อยละ 6.15-6.34 0.98-0.99 และ 92.15-91.92 ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบว่ามีการสร้างลิกนินในวุ้นที่สร้างขึ้นโดย *A. xylinum* ต่อมาเมื่อนำน้ำหมักก่อนและหลังการหมัก 7-14 วัน มาวิเคราะห์หาค่า BOD พบว่า ค่า BOD ของน้ำหมักลดลงคิดเป็นร้อยละ 10-20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	ลักษณะของน้ำกากส่า	4
2	องค์ประกอบของส่าแห้ง	5
ผนวกที่ 1		33
ผนวกที่ 2		33
ผนวกที่ 3		33
ผนวกที่ 4		34
ผนวกที่ 5		34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แผนผังแสดงกรรมวิธีการผลิตสุราและการกำจัดน้ำกากส่าทิ้งของโรงงานสุราในประเทศไทย	3
2	แนวทางในการใช้ประโยชน์จากน้ำกากส่าโดยอาจจะใช้เป็นกระบวนการเดียวหรือหลายกระบวนการร่วมกัน	6
3	ผลของความเข้มข้นของกากน้ำตาลในอาหารน้ำกากส่า ต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ*A. xylinum* ที่บ่มเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	13
4	ผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่าเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	14
5	ผลของปริมาณกรดอะซิติคเข้มข้นร้อยละ 5 ต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่าเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	16
6	ผลของปริมาณหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* ต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่าเป็นเวลา7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	17
7	ผลของอุณหภูมิในการหมักที่เหมาะสมต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่าเป็นเวลา 7 วัน	19
8	ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการหมักที่เหมาะสมความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	20
9	ลักษณะของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า ในช่วงเวลา 3 ถึง 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	21
10	ปริมาณเซลลูโลส เถ้า และความชื้นของชิ้นวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในอาหารน้ำกากส่าด้วยเชื้อ *A. xylinum* ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
11	ลักษณะของวุ้นเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า ในถาดสแตนเลสขนาด 15x40x12 เซนติเมตร เป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส	23
12	การเปลี่ยนแปลงค่า COD และ BOD ของน้ำหมักที่ได้จากการหมักวุ้นเซลลูโลสในอาหารน้ำกากส่าด้วยเชื้อ*A. xylinum* ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

น้ำกากส่า (slop waste) เป็นของเหลวเหลือทิ้งจากน้ำส่าหมักที่กลั่นแยกเอาแอลกอฮอล์ออกแล้ว โดยทั่วไปแล้วน้ำกากส่าจากโรงงานสุราในประเทศไทยมีค่า BOD (biological oxygen demand) สูงถึง 30,000-50,000 มก./ล. ดังนั้นจึงมีความจำเป็นอย่างยิ่งที่จะหาลู่ทางในการนำน้ำกากส่ากลับมาใช้ประโยชน์อีก เพื่อลดผลกระทบที่มีต่อสภาพแวดล้อม ทั้งนี้โดยอาศัยพื้นฐานความรู้และเทคนิคทางด้านเทคโนโลยีการหมัก เช่น การผลิตกาซชีวภาพ (มีเธน) และจุลินทรีย์โปรตีนจากเชื้อยีสต์หรือสาหร่าย เป็นต้น

ในปัจจุบันนี้อาหารที่มีเซลลูโลสเป็นอาหารที่มีความสำคัญต่อสุขภาพของผู้บริโภค เนื่องจากเซลลูโลสที่มีอยู่ในอาหารจะมีส่วนช่วยในระบบขับถ่าย อีกทั้งยังช่วยในการดูดซับสารพิษ และคลอเรสเตอรอล อีกด้วย

จากความสำคัญดังที่กล่าวมาข้างต้น จึงนำมาถึงการใช้ความรู้และเทคนิคทางด้านเทคโนโลยีการหมัก เพื่อนำน้ำกากส่ามาใช้ในการผลิตเซลลูโลสเพื่อใช้เป็นอาหารเสริมสุขภาพ ทั้งนี้โดยมีวัตถุประสงค์ ดังนี้

1. เพื่อศึกษาถึงปัจจัยพื้นฐานที่เกี่ยวข้องกับการปรับสภาพ และเพิ่มประสิทธิภาพการใช้น้ำกากส่าในการผลิตเซลลูโลสโดยอาศัยเทคโนโลยีการหมัก
2. เพื่อศึกษาการลดค่า BOD ของน้ำกากส่าภายหลังจากการผลิตเซลลูโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ในกระบวนการหมักแอลกอฮอล์ในประเทศไทยนิยมใช้กากน้ำตาลหรือที่เรียกว่าน้ำเหลือง (molasses) ซึ่งเป็นผลผลิตจากโรงงานน้ำตาล เป็นวัตถุดิบ จากขั้นตอนการผลิตโดยอาศัยการหมักจะทำให้เกิดแอลกอฮอล์ขึ้นมาในน้ำหมัก เมื่อนำเอาน้ำหมักไปกลั่นเพื่อจะแยกแอลกอฮอล์ออกไป จะมีผลพลอยได้ที่เกิดขึ้นเป็นจำนวนมาก คือ น้ำกากส่า (ภาพที่1) ตามปกติแล้วทางโรงงานจัดน้ำกากส่าเป็นของเหลือที่ต้องกำจัดทิ้งที่จำเป็นต้องผ่านขั้นตอนการกำจัดเพื่อให้เกิดผลกระทบต่อสิ่งแวดล้อมน้อยที่สุด เนื่องจากน้ำกากส่านั้นมีปริมาณ BOD (biological oxygen demand) สูงมาก ดังนั้นแนวทางที่จะนำน้ำกากส่ามาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตผลิตภัณฑ์จึงเป็นสิ่งที่น่าสนใจ

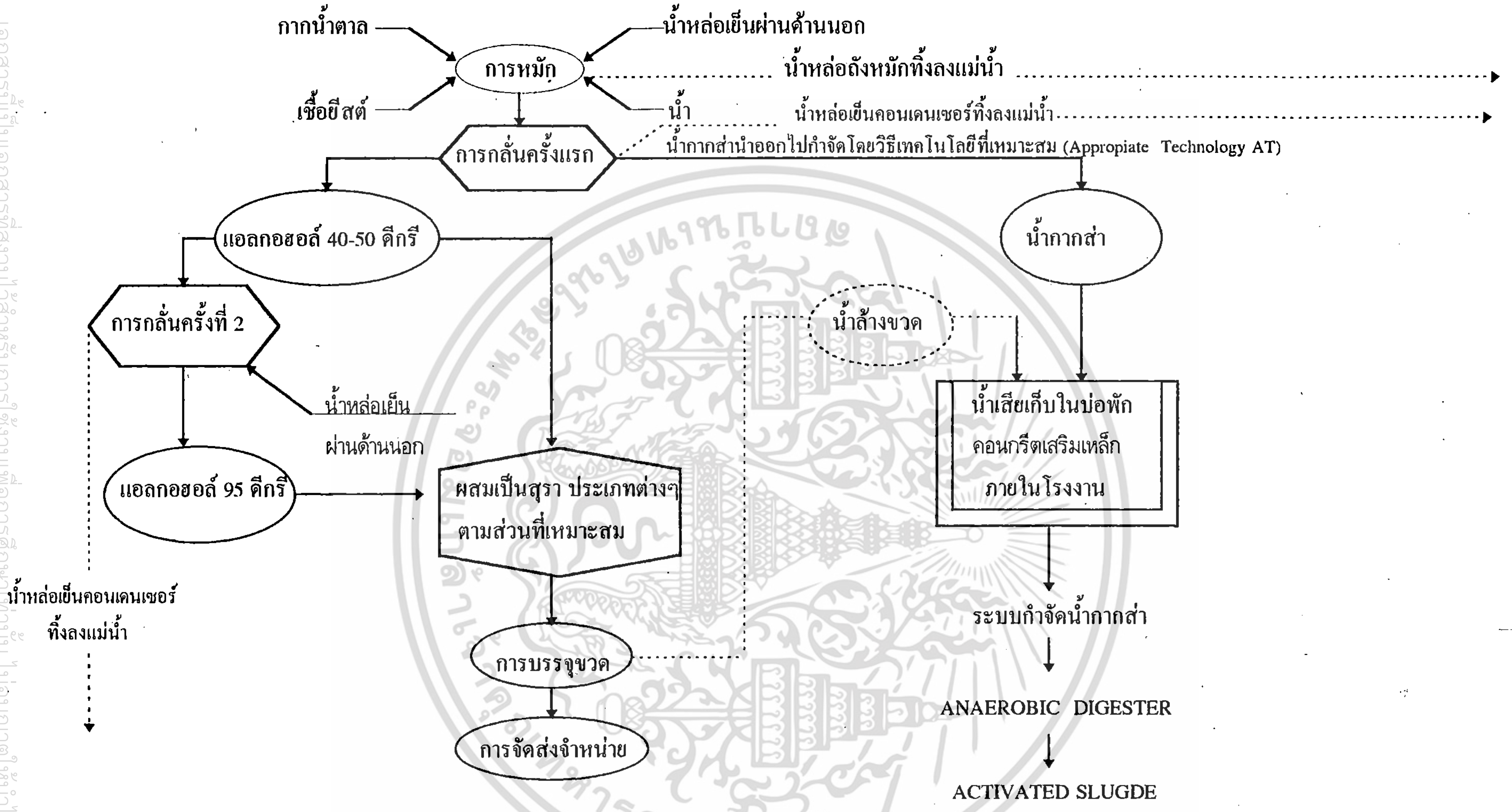
กากน้ำตาล

กากน้ำตาลเป็นผลิตผลพลอยได้เหลือจากการผลิตน้ำตาล เป็นของเหลวข้นมีสีน้ำตาลไหม้ ไม่ตกผลึก และมีความหวานประมาณครึ่งหนึ่งของความหวานอ้อย แม้ว่ากากน้ำตาลจะถูกเรียกว่าเป็นกากของน้ำตาล แต่แท้จริงแล้วกากน้ำตาลมีคุณค่าของสารอาหารทุกชนิดที่ถูกสกัดทิ้งออกมาจากน้ำตาลทรายขาวในขณะที่น้ำตาลทรายขาวไม่มีวิตามินใด ๆ ทั้งสิ้น แต่กากน้ำตาลกลับเต็มไปด้วยวิตามินบี1 ไนอาซิน และกรดแพนโทธินิค นอกจากนั้นในกากน้ำตาล 1 ช้อนโต๊ะ ยังประกอบไปด้วยแคลเซียม ถึง 137 กรัม ซึ่งเท่ากับแคลเซียมที่ได้รับจากน้ำนมครึ่งถ้วย ธาตุเหล็ก 3.2 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 50 มิลลิกรัม และธาตุโปแตสเซียม 585 มิลลิกรัม ซึ่งมากกว่าโปแตสเซียมที่ได้จากกล้วย 1 ลูก หรือ ส้มผลใหญ่ ๆ ถึง 2 ผล (ประแก่น, 2524)

กากน้ำตาล (molasses) สามารถแยกออกจากผลึกน้ำตาลด้วยการแยกด้วยหม้อกลั่นในขั้นสุดท้าย และไม่นำกลับไปผลิตน้ำตาลอีก กากน้ำตาลมี 3 ชนิดแล้วแต่กรรมวิธีการผลิตน้ำตาล คือ

1. Black strap molasses หมายถึง กากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาว (plantation white sugar) โดยปกติจะมีน้ำตาลอยู่ประมาณร้อยละ 50-60
2. Refinery molasses หมายถึง กากน้ำตาลที่ได้จากการผลิตน้ำตาลทรายขาวบริสุทธิ์ (refine sugar) โดยปกติจะมีน้ำตาลอยู่ประมาณร้อยละ 48
3. Invert or Hightest molasses หมายถึง กากน้ำตาลที่ได้จากการทำให้น้ำอ้อยแปรสภาพ (inverted cane juice) ให้เข้มข้นขึ้นโดยการระเหย เรียกอีกชื่อว่า Invert Syrup ซึ่งไม่มีน้ำตาลชนิดที่จะนำไปผลิตน้ำตาลทรายได้ แต่มีส่วนประกอบดังนี้ คือ (ร้อยละ) น้ำ 14.0 น้ำตาลชนิดอินเวอร์ท 14.0 และสารอื่นๆ 9.0 เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แผนผังแสดงกรรมวิธีผลิตสุราและการกำจัดน้ำกากส่าทิ้งของโรงงานสุราในประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในระหว่างกรรมวิธีการผลิตจะได้กากน้ำตาลออกมาในระหว่างการผลิตเป็น 3 ขั้นด้วยกันคือ

First molasses หรือ A - Molasses

Second molasses หรือ B - Molasses

Final molasses หรือ C - Molasses

สำหรับชนิด A และ B-Molasses นั้นสามารถนำกลับไปใช้ในกรรมวิธีการผลิตน้ำตาลได้อีก แต่ C-Molasses หรือ Final molasses นั้นมิได้นำกลับไปใช้ในการผลิตน้ำตาลอีกต่อไปแล้ว

น้ำกากส่า (slop wastes)

น้ำกากส่าเป็นของเหลวเหลือทิ้งที่แยกเอาแอลกอฮอล์ออกแล้ว (ดังแสดงในภาพที่ 1) โดยทั่วไปน้ำกากส่ามีความเป็นกรดสูง สีเข้ม มีของแข็งที่ละลายได้อยู่ประมาณร้อยละ 7-10 และมีสารอินทรีย์อยู่สูง (Underkofler และ Hickley,1954) พินิจ (2527)รายงานว่าน้ำกากส่าจากโรงงานสุรา โดยทั่วไปในประเทศไทยมีค่า BOD (biological oxygen demand) สูงถึง 30,000-50,000 มก/ล. นอกจากนี้สุวัฒน์ (2527) ได้รายงานว่าน้ำกากส่ามีสมบัติทางเคมีต่างกันตามวัตถุดิบ ประสิทธิภาพของการกลั่น และฤดูกาล สำหรับลักษณะของน้ำกากส่าสรุปอยู่ในตารางที่ 1

ตารางที่ 1 ลักษณะของน้ำกากส่า

Parameters	Range	Average
pH	4.15 - 4.99	4.65
COD (mg/l)	97,513 - 112,053	100,016
BOD (mg/l)	30,750 - 40,500	38,436
TS (mg/l)	91,200 - 107,145	99,338
TDS (mg/l)	90,140 - 103,290	97,182
TKN (mg/l)	1,602 - 2,880	2,019
NH^{+}_{4}-N_2 (mg/l)	50 - 672	297
Ca^{+2} (mg/l)	1,125 - 1,935	1,836
K^{+} (mg/l)	6,666 - 8,997	5,682
SO^{-2} (mg/l)	3,480 - 8,400	5,679
PO^{-3} (mg/l)	180 - 306	282
P (mg/l)	59 -100	92
BOD:N:P = 100:5.25:0.24		

ที่มา : ฝ่ายเทคนิคและการผลิตกลุ่มบริษัทสุราทิพย์ (2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พินิจ (2527) รายงานว่า โดยทั่วไปน้ำกากส่ามีเกลืออนินทรีย์อยู่สูง โดยเฉพาะเกลือโปแตสเซียมจะมีประมาณ 4,000-6,000 มก/ล. สำหรับชนิดและปริมาณน้ำตาลในน้ำกากส่านั้น ตามปกติในกากน้ำตาลจะมีซูโครสเป็นส่วนใหญ่ (Paturau,1969) แต่ Underkolfer และ Hickley(1954) ได้รายงานว่า เมื่อวิเคราะห์หาชนิดของน้ำตาลในน้ำกากส่าที่ได้ ภายหลังจากการหมักแอลกอฮอล์โดยใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ ไม่พบซูโครส แต่พบกลูโคสและฟรุคโตส ซึ่งอาจเป็นเพราะซูโครสเกิดการแตกตัวเมื่อได้รับความร้อนจากการกลั่นแยกแอลกอฮอล์ในสภาพที่เป็นกรด

การใช้ประโยชน์จากน้ำกากส่า

ในขบวนกลั่นแอลกอฮอล์จากการหมักกากน้ำตาล ผลผลิตของแอลกอฮอล์ทุกๆ 1 ลูกบาศก์เมตร จะมีน้ำกากส่า (ของเสีย) ประมาณ 9.5 ลูกบาศก์เมตร จากผลการทดลองนำไปเคี่ยวให้เข้มข้นในหอระเหยหลายชั้น (multiple effect evaporators) น้ำส่าที่ได้เมื่อนำไปอบจะได้ผลผลิตส่าแห้ง (dried soluble) ซึ่งในแง่อาหารสัตว์จะมีปริมาณเกลือแร่สูงประมาณร้อยละ 30 ส่าแห้งมีองค์ประกอบที่สำคัญแสดงดังตารางที่ 2

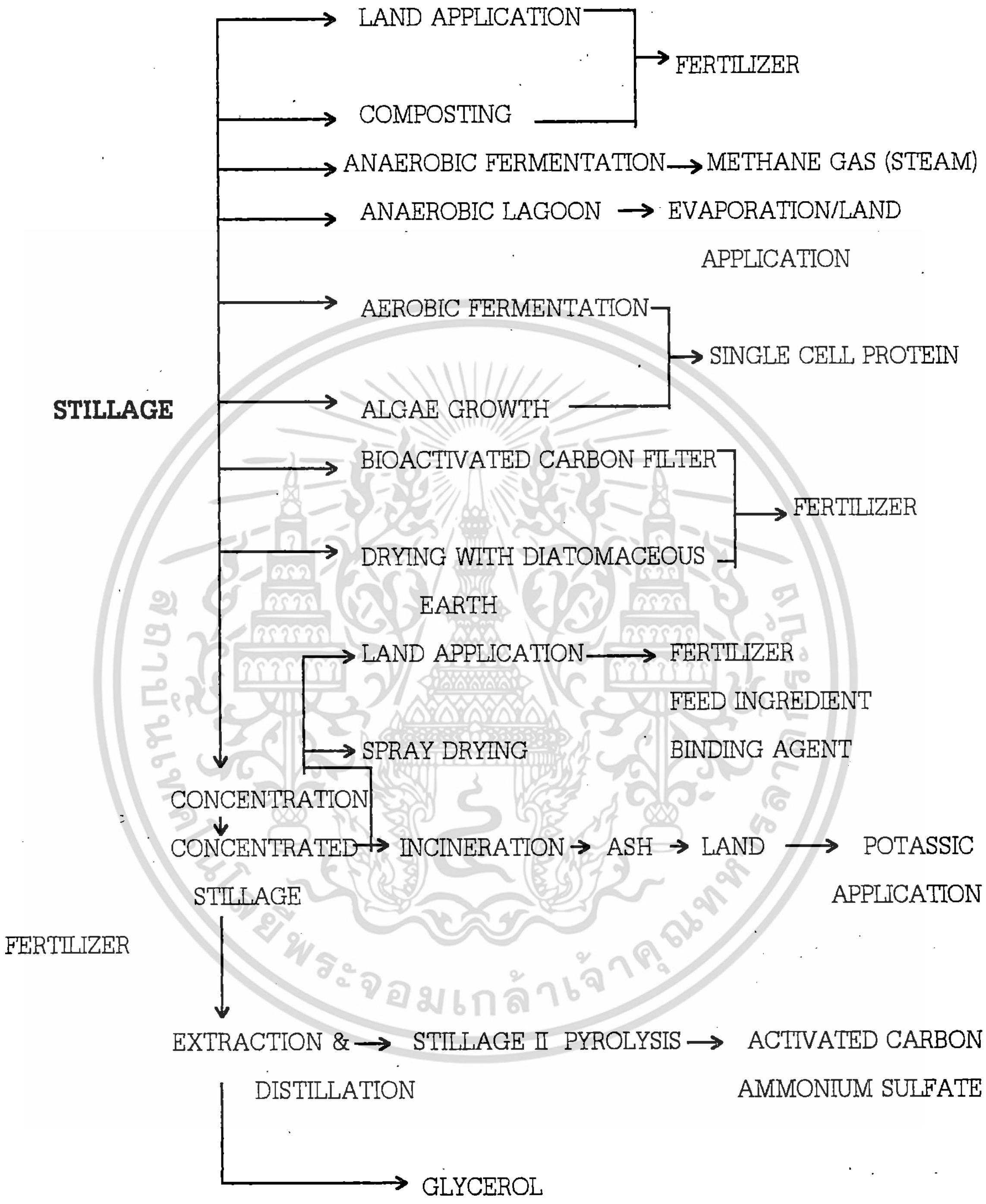
ตารางที่2 องค์ประกอบของส่าแห้ง

องค์ประกอบ	Dried molasses solubles (% Dried matter)
โปรตีน	9.0-16.6
เถ้า	22-29
ไฟเบอร์	0.6
ไนโตรเจน-free extract	60.8
other extract	0.2

ที่มา : Adams และ Flynn (1982)

น้ำกากส่าสามารถใช้ประโยชน์ได้อีกหลายประการ ดังเช่นถูกนำไปใช้ทดแทนน้ำจากแม่น้ำเพื่อใช้ในการเจือจางกากน้ำตาลสำหรับขบวนการหมักแอลกอฮอล์ (สมคิด และคณะ,2528) หรือนำไปใช้ในการผลิตจุลินทรีย์โปรตีนจากเชื้อยีสต์ (สกุณณี และจรูญ, 2526) และจากสาหร่าย (วิลาสินีและยุวดี,2532) น้ำกากส่ายังสามารถนำไปใช้ในการทำปุ๋ยหมักจากฟางข้าว (วรรณดี และประกิตสิน,2533) แต่สิ่งที่ก่อให้เกิดประโยชน์ย้อนกลับสู่โรงงานสุราโดยตรงได้แก่ การนำน้ำกากส่าเพื่อผลิตกาซมีเธนซึ่งสามารถนำไปใช้ทดแทนน้ำมันเตาที่ใช้ในเครื่องกำเนิดไอน้ำ (ประเวทย์และเกษร, 2531) อย่างไรก็ตาม สามารถสรุปแนวทางในการใช้ประโยชน์ของน้ำกากส่าได้ดังแสดงในภาพที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2 แนวทางในการใช้ประโยชน์จากน้ำกากส่า โดยอาจจะใช้เป็นกระบวนการเดียว หรือหลายกระบวนการร่วมกัน

ที่มา : วราวุฒิ และคณะ (2538)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างวุ้นเซลลูโลส

เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักวุ้นเซลลูโลสมีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum* หรือ *A. xylinum* เป็นแบคทีเรียในกลุ่มที่ผลิตน้ำส้มสายชูซึ่งสามารถสร้างแผ่นวุ้นที่มีองค์ประกอบเป็นเซลลูโลส พบได้ทั่วไปในธรรมชาติ โดยเฉพาะในผักหรือผลไม้ที่เน่าเสีย หรือในน้ำผลไม้ที่ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดการหมักหลังจาก 36- 48 ชั่วโมง จะสังเกตเห็นแผ่นฝ้าบาง ๆ สีขาวขุ่นคล้ายแผ่นวุ้นอยู่บริเวณผิวหน้าของน้ำผลไม้ขึ้น แผ่นวุ้นนี้จะหนาขึ้นเรื่อย ๆ และเกิดกรดอะซิติกขึ้นไปพร้อมกัน เมื่อภาชนะถูกกระทบกระเทือนหรือทำให้แผ่นวุ้นจมลงก้นภาชนะ ก็จะเกิดแผ่นวุ้นใหม่ขึ้นมาอีกบริเวณผิวหน้า (Lapuz and Gallardo, 1967)

ชาวฟิลิปปินส์นำเชื้อ *A. xylinum* มาใช้หมักน้ำผลไม้ได้วุ้นเซลลูโลส ซึ่งชาวฟิลิปปินส์รู้จักวุ้นชนิดนี้ โดยสังเกตว่า เมื่อตั้งน้ำผลไม้หรือน้ำมะพร้าวทิ้งไว้ จะเกิดแผ่นที่เป็นเยื่อเหนียวจะมีลักษณะพิเศษเป็น cartilaginous substance และเรียกวุ้นนี้ว่า nata วุ้นนี้เป็นที่นิยมรับประทานกันทั่วไป และยังได้ทำการผลิตกันอย่างแพร่หลายกันทั่วไป นอกนั้นยังส่งออกขายยังต่างประเทศอีกด้วย

เมื่อวุ้นเป็นที่รู้จักได้มีการศึกษาค้นคว้าเกี่ยวกับเชื้อจุลินทรีย์ รวมทั้งวุ้นที่เชื้อสร้างขึ้นด้วย โดยที่ในระยะแรกได้ทำการศึกษาถึงลักษณะของวุ้น โดยสังเกตและคาดเดาว่าวุ้นอาจมีสารพวก dextranเป็นองค์ประกอบ จึงทำให้ในระยะแรกเชื่อว่าเชื้อนี้เป็นเชื้อชนิดเดียวกับ *Leuconostoc mesenteroides* แต่ต่อมาเมื่อมีการศึกษาถึงลักษณะของเชื้อพบว่าเชื้อมีลักษณะเป็นจุลินทรีย์ที่สามารถย้อมติดสีแกรมลบ มีรูปร่างเป็นแท่ง อาจมีความยาว 0.6 - 2.0 ไมครอน เมื่อเชื้อมีอายุมากขึ้นจะมีความยาว 4.0 - 9.0 ไมครอน และย้อมสีแกรมจะติดสีทั้งแกรมลบและแกรมบวก(Gram variable) สามารถสร้างกรดจากกลูโคส เอทิลและโพรพิลแอลกอฮอล์ ให้ผลทดสอบคะตะเลสเป็นบวก ไม่เปลี่ยนสีลิตมัสมิลค์ ไม่สร้างอินโดล ไม่รีดิวซ์ไนเตรท สามารถออกซิไดซ์อะซิติกไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ และมีสมบัติที่สำคัญคือ มีความสามารถในการสร้างเยื่อเหนียวที่สามารถยึดเซลให้รวมกัน และให้ผลบวกเมื่อทำการทดสอบเซลลูโลส (Daimaguila,1967)

เซลลูโลสที่ได้จาก *A. xylinum* มีองค์ประกอบลักษณะเดียวกับฝ้าย (cotton) คือ สามารถละลายได้ใน ammonical copper hydroxide และให้น้ำตาลรีดิวซ์เมื่อถูกไฮโดรไลซ์ด้วยกรดซัลฟูริก เขาจึงเรียกเชื้อนี้ว่า Bacteria xylinum (xylinum เป็นภาษาลาตินมีความหมายเดียวกับ cotton) ในราวปี 1900 ได้มีการยืนยันว่าวุ้นนี้มีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ เซลลูโลส และเนื่องจากเมื่อทำการเลี้ยงเชื้อนี้ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีน้ำตาลจะให้กรดน้ำส้ม นอกจากนั้นเซลยังมีลักษณะเป็นรูปแท่งและต้องการอากาศในการเจริญซึ่งมีลักษณะเหมือนกับพวก *Acetobacter* จึงถูกจัดให้อยู่ในกลุ่มเดียวกับ *Acetobacter* ในเวลาต่อมา เชื้อ *A. xylinum* อยู่ในพวกที่สามารถสร้างกรดได้ และสามารถสร้างวุ้นเซลลูโลส เมื่อเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีกลูโคส ในปัจจุบันนิยมใช้ *A. xylinum* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ในการผลิตวุ้นเซลลูโลสเพราะสามารถสร้างวุ้นได้รวดเร็วกว่าเชื้อตัวอื่นและได้ในจำนวนมาก เลี้ยงให้เจริญได้ง่ายด้วยใช้วัตถุดิบที่หาได้ง่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ *Acetobacter* ที่สามารถผลิตวุ้นได้นี้เป็นเชื้อที่ต้องการอากาศในการเจริญจะสร้างวุ้นเมื่อเลี้ยงในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส ไม่สามารถจะรีดิวซ์ไนเตรทหรือย่อยเจลาติน ไม่สามารถย่อยแป้งเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนได้ น้ำตาลที่เชื้อสามารถนำมาใช้เป็นแหล่งคาร์บอนได้มีหลายอย่างประกอบด้วย กลูโคส กาแลคโตส ซูโครส เอธิลีนไกลคอล กลีเซอรอล มอลโตส แลคโตส และแมนิทอล เชื้อสามารถใช้อะซิเตท และ แลคเตท เป็นแหล่งคาร์บอนเพื่อการเจริญได้ด้วย

สารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต (growth factor) ของเชื้อนี้ ขึ้นอยู่กับแหล่งคาร์บอนที่ใช้เจริญ เชื้อสามารถใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนได้ดี แต่เมื่อเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อสังเคราะห์ (synthetic medium) จะต้องการ yeast extract เปปโตน หรือ nutrient broth เพื่อการเจริญ เมื่อเลี้ยงในอาหารที่มาจากธรรมชาติ เช่น น้ำมะพร้าว เป็นต้น เชื้อไม่ต้องการสารเหล่านี้ เพื่อการเจริญเติบโตเพราะในน้ำมะพร้าวมีสารที่เชื้อต้องการเพื่อการเจริญอยู่อย่างเพียงพอ

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการเจริญและการสร้างวุ้นเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* (Sanchez,1978)

การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวให้ได้ผลผลิตสูง มีคุณภาพดี คือ มีเนื้อที่นุ่ม เหนียวเนียน นุ่มพอเหมาะ ไม่เป็นเส้นใย ภายในเวลาอันรวดเร็วนั้นมีปัจจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

1. ปริมาณเชื้อ (inoculum))

ปริมาณเชื้อที่ใช้จะต้องมีปริมาณเชื้อที่มากพอเพื่อให้เชื้อสามารถเจริญได้รวดเร็วจนได้ปริมาณเกินกว่าเชื้ออื่นที่อาจติดมากับน้ำมะพร้าวหรือเชื้อที่อาจปนเปื้อนในระหว่างการหมัก ปริมาณเชื้อที่ต้องใส่สำหรับการหมักในปริมาณที่เหมาะสมในช่วงร้อยละ 10-20 จะทำให้ได้ผลผลิตที่ดีที่สุด

ในขณะที่เกิดวุ้นขึ้น เชื้อเจริญและมีปริมาณมากพอถึงระดับหนึ่งโดยที่เชื้อในระหว่างการเจริญก็จะสร้างสายเซลลูโลส(cellulose microfibril)ขึ้น เมื่อมีมากขึ้นจะสานและรวมตัวกันเห็นเป็นสายขุ่นขาวอยู่ในอาหารเหลว แล้วจะค่อย ๆ ลอยตัวขึ้นที่ผิวหน้าอาหาร เมื่ออยู่ที่ผิวหน้าของอาหารเหลวแล้วก็จะเริ่มสานตัวกันแน่นขึ้นจนเป็นแผ่นวุ้น มีการสันนิษฐานว่า การสร้างแผ่นวุ้นของเชื้อเพื่อให้เชื้อสามารถลอยตัวอยู่บนผิวหน้าอาหารเหลวและสามารถได้รับออกซิเจนมากที่สุด

2. อุณหภูมิ

เชื้อจุลินทรีย์ *A. xylinum* จะสร้างวุ้นเซลลูโลสได้ดีที่อุณหภูมิห้อง โดยอุณหภูมิทำให้เชื้อสามารถเจริญได้ดีอยู่ในระหว่าง 28-32 องศาเซลเซียส เนื่องจากการสร้างวุ้นเกี่ยวข้องกับการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์อย่างมาก เมื่อเชื้อเจริญได้ดีการสร้างวุ้นก็จะเกิดได้เร็วด้วย อุณหภูมิที่ต่ำกว่าหรือสูงกว่าอุณหภูมิห้องมาก ๆ จะทำให้เชื้อไม่เจริญ โดยเฉพาะอุณหภูมิที่ต่ำกว่า 20 องศาเซลเซียส หรือสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส การสร้างวุ้นก็จะไม่เกิดด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. แหล่งคาร์บอน

น้ำตาลเป็นแหล่งของคาร์บอนให้เชื้อเจริญเติบโต และสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลส *A. xylinum* สามารถใช้คาร์บอนจากแหล่งต่าง ๆ ได้หลายแห่ง เช่น กาแลคโตส ซูโครส แลคโตส มอลโตส และ เดกโตรส ซึ่งสามารถสร้างวุ้นจากเดกโตรสและซูโครสได้หนาและแข็ง แต่เนื่องจากว่าเดกโตรสมีราคาสูงกว่าซูโครสมากดังนั้นในการผลิตวุ้นจึงนิยมใช้ซูโครส เพราะหาง่ายและราคาไม่แพง

4. ออกซิเจน

เนื่องจากจุลินทรีย์ *A. xylinum* เป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นในการหมักเพื่อให้เชื้อจุลินทรีย์เจริญได้เร็วและสร้างแผ่นวุ้นได้ดีต้องหมักในภาชนะที่มีผิวหน้ากว้างเพื่อให้มีการซึมผ่านของออกซิเจนเข้ามาในอาหารได้ดี เนื่องจากเชื้อต้องการออกซิเจนในการเจริญนี้เอง เชื้อจุลิน ทรีย์จึงลอยตัวอยู่บนผิวหน้าของอาหารที่นิ่ง และเมื่อเชื้อมีจำนวนและความหนาของปริมาณเชื้อในระดับหนึ่งแล้ว ก็จะเริ่มสร้างวุ้นขึ้น แผ่นวุ้นเซลลูโลสที่สร้างขึ้นอาจจมลงได้เมื่อมีการกระทบกระเทือน ซึ่งเมื่อวุ้นแผ่นเดิมจมลงเชื้อก็จะสร้างชิ้นวุ้นมาที่ผิวหน้าใหม่ วุ้นที่ได้ก็จะไม่เป็นวุ้นที่หนาตามต้องการ ในระหว่างการหมักจึงควรวางภาชนะที่ใช้หมักนิ่ง ๆ ไม่ให้ถูกกระทบกระเทือน และนอกจากนั้นวัสดุที่ใช้ในการปิดปากภาชนะเพื่อป้องกันการปนเปื้อนในระหว่างการหมักควรเป็นวัสดุที่ระบายอากาศได้ดี

5. แหล่งไนโตรเจน

การเติมสารประกอบไนโตรเจนในการหมักวุ้นเซลลูโลส จะช่วยเร่งให้การผลิตแผ่นวุ้นได้หนาในเวลาสั้น สารประกอบไนโตรเจนที่ให้วุ้นดีที่สุดคือ $(NH_4)_2SO_4$ ส่วนไนเตรทในรูปของโซเดียมไนเตรทและโปตัสเซียมไนเตรท เชื้อจะไม่สามารถนำมาใช้ได้ (สุเมธ, 2537)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุปกรณ์ และวิธีการ

1. ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* (วราวุฒิ,2531)

ประกอบด้วยการเตรียมอาหารน้ำมะพร้าวใส่หลอดทดสอบ 5 มิลลิลิตร และใส่ฟลาก์สชมพู่ 100 มิลลิลิตร ภายหลังการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วทิ้งให้เย็น จึงถ่ายเชื้อ *A.xylinum* นำไปเข้าเครื่องเขย่าเป็นเวลา 3 วัน จึงถ่ายใส่อาหารน้ำมะพร้าวในฟลาสก์ชมพู่ แล้วนำเข้าเครื่องเขย่าอีก 3 วัน แล้วจึงนำมาตีปั่นผสมกับน้ำมะพร้าว 1 ลิตร เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักต่อไป

2. ขั้นตอนในการหมัก (วราวุฒิ, 2531)

ก. ความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เหมาะสม

นำกากน้ำตาลมาละลายในน้ำกากส่า ให้มีความเข้มข้นตั้งแต่ ร้อยละ 5 6 7 8 9 10 11 12 13 14 และ 15 เติมแอมโมเนียมซัลเฟตปริมาณร้อยละ 0.5 แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็น เติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5.0 ใส่ลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาตรน้ำหมัก 35 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อร้อยละ 10 แล้วปิดด้วยผ้าขาวบาง นำไปหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดความหนาและน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นเซลลูโลส

ข. ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม

เตรียมน้ำกากส่า ที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมา จากนั้นเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในความเข้มข้นร้อยละ 0 0.1 0.2 0.3 0.4 0.5 0.6 0.7 0.8 0.9 1.0 1.1 และ 1.2 นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5.0 ใส่ลงในขวดหมัก โดยใช้น้ำหมักปริมาตร 35 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อร้อยละ 10 ปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดความหนาและน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นเซลลูโลส

ค. ปริมาณกรดอะซิติกที่เหมาะสม

เตรียมกากน้ำตาลโดยใช้ความเข้มข้นของกากน้ำตาลในน้ำกากส่า และ แอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมา แล้วฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจึงเติมกรดอะซิติกที่ความเข้มข้นร้อยละ 5 ในปริมาณร้อยละ 0 0.5 1.0 1.5 2.0 2.5 3.0 3.5 4.0 4.5 และ 5.0 ใส่ลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาตร 35 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อร้อยละ 10 ปิดด้วยผ้าขาวบางและหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดความหนาและน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นเซลลูโลส

ง. ปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* ที่เหมาะสม

เตรียมน้ำกากส่าที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาล แอมโมเนียมซัลเฟต และ กรดอะซิติกที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมาใส่ลงในขวดหมัก โดยใช้ปริมาตร 35 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อในปริมาณต่าง ๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตั้งแต่ร้อยละ 10 11 12 13 14 15 16 17 18 19 และ 20 ปิดด้วยผ้าขาวบาง นำไปหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดความหนาและน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นเซลลูโลส

จ. อุณหภูมิในการหมักที่เหมาะสม

เตรียมอาหารน้ำกากส่าที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาล และแอมโมเนียมซัลเฟต และกรดอะซิติกที่เหมาะสม จากการทดลองที่ผ่านมาใส่ลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาตร 35 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อในปริมาณที่เหมาะสม ปิดด้วยผ้าขาวบาง ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 32 30 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน ทำการวัดความหนาและ น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นเซลลูโลส

ฉ. ระยะเวลาการหมักที่เหมาะสม

เตรียมอาหารน้ำกากส่าที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาล กรดอะซิติก แอมโมเนียมซัลเฟต ที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมา ใส่ลงในขวดหมักโดยใช้ปริมาตร 35 มิลลิลิตร และถ่ายเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมที่ได้ ปิดด้วยผ้าขาวบาง ก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 3 7 10 และ 14 วัน เมื่อครบตามกำหนดเวลาจึงทำการวัดความหนา และ น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นเซลลูโลส แล้วนำไปวิเคราะห์หาปริมาณเซลลูโลส เถ้า และความชื้นในแผ่นวุ้นต่อไป

ช. การศึกษาความเป็นไปได้ในการขยายขนาดการผลิต

เตรียมอาหารน้ำกากส่าที่มีความเข้มข้นของกากน้ำตาล กรดอะซิติก แอมโมเนียมซัลเฟต ที่เหมาะสมจากการทดลองที่ผ่านมา ใส่ลงในถาดหมักที่ทำจากโลหะสแตนเลสขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 15 x 40 x 12 เซนติเมตร ปริมาตรน้ำหมัก 1000 มิลลิลิตร ถ่ายหัวเชื้อในปริมาณที่เหมาะสมที่ได้จากผลการทดลองที่ผ่านมา ปิดทับด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิที่เหมาะสม เป็นเวลา 14 วัน เมื่อครบตามกำหนดเวลาจึงทำการวัดความหนาและน้ำหนักของแผ่นวุ้นเซลลูโลส

ซ. การวิเคราะห์ค่าความต้องการออกซิเจนของแบคทีเรียในการย่อยสลายสารอินทรีย์ (BOD)

นำน้ำกากส่า และน้ำกากส่าที่ผ่านการหมักที่เวลา 0 7 10 และ 14 วัน มาวิเคราะห์ค่า BOD โดยวิธีการที่แสดงอยู่ในภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ในการทดลองที่เกี่ยวข้องกับปัจจัยในการผลิตวุ้นเซลลูโลสในน้ำกากส่า ใช้ลักษณะของผลผลิตที่ต้องการโดยตรงคือ ความหนาและน้ำหนักของชิ้นวุ้นเป็นเกณฑ์ในการตัดสิน ส่วนอุณหภูมิที่เลือกใช้ในการบ่มเพื่อผลิตวุ้นเซลลูโลสที่ 32 องศาเซลเซียส เนื่องจากเป็นอุณหภูมิอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor xylinum* ตามรายงานของ Dimaguila (1967) และ Lapuz และคณะ (1967)

ผลของความเข้มข้นของกากน้ำตาล

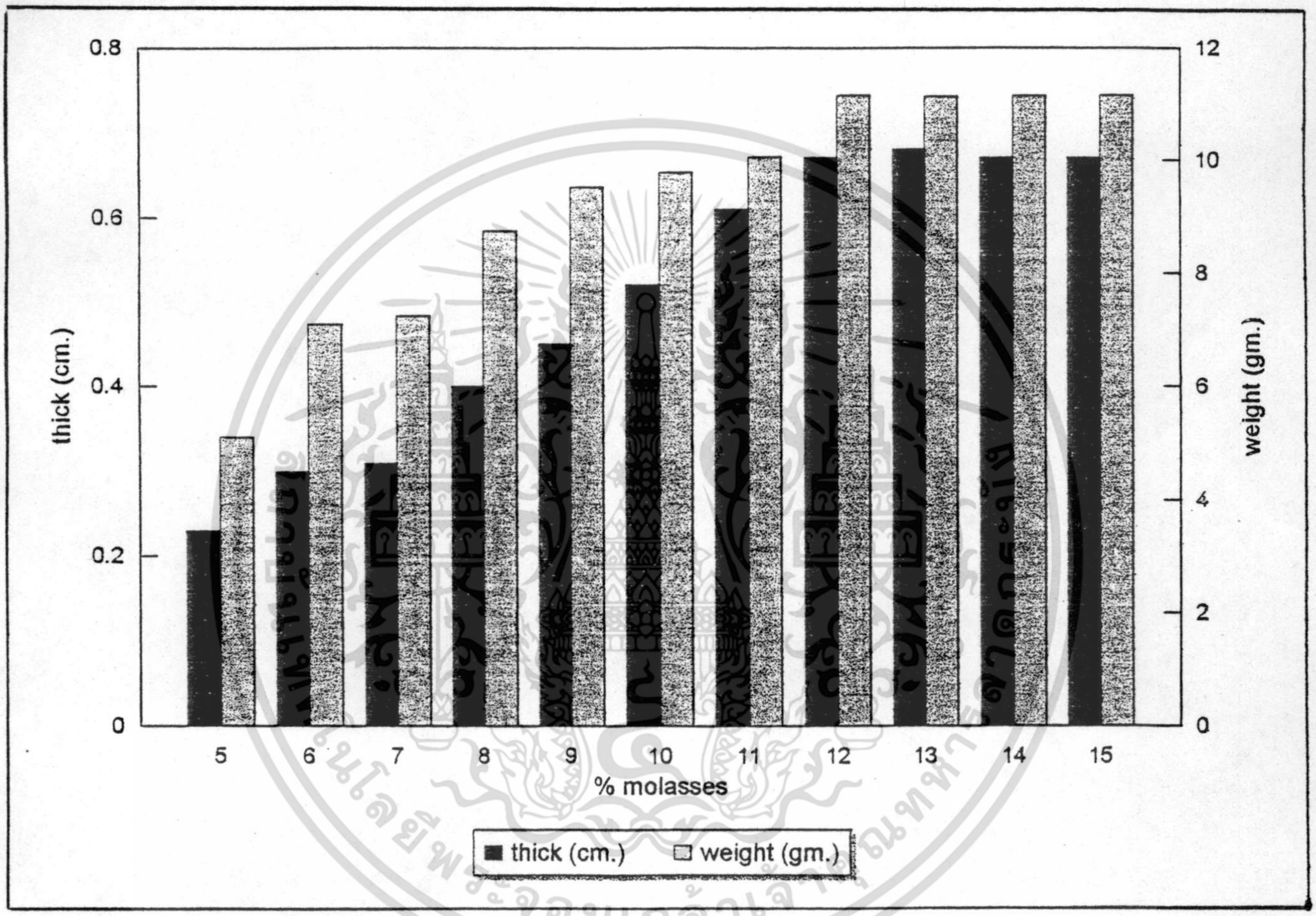
จากการทดลองเบื้องต้นของการนำน้ำกากส่าที่ได้จากโรงงานสุราอยุธยา มาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเพื่อผลิตวุ้นเซลลูโลสจาก *A. xylinum* พบว่า ถ้านำน้ำกากส่ามาหมักโดยตรงโดยไม่มีการเติมน้ำตาลเพิ่มเติมลงไป จะมีผลต่อการเจริญของวุ้นเซลลูโลสน้อยมาก อาจเนื่องจากมีปริมาณของน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนไม่เพียงพอหรือเหมาะสมต่อการสร้างวุ้นเซลลูโลสจาก *A. xylinum* ดังนั้นจึงจำเป็นต้องศึกษาถึงความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนเนื่องจากในกากน้ำตาลมีองค์ประกอบหลักคือ น้ำตาลซูโครส (ประแก่น,2524) ซึ่งเป็นน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xylinum* (Sanchez,1987)

จากผลการศึกษาพบว่า ความเข้มข้นของกากน้ำตาลร้อยละ 12 เป็นความเข้มข้นของกากน้ำตาลที่เหมาะสม ที่เชื้อ *A. xylinum* สามารถสร้างชิ้นวุ้นได้หนา (0.6 เซนติเมตร)และ มีน้ำหนัก (11.15 กรัม) สูงสุด อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ภายหลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ดังแสดงในภาพที่ 3 ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลสูงขึ้นกว่าร้อยละ 12 เชื้อ *A. xylinum* ที่ใช้ในการทดลองจะสร้างแผ่นวุ้นโดยให้ความหนาและน้ำหนักค่อนข้างคงที่หรือเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อย ทั้งนี้เนื่องจากความจำกัดในการใช้น้ำตาลของเชื้อ *A. xylinum* ได้เท่านั้น

ผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต

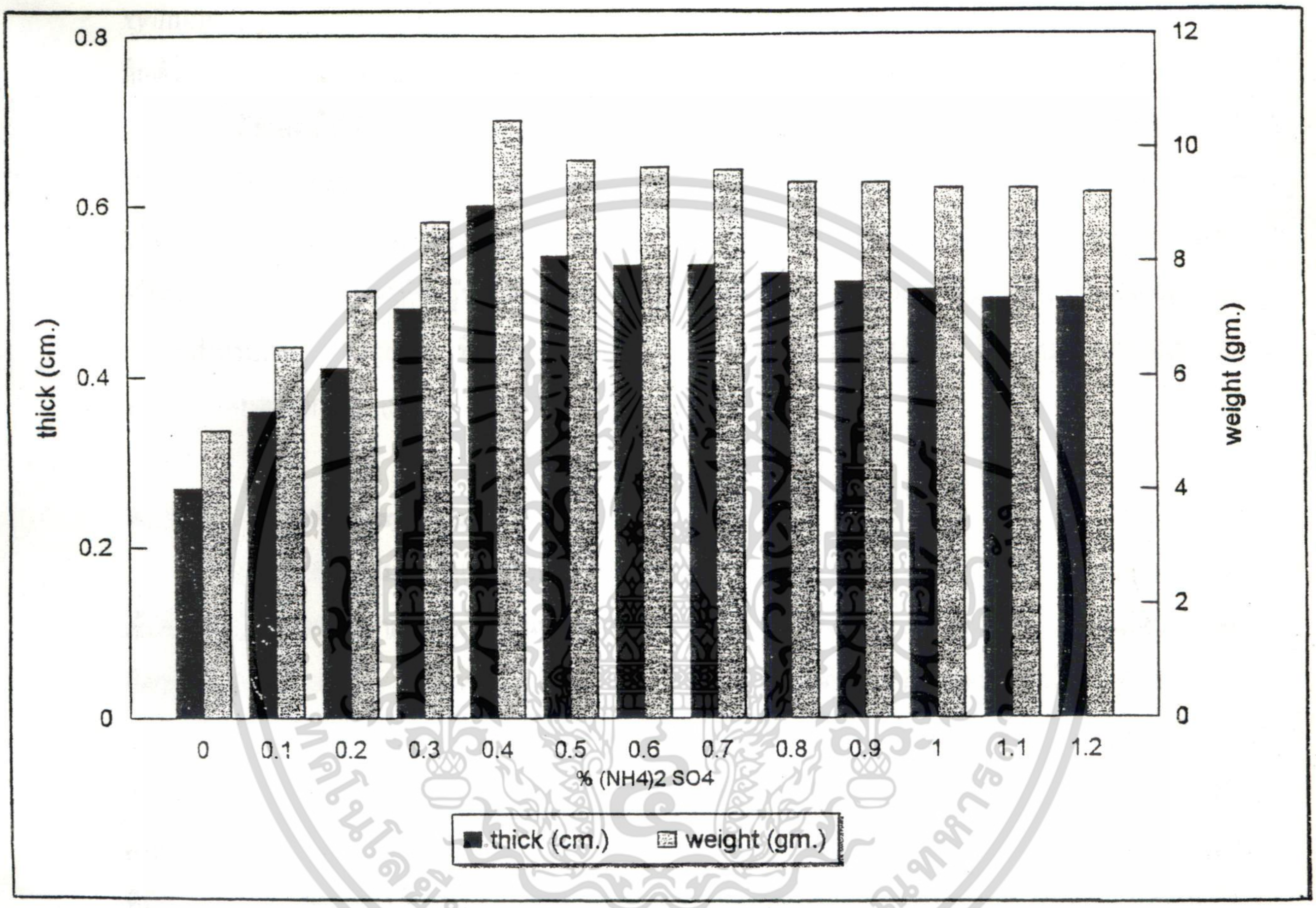
ในการเพิ่มอัตราการสร้างวุ้นเซลลูโลสในน้ำกากส่าที่เติมกากน้ำตาลร้อยละ12 จำเป็นต้องมีแหล่งไนโตรเจนเพื่อให้เชื้อเจริญได้ดี โดยแหล่งไนโตรเจนที่ใช้ คือ แอมโมเนียมซัลเฟต จากการศึกษาผลของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ต้องการในการสร้างวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ดังแสดงในภาพที่ 4 พบว่าที่ความเข้มข้นของแอมโมเนียมเท่ากับร้อยละ 0.4 เป็นสภาวะที่เชื้อสามารถสร้างแผ่นวุ้นได้สูงสุด (หนา 0.60 เซนติเมตร) ภายหลังจากบ่มไว้ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน ซึ่งเมื่อความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตสูงขึ้นกว่าร้อยละ 0.4 วุ้นที่ได้จากเชื้อ *A. xylinum* มีความหนาลดลงทั้งนี้เนื่องจากปริมาณไนโตรเจนที่มากเกินไปจะไปลดประสิทธิภาพการเปลี่ยนคาร์โบไฮเดรตเป็นโพลีแซคคาไรด์ (Whistler and Bemiller , 1973)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



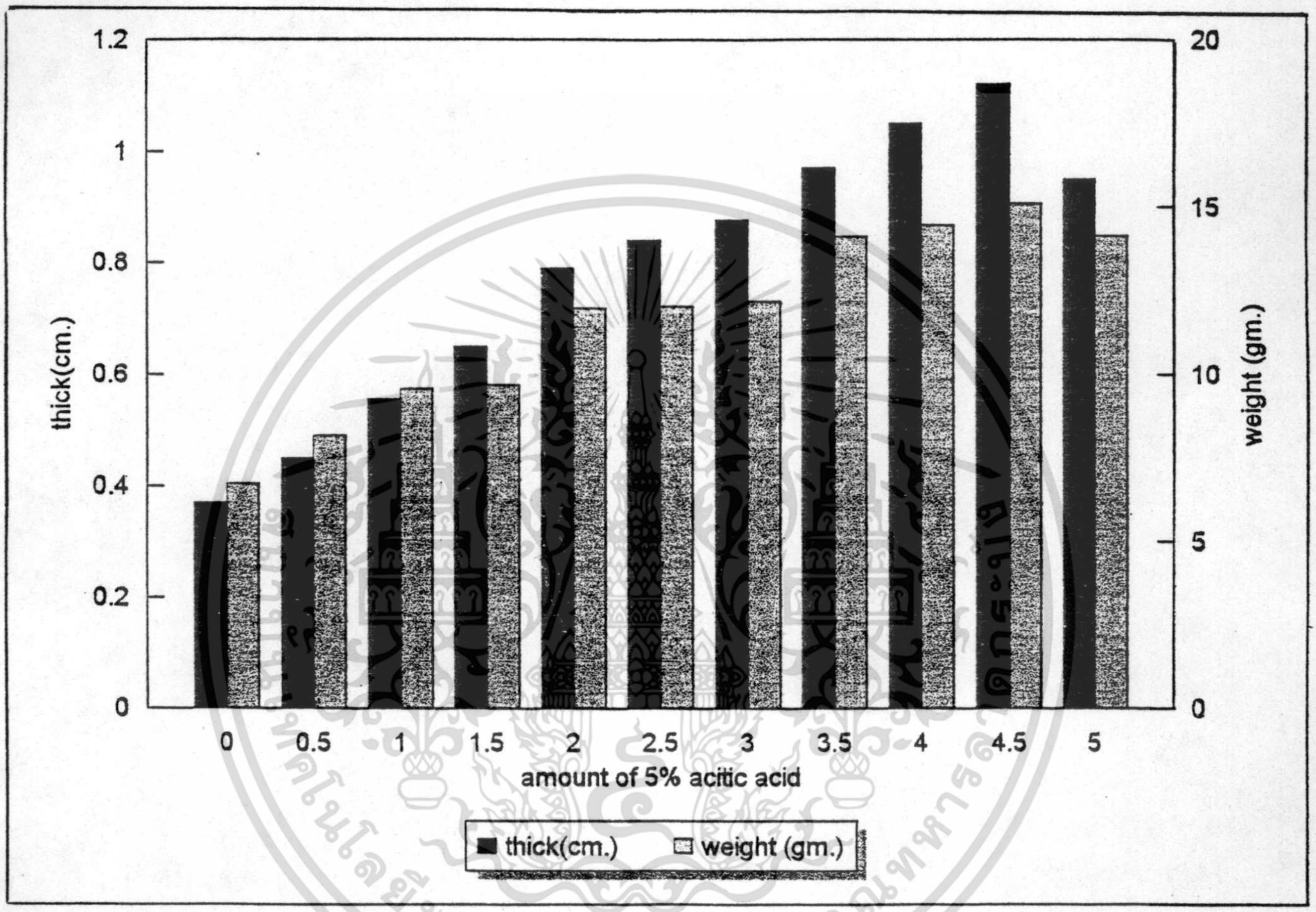
ภาพที่3 ผลของความเข้มข้นของกากน้ำตาลในอาหารน้ำกากส่าต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลส จากเชื้อ *A. xylinum* ที่บ่มเป็นเวลา 7 วันที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่4 ผลของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลส จากเชื้อ *A.xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

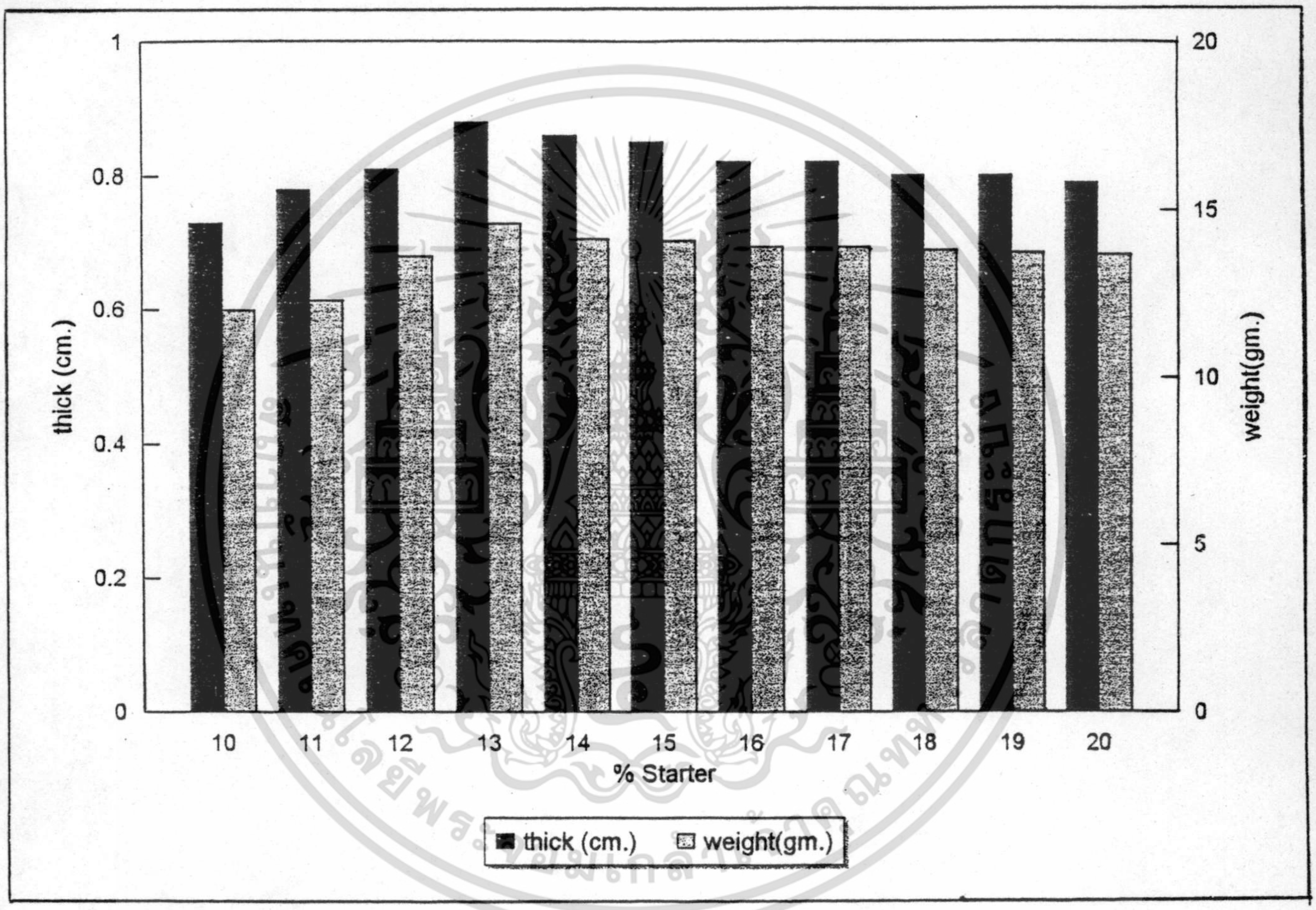
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่5 ผลของปริมาณกรดอะซิติกเข้มข้นร้อยละ 5 ต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลส จากเชื้อ *A.xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



ภาพที่ 6 ผลของปริมาณหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* ต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลสที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า เป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

24731

ผลของอุณหภูมิ

เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* อยู่ในช่วง 28-32 องศาเซลเซียส (Dimaguila, 1967; Lapaz และคณะ,1967) ดังนั้นจึงเลือกเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการบ่มเพียง 3 ระดับอุณหภูมิ คืออุณหภูมิห้อง (27 องศาเซลเซียส) 30 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส จากผลการทดลองที่แสดงในภาพที่ 7 ปรากฏว่าสภาวะการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นสภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างชิ้นวุ้นเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* นี้

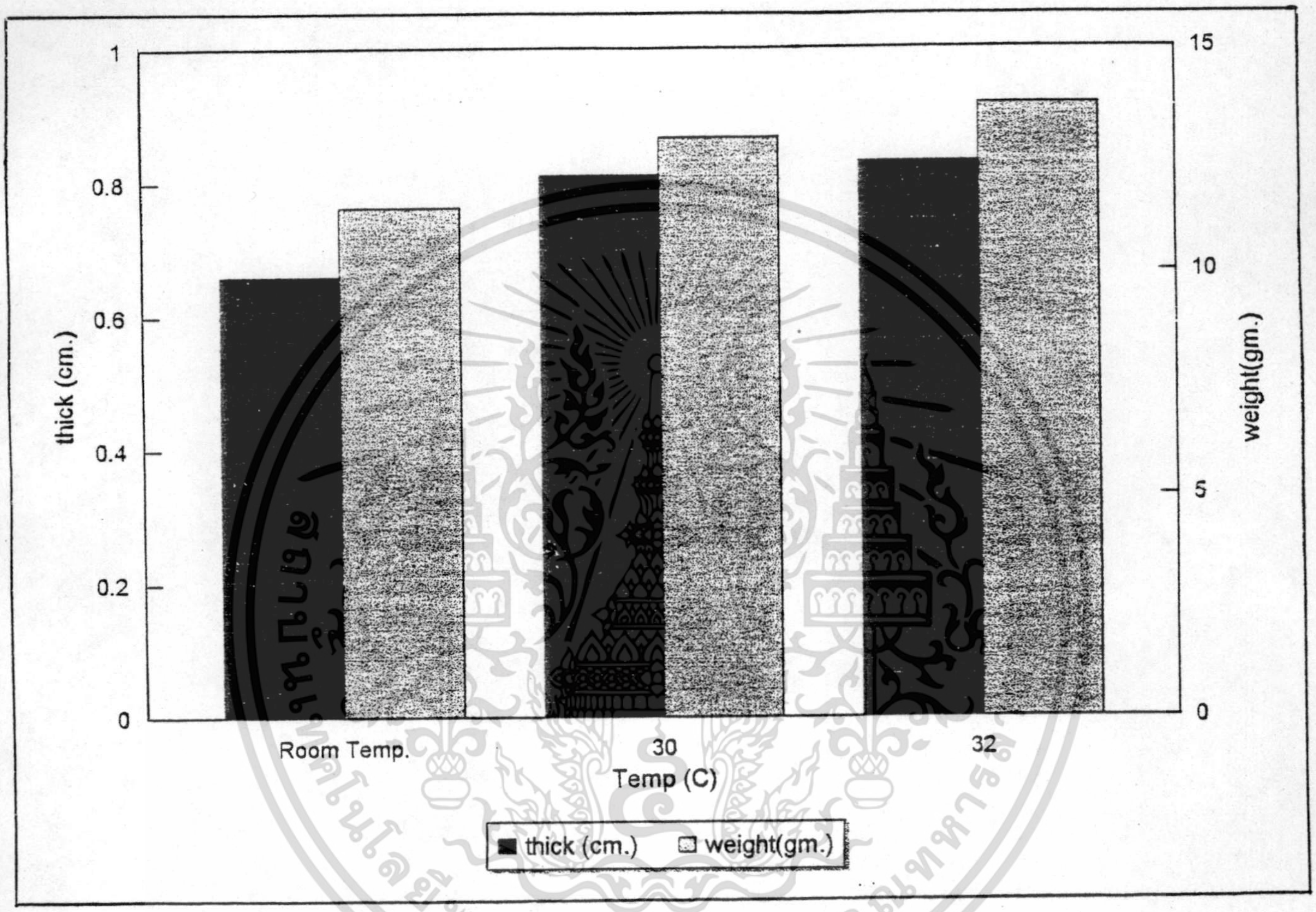
ผลของระยะเวลาในการหมัก

ในการศึกษาผลของระยะเวลาในการหมักที่มีต่อการสร้างวุ้น โดยใช้อาหารน้ำกากส่าที่เติมกากน้ำตาลร้อยละ 12 กรดอะซิติกร้อยละ 4.5 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.4 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 13 บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ผลปรากฏว่าเมื่อหมักเป็นระยะเวลา 14 วัน เชื้อสามารถสร้างแผ่นวุ้นเซลลูโลสได้สูงสุดมีความหนา 1.54 เซนติเมตร น้ำหนัก 22.09 กรัม ดังแสดงในภาพที่ 8 และ 9 แต่ถ้าพิจารณาถึงอัตราส่วนการสร้างชิ้นวุ้น โดยคิดคำนวณจากน้ำหนักของชิ้นวุ้นต่อเวลา กลับพบว่าอัตราส่วนการสร้างชิ้นวุ้นลดลงเรื่อย ๆ ภายหลังจากการหมักผ่าน 10 วันไปแล้ว ดังนั้นจึงสรุปได้ว่า ควรจะเลือกใช้ระยะเวลาการหมักที่ 10 วัน จึงจะเหมาะสมที่สุด

ผลการวิเคราะห์ทางเคมีของวุ้นเซลลูโลส

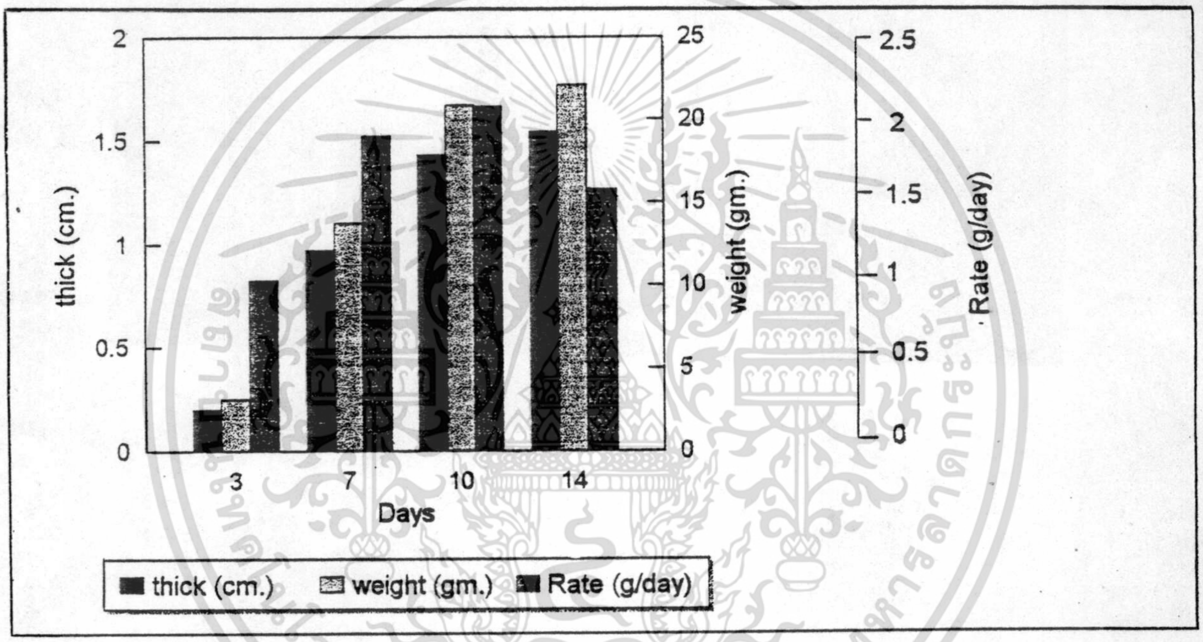
จากการนำวุ้นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักในสภาวะที่เหมาะสมที่เวลา 7 10 และ 14 วัน มาทำการวิเคราะห์หาปริมาณ ความชื้น เถ้า เซลลูโลส ดังแสดงในภาพที่ 10 พบว่าในชิ้นวุ้นมีปริมาณความชื้นอยู่ร้อยละ 91.92-92.15 ปริมาณเถ้าร้อยละ 0.98-0.99 และปริมาณเซลลูโลสร้อยละ 6.15-6.34 เมื่อพิจารณาถึงปริมาณเซลลูโลสพบว่า ในวุ้นเซลลูโลสจะให้ปริมาณเซลลูโลสสูงกว่าผลไม้แห้งที่มีรายงานว่า มีปริมาณเซลลูโลสอยู่ร้อยละ 5 (เสาวณีย์ ,2525) อย่างไรก็ตามปริมาณเซลลูโลสที่พบนี้จะขึ้นกับปริมาณความชื้นในผลิตภัณฑ์เป็นสำคัญ กล่าวคือ ยิ่งผลิตภัณฑ์มีความชื้นต่ำ จะยิ่งมีค่าปริมาณของเซลลูโลสในผลิตภัณฑ์สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 ผลของอุณหภูมิในการหมักที่เหมาะสมต่อความหนาและน้ำหนัก ของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

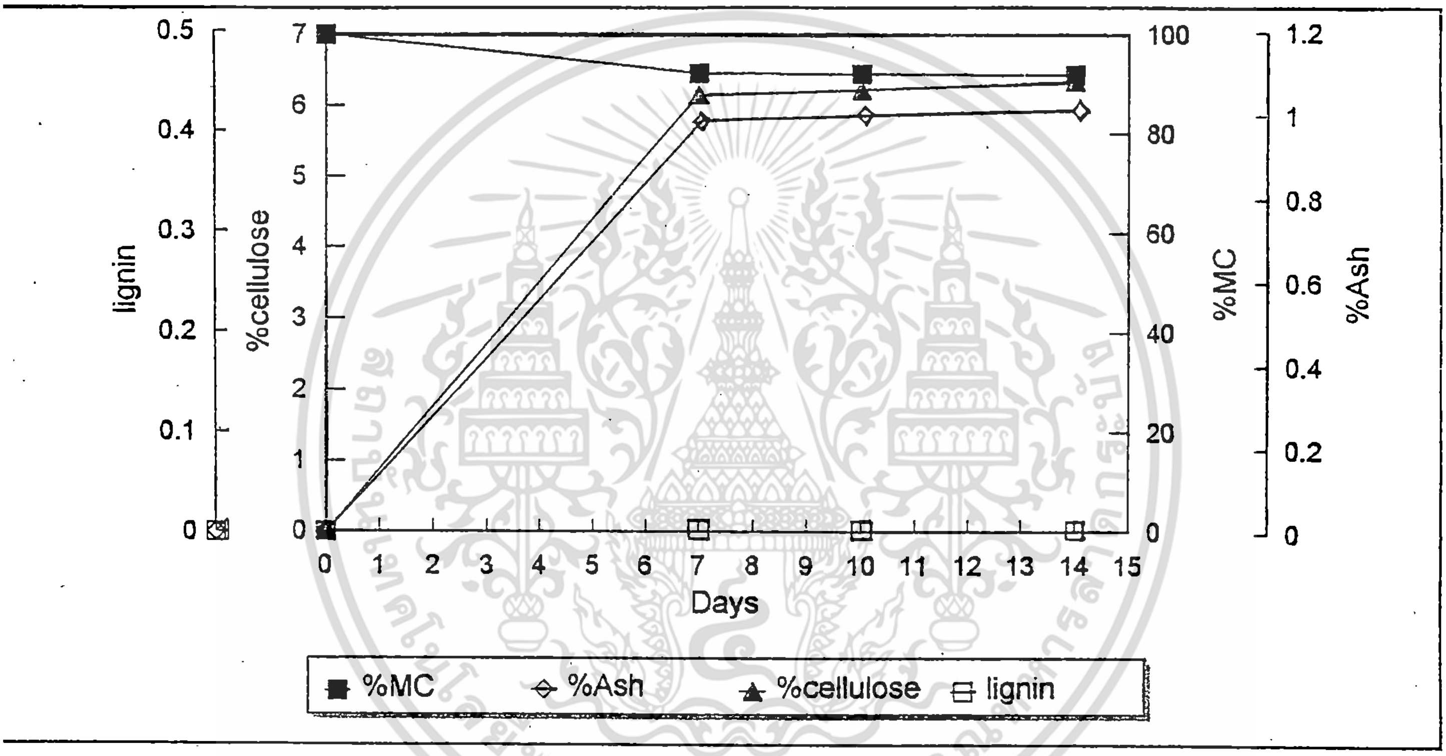


ภาพที่ 8 ผลของระยะเวลาที่ใช้ในการหมักที่เหมาะสมต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นเซลลูโลส จากเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 9 ลักษณะของวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในน้ำกากส่าในช่วงเวลา 3 ถึง 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

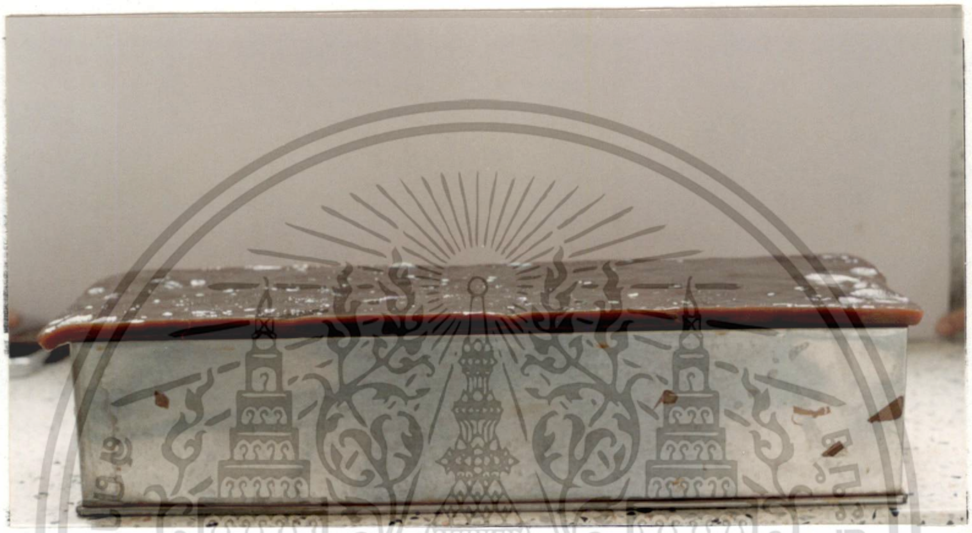


ภาพที่10 ปริมาณเซลลูโลส เถ้า และความชื้นของชิ้นวุ้นเซลลูโลส ที่ได้จากการหมักอาหารน้ำกากส่าด้วยเชื้อ *A. xylinum* ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การศึกษาเบื้องต้นในการขยายขนาดการผลิต

การศึกษาความเป็นไปได้ในการขยายขนาดการผลิต โดยใช้ถาดทำด้วยโลหะสแตนเลสขนาด (กว้าง x ยาว x สูง) 15 x 40 x 12 เซนติเมตร โดยใช้ปริมาตรอาหารน้ำกากส่า เท่ากับ 1ลิตร โดยใช้สภาพการหมักที่เหมาะสมตามผลการศึกษาข้างต้น ผลผลิตของวุ้นเซลลูโลสที่ได้ภายหลังจากการหมักที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน แสดงอยู่ในภาพที่ 11

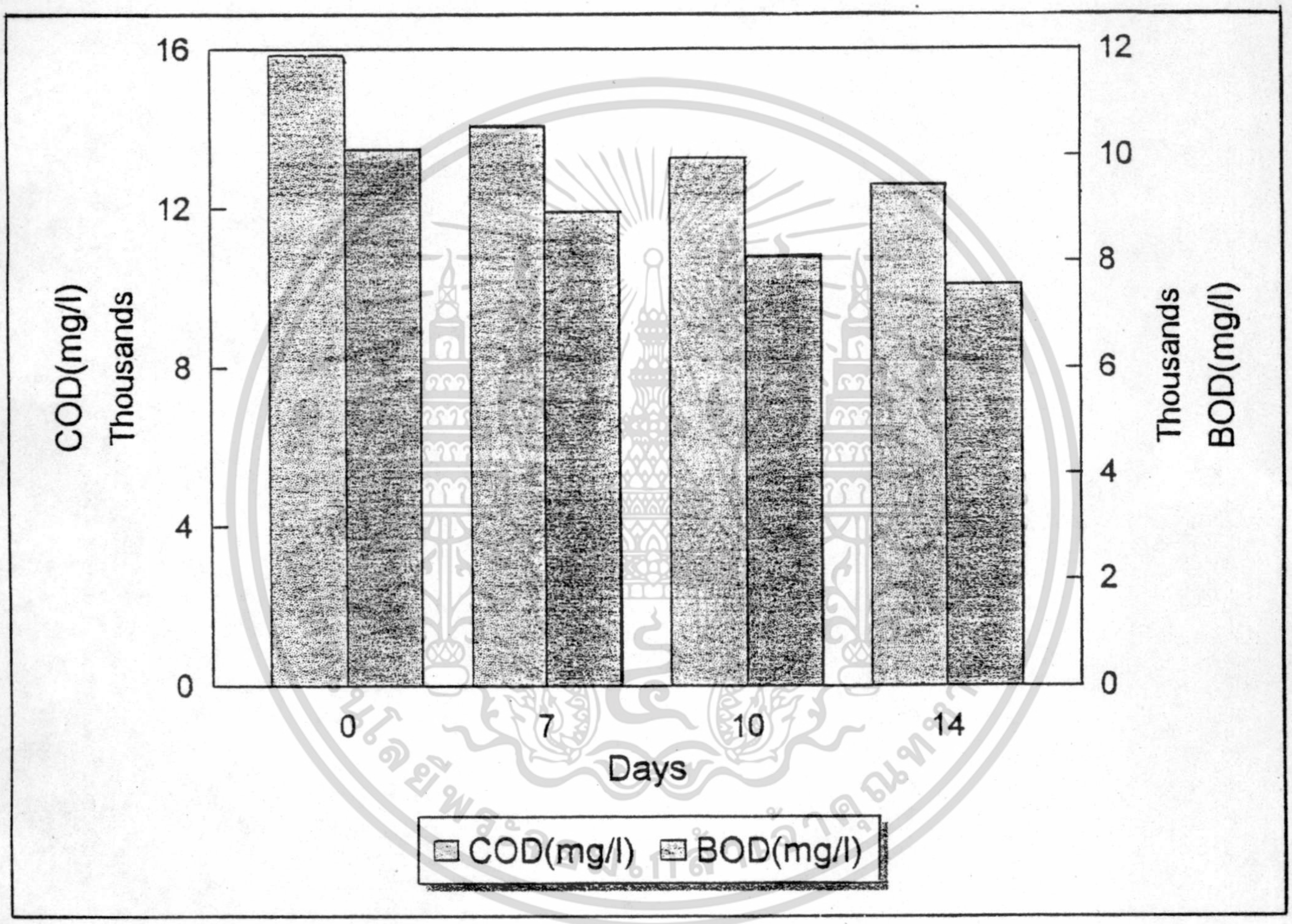


ภาพที่ 11 ลักษณะของวุ้นเซลลูโลสของเชื้อ *A. xylinum* ที่เลี้ยงในอาหารน้ำกากส่า ในถาดสแตนเลสขนาด 15 x 40 x 12 เซนติเมตร เป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

ผลการวิเคราะห์หาค่า COD และ BOD ของน้ำหมัก

เมื่อนำน้ำหมักที่ได้จากการหมักชิ้นวุ้นเซลลูโลสในอาหารน้ำกากส่า ที่ระยะเวลา 7 10 และ 14 วัน มาวิเคราะห์หาค่า COD และ BOD พบว่า ค่า COD และ BOD จะมีค่าลดลงดังแสดงในภาพที่ 12 เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ทั้งนี้อัตราในการลดค่า COD และ BOD อยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 ภายหลังจากการหมักวุ้นเซลลูโลสเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 การเปลี่ยนแปลงค่า COD และ ค่า BOD ของน้ำหมัก ที่ได้จากการหมักวุ้นเซลลูโลส ในอาหารน้ำกากส่าด้วยเชื้อ *A. xylinum* ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการผลิตวุ้นเซลลูโลสจากเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* ในอาหารน้ำกากส่า พบว่า สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นเซลลูโลสจากน้ำกากส่า ประกอบด้วย ความเข้มข้นของกากน้ำตาลร้อยละ 12.0 กรดอะซิติกร้อยละ 4.5 ปริมาณหัวเชื้อร้อยละ 13.0 แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.4 ทำการหมักในขวดบรรจุน้ำหมัก 35 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 14 วัน จะทำให้วุ้นเซลลูโลสที่มีความหนาและน้ำหนักสูงสุด และเมื่อนำชิ้นวุ้นมาวิเคราะห์ทางเคมีหาปริมาณเซลลูโลส เถ้า ความชื้น พบว่า มีค่าเท่ากับร้อยละ 6.15-6.34 0.98-0.99 92.15-91.92 ตามลำดับ ในขณะที่ไม่พบว่ามีการสร้างลิกนินในวุ้นที่สร้างขึ้นจากเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* เมื่อนำน้ำหมักก่อนและหลังการหมัก 7-14 วัน มาวิเคราะห์หาค่า BOD พบว่าค่า BOD ของน้ำหมักลดลงจากเดิม ประมาณร้อยละ 10-20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

ประแก่น ศุภจรรยารักษ์. 2524. กากน้ำตาล. รายงานเศรษฐกิจธนาคารกรุงไทยจำกัด. 14(2): 8-79.

พินิจ กุสุมา. 2527. ปัญหาน้ำเสียกับการผลิตแอลกอฮอล์. เอกสารประกอบการสัมมนาการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการหมักแอลกอฮอล์. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

วราวุฒิ ครูส่ง. 2531. การพัฒนาผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ในน้ำลิ้นจี่. อุตสาหกรรมเกษตร. 4(2) : 5-9

วราวุฒิ ครูส่ง สุเมธ ตันตระเธียร และ ประเวทย์ ตุ้ยเต็มวงศ์. 2538. การศึกษาและวิเคราะห์สถานภาพและการใช้ประโยชน์จากของเสียจากอุตสาหกรรมผลิตแอลกอฮอล์และเครื่องดื่มที่มีแลกอฮอล์. รายงานนำเสนอศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ.กรุงเทพ.

วรรณดี สุขประดิษฐ์อาภรณ์ และ ประกิตสิน สีหนนท์. 2533. การผลิตปุ๋ยหมักจากฟางข้าวและน้ำกากส่าโดย *Aspergillus* sp.รวมบทคัดย่อวิทยานิพนธ์2531 บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. โรงพิมพ์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

วิลาสินี เหล่าพงษ์พิชญ์ และ ยุวดี พีรพรพิศาล. 2532. การเพาะเลี้ยงสาหร่าย *Spirulina platensis* ในน้ำกากส่าเหล้า. การประชุมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ครั้งที่ 15. สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย. กรุงเทพฯ

สมคิด ธรรมรัตน์ ปราโมทย์ ธรรมรัตน์ ชูศักดิ์ ผุสสะวัณโณ และ จรูญ คำนวนตา. 2528. การใช้ประโยชน์จากน้ำกากส่า ในการหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาล. วารสารวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ 4: 35-42.

สุเมธ ตันตระเธียร. 2537. เอกสารประกอบการอบรมเรื่อง " การผลิตวุ้นสวรรค์ " ณ สมาคมส่งเสริมเทคโนโลยี(ไทย-ญี่ปุ่น), วันที่ 4 เมษายน 2537. (เอกสารโรเนียว)

สุวัฒน์ สุขจิตสำราญ. 2527. ประสบการณ์การผลิตสุราและแอลกอฮอล์ในโรงงาน. เอกสารประกอบการสัมมนาการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการหมักแอลกอฮอล์. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ.

สกุณณี กุณฑิยะ และ จรูญ คำนวนตา. 2526. การเลี้ยงจุลินทรีย์ในน้ำกากส่า. การประชุมทางวิชาการครั้งที่ 21.มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพ.

AOAC.1984. Official Methods of Analysis. The Association of Official Analytical Chemists. 14th ed. Verginia. 1141 p.

Dimuguila, L.A.S.1967. The 'Nata de Coco ' I. Characterization and Properties of the Causal Organism. Phillippine Agriculturist. 51(6) : 462-474.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Lapuz, M.M., E.C.Gallardo and M.A.Palo. 1967. The Nata Organism, Cultural Requirements, Characteristics and Identity. Phillippine Journal Science . 96:91-109

Paturau , J.M. 1969. By-products of Cane Sugar Industry. Elsevier Publishing Com., Amsterdam.150pp.

Sanchez,P.C.1978. Nata de Coco Production. Department of Food Science and Technology. UPLB College. Laguna. Philippine. 21p.

TAPPI. 1961. Alpha-, Beta- and Gamma-cellulose in Pulp. The Technical Association for The Pulp and Paper Industry Standard. T20308s-61, 3p.

TAPPI. 1985. Ash in Wood and Pulp. The Technical Association for The Pulp and Paper Industry Standard. T2110m-85, 2p.

Underkofler,L.A. and R.J. Hickley. 1954. Alcoholic Fermentation of Molasses. In. Industrial Fermentation. Chemical Publishing Com., New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การวิเคราะห์ทางเคมีของเซลลูโลสจาก *Acetobacter xylinum*

ก. การวิเคราะห์ปริมาณความชื้น (เปอร์เซนต์) (AOAC ,1984)

นำตัวอย่างวุ้นเซลลูโลสมาทำให้สะเด็ดน้ำ ชั่งตัวอย่าชิ้นวุ้นเซลลูโลส (W1) หลังจากอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดเวลานำตัวอย่างชิ้นวุ้นเซลลูโลสมาชั่งน้ำหนักอีกครั้ง (W2)

$$\% \text{ Moisture Content} = \left(\frac{W1 - W2}{W1}\right) \times 100$$

ข. การวิเคราะห์หาปริมาณแอลฟา-เซลลูโลส(ร้อยละ) (TAPPI ,1961)

นำตัวอย่างวุ้นเซลลูโลสมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 อ งศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่วโมง จำนวน 1.5 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 7.5 มิลลิลิตร คนนาน 1 นาที แล้วเติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 อีก 5 มิลลิลิตร คนนาน 15 วินาทีและตั้งทิ้งไว้ 3 นาที เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 5 มิลลิลิตร คนนาน 10 นาที โดยในระหว่างการคนให้เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 17.5 จำนวน 5 มิลลิลิตร ทุก ๆ 2.5 นาที และปิดด้วยกระจกนาฬิกานาน 30 นาที แล้วจึงนำมากรอง และ ล้างบีกเกอร์ด้วยโซเดียมไฮดรอกไซด์เข้มข้นร้อยละ 8.3 จำนวน 12.5 มิลลิลิตร แล้วล้างด้วยน้ำกลั่นจำนวน 4 มิลลิลิตร และแช่เซลลูโลสในกรดอะซิติก 2 นอร์มัล นาน 5 นาที กรอง และล้างด้วยน้ำกลั่นแล้วนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่

$$\text{เปอร์เซนต์น้ำหนักอบแห้ง} = \% \text{ Cellulose} + \% \text{ Lignin} + \% \text{ Ash}$$

$$= \frac{\text{น้ำหนักวุ้นเซลลูโลสหลังอบ}}{\text{น้ำหนักวุ้นเซลลูโลสเริ่มต้น}} \times 100$$

$$\text{เปอร์เซนต์แอลฟา-เซลลูโลส} = \text{เปอร์เซนต์น้ำหนักอบแห้ง} - \% \text{ Lignin} - \% \text{ Ash}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค. การวิเคราะห์หาปริมาณเถ้า (เปอร์เซนต์) (TAPPI, 1985)

นำตัวอย่างชิ้นวุ้นเซลลูโลสมาอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 6 ชั่งโมง จำนวน 1 กรัม ใส่ลงในครูซิเบิลที่เผาที่อุณหภูมิ 575 ± 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปให้ความร้อนจนหมดควัน ต่อจากนั้นจึงนำไปเผาในเตาเผา (muffle) ที่อุณหภูมิ 575 ± 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วปล่อยให้เย็นลงก่อนที่จะนำไปชั่งน้ำหนัก

$$\% \text{ Ash} = \frac{\text{น้ำหนักชิ้นวุ้นเซลลูโลสหลังเผา}}{\text{น้ำหนักวุ้นเริ่มต้น}} \times 100$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การวิเคราะห์หาค่า COD และ BOD ของน้ำหมัก

การวิเคราะห์หาค่า COD (มิลลิกรัม/ลิตร)

ชั่งเมอร์คิวรีซัลเฟต 0.4 กรัม และใส่ลูกแก้ว 5-10 เม็ดลงในขวดก้นกลม นำน้ำหมักที่ได้หลังจากผ่านการบ่มภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ 0 7 10 14 วัน มาหาค่า COD โดยการนำน้ำหมัก 0.1 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่างที่เจือจาง 20 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดก้นกลมหลังจากนั้นเติมสารละลายโปตัสเซียมไดโครเมต 0.25 นอร์มัล จำนวน 10 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายกรดซัลฟูริก 30 มิลลิลิตร เขย่าสารผสมให้เข้ากันดี นำไปกลั่นเป็นเวลานานประมาณ 2 ชั่วโมง ปล่อยให้เย็นแล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ส่วนผสมมีปริมาตรเป็น 140 มิลลิลิตร ทำการไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐานเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้เฟอร์โรอินเป็นอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากสีน้ำเงินแกมเขียวเป็นสีน้ำตาลแดง

$$\text{mg/l COD} = \frac{(a - b) \times N \times 8000}{\text{มิลลิลิตรตัวอย่าง}}$$

a = มิลลิลิตรเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับ blank

b = มิลลิลิตรเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรตกับตัวอย่างน้ำ

N = ความเข้มข้นเป็นนอร์มัลของเฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟต

การวิเคราะห์หาค่า BOD (มิลลิกรัม / ลิตร)

นำน้ำหมักที่ได้หลังจากผ่านการบ่มภายใต้สภาวะที่เหมาะสมที่ 7 และ 14 วัน มาหาค่า BOD โดยนำน้ำหมักจำนวน 0.5 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางในน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร ปิเปตตัวอย่างที่ทำการเจือจางจำนวน 3 มิลลิลิตร ลงในขวด BOD แล้วเติมน้ำสำหรับเจือจาง* ลงไปจนเต็มขวด ปิดจุก แล้วหาค่า BOD** ภายหลังจากตั้งทิ้งไว้ 15 นาที และหลังจากตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน

*น้ำกลั่น เติมสารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ แมกนีเซียมคลอไรด์ แคลเซียมคลอไรด์ และ เฟอริคคลอไรด์ อย่างละ 1 มิลลิลิตรต่อน้ำกลั่นที่ใช้ 1 ลิตร

** หาค่า DO โดยวิธี Azide Modification of the Iodometric Method โดยนำตัวอย่างน้ำหมักที่ได้จากขวด BOD มาเติมสารละลายแมงกานิสซัลเฟต 2 มิลลิลิตร แล้วเติมสารละลายอัลคาไลด์-ไอโอไดด์-อาไซด์ ตามลงไปทันที 2มิลลิลิตร ปิดจุกเขย่า แล้วทิ้งให้ตะกอนที่เกิดขึ้นนอนก้น จนได้ปริมาตรน้ำใส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 100 มิลลิลิตร ค่อยเติมสารละลายกรดซัลฟูริกลงไปทันที 2 มิลลิลิตร เขย่าให้ตะกอนละลายหมด ตวงสารละลายที่ได้ 203 มิลลิลิตร แล้วจึงนำไปไตเตรตกับสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟต ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอน จนได้สีเหลืองอ่อน จึงเติมน้ำแป้งลงไป 1-2 มิลลิลิตร ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐานโซเดียมไธโอซัลเฟตต่อจนสีน้ำเงินหายไป

$$\text{mg/l BOD} = \frac{D1 - D2}{P}$$

D1 = DO ของน้ำตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

D2 = DO ของน้ำตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน

P = decimal fraction ของน้ำเจือจางที่ใช้ (เท่ากับร้อยละ 0.02)

ในการคำนวณหาค่า DO พบว่า สารละลาย 0.25 นอร์มัล โซเดียมไธโอซัลเฟต จำนวน 1 มิลลิลิตร จะเท่ากับปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ (DO) 0.2 มิลลิกรัม ดังนั้นสารละลายโซเดียมไธโอซัลเฟตเข้มข้น 0.015 นอร์มัล (ในการทดลอง) จะเท่ากับปริมาณออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำ 0.12 มิลลิกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค
ข้อมูลการทดลอง

ตารางผนวกที่ 1 ข้อมูลการหาปริมาณความชื้น (ร้อยละ) ของชิ้นวุ้นเซลลูโลส

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักหลังอบ (กรัม)	ปริมาณความชื้น (ร้อยละ)
7	127.6580	10.0210	92.15
10	108.3479	8.6028	92.06
14	114.7064	9.2682	91.92

ตารางผนวกที่ 2 ข้อมูลการหาปริมาณเถ้า (ร้อยละ) ของชิ้นวุ้นเซลลูโลส

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักหลังอบ (กรัม)	ปริมาณเถ้า (ร้อยละ)
7	0.0054	0.4570	0.9846
10	0.0069	0.6930	0.9956
14	0.0054	0.5430	0.9944

ตารางผนวกที่ 3 ข้อมูลการหาปริมาณแอลฟา-เซลลูโลส (ร้อยละ) ของชิ้นวุ้นเซลลูโลส

ระยะเวลา (วัน)	น้ำหนักก่อนอบ (กรัม)	น้ำหนักหลังอบ (กรัม)	น้ำหนักอบแห้ง (ร้อยละ)	ปริมาณแอลฟา ร้อยละ/นน.แห้ง	-เซลลูโลส ร้อยละ/นน.เปียก
7	1.0031	0.7963	79.38	78.40	6.15
10	1.2443	0:9874	79.35	78.35	6.22
14	1.2650	1.0051	79.45	78.46	6.34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางผนวกที่ 4 ข้อมูลการหาค่า COD ของน้ำหมัก

ระยะเวลา (วัน)	a * (มิลลิลิตร)	b** (มิลลิลิตร)	COD (มิลลิกรัมต่อลิตร)
0	24.8	22.8	15,872
7	24.8	23.0	14,284
10	24.8	23.1	13,491
14	24.8	23.2	12,698

* มิลลิลิตร เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทกับ blank

** มิลลิลิตร เฟอรัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ไตเตรทกับตัวอย่างน้ำ

ตารางผนวกที่ 5 ข้อมูลการหาค่า BOD ของน้ำหมัก

ระยะเวลา (วัน)	D1 * (มิลลิกรัม/ลิตร)	D2** (มิลลิกรัม/ลิตร)	BOD (มิลลิกรัม/ลิตร)	ค่าBOD@ ที่ลดลง (ร้อยละ)
0	2.178	0.156	7,560	-
7	2.568	0.780	8,940	11.57
10	2.184	0.564	8,100	19.88
14	1.680	0.168	10,110	25.23

* DO ของน้ำตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วตั้งทิ้งไว้ 15 นาที

** DO ของน้ำตัวอย่างที่ทำการเจือจางแล้วเพาะเลี้ยงเป็นเวลา 5 วัน

@ ค่า BOD ที่ลดลงเมื่อเทียบกับที่ระยะเวลาบ่ม 0 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้