การผลิตผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง
BACTERIAL CELLULOSE POWDER PRODUCTION FOR FAT SUBSTITUTE IN CHINESE SAUSAGE PRODUCT

ภณิดา อ่อนน้อม
PANIDA OONNOM

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2566

KMITL-2023-SC-M-020-041

BACTERIAL CELLULOSE POWDER PRODUCTION FOR FAT SUBSTITUTE IN CHINESE SAUSAGE PRODUCT

PANIDA OONNOM

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF THE REQUIREMENT
FOR THE DEGREE OF MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY
DEPARTMENT OF BIOLOGY SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2023
KMITL-2023-SC-M-020-041

COPYRIGHT 2023
SCHOOL OF SCIENCE
KING MONGKUT’S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การผลิตผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง
ชื่อนักศึกษา	นางสาวภณิดา อ่อนน้อม
รหัสประจำตัว	63605048
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ)
ภาควิชา	ชีววิทยา
พ.ศ.	2566
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	รองศาสตราจารย์ ดวงใจ โอชัยกุล

บทคัดย่อ

ในงานวิจัยนี้ศึกษาการผลิตผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อนำมาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง ซึ่งเซลลูโลสจะผลิตจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 นำมาเลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อน้ำมะพร้าวแก่เป็นระยะเวลา 10 วัน เนื่องจากมีการเจริญและผลผลิตเซลลูโลสสูงสุด และนำมากำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากเส้นใยโดยนำมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร)การผลิตผงเซลลูโลสแบ่งออกเป็น 2 วิธี ได้แก่ วิธีที่ 1 ทำแผ่นเซลลูโลสเปียกให้บริสุทธิ์ก่อนทำเป็นผงแห้ง และ วิธีที่ 2 บดหยาบแผ่นเซลลูโลสเปียกก่อนทำให้บริสุทธิ์และทำเป็นผงแห้ง จากนั้นศึกษาคุณสมบัติของผงเซลลูโลสทั้ง 2 วิธี พบว่า ผงเซลลูโลสที่ผลิตจากวิธีที่ 2 มีลักษณะทางกายภาพ ความสามารถอุ้มน้ำและความสามารถอุ้มน้ำมัน เท่ากับ 9.15±0.10 และ 7.39±0.05 ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) จากผงเซลลูโลสทางการค้า และจากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ก่อนนำไปใช้เป็นส่วนผสมในการทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง พบว่า ผงเซลลูโลสวิธีที่ 2 มีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์น้อยที่สุด เท่ากับ ร้อยละ 20.66±0.02 ซึ่งมีค่าไม่เกินร้อยละ 30 ปลอดภัยต่อผู้บริโภค สามารถใช้เป็นส่วนผสมในอาหารได้ จากการนำผงเซลลูโลสวิธีที่ 2 ทดแทนไขมันในกุนเชียง โดยทำการลดไขมันในกุนเชียงบางส่วน และทดแทนด้วยผงเซลลูโลสในปริมาณต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 2.0 และ 3.0 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) จากนั้นศึกษาคุณสมบัติและคุณภาพของกุนเชียงตัวอย่าง พบว่า กุนเชียงที่ถูกทดแทนด้วยผงเซลลูโลสร้อยละ 1.0 สามารถลดปริมาณไขมันลงได้ร้อยละ 1-2 และปริมาณใยอาหารเพิ่มขึ้นร้อยละ 2 เมื่อเทียบกับชุดควบคุม ผลวิเคราะห์เนื้อสัมผัสโดยใช้วิเคราะห์โปรไฟล์เนื้อสัมผัส พบว่า เนื้อสัมผัสด้านความแข็ง (Hardness) ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับกุนเชียงชุดควบคุม และในการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสได้รับคะแนนความชอบโดยรวมสูงสุดเท่ากับ 6.80±0.34 จากนั้นนำมาเก็บรักษาถุงโพลีเอทิลีน (Polyethylene, PE) ในสภาวะสุญญากาศเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น (4°C)

เป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กุนเชียงที่เก็บที่อุณหภูมิตู้เย็นในสัปดาห์ที่ 4 มีค่า TBARS เปลี่ยนแปลงเล็กน้อย ซึ่งไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับกุนเชียงเริ่มต้นของการเก็บรักษา ขณะที่กุนเชียงเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องในสัปดาห์ที่ 4 มีค่า TBARS เพิ่มขึ้นซึ่งแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุนเชียงเริ่มต้นการเก็บรักษา ดังนั้นจากผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าผงเซลลูโลสสามารถใช้ทดแทนไขมันผลิตภัณฑ์กุนเชียงได้

คำสำคัญ : ผงเซลลูโลส, กุนเชียง, ทดแทนไขมัน, ใยอาหาร

Thesis Title	Bacterial cellulose powder production for fat substitute in Chinese sausage product
Student Name	Panida Oonnom
Student ID	63605048
Degree	Master of Science (Biotechnology)
Department	Biology
Year	2023
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul

Abstract

This study aimed to investigate the production of cellulose powder from bacteria for use as a fat replacement in Chinese sausage products. Cellulose was produced using *Acetobacter xylinum* TISTR 976 and cultured in a coconut medium for ten days, as it exhibited the highest growth and yield. Bacterial cells were removed from the fibers by soaking them in a sodium hydroxide solution (NaOH) with a concentration of 1.0% (w/v). The production of cellulose powder involved soaking in NaOH (Method 1) and grinding, followed by soaking in NaOH (Method 2). Method 2 yielded a higher-quality cellulose powder, as evidenced by its physical appearance and comparable water-holding and oil-holding capacity to commercial cellulose powder ($p>0.05$). Furthermore, the cellulose powder produced through both methods was tested for cytotoxicity. It was found that Method 2 exhibited the lowest cytotoxicity percentage at 20.66 ± 0.02, which falls below the safety threshold of 30% for consumer use. Thus, this cellulose powder can replace fat in Chinese sausage products. Different amounts of the fat replacer (0%, 0.5%, 1.0%, 2.0%, and 3.0% of the fat weight in the mixture) were added to reduce the fat content in Chinese sausage. Adding 1.0% cellulose powder resulted in a 1-2% fat content reduction compared to the control sample and an increase in fiber content by 2%. The texture hardness of the cellulose-replaced sausages did not significantly differ from the control sample ($p>0.05$). Additionally, sensory testing confirmed the acceptability of the modified sausages by consumers. Regarding shelf life, the vacuum-packaged sausages remained stable at room temperature and 4°C for four weeks. However, the thiobarbituric acid value (TBARS) increased when stored at room temperature, while storage at 4°C maintained stable TBARS values from week 0. Based on these experimental results, it can be concluded that cellulose powder is a suitable fat substitute for Chinese sausage product.

Keywords : Cellulose powder, Chinese sausage, Fat replacer, Fiber

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี จากการได้รับคำแนะนำ และคำปรึกษาจาก รศ. ดวงใจ โอชัยกุล ผู้เป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ตั้งแต่ต้นจนถึงปัจจุบัน รวมถึง รศ.ดร.อรไท สุขเจริญ และ ผศ.ดร.วรภัทร์ สงวนไชยไผ่วงศ์ กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่ได้แนะแนวทางในการดำเนินงานวิจัยของข้าพเจ้าให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ข้าพเจ้ารู้สึกซาบซึ้งและขอขอบพระคุณอาจารย์ทุกท่านที่ได้ให้คำแนะนำ คำปรึกษา และข้อคิดต่างๆ ในการทำวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ให้ออกมาสมบูรณ์ที่สุด

นอกจากนี้ข้าพเจ้าขอขอบคุณนักวิทยาศาสตร์ของภาควิชาชีววิทยาที่คอยอำนวยความสะดวกในการใช้อุปกรณ์ และเบิกจ่ายสารเคมี ตลอดจนเจ้าหน้าที่ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน และขอขอบพระคุณครอบครัวที่คอยให้กำลังใจ ช่วยอำนวยความสะดวกให้แก่ข้าพเจ้าในการจัดหาวัตถุดิบในการดำเนินงาน และสนับสนุนค่าใช้จ่ายของข้าพเจ้าตลอดการทำวิจัย ขอขอบคุณป้าร้านขายมะพร้าวขูด ในตลาดวัดตะกล่ำ คอยให้วัตถุดิบในการทำจากวิจัยนี้ ขอขอบคุณ พี่ เพื่อน และน้องจากห้องปฏิบัติการนักศึกษาปริญญาโท 419 ทุกคน ที่คอยเป็นกำลังใจ และช่วยเหลือกันตลอดมา

ความดีอันเกิดจากคุณค่าและประโยชน์จากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้คณาอาจารย์ผู้ให้ความรู้ บิดา มาราดา และครอบครัวของข้าพเจ้า ตลอดจนผู้ที่มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน สำหรับข้อบกพร่องที่เกิดขึ้นข้าพเจ้าขอน้อมรับไว้แต่ผู้เดียว

นางสาวภณิดา อ่อนน้อม

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.. ก

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.. ค

กิตติกรรมประกาศ.. จ

สารบัญ.. ฉ

สารบัญตาราง.. ญ

สารบัญรูป.. ฏ

บทที่ 1 บทนำ.. 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.. 1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.. 2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.. 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.. 3

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.. 4

2.1 เซลลูโลส.. 4

2.1.1 โครงสร้างของเซลลูโลส.. 4

2.2 เชื้อ *Acetobacter xylinum*.. 5

2.2.1 ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์.. 5

2.2.2 ลักษณะเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum*.. 5

2.3 การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย.. 6

2.3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเซลลูโลส.. 8

2.4 การทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ (Purification) ให้ปราศจากเซลล์แบคทีเรีย.. 9

2.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย.............. 9

2.5 การประยุกต์ใช้เซลลูโลสในอุตสาหกรรมอาหาร.. 11

2.6 การทำแห้ง (Dehydration).. 13

2.6.1 หลักการพื้นฐานของการทำแห้ง (Basic principle of dehydration)..... 13

2.6.2 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry).. 13

2.7 ผลิตภัณฑ์กุนเชียง.. 14

2.7.1 บทบาทของไขมันในด้านอาหาร.. 15

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.. 16

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 วิธีการดำเนินงานวิจัย.. 19
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี.. 19
3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์... 19
3.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย.. 19
3.1.3 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตกุนเชียง... 19
3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และเซลล์ไลน์.. 19
3.1.5 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง... 19
3.1.6 เครื่องมือและอุปกรณ์.. 21
3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน... 22
3.2.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว... 22
3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976............. 22
3.2.1.2 กระบวนการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย................................... 23
3.2.2 ศึกษาวิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ให้ปราศจากเซลล์แบคทีเรียโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง......................... 23
3.2.2.1 การหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย.. 23
3.2.2.2 วิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ให้ปราศจากเซลล์แบคทีเรียบนโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง......... 23
3.2.2.3 วิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของแผ่นเซลลูโลสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)... 24
3.2.3 ศึกษาการผลิตผงเซลลูโลสแห้ง.. 24
3.2.4 ศึกษาสมบัติของผงแห้งเซลลูโลส 25
3.2.4.1 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water-holding capacity)............. 25
3.2.4.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (Oil-holding capacity).............. 25
3.2.4.3 วิเคราะห์ค่าสี (Color analysis) 25
3.2.4.4 วิเคราะห์ความชื้น (Moisture) (AOAC, 2000).......................... 26
3.2.4.5 วิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (Water activity, aw) 26

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.4.6 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)........................ 26

3.2.5 ศึกษาการนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง........................ 27

3.2.5.1 ศึกษาการทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง............................ 27

3.2.5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารของผลิตภัณฑ์กุนเชียง.... 28

3.2.5.3 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture content).................... 28

3.2.5.4 วิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (aw)... 28

3.2.5.5 วิเคราะห์สี (Color analysis).. 28

3.2.5.6 วิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด.. 28

3.2.5.7 วิเคราะห์ปริมาณยีสต์และเชื้อรา... 28

3.2.5.8 วิเคราะห์เนื้อสัมผัส.. 29

3.2.5.9 การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส.............................. 29

3.2.6 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง.. 29

3.2.6.1 วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances หรือ TBARS................ 30

3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ.. 30

บทที่ 4 ผลการวิจัยและการอภิปรายผล.. 31

4.1. ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว.. 31

4.2 ศึกษาวิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง.. 32

4.3 ศึกษาการผลิตผงเซลลูโลสแห้งและคุณสมบัติของผงเซลลูโลส....................... 35

4.3.1 การผลิตผงเซลลูโลสแห้ง.. 35

4.3.2 คุณสมบัติของผงเซลลูโลส.. 35

4.4 ศึกษาการนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง 38

4.4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารของผลิตภัณฑ์กุนเชียง............. 38

4.4.2 ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี้ และค่าสี.. 39

4.4.3 วิเคราะห์เนื้อสัมผัส.. 40

สารบัญ (ต่อ)

หน้า
4.4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และเชื้อรา....... 41
4.4.5 การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส.. 42
4.5 ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง.. 43
4.5.1 ความชื้นและค่าสี.. 43
4.5.2 วิเคราะห์เนื้อสัมผัส.. 44
4.5.3 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์รา... 45
4.5.4 วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances หรือ TBARS.. 46
4.5.5 การทดสอบด้านประสาทสัมผัส.. 47
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ... 49
5.1 สรุปผลการวิจัย... 49
5.2 ข้อเสนอแนะ.. 50
เอกสารอ้างอิง... 52
ภาคผนวก.. 59
ภาคผนวก ก... 60
ภาคผนวก ข... 62
ภาคผนวก ค... 65
ประวัติผู้เขียน.. 110

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 ปริมาณการผลิตเซลลูโลสของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์.. 7

2.2 เปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างและสมบัติต่างๆ ระหว่างเซลลูโลสที่ได้จากพืชและเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย.. 10

2.3 การประยุกต์ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียในอาหารชนิดต่างๆ.. 12

2.4 ข้อดีและข้อเสียของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry).................................... 14

3.1 ส่วนประกอบในการทำกุนเชียง.. 28

4.1 การเปลี่ยนแปลงความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน 31

4.1 (ต่อ) การเปลี่ยนแปลงความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน.. 32

4.2 คุณสมบัติของผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียผลิตด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน........................... 37

4.3 องค์ประกอบทางอาหารของกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส.. 39

4.4 ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี้ และค่าสี ของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส.. 40

4.5 ค่าเนื้อสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส............. 41

4.6 คะแนนการทดสอบทางด้านประสามสัมผัสของกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส.. 42

4.7 ปริมาณความชื้นและค่าสีของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์.. 44

4.8 วิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์.. 45

4.9 ปริมาณจุลินทรีย์ของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์.. 46

4.10 คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์............................... 48

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ **หน้า**

ค-1 การเปลี่ยนแปลงความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน.......... 65
ค-2 คุณสมบัติของผงเซลลูโลสจากที่ได้จากแบคทีเรียผลิตด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน.......... 68
ค-3 องค์ประกอบทางอาหารของกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส.......... 74
ค-4 ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี้ และค่าสี ของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส.......... 78
ค-5 ค่าเนื้อสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส.......... 83
ค-6 คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส.......... 87
ค-6 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนด้วยผงเซลลูโลส.......... 88
ค-7 ปริมาณความชื้นและค่าสีของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์.......... 92
ค-8 วิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์.......... 96
ค-9 คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์.......... 100
ค-9 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์.......... 102
ค-9 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์.......... 104
ค-9 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์.......... 106
ค-9 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์.......... 108

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ β- 1, 4-glycosidic......................... 4

2.2 เชื้อ *Acetobacter xylinum* เลี้ยงในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 7 วัน ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) กำลังขยาย 10,000 เท่า.. 5

2.3 เซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* หรือวุ้นสวรรค์ (NATA de coco).......... 6

2.4 วิถีการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย.. 7

2.5 ลักษณะการสร้างแผ่นเซลลูโลสบนผิวหน้าอาหารของ *Acetobacter xylinum*............... 8

2.6 แผนภาพวัฏภาคของน้ำ (Phase diagram for water)... 13

4.1 ความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จาก *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน... 32

4.2 แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียทำให้บริสุทธิ์โดยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) (a) , 0.5 (b), 1.0 (c), 2.0 (d) และ 3.0 (e)............ 34

4.3 พื้นผิวของแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียชุดควบคุม (a), ทำให้บริสุทธิ์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 (b) และ 1.0 (c) ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) กำลังขยาย 5000 เท่า......... 34

4.4 ลักษณะทางกายภาพของผงเซลลูโลสทางการค้า (a), วิธีที่ 1 (b) และวิธีที่ 2 (c)............. 35

4.5 กุนเชียงชุดควบคุม (Control) และกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลสร้อยละ 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)... 37

4.6 การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุงสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น ในสัปดาห์ที่ 0 และ 4... 47

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย (Bacterial cellulose) ผลิตจากแบคทีเรียอะซิติก (Acetic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เจริญเติบโตได้ดีที่พีเอช 3-7 อุณหภูมิ 25 ถึง 30 องศาเซลเซียส และต้องการอากาศในการเจริญเติบโต (Esa *et al.*, 2014) เช่น *Acetobacter* sp., *Gluconacetobacter* sp. เป็นต้น (Xu *et al.*, 2011) ในการผลิตเซลลูโลสนิยมใช้ *Acetobacter xylinum* เนื่องจากมีประสิทธิภาพสูงในการผลิตเซลลูโลส ซึ่งเซลลูโลสที่ผลิตจากแบคทีเรียจะมีคุณสมบัติและโครงสร้างเฉพาะตัวแตกต่างจากเซลลูโลสที่ได้จากพืช เช่น มีความเป็นผลึกพอลิเมอร์สูง มีความบริสุทธิ์สูง และดูดซับน้ำได้ดี (Akoglu *et al.*, 2018) ในด้านอุตสาหกรรมอาหารนิยมนำเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้เป็นสารเพิ่มความเข้มข้น สารเพิ่มความคงตัว หรือใช้เป็นสารทดแทนไขมัน (Akoglu *et al.*, 2015) ซึ่งมีงานวิจัยที่ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียมาทดแทนไขมันในอาหาร เช่น Akoglu *et al.* (2015) ศึกษาผลของการใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียทดแทนไขมันในมายองเนส Akoglu *et al.* (2018) ศึกษาผลของการใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียทดแทนไขมันในไส้กรอกตุรกี (Sucuk) และ Lin and Lin (2004) ศึกษาคุณภาพของลูกชิ้น (Chinese-style Meatbal) ที่เติมเซลลูโลสจากแบคทีเรีย นอกจากนี้เมื่อเติมเซลลูโลสจากแบคทีเรียในอาหารจะช่วยในเรื่องกำจัดอาหารตกค้างในลำไส้ และได้รับการรับรองจากองค์การอาหารและยาในปี 1992 ว่ามีความปลอดภัยไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภค (Khan *et al.*, 2007)

กุนเชียง (Chinese sausage) เป็นไส้กรอกประเภทกึ่งแห้งเป็นอาหารดั้งเดิมของชาวจีน เป็นผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูปจากเนื้อสัตว์ (ชิดชนก, 2559) ในกระบวนการผลิตมีส่วนประกอบดังนี้ น้ำตาล เกลือ ซีอิ๊ว วัตถุเจือปนอาหาร ไส้หมู เนื้อหมู และไขมันหมู โดยไขมันหมูทำหน้าที่ให้ผลิตภัณฑ์มีความชุ่มฉ่ำ ในทางการค้ากุนเชียงจะมีไขมันประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ ไขมันสัตว์เป็นไขมันชนิดอิ่มตัวหากรับประมาณในปริมาณมากจะเป็นผลเสียต่อร่างกาย (ดารุณี, 2554) ซึ่งในปัจจุบันผู้บริโภคคำนึงถึงอันตรายต่อสุขภาพที่อาจจะเกิดขึ้นจากการบริโภคไขมันสูงเพิ่มมากขึ้น เนื่องจากอาหารที่มีไขมันสูงทำให้เสี่ยงต่อการเกิดโรคเรื้อรังหลายชนิด เช่น โรคอ้วน โรคหัวใจ โรคหลอดเลือด และโรคมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Jiménez-Colmenero e*t al.*, 2001) ดังนั้นเพื่อเป็นการลดปัญหาเหล่านี้จึงจำเป็นต้องลดปริมาณไขมันที่มีอยู่ในกุนเชียงสูตรดั้งเดิม โดยการเลือกใช้สารทดแทนไขมันเติมลงไปในกุนเชียง อย่างไรก็ตามไขมันก็มีอิทธิพลต่อคุณสมบัติและคุณภาพของอาหารในเรื่องของรสชาติ เนื้อสัมผัส และอายุการเก็บรักษา หากลดปริมาณไขมันลงอาจทำให้คุณภาพของกุนเชียงมีการเปลี่ยนแปลงจากกุนเชียงสูตรดั้งเดิม ซึ่งสิ่งสำคัญในการใช้สารทดแทนไขมันคือ เมื่อเติมลงไปในกุนเชียงแล้วกุนเชียงต้องมีคุณภาพใกล้เคียงหรือเหมือนกับผลิตภัณฑ์กุนเชียงสูตรดั้งเดิมมากที่สุด

ดังนั้นในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ที่จะผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียในลักษณะผงแห้ง โดยมีการศึกษาวิธีการต่าง ๆ ในการทำให้เซลลูโลสจากแบคทีเรียบริสุทธิ์ ศึกษาการทำผงแห้งของเซลลูโลสจากนั้นนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาทดแทนไขมันในส่วนประกอบกุนเชียง วิเคราะห์องค์ประกอบของผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้ เช่น ค่าสี วอเตอร์แอกติวิตี (Water activity, a_w) ปริมาณความชื้น ปริมาณโปรตีน ปริมาณไขมัน ปริมาณใยอาหาร เถ้า จุลินทรีย์ทั้งหมด และการทดสอบทางประสาทสัมผัส รวมทั้งศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 สัปดาห์

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

(1) ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

(2) ศึกษาวิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ ไม่มีเซลล์แบคทีเรียปนเปื้อนในแผ่นเซลลูโลส

(3) ศึกษาวิธีการทำผงแห้งของเซลลูโลสและศึกษาสมบัติของผงแห้งเซลลูโลสที่ได้

(4) ศึกษาการนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยลดปริมาณไขมันในส่วนประกอบของกุนเชียง วิเคราะห์คุณภาพของผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้ทั้งคุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ รวมทั้งทดสอบทางประสาทสัมผัส

(5) ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 สัปดาห์

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว เป็นระยะเวลา 14 วัน เพื่อคัดเลือกระยะเวลาที่ผลิตแผ่นเซลลูโลสสูงสุด และนำมาศึกษาวิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ จากนั้นศึกษาการทำผงแห้งของเซลลูโลสจากแบคทีเรียด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drier) ศึกษาสมบัติของผงแห้งเซลลูโลส เช่น ความสามารถในการดูดซับน้ำมัน, ความสามารถในการดูดซับน้ำ ค่าสี *L* a* b** ความชื้น และวอเตอร์แอกติวิตี (Water activity, a_w) จากนั้นนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยลดปริมาณไขมันในส่วนประกอบของกุนเชียง วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ รวมทั้งทดสอบทางประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่ได้แต่ละอัตราส่วน จากนั้นคัดเลือกอัตราส่วนที่เหมาะสม โดยพิจารณาจากปริมาณไขมันที่ลดลงและใยอาหารเพิ่มขึ้นและมีคุณภาพใกล้เคียงกับกุนเชียงสูตรควบคุม นำมาศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่ได้ โดยเก็บในถุงสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 4 สัปดาห์ วิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และจุลินทรีย์ ทดสอบทางประสาทสัมผัส รวมทั้งวิเคราะห์ปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชั่น

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

สามารถผลิตผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อนำมาประยุกต์ใช้ในผลิตภัณฑ์กุนเชียง เพื่อลดปริมาณไขมันในกุนเชียงและทดแทนด้วยผงเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่มีปริมาณไขมันลดลง และมีกากใยอาหารเพิ่มขึ้น และมีประโยชน์ต่อสุขภาพของผู้บริโภค

บทที่ 2

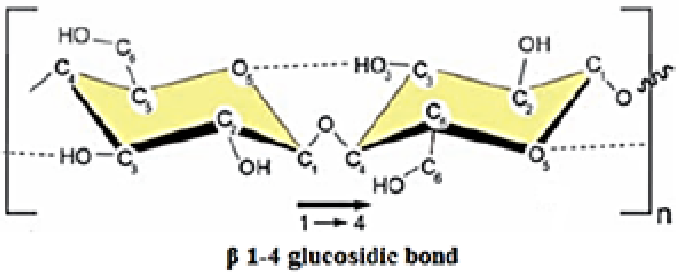
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 เซลลูโลส

เซลลูโลส (Cellulose) เป็นส่วนประกอบหลักในผนังเซลล์เกือบทั้งหมดของพืช เชื้อรา และสาหร่าย นอกจากนี้เซลลูโลสยังสามารถผลิตจากแบคทีเรียบางสายพันธุ์เช่น *Acetobacter*, *Rhizobium*, *Agrobacterium* และ *Sarcina* ในปี 1886, Brown ได้ค้นพบแบคทีเรียอะซิติกสายพันธุ์หนึ่ง ซึ่งในปัจจุบันคือ *Acetobacter xylinum* หรือ *Gluconacetobacter xylinum* ซึ่งสามารถผลิตเซลลูโลสได้ จึงทำให้เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียได้รับความสนใจเป็นอย่างมากในช่วงกลางศตวรรษที่ 20 (Delmer, 1999., Brown, 1886., Embuscado *et al.*, 1994) สำหรับเซลลูโลสที่ได้จากพืชจะมีทั้งเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) และลิกนิน (lignin) ทำให้เซลลูโลสที่ได้ไม่บริสุทธิ์ แตกต่างจากเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียซึ่งมีความบริสุทธิ์สูง แม้ว่าโครงสร้างทางเคมีของเซลลูโลสที่ได้จากพืชและแบคทีเรียจะเหมือนกัน แต่คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีมีความแตกต่างกัน เช่น เส้นใยที่ได้จากแบคทีเรียมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 1 ใน 100 ของเส้นใยที่ได้จากพืช กล่าวคือเส้นใยที่ได้จากแบคทีเรียมีขนาดเล็กกว่าเส้นใยที่ได้จากพืช และมีค่ายังโมดูลัส (Young’s modulus) สูงใกล้เคียงกับอะลูมิเนียม (Khan *et al.*, 2007) จึงทำให้เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียนี้นิยมนำมาประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรม

2.1.1 โครงสร้างของเซลลูโลส

สูตรโมเลกุลของเซลลูโลสคือ $(C_6H_{10}O_5)_n$ (Ul-Islam *et al.*,2012) เป็นไบโอพอลิเมอร์ที่สามารถย่อยสลายเองตามธรรมชาติ โครงสร้างของเซลลูโลสประกอบด้วยโมเลกุลของกลูโคส (glucose) ที่มีหมู่ไฮดรอกซิล (hydroxyl group) เป็นหมู่หลักและต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิก (glycosidic bond) ที่ตำแหน่งบีตา-1,4 (β-1,4-glycosidic bond) ดังรูปที่ 2.1 ได้เป็นสายยาวกว่า 1,000-10,000 โมเลกุล (สุภาวดี, 2557, Cazon *et al*,. 2017)



รูปที่ 2.1 โครงสร้างโมเลกุลของเซลลูโลสที่เชื่อมต่อด้วยพันธะ β- 1, 4-glycosidic

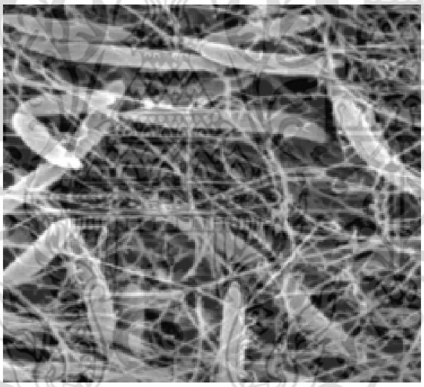
ที่มา : Poletto *et al.*, (2010)

2.2 เชื้อ *Acetobacter xylinum*

2.2.1 ข้อมูลทางวิทยาศาสตร์

เชื้อ *Acetobacter xylinum* จัดอยู่ใน
Class Alphaproteobacteria
Order Rhodospirillales
Family Acetobacteraceae
Genus *Gluconacetobacter*

Acetobacter xylinum เป็นแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียอะซิติก (Acetic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมลบ มีรูปร่างเป็นรูปไข่ถึงรูปแท่ง อยู่เป็นเซลล์เดี่ยว เซลล์คู่ หรือเรียงต่อเป็นสาย ดังรูปที่ 2.2 ต้องการอากาศในการเจริญ สามารถผลิตกรดอะซิติก (acetic acid) สามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส ความเป็นกรด-ด่างอยู่ที่ 3-7 ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโต นอกจากนี้สามารถสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์จากเมแทบอลิซึมปฐมภูมิ (primary metabolite) (บุปผาชาติ และคณะ, 2555)

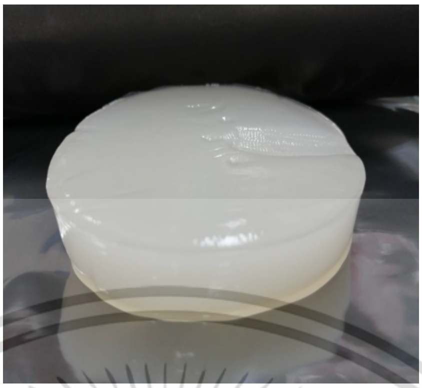


รูปที่ 2.2 เชื้อ *Acetobacter xylinum* เลี้ยงในสภาวะนิ่งเป็นเวลา 7 วัน ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope: SEM) กำลังขยาย 10,000 เท่า
ที่มา : Setyawati *et al.*, (2009)

2.2.2 ลักษณะเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum*

ผลิตภัณฑ์เซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* ถูกเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า “วุ้นสวรรค์หรือวุ้นน้ำมะพร้าว” ในภาษาอังกฤษเรียกว่า “NATA de coco” ซึ่งประกอบด้วยเส้นใยขนาดเล็กที่อยู่ในรูปของเจล เรียกว่า “cellulose microfiber” มีลักษณะเป็นเยื่อเหนียวสีขาวหรือสีครีม (Okiyama *et al.*, 1992) ดังรูปที่ 2.3 การผลิตเซลลูโลสที่อยู่ในรูปวุ้นสวรรค์สามารถเลือกใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด เช่น น้ำมะพร้าว น้ำสับปะรด น้ำกะทิ น้ำหางนม เป็นต้น เมื่อได้วุ้นสวรรค์แล้วเนื้อวุ้นที่

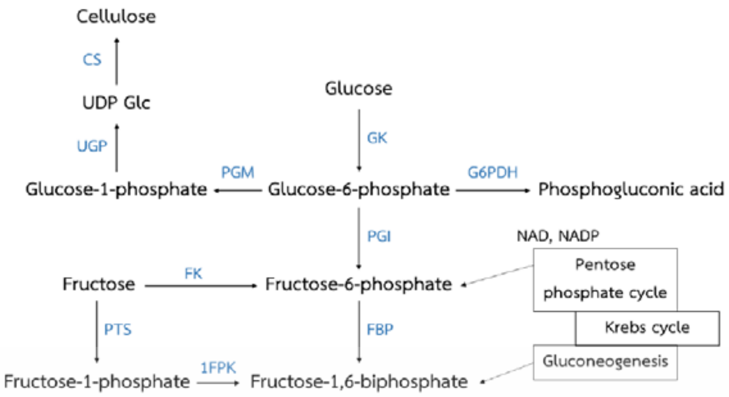
ได้จะมีลักษณะที่คล้ายกัน แต่อาจจะเกิดกลิ่นที่แตกต่างกันบ้างเล็กน้อยขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่เลือกใช้ในการผลิต



รูปที่ 2.3 เซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* หรือวุ้นสวรรค์ (NATA de coco)

2.3 การสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย

แบคทีเรียจะเปลี่ยนสารที่เป็นแหล่งคาร์บอน เช่น กลูโคส (glucose) ไซโลส (xylose) ซูโครส (sucrose) กลีเซอรอล (glycerol) ไปเป็นสารตัวกลางที่สามารถเข้าสู่กระบวนการเมแทบอลิซึมให้กลายเป็น ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส (Uridine Diphosphoglucose: UDP-glucose) เพื่อเป็นสารตั้งต้นในการผลิตเซลลูโลส ในกระบวนการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรียประกอบด้วยกลไกหลัก 2 ขั้นตอน คือ การสังเคราะห์ยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส และเข้าสู่ขั้นตอนการเชื่อมต่อสายยาวของกลูแคนชนิดบีตา (1,4) ทั้งนี้การสังเคราะห์สารยูริดีน ไดฟอสโฟกลูโคส เริ่มจากการเปลี่ยนกลูโคส ไปเป็น glucose-6-phosphate โดยใช้เอนไซม์ Glucose hexokinase (GK) จากนั้นเปลี่ยน glucose-6-phosphate ไปเป็น glucose-1-phosphate โดยใช้เอนไซม์ Phosphoglucomutase (PGM) แล้ว glucose-1-phosphate ถูกเปลี่ยนเป็น UDP-glucose ด้วยเอนไซม์ Glucose pyrophosphorylase (UGP) (นันทรัตน์ และคณะ, 2558) ดังรูปที่ 2.4


Cellulose
CS
UDP Glc
UGP
Glucose
GK
Glucose-1-phosphate
PGM
Glucose-6-phosphate
G6PDH
Phosphogluconic acid
PGI
NAD, NADP
Pentose phosphate cycle
Fructose
FK
Fructose-6-phosphate
Krebs cycle
PTS
FBP
Gluconeogenesis
Fructose-1-phosphate
1FPK
Fructose-1,6-biphosphate

รูปที่ 2.4 วิถีการสังเคราะห์เซลลูโลสจากแบคทีเรีย
ที่มา : นันทรัตน์ และคณะ (2558)

ซึ่งจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการผลิตเซลลูโลสที่แตกต่างกัน ดังตารางที่ 2.1 ในกระบวนการสร้างสายกลูแคนชนิดบีตา (1,4) เกี่ยวข้องกับการทำงานของเอนไซม์ glucosyltransferase ซึ่งอยู่บริเวณเยื่อหุ้มเซลล์ ซึ่งมี Cyclic dimeric guanosine monophosphate (c-di-GMP) ทำหน้าที่เป็นตัวควบคุมการสังเคราะห์และทำให้เอนไซม์ทำงานได้ดี การยับยั้งกระบวนการสังเคราะห์สายเซลลูโลสทำได้โดยการเร่งปฏิกิริยาของเอนไซม์ 2 ชนิดคือ phosphodiester ชนิด A และชนิด B เนื่องจากเป็นเอนไซม์ที่ย่อย phosphodiester bond ของ Cyclic nucleotides ทั้ง Cyclic adenosine monophosphate (CAMP) และ Cyclic guanosine monophosphate (CGMP) ซึ่งเป็นสารที่ควบคุมการสร้างสายกลูแคน หากไม่มีสารนี้จะไม่สามารถสร้างสายเซลลูโลสได้

ตารางที่ 2.1 ปริมาณการผลิตเซลลูโลสของจุลินทรีย์แต่ละสายพันธุ์

สายพันธุ์จุลินทรีย์	แหล่งคาร์บอน	สารเสริมในกระบวนการหมัก	ระยะเวลาในการหมัก	ปริมาณเซลลูโลส (กรัมต่อมิลลิลิตรของอาหาร)
Acetobacter xylinum	กลูโคส	เอทานอลและออกซิเจน	50 ชั่วโมง	15.30
Acetobacter sp.	กลูโคส	เอทานอลและออกซิเจน	8 วัน	4.16
Gluconacetobacter hansenii	กลูโคส	ออกซิเจน	72 ชั่วโมง	2.50
Gluconacetobacter xylinum	แมนนิทอล	ชาเขียว	7 วัน	3.34
Lactobacillus mali	ซูโครส	ไม่มี	72 ชั่วโมง	4.20

ที่มา : Bajaj *et al*,. (2009)

2.3.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเซลลูโลส (บุปผาชาติ และคณะ, 2555)

1) สายพันธุ์ของแบคทีเรียและคุณภาพหัวเชื้อ โดยเชื้อที่นิยมใช้คือ *Acetobacter xylinum* ต้องการอากาศในการเจริญเติบโต หากเลี้ยงในสภาวะนิ่งจะใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตอยู่ในระหว่าง 8-10 ชั่วโมง แต่หากเลี้ยงในสภาวะเขย่าจะใช้ระยะเวลาในการเจริญเติบโตอยู่ระหว่าง 4-6 ชั่วโมง

2) วัตถุดิบที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อ เช่น น้ำมะพร้าวแก่ กากน้ำตาล กล้วยน้ำว้าสุก เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบเหล่านี้มีต้นทุนต่ำช่วยลดต้นทุนในการผลิต

3) ออกซิเจน เชื้อต้องการอากาศในการเจริญเติบโต โดยจะเจริญและสร้างแผ่นวุ้นที่บริเวณผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ดังรูปที่ 2.5 ควรระมัดระวังในระหว่างการหมัก ไม่ควรกระทบกระเทือน หากได้รับการกระเทือนแผ่นวุ้นจะจมลง และเชื้อต้องสร้างแผ่นวุ้นบนผิวหน้าใหม่

4) กรดน้ำส้มสายชู (acetic acid) จะช่วยยับยั้งการเจริญของเชื้อปนเปื้อน ช่วยปรับความเป็นกรด-ด่างของน้ำมะพร้าวแก่ให้เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ ช่วยให้เชื้อเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว โดยปริมาณที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้น คือ ร้อยละ 0.5-1.0

5) ปริมาณน้ำตาล ถือว่าเป็นแหล่งคาร์บอนที่สำคัญที่เชื้อจะนำไปใช้เพื่อการเจริญเติบโตและการสร้างแผ่นวุ้น เชื้อสามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้หลายชนิด แต่ที่นิยมใช้คือ น้ำตาลทรายขาว หรือซูโครส (sucrose) โดยควบคุมปริมาณที่ 8 องศาบริกซ์

6) สารประกอบไนโตรเจน การเติมสารประกอบไนโตรเจนจะช่วยได้แผ่นวุ้นหนาขึ้น นิยมใช้แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5

รูปที่ 2.5 ลักษณะการสร้างแผ่นเซลลูโลสบนผิวหน้าอาหารของ *Acetobacter xylinum*

2.4 การทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ให้ปราศจากแบคทีเรีย (Purification)

เมื่อได้แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรีย ก่อนนำแผ่นเซลลูโลสมาใช้ประโยชน์จำเป็นต้องทำให้แผ่นเซลลูโลสมีความบริสุทธิ์ โดยกำจัดเซลล์แบคทีเรียหรือสิ่งปนเปื้อนออกจากเส้นใยของเซลลูโลส วิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์นั้นมีหลายวิธี ขึ้นอยู่กับวัตถุประสงค์ในการนำไปใช้ประโยชน์ (Tang *et al.*, 2010) งานวิจัยของ Gea *et al.*, (2015) ได้นำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ 2 ขั้นตอน คือนำแผ่นเซลลูโลสแช่ลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 1 คืน จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสมาแช่ต่อในสารละลายโซเดียมไฮโปคลอไรด์ความเข้มข้น 2.5 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) เทียบกับแผ่นเซลลูโลสที่แช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 2.5 เปอร์เซ็นต์เพียงขั้นตอนเดียว พบว่า แผ่นเซลลูโลสที่ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้ 2 ขั้นตอน สามารถกำจัดเซลล์ออกจากเส้นใยของเซลลูโลสได้และแผ่นเซลลูโลสมีสีขาวมากขึ้น นอกจากนี้งานวิจัยของ Meftahi *et al.*, (2015) ได้นำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาทำให้บริสุทธิ์โดยนำมาต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 0.1 นอร์มอล เป็นเวลา 90 นาที เทียบกับแผ่นเซลลูโลสที่ไม่ผ่านการทำให้บริสุทธิ์ พบว่า แผ่นเซลลูโลสที่ถูกทำให้บริสุทธิ์โดยนำมาต้มในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ สามารถกำจัดเซลล์ออกจากโครงสร้างเส้นใยของเซลลูโลสได้ เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Santos *et al.*, (2015) ได้นำแผ่นเซลลูโลสมาทำให้บริสุทธิ์โดยแช่ลงในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 60 นาที เทียบกับแผ่นเซลลูโลสที่ใช้ความร้อน 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง พบว่า แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ความร้อนเพียงอย่างเดียวไม่สามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลสได้ แต่แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ด่างหรือสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร่วมกับความร้อนสามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamal *et al.*, (2020) ที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ คือ 0 0.5 1.0 และ 2.0 เปอร์เซ็นต์ในการทำให้แผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ พบว่า แผ่นเซลลูโลสที่ใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ มีประสิทธิภาพในการกำจัดเซลล์แบคทีเรียและสิ่งปนเปื้อนได้ และไม่มีผลต่อเส้นใยของเซลลูโลสอีกด้วย

2.4.1 คุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

เซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* เป็นพอลิเมอร์ที่มีความบริสุทธิ์สูง ปราศจากเพคติน (pectin) ลิกนิน (lignin) และเฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) โดยมีค่าความเป็นผลึก (crystallinity) และค่าดีกรีของพอลิเมอไรซ์เซชั่น (degree of polymerization) สูง ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) อยู่ในช่วงระหว่าง 60-70 เท่าของน้ำหนักแห้ง ซึ่งคุณสมบัติเหล่านี้เป็นข้อได้เปรียบเมื่อเทียบกับเซลลูโลสจากพืช ดังตารางที่ 2.2 นอกจากนี้เซลลูโลสจากแบคทีเรียยังมีค่าความคงตัวทางรูปร่าง (shape retention) และค่าความต้านทานการฉีกขาด (tear resistance) สูงกว่าเส้นใยสังเคราะห์หลายชนิด ทนต่อแรงดึงได้ดี ลักษณะโครงสร้าง

เส้นใยมีขนาดเล็กกว่าเส้นใยจากพืชถึง 100 เท่า โดยมีความหนาเพียง 3-4 นาโนเมตร กว้างประมาณ 60-80 นาโนเมตร และยาวประมาณ 180-960 นาโนเมตร สามารถทำปฏิกิริยากับสารเคมีต่าง ๆ ได้ดี ไม่ละลายในตัวทำลายต่าง ๆ เช่น โซเดียมไฮดรอกไซด์ (sodium hydroxide) เมทานอล (metanol) และอะซิโตน (acetone) แต่ละลายได้ใน คิวปรีเอทิลีนไดอะมีน (cupriethylenediamine) มีผลทำให้เซลลูโลสพองตัว โดยทำลายพันธะไฮโดรเจนที่เชื่อมต่อระหว่างโมเลกุลของเซลลูโลส (Halib *et al.*, 2012)

ตารางที่ 2.2 เปรียบเทียบลักษณะโครงสร้างและสมบัติต่าง ๆ ระหว่างเซลลูโลสที่ได้จากพืชและเซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรีย

ลักษณะโครงสร้าง/สมบัติของเส้นใยเซลลูโลส	**เซลลูโลสจากพืช**	**เซลลูโลสจากแบคทีเรีย**
1. ความบริสุทธิ์	พอลิเมอร์ประกอบด้วยสารอื่น ๆหลายชนิด	พอลิเมอร์มีความบริสุทธิ์มีเฉพาะเซลลูโลสเท่านั้น
2. ส่วนประกอบภายในพอลิเมอร์	ประกอบไปด้วยเซลลูโลสที่อยู่รวมกับเฮมิเซลลูโลส ลิกนิน และเพคติน ในส่วนต่าง ๆ ตามชนิดของพืช	ประกอบไปด้วยโมเลกุลกลูโคสเพียงชนิดเดียว
3. การจัดเรียงตัวของโครงสร้างเส้นใย	โครงสร้างมีกิ่งสาขามักไม่เป็นระเบียบ	มีการจัดเรียงตัวของเส้นใยอย่างเป็นระเบียบ
4. ขนาดของเส้นใยเซลลูโลส	ขนาดของเส้นใยมีขนาดใหญ่	ขนาดของเส้นใยเล็กกว่าเส้นใยจากพืช 100 เท่า
5. สีของเส้นใยเซลลูโลส	เส้นใยมีสีขาวหรือค่อนข้างขาว	เส้นใยมีลักษณะใส
6. ความแข็งแรงของเส้นใยเซลลูโลส	เส้นใยทนต่อแรงดึงต่ำ	เส้นใยมีความแข็งแรง ทนต่อแรงดึงสูง
7. ความสามารถในการอุ้มน้ำของเส้นใยเซลลูโลส	ความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำอยู่ในช่วง 10-20 เท่าของน้ำหนักเซลลูโลสแห้ง	ความสามารถในการอุ้มน้ำสูงอยู่ในช่วง 60-70เท่าของน้ำหนักเซลลูโลสแห้ง

ที่มา : Esa *et al.*, (2014)

2.5 การประยุกต์ใช้เซลลูโลสในอุตสาหกรรมอาหาร

เซลลูโลสมีคุณสมบัติที่หลากหลาย และมีความปลอดภัย (Generally recognized as safe, GRAS) สามารถใช้เป็นวัสดุบรรจุอาหารและเป็นส่วนประกอบของอาหารได้ จึงนำมาประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรมอย่างกว้างขวางไม่ว่าจะเป็น อาหาร ยา สิ่งทอ หรือเครื่องสำอาง สำหรับการประยุกต์ใช้เซลลูโลสในอุตสาหกรรมอาหาร มีดังนี้

1) สารอิมัลซิไฟเออร์ (Emulsifier) และสารให้ความคงตัว (Food stabilizer)

เซลลูโลสได้รับความสนใจในการนำมาใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์และสารให้ความคงตัว มีการศึกษาของ Turbak *et al.*, (1983) ได้นำเซลลูโลสมาใช้เป็นสารอิมัลซิไฟเออร์และสารให้ความคงตัวในอาหาร เช่น เค้ก ซอส วิปครีม เป็นต้น เนื่องจากเซลลูโลสทำให้น้ำกับน้ำมันเกิดอิมัลชัน โดยโมเลกุลของเซลลูโลสจะดูดซับที่ชั้นระหว่างพื้นผิวของน้ำและน้ำมัน (Oil-water interface) ส่วนเซลลูโลสที่เหลือจากการดูดซับจะเกิดการสร้างโครงร่างตาข่ายสามมิติ ช่วยเพิ่มความหนืด ลดการเคลื่อนที่ของไขมัน ทำให้มีความคงตัวต่อการแยกชั้นมากขึ้น (Winuprasith *et al.*, 2013., Winuprasith *et al.*, 2015) ซึ่งข้อดีของการใช้เซลลูโลสเป็นสารอิมัลซิไฟเออร์และสารให้ความคงตัว คือ ไม่ทำให้อาหารเสียสภาพ ทนต่อกระบวนการฆ่าเชื้อในการใช้ความร้อนสูง ทำให้ใช้กับอาหารค่อนข้างหลากหลาย ไม่ว่าจะเป็นอาหารที่ต้องผ่านการสเตอริไรเซชั่น (Sterilization) หรืออาหารที่ใช้อุณหภูมิต่ำ เช่น ไอศกรีม

2) สารทดแทนไขมัน (Fat replacer)

การลดปริมาณไขมันในอาหารเริ่มมีความสนใจตั้งแต่ในปี 1970 และในปัจจุบันผู้บริโภคได้คำนึงถึงปริมาณพลังงานและไขมันที่ได้จากอาหารมากยิ่งขึ้น ทำให้เกิดการพัฒนาสารทดแทนไขมันชนิดต่าง ๆ ขึ้นมามากขึ้น ซึ่งเซลลูโลสสามารถใช้เป็นสารทดแทนไขมันได้ งานวิจัยของ Turbak *et al.*, (1983) ได้นำเซลลูโลสมาใช้เป็นสารทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์น้ำสลัด เพื่อให้ผลิตภัณฑ์มีแคลอรี่ต่ำ และพบว่า น้ำสลัดที่ได้มีความคงตัวค่อนข้างดี มีสีและเนื้อสัมผัสใกล้เคียงกับสูตรมาตรฐาน และงานวิจัยของ Gibis *et al.*, (2015) ได้นำเซลลูโลสมาทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ประเภทอิมัลชัน เช่น ไส้กรอก แฮมเบอร์เกอร์ เป็นต้น ซึ่งพบว่าสามารถลดไขมันลงจากสูตรมาตรฐานได้ถึงร้อยละ 10 นอกจากนี้ยังช่วยเพิ่มความฉ่ำน้ำ (Juiciness) มากกว่าสูตรมาตรฐานและยังให้ความรู้สึกในปาก (Mouth feel) คล้ายไขมัน แต่ก็มีข้อจำกัดสำหรับการใช้เซลลูโลสเช่นเดียวกัน คือ เนื่องจากเซลลูโลสมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูง จึงมีปริมาณน้ำในอาหารสูงด้วย ทำให้ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (Water activity, a_w) ของอาหารเพิ่มสูงขึ้น มีผลทำให้อายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์สั้นลง

3) เส้นใยอาหาร (Dietary fiber)

เป็นอีกคุณสมบัติหนึ่งของเซลลูโลสคือ เป็นเส้นใยที่ไม่ละลายน้ำ (Insoluble dietary fiber) ซึ่งร่างกายไม่สามารถย่อยได้ คุณสมบัตินี้จึงนำมาเป็นส่วนประกอบของอาหาร และยาสำหรับผู้ป่วยที่มีปัญหาเกี่ยวกับระบบขับถ่าย ในการนำไปใช้กับผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์ พบว่า ทำให้ผลิตภัณฑ์มีไขมันลดลงถึงร้อยละ 30 และทำให้ผลิตภัณฑ์เนื้อสัตว์มีใยอาหารเพิ่มสูงขึ้นจากเซลลูโลสที่ผสมในอาหาร

(Gibis *et al.*, 2015) การนำเซลลูโลสมาใช้ในอาหารนั้นสามารถใช้ได้หลายวัตถุประสงค์ในคราวเดียวกัน

4) บรรจุภัณฑ์อาหาร (Food packaging)

บรรจุภัณฑ์อาหารถือเป็นสิ่งสำคัญและจำเป็นในการขนส่งจากแหล่งผู้ผลิตไปยังผู้บริโภค หรือเป็นประโยชน์ในการป้องกันการปนเปื้อนจากสารเคมีหรือจุลินทรีย์หลังฆ่าเชื้อ เพื่อให้อาหารมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค รวมทั้งป้องกันการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ สามารถเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ได้ในระยะเวลานาน ดังนั้น การออกแบบและการบรรจุภัณฑ์จึงมีบทบาทสำคัญในอุตสาหกรรมอาหาร คุณสมบัติของบรรจุภัณฑ์ควรมีดังนี้ ทนต่อแรงดึง (Tensile strength) มีความปลอดภัย และสิ่งสำคัญที่สุดคือต้องช่วยยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร คุณสมบัติที่ห้ามมีในบรรจุภัณฑ์คือ การซึมผ่านของอากาศ หรือความชื้น ซึ่งเซลลูโลสนั้นมีคุณสมบัติที่เหมาะสมในการนำมาประยุกต์ใช้เป็นบรรจุภัณฑ์ เนื่องจากเซลลูโลสมีความแข็งแรง เป็นมิตรต่อสิ่งแวดล้อม (Azeredo, 2009) งานวิจัยของ George *et al.*, (2011) ได้ทำการเติมเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 4 ลงในแผ่นฟิล์มโพลีไวนิลแอลกอฮอร์ (Polyvinyl alcohol, PVA) พบว่า มีส่วนช่วยให้ฟิล์มมีค่าความทนทานต่อแรงดึงและค่ายังมอดูลัสเพิ่มขึ้น 2 เท่า เมื่อเทียบกับฟิล์มโพลีไวนิลแอลกอฮอร์บริสุทธิ์ สำหรับคุณสมบัติในการลดการแลกเปลี่ยนก๊าซกับสิ่งแวดล้อมนั้น Tome *et al.*, (2010) และ Belbekhouche *et al.*, (2011) พบว่า การเติมเซลลูโลสลงในฟิล์มจะช่วยลดการซึมผ่านของน้ำ โดยเฉพาะเซลลูโลสนาโนไฟบริล (Cellulose nanofibril, CNFs) มีประสิทธิภาพดีกว่าผลึกนาโนเซลลูโลส (Cellulose nanocrystals, CNCs) เนื่องจากฟิล์ม CNFs มีรูพรุนน้อยกว่า สำหรับ Li *et al.*, (2015) พบว่าการใช้ CNCs เป็นสารเคลือบโพลีเมอร์อีกชนิดหนึ่งที่นำมาทำบรรจุภัณฑ์ เช่น พอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (Polyethylene terephthalate, PET) มีผลในการช่วยลดการแลกเปลี่ยนออกซิเจนกับสิ่งแวดล้อม โดยที่ฟิล์มที่ได้ยังคงความใส นอกจากนี้เซลลูโลสยังถูกนำมาทำบรรจุภัณฑ์ต้านจุลินทรีย์ หรือที่เรียกว่า Antimicrobial packaging งานวิจัยของ Lavoine *et al.*, (2014) ได้ใช้ CNFs เคลือบสารต้านจุลินทรีย์ คือ คลอร์เฮกซิดีน (chlorhexidine, CHX) พบว่า มีคุณสมบัติในการต้านจุลินทรีย์ได้นานถึง 45 วัน ดังนั้นเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถนำมาประยุกต์ในด้านอุตสาหกรรมอาหารได้หลายอย่าง แสดงดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 การประยุกต์ใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียในอาหารชนิดต่าง ๆ

ชนิดของเซลลูโลส	หน้าที่ในการเป็นส่วนประกอบ	ประเภท
แบคทีเรียเซลลูโลส	อิมัลซิไฟเออร์	ซูริมิ
คาร์บอกซีเมทิลเซลลูโลส	สารเพิ่มหนืดและความคงตัว	แป้งโด
ไฮดรอกซีโพรพิลเมทิลเซลลูโลส	เพิ่มลักษณะทางด้านเนื้อสัมผัส	วิปครีม
เมทิลเซลลูโลส	ยืดอายุการเก็บรักษา	ไข่

ที่มา : Esa *et al.*, (2014)

2.6 การทำแห้ง (Dehydration)

เป็นการใช้ความร้อนภายใต้สภาวะควบคุมเพื่อกำจัดน้ำส่วนใหญ่ที่อยู่ในอาหารโดยการระเหยน้ำ หรือระเหิดของแข็งในการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาอาหาร โดยลดค่าวอเตอร์เอกติวิตี (Water activity: a_w) ซึ่งมีผลในการยับยั้งการเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร ทำให้สะดวกต่อการบรรจุภัณฑ์ เก็บรักษา และการขนส่งให้กับผู้บริโภค

2.6.1 หลักการพื้นฐานของการทำแห้ง (Basic principle of dehydration)

สิ่งที่มีบทบาทสำคัญต่อการทำแห้งผลิตภัณฑ์ คือ น้ำที่มีอยู่ในอาหาร โดยทั่วไปน้ำที่เกี่ยวข้องกับอาหารแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ดังนี้

1) โมเลกุลของน้ำที่ยึดติดกับพันธะอิออนิก (a_w : 0-0.25)

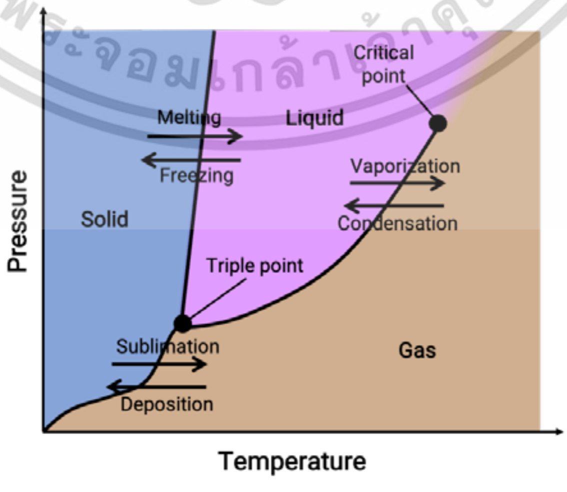
2) โมเลกุลของน้ำที่ยึดติดกับพันธะโควาเลนท์ (a_w : 0.25-0.75)

3) โมเลกุลของน้ำอิสระที่อยู่ในช่องว่างระหว่างเซลล์ (a_w : 0.75-1.0)

ระดับความยากง่ายของการกำจัดน้ำออกจะแตกต่างกันขึ้นอยู่กับคุณสมบัติทางเคมี ทางกายภาพ และการยึดเกาะของน้ำในอาหาร (ปิยรัตน์, 2551)

2.6.2 การทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry) (ศิริเพ็ญ, 2550)

เป็นการเปลี่ยนน้ำที่อยู่ในตัวอย่างซึ่งเป็นของเหลวให้อยู่ในรูปผนึกน้ำแข็งที่อยู่ในสถานะของแข็ง (freezing) หลังจากนั้นจะลดความดันของสภาพแวดล้อมให้ต่ำกว่าจุดร่วมสาม (Triple point) ของน้ำ ซึ่งเป็นจุดที่น้ำทั้ง 3 สถานะ คือ ของแข็ง (solid) ของเหลว (liquid) และก๊าซ (gas) อยู่ร่วมกันเพื่อให้ผลึกน้ำแข็งเกิดการระเหิด (Sublination) โดย Triple point มีอุณหภูมิเท่ากับ หรือต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส และมีความดันเท่ากับ 4.58 มิลลิเมตรปรอท ซึ่งจะทำให้ผนึกน้ำแข็งในตัวอย่างเกิดการระเหิด ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 แผนภาพวัฏภาคของน้ำ (Phase diagram for water)

ที่มา : Lumen Learning (2020)

การทำแห้งแบบแช่แข็งจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอนคือ การแช่แข็ง และการทำแห้ง ในส่วนของการแช่แข็งจะเป็นการทำให้ผลิตภัณฑ์เปลี่ยนสถานะเป็นของแข็ง ซึ่งการแช่แข็งแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือการแช่แข็งแบบรวดเร็ว เป็นการทำให้ผลิตภัณฑ์แข็งภายใน 30 นาทีหรือน้อยกว่านั้นโดยที่ใช้อุณหภูมิอยู่ที่ -18 องศาเซลเซียส ถึง -40 องศาเซลเซียส สำหรับการแช่แข็งแบบช้า เป็นการทำให้ผลิตภัณฑ์แข็งภายใน 3 ถึง 72 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ -15 องศาเซลเซียส ซึ่งกระบวนการทำแห้งนี้จะนิยมใช้การแช่แข็งแบบรวดเร็ว เนื่องจากสามารถหยุดการทำงานของเอนไซม์และการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ดีกว่าและมีผลึกของน้ำแข็งเล็กกว่า ซึ่งการเกิดผลึกน้ำแข็งที่เร็วโอกาสที่โมเลกุลในผลิตภัณฑ์เคลื่อนที่น้อย หากผลิตภัณฑ์ประกอบด้วยน้ำตาล เกลือ หรือความเป็นกรดสูง นิยมใช้อุณหภูมิในการแช่แข็งประมาณ -40 องศาเซลเซียส หลังจากแช่แข็งเป็นที่เรียบร้อย เข้าสู่กระบวนการทำแห้งโดยอาศัยกระบวนการระเหิดมี 2 กระบวนการคือ การลดความดันโดยรอบของชิ้นผลิตภัณฑ์ให้ต่ำลงและการเพิ่มอุณหภูมิให้แก่ชั้นน้ำแข็ง (Freezing core) ในผลิตภัณฑ์ โดยที่อุณหภูมิจะต้องไม่สูงเกินกว่า Freezing point ของน้ำแข็ง การระเหิดเพื่อทำแห้งในกระบวนการนี้จะเกิดบริเวณที่ชิ้นของผลิตภัณฑ์ที่เป็นน้ำแข็งเท่านั้น ไอน้ำที่ระเหิดจะซึมผ่านชั้นแห้งออกสู่ภายนอก ซึ่งข้อดีและข้อเสียของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งดังตารางที่ 2.4 ศิริเพ็ญ (2550) ศึกษากระบวนการทำแห้งเซลลูโลสที่ผลิตจาก *Acetobacter xylinum* โดยวิธีสุญญากาศและการแช่เยือกแข็ง พบว่าการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็งทำให้เซลลูโลสที่ได้มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ และความสามารถในการกระจายตัวสูงกว่า เมื่อเทียบกับการทำแห้งแบบสุญญากาศ

ตารางที่ 2.4 ข้อดีและข้อเสียของการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze dry)

ข้อดี	ข้อเสีย
1. มีการเคลื่อนที่ของโมเลกุลในผลิตภัณฑ์น้อย ทำให้ความเสียหายของโครงสร้างและการหดตัวน้อยที่สุด	1. ต้นทุนในการทำแห้งค่อนข้างสูง ต้องมีเครื่องเฉพาะสำหรับการทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง
2. สูญเสียคุณค่าทางโภชนาการค่อนข้างต่ำ	
3. สามารถรักษากลิ่นรส สี และรูปร่างใกล้เคียงกับก่อนทำแห้ง	

ที่มา : ศิริเพ็ญ (2550)

2.7 ผลิตภัณฑ์กุนเชียง

กุนเชียง (Chinese sausage) มีการผลิตและบริโภคเริ่มตั้งแต่ปีคริสต์ศักราช 420 ในประเทศจีน นอกจากนี้ยังมีประเทศไทย มาเลเซีย สิงคโปร์ ที่มีการบริโภคกุนเชียงเช่นเดียวกัน โดยแต่ละประเทศจะมีสูตรการทำกุนเชียงค่อนข้างแตกต่างกันขึ้นอยู่กับวัฒนธรรมท้องถิ่นของประเทศนั้น ๆ ในสูตรดั้งเดิมของประเทศจีนนั้นจะใช้เนื้อหมูในการผลิตกุนเชียง แต่ในปัจจุบันก็มีการดัดแปลงนำ

เนื้อสัตว์ชนิดอื่น ๆ มาทำกุนเชียง เช่น เนื้อแพะ เนื้อกวาง และเนื้อไก่ เป็นต้น (กมลวรรณ, 2554) กุนเชียงนั้นถูกจัดว่าเป็นผลิตภัณฑ์อาหารแปรรูป โดยการนำเนื้อหมูหรือเนื้อสัตว์มาบดและผสมกับไขมันสัตว์ เครื่องปรุง เช่น น้ำตาล เกลือ ซีอิ้ว และนำมายัดใส่ไส้หมู ที่ทำความสะอาดและเก็บรักษาอย่างถูกคุณลักษณะ หรือไส้เทียม (regenerated collagen) จากนั้นนำไปทำให้แห้งโดยใช้ลมร้อนหรือวิธีอื่นที่เหมาะสม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2555)

สำหรับประเทศไทยกุนเชียงเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีการผลิตเพื่อการบริโภคและจำหน่ายมากอีกชนิดหนึ่ง กุนเชียงที่มีคุณภาพดีและเป็นที่ต้องการของผู้บริโภคนั้นจะต้องมีสีสันที่สวยงาม มีความคงตัวของผลิตภัณฑ์ สามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานานโดยไม่มีกลิ่นเหม็นหืนและเน่าเสีย ส่วนการเสื่อมเสียนั้นจะเกิดจากไขมันและโปรตีน (เยาวลักษณ์, 2536) ซึ่งไขมันก็มีส่วนสำคัญต่อผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยจะทำให้กุนเชียงมีความนุ่มและชุ่มฉ่ำน่ารับประทาน กุนเชียงหมูที่ผลิตออกมาจำหน่ายจะต้องผ่านมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของกุนเชียงหมู คือ ผลิตภัณฑ์ในภาชนะบรรจุเดียวกันต้องมีรูปทรงเดียวกันและมีขนาดใกล้เคียงกัน ผิวไม่แตกหรือฉีกขาด เนื้อสัมผัสต้องแน่น คงรูป ไม่แข็งกระด้างหรือยุ่ย เนื้อหมูกับมันหมูผสมกันอย่างทั่วถึง ไม่รวมกลุ่มเป็นก้อน ไม่มีมันเยิ้มออกมาภายนอก อาจมีโพรงอากาศเล็กน้อย สีผลิตภัณฑ์ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของกุนเชียง มีกลิ่นรสที่ดีตามธรรมชาติ หรือต้องไม่มีกลิ่นรสไม่พึงประสงค์ เช่นกลิ่นอับ กลิ่นหืน รสเปรี้ยว เป็นต้น และต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบในการผลิตกุนเชียง ปริมาณโปรตีนต้องไม่น้อยกว่าร้อยละ 15 โดยน้ำหนัก ปริมาณไขมันต้องไม่เกินร้อยละ 30 โดยน้ำหนัก ค่าวอเตอร์แอกติวิตีต้องน้อยกว่า 0.86 เนื่องจากค่าวอเตอร์แอกติวิตี เป็นปัจจัยที่บ่งบอกระดับปริมาณน้ำอิสระที่เชื้อจุลินทรีย์ใช้ในการเจริญเติบโต สำหรับวัตถุเจือปนในกุนเชียง ห้ามใช้สีสังเคราะห์ทุกชนิด หากใช้วัตถุกันเสียควรใช้ในปริมาณที่กฎหมายกำหนด เป็นต้น และจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดจะต้องน้อยกว่า 1×10^2 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2555)

2.7.1 บทบาทของไขมันในด้านอาหาร

ไขมันเป็นสารอาหารประเภทหนึ่งที่ร่างกายต้องการและมีประโยชน์ เป็นแหล่งพลังงานให้แก่ร่างกาย ช่วยในการละลายและดูดซึมวิตามินต่าง ๆ เป็นต้น ไขมันนอกจากจะให้ประโยชน์แก่ร่างกายแล้ว ไขมันยังมีความสำคัญในด้านของการผลิตผลิตภัณฑ์อาหารอีกด้วย ซึ่งไขมันมีความสำคัญในเรื่องของเนื้อสัมผัส กลิ่นรส ความชุ่มฉ่ำ รสชาติ และการเก็บรักษาของอาหารนั้น ๆ (Izidoro *et al.*, 2007; Murphy *et al.*, 1999; Mun *et al.*, 2009) ขณะเดียวกันไขมันสามารถทำให้เกิดผลเสียต่ออาหารได้ดังนี้ (กาญจนา และสิทธิศักดิ์, 2542)

1) การทำให้เกิดสี

ไขมันในเนื้อสัตว์มักรวมอยู่กับโปรตีน เมื่อไขมันถูกออกซิเจนทำให้เหล็กเฟอรัส (ferrous iron) ในไมโอโกลบิน (myoglobin) ที่มีในกล้ามเนื้อสัตว์เกิดการเติมออกซิเจนเร็วขึ้น และเปลี่ยนเป็นเมทไมโอโกลบิน (metmyoglobin) ทำให้เนื้อสัตว์เปลี่ยนสีเป็นสีน้ำตาล การเปลี่ยนแปลงนี้เกิดขึ้นเร็ว

มากในเนื้อสัตว์ที่ถูกทำแห้ง น้ำมันหมูก็เป็นเช่นเดียวกันหากใช้อุณหภูมิในการทอดมันหมูสูงเกินไปจะทำให้สีของน้ำมันเข้มมากขึ้น ซึ่งเกิดจากการสลายตัวของโปรตีนและคาร์โบไฮเดรตหรืออาจมีสีเหลืองเข้มหรือสีแดงเมื่อนำน้ำมันหมูไปประกอบอาหาร (กาญจนา และสิทธิศักดิ์, 2542)

2) การทำให้อาหารมีกลิ่นรสผิดปกติ

กลิ่นที่เกิดจากไขมันในอาหารมี 3 สาเหตุคือ กลิ่นที่เกิดจากสารที่มีอยู่แล้วในไขมัน กลิ่นของสารที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงทางเคมี และกลิ่นที่เกิดจากกระบวนการทำให้น้ำมันบริสุทธิ์ ซึ่งกลิ่นที่เกิดจากสารที่มีอยู่แล้วในไขมัน เกิดขึ้นจากวัตถุดิบที่มีไขมันเป็นองค์ประกอบ เช่น แป้งถั่วเหลืองไขมันเต็ม (Full fat soybean) ถั่วลิสงคั่ว งาคั่ว น้ำมันหมู เนื้อสัตว์ เป็นต้น เนื่องจากวัตถุดิบเหล่านี้มีองค์ประกอบของไขมันหลายชนิด เช่น เทอร์ปีน (Terpene) ฟอสโฟลิปิด (Phospholipid) น้ำมันและไขมัน เป็นต้น ซึ่งพบว่าสารฟอสโฟลิปิดจะทำให้เนื้อสัตว์มีกลิ่นผิดปกติแม้ว่าเนื้อสัตว์นั้นมีไขมันต่ำ (กาญจนา และสิทธิศักดิ์, 2542)

2.8 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กาญจนา และ สิทธิศักดิ์ (2542) ศึกษาความเป็นไปได้ในการใช้เซลลูโลสแทนไขมันสัตว์ในกุนเชียง พบว่า การเติมเซลลูโลสร้อยละ 40 ของมันแข็งที่ใช้ ทำให้กุนเชียงที่ได้ไม่มีความแตกต่างจากกุนเชียงทั่วไป เมื่อนำมาทำการทดสอบผู้บริโภค พบว่าได้คะแนนลักษณะความนุ่ม 3.45 ความมันในเนื้อ 3.55 ความแน่นในเนื้อ 3.55 และการยอมรับ 3.65 คะแนนจากคะแนนเต็ม 5 ของแต่ละด้าน แต่การเติมเซลลูโลสลงในกุนเชียงนั้นทำให้ผลิตภัณฑ์กุนเชียงมีความชื้นสูงถึงร้อยละ 30.29 ซึ่งสูงกว่ามาตรฐาน (ต้องน้อยกว่าร้อยละ 30) เมื่อทำการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียงไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส พบว่า จุลินทรีย์เจริญเติบโตได้อย่างช้า ๆ เนื่องจากผลิตภัณฑ์มีความชื้นอยู่สูง ดังนั้นอายุการเก็บรักษาของกุนเชียงที่เติมเซลลูโลสมีระยะเวลาการเก็บรักษาสั้นกว่าที่ไม่เติมเซลลูโลส ซึ่งสามารถเก็บรักษาได้มากกว่าหรืออย่างน้อย 19 วัน โดยไม่แสดงลักษณะการเสื่อมเสียจากจุลินทรีย์

สุทธินี และคณะ (2561) ศึกษาผลของสารทดแทนไขมันต่อคุณสมบัติทางกายภาพของปลาเชียงที่ผลิตจากปลาน้ำจืด จากการสำรวจปลาเชียงทางการค้า 4 ยี่ห้อ พบว่าปลาเชียงส่วนใหญ่มีปริมาณไขมันสูงประมาณร้อยละ 30-40 ซึ่งส่วนใหญ่ใช้ไขมันสัตว์เป็นส่วนผสม ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้น้ำมันพืชแทนไขมันสัตว์ในการผลิตปลาเชียง และศึกษาผลของการใช้สารทดแทนไขมันในปลาเชียงที่ผลิตจากปลานวลจันทร์เทศร่วมกับปลายี่สกในอัตราส่วนร้อยละ 70:30 โดยน้ำหนัก แปรผันชนิดและปริมาณของสารทดแทนไขมันต่าง ๆ ดังนี้ คาราจีแนนผสมแซนแทนกัม (อัตราส่วน 1:1) ร้อยละ 0.4, 0.6 และ 0.8 (0.4CX, 0.6CX และ 0.8CX)แป้งมันฝรั่งร้อยละ 2, 4 และ 6 (2PF, 4PF และ 6PF) โปรตีนสกัดจากถั่วเหลืองร้อยละ 0.4, 0.6และ 0.8 (0.4SP, 0.6SP และ 0.8SP) และไข่ขาวผงร้อยละ 0.5, 1.0 และ 1.5 (0.5EW, 1.0EW และ 1.5EW) พิจารณาค่าแรงเฉือนด้วยเครื่องวัดเนื้อสัมผัสและทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยทดสอบความชอบด้านลักษณะปรากฏในปลาเชียง พบว่าปลาเชียงที่

ผสมคาราจีแนนร่วมกับแซนแทนกัม แป้งมันฝรั่ง และไข่ขาวผงที่ปริมาณต่าง ๆ กัน มีค่าแรงเฉือนและคะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) อย่างไรก็ตามปลาเชียงสูตร 6PF, 0.8SP และ1.0EW มีเนื้อสัมผัสที่นุ่มที่สุด (ค่าแรงเฉือน 1,470.00±24.00, 1,105.24±48.01 และ1,364.31±41.61 กรัม ตามลำดับ) ในขณะที่ปลาเชียงสูตร 0.4CX มีคะแนนความชอบมากที่สุด จึงนำปลาเชียงทั้ง 4 สูตร (0.4CX, 6PF, 0.8SP และ 1.0EW) มาทดสอบความชอบด้านต่าง ๆ และเรียงลำดับความชอบ (preference ranking test) เปรียบเทียบกับสูตรควบคุม (CT) พบว่าผู้ทดสอบชอบปลาเชียงสูตร 6PF และ 0.8SP มากที่สุด ดังนั้นจึงนำทั้ง 2 สูตรมาทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค ทางด้านลักษณะปรากฏ สี รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของปลาเชียงทอด พบว่าผู้บริโภคให้คะแนนความชอบของทุกคุณลักษณะไม่ต่างกันทางสถิติ ($p>0.05$) แต่เมื่อให้ผู้ทดสอบเปรียบเทียบตัวอย่างคู่เพื่อหาความชอบ (paired preference test) พบว่า ผู้ทดสอบเลือกสูตร 0.8SP มากที่สุด จึงนำสูตร 0.8SP มาศึกษาต่อในด้านคุณสมบัติทางกายและทางเคมี พบว่ามีปริมาณโปรตีน ไขมัน เถ้า ไฟเบอร์ และความชื้น เท่ากับร้อยละ 21.14±0.89, 15.55±1.90, 4.24±0.06, 0.40±0.08 และ 23.09±0.43 ตามลำดับ ปริมาณคอเลสเตอรอล 54.93 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และไขมันทรานส์ 0.01 กรัมต่อ 100 กรัม ค่าปริมาณน้ำอิสระ (a_w) และค่าความเป็นกรดด่าง (pH) เท่ากับ 0.80±0.02 และ 6.61±0.04 ตามลำดับ จากนั้นนำไปศึกษาการเก็บรักษาปลาเชียงในถุงพลาสติกชนิดพอลิเอทิลีนเทเรฟทาเลต (Polyethylene terephthalate, PET) ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส นาน 24 สัปดาห์ พบว่า ปลาเชียงสูตร 0.8SP มี pH 6.55-6.81 ร้อยละความชื้น 22.12-24.25 และ a_w 0.78-0.80 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p>0.05$) กับปลาเชียงก่อนการเก็บรักษา และผลการวิเคราะห์ทางจุลชีววิทยาอยู่ในเกณฑ์กำหนด ของมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (กระทรวงอุตสาหกรรม) เรื่องกุนเชียงปลา (มผช.104/2555) เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษานานขึ้นค่าแรงเฉือนมีค่าเพิ่มขึ้น แต่ผู้ทดสอบยังให้คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม อยู่ในระดับชอบเล็กน้อยถึงชอบปานกลาง ดังนั้นปลาเชียงสูตร 0.8SP มีคุณภาพที่ดีในช่วงการเก็บรักษาที่อุณหภูมิ 4±1 องศาเซลเซียส นาน 24 สัปดาห์

Lin และ Lin (2004) ศึกษาคุณภาพของลูกชิ้นที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ พบว่าลูกชิ้นที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียในระดับต่าง ๆ จะสูญเสียน้ำหนักหลังการทำให้สุก (cooking losses) สูงกว่าลูกชิ้นที่เป็นชุดควบคุม (ซึ่งไม่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบ และมีไขมันร้อยละ 20) ก่อนทำให้สุกลูกชิ้นที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียจะมีความสามารถในการอุ้มน้ำสูงกว่าลูกชิ้นชุดควบคุม แต่เมื่อลูกชิ้นที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียถูกทำให้สุก จะมีความสามารถในการอุ้มน้ำต่ำกว่าลูกชิ้นชุดควบคุม ลูกชิ้นที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 10 (N10) และลูกชิ้นชุดควบคุม (C20) จะมีคะแนนด้านความยืดหยุ่น (springiness) สูงสุด ลูกชิ้นที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียเป็นองค์ประกอบในปริมาณสูงจะมีค่าความแข็ง (hardness) และค่าแรงเฉือน (Shear-force) สูงกว่า

ลูกชิ้นชุดควบคุม ลูกชิ้นที่มีเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 10 จะมีคะแนนยอมรับด้านเนื้อสัมผัสสูง ดังนั้นเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถใช้เป็นส่วนประกอบอาหารชนิดใหม่ (Functional ingredient) ในลูกชิ้นได้และจัดเป็นอาหารฟังค์ชั่น (Functional food)

Akoglu และคณะ (2015) ศึกษาผลของการใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียซึ่งหมักจากเชื้อ *Gluconacetobacter* sp. A0602 ทดแทนไขมันในไส้กรอกตุรกี (Sucuk) พบว่า ไส้กรอกที่ใช้เซลลูโลสปริมาณมากในการทดแทนไขมัน มีผลทำให้ไส้กรอกที่ได้มีความชื้นและปริมาณโปรตีนสูงขึ้นและทำให้ความแข็งของไส้กรอกเพิ่มขึ้น แต่ไม่มีผลต่อค่าความเหนียว (gumminess) และค่าการเคี้ยว (chewiness) ของไส้กรอก การลดปริมาณไขมันในไส้กรอกมีผลทำให้ค่าสี a และ b เพิ่มขึ้น แต่ค่า L ลดลง แต่ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($P > 0.05$) จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไส้กรอก พบว่า คะแนนด้านกลิ่น สี เนื้อสัมผัส และการยอมรับโดยรวมในตัวอย่างไส้กรอกไม่แตกต่างกันทางสถิติ งานวิจัยนี้แสดงให้เห็นว่าการใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถทดแทนไขมันในการผลิตไส้กรอกที่มีไขมันต่ำได้

Akoglu และคณะ (2018) ศึกษาผลของการใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียทดแทนไขมันในมายองเนสที่มีไขมันต่ำ พบว่า การใช้เซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 0.25, 0.50, 0.75, 1.0 และ 2.0 ทดแทนไขมันในมายองเนส ทำให้มายองเนสที่ได้มีปริมาณน้ำมัน (oil content) ลดลงร้อยละ 60-75 สำหรับมายองเนสที่เป็นชุดควบคุมมีค่าพีเอชต่ำกว่าและค่าความหนืด (viscosity) สูงกว่ามายองเนสที่ผสมกับเซลลูโลสจากแบคทีเรีย จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า มายองเนสทุกชุดการทดลองไม่มีความแตกต่างทางสถิติทางด้านกลิ่น ความเป็นน้ำมัน และรสชาติหลังการสัมผัสทดสอบประสาท ดังนั้นเซลลูโลสจากแบคทีเรียสามารถใช้ทดแทนไขมันในการผลิตมายองเนสที่มีไขมันต่ำได้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินงาน

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 เชื้อจุลินทรีย์

3.1.1.1 *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

3.1.2.1น้ำมะพร้าวแก่ (ตลาดวัดตะกล่ำ เขตประเวศ จังหวัดกรุงเทพมหานคร)

3.1.3 วัตถุดิบที่ใช้ผลิตกุนเชียง

3.1.3.1 หมูเนื้อแดง

3.1.3.2 มันหมูแข็ง

3.1.3.3 ไส้หมูสังเคราะห์

3.1.3.4 เกลือ

3.1.3.5 ผงพะโล้

3.1.3.6 ไนไตรท์

3.1.3.7 ซอสปรุงรส

3.1.3.8 น้ำตาลทราย

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์และเซลล์ไลน์

3.1.4.1 อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

3.1.4.2 อาหารสูตร Glucose-Yeast extract-Calcium carbonate Agar (GYC)

3.1.4.3 อาหารสูตร Plate count agar (PCA)

3.1.4.4 อาหารสูตร Potato dextrose agar (PDA)

3.1.4.5 อาหารสูตร Dulbecco's Modified Eagle Medium (DMEM)

3.1.4.6 อาหารสูตร Roswell Park Memorial Institute (RPMI)

3.1.5 สารเคมีที่ใช้ในการทดลอง

3.1.5.1 กรดอะซิติกเข้มข้น (Acetic acid) (CARLO ERBA Reagents, France)

3.1.5.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) (Ajax FineChem, Australia)

3.1.5.3 เอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 95 (Extra natural alcohol) (องค์การสุรา กรมสรรพสามิต, ประเทศไทย)

3.1.5.4 แอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate) (Ajax FineChem, Australia)

3.1.5.5 แคลเซียมคาร์บอเนต (Calcium carbonate) (Sisco Research Laboratories, India)

3.1.5.6 ปิโตรเลียมอีเทอร์จุดเดือด 40-60 องศาเซลเซียส (Petroleum Ether 40-60 °C) (AppliChem Panreac ITW, Spain)

3.1.5.7 สารผสมระหว่างโพแทสเซียมซัลเฟตกับคอปเปอร์ซัลเฟต (Potassium Sulfate and Copper Sulfate) (Gerhardt Analytical Systems, Germany)

3.1.5.8 กรดบอริก (Boric acid)

3.1.5.9 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid)

3.1.5.10 เมทิลเรด (Methyl red)

3.1.5.11 สารละลายอินดิเคเตอร์ผสมระหว่างโบรโมครีซอลกรีนกับเมทิลเรด (Mix indicator)

3.1.5.12 น้ำตาลกลูโคส (Glucose)

3.1.5.13 สารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)

3.1.5.14 ผงวุ้น (Agar)

3.1.5.15 สารละลายฟอสเฟตบัฟเฟอร์ (Phosphate buffer)

3.1.5.16 อะซิโตน (Acetone)

3.1.5.17 ซีรัมของตัวอ่อนลูกวัว (Fetal bovine serum)

3.1.5.18 สารละลาย MTT (3-(4,5-dimethylthiazol-2-yl)-2,5 diphenyltetrazolium bromide)

3.1.5.19 สารละลายไดเมธิลซัลฟอกไซด์ (Dimethyl sulfoxide)

3.1.5.20 สารละลายโซเดียมโดดีซิลซัลเฟต (Sodium dodecyl sulfate)

3.1.5.21 กรดซัลฟิวริกเข้มข้น (Sulfuric acid)

3.1.5.22 กรดไทโอบาบิทูริก (Thiobarbituric acid)

3.1.5.23 สารมาตรฐานของมาลอนดีไฮด์ (Malonaldehyde : MDA)

3.1.5.24 สารละลายบิวทิลเลตไฮดรอกซีแอนิซอล (Butylated hydroxyanisole : BHA)

3.1.5.25 สารละลายกรดไตรคลอโรอะซิติก (Trichloroacetic Acid : TCA)

3.1.6 เครื่องมือและอุปกรณ์

3.1.6.1 ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) (Memmert, IN 110, Germany)
3.1.6.2 ตู้เขี่ยเชื้อ (Laminar flow) (Astec Microflow, ABS 1200, UK)
3.1.6.3 ตู้แช่แข็ง -20 องศาเซลเซียส (SANYO, Japan)
3.1.6.4 ตู้แช่แข็ง -80 องศาเซลเซียส (Thermo Scientific, FORMA 900 Series, USA)
3.1.6.5 ตู้บ่มเชื้อ 30 องศาเซลเซียส (Incubator) (Memmert, INB 500, Germany)
3.1.6.6 เครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (freeze drier) (Heto, LyoLab 3000, Denmark)
3.1.6.7 เครื่องชั่งน้ำหนักสี่ตำแหน่ง (Balance) (Sartorius, BSA 224S-CW, Germany)
3.1.6.8 เครื่องสเปกโทรโฟโตมิเตอร์ (Spectrophotometer)
3.1.6.9 เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (HERMLE Labortechnik GmnH, D-785564, Germany)
3.1.6.10 เครื่องวัดสี (Mini Scan FZ) (HunterLab, MSEZ2188, USA)
3.1.6.11 เครื่องวัดเนื้อสัมผัส (Texture Analyser) (Lloyd Instruments Ltd Fareham, England)
3.1.6.12 ดิจิตอลเวอร์เนียร์คาลิปเปอร์ (Mitutoyo, Japan)
3.1.6.13 เครื่องบดผง (pin mill)
3.1.6.14 เครื่องอัดรีดน้ำ
3.1.6.15 เครื่องปั่นอเนกประสงค์ (Blender) (Federal electric, EM-ICE 2, Thailand)
3.1.6.16 เครื่องวัดปริมาณน้ำอิสระ (Water activity, a_w) (AquaLab, USA)
3.1.6.17 เครื่องย่อยโปรตีน (Protein analyser) (Gerhardt, Germany)
3.1.6.18 เครื่องระเหยสารสุญญากาศ (Rotary evaporator) (Heidolph, Germany)
3.1.6.19 ไมโครปิเปตขนาด 10-100 ไมโครลิตร (Eppendorf, Germany)
3.1.6.20 ไมโครปิเปตขนาด 100-1,000 ไมโครลิตร (Thermo Scientific, USA)
3.1.6.21 โถดูดความชื้น (Desiccators)
3.1.6.22 ขวดรูปชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask) (PYREX, Germany)

3.1.6.23 ขวดรูปชมพูขนาด 1000 มิลลิลิตร (Erlenmeyer flask) (PYREX, Germany)
3.1.6.24 ขวดดูแรนขนาด 500 มิลลิลิตร (Duran Bottle) (Duran, Germany)
3.1.6.25 พาสเจอร์ปิเปต (Pasture pipette) (HBG Henneberg-Sander GmbH, Germany)
3.1.6.26 กระบอกตวง (Graduated cylinder) (VITLAB, Germany)
3.1.6.27 หลอดทดลอง (Test tube) (Pyrex, USA)
3.1.6.28 ตะแกรงร่อน (Sieve) (Endecotts, UK)
3.1.6.29 จานเพาะเชื้อ (Petri dish)
3.1.6.30 กระดาษวัดพีเอช (Universal Indicator) (Darmstadt, Germany)
3.1.6.31 หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube)
3.1.6.32 ขวดก้นกลม (Round bottom flask) (Duran, Germany)
3.1.6.33 ถ้วยกระเบื้องเคลือบ (Evaporation dish)
3.1.6.34 คอนเดนเซอร์ (Condenser tube)
3.1.6.35 หลอดสกัด (Extraction tube)
3.1.6.36 หลอดกระดาษกรอง (Extraction thimber)
3.1.6.37 หลอดย่อย (Digestion tube)
3.1.6.38 บิวเรต (Buret)
3.1.6.39 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (Water bath) (VELP Scientifica, Italy)
3.1.6.40 แท่งเหล็กกวนสาร (magnetic bar)

3.2 ขั้นตอนการดำเนินงาน

3.2.1 ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

3.2.1.1 การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976

นำเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย เลี้ยงในอาหารแข็งสูตร Glucose Yeast extract Calcium carbonate (GYC) จากนั้นเตรียมอาหารสูตรน้ำมะพร้าว ซึ่งประกอบด้วย น้ำตาลทรายร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) กรดอะซิติกร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปรับปริมาตรด้วยน้ำมะพร้าวแก่ให้อาหารมีปริมาตร 1000 มิลลิลิตร และฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น นำอาหารมาเติมเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 จำนวน 2 ลูปต่อ 100 มิลลิลิตรของอาหาร จากนั้นบ่มที่

อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน (จำนวนเชื้อ 1.80×10^5 CFU/mL) จะได้หัวเชื้อมาใช้สำหรับการหมัก

3.2.1.2 กระบวนการหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองเศษเนื้อมะพร้าวออกด้วยผ้าขาวบาง เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ความร้อนอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดอะซิติกร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และเอทานอลร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นแบ่งใส่ขวดหมักขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 90 มิลลิลิตร นำอาหารมาเติมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ซึ่งได้จากการเตรียมในหัวข้อ 3.2.1.1 ปิดปากขวดด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อและนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน ในสภาวะนิ่ง ทำการเก็บตัวอย่างทุก ๆ 2 วัน นำมาวัดความหนาของแผ่นเซลลูโลสที่ได้ด้วยเวอร์เนียคาลิปเปอร์ และผลผลิตของเซลลูโลสโดยการหาน้ำหนักแห้งของแผ่นเซลลูโลส นำแผ่นเซลลูโลสอบในตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส จนแผ่นเซลลูโลสแห้งและมีน้ำหนักคงที่ นำมาคำนวณดังสมการเพื่อหาระยะเวลาในการหมักที่ให้ผลผลิตเซลลูโลสได้สูงที่สุด และนำไปใช้ในการศึกษาต่อไป

$$\text{ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)} = \frac{\text{น้ำหนักแห้งของเซลลูโลส (กรัม)}}{\text{ปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ (ml)}} \text{X1000 ml}$$

3.2.2 ศึกษาวิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ให้ปราศจากเซลล์แบคทีเรียโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง

3.2.2.1 การหมักเซลลูโลสจากแบคทีเรีย

นำน้ำมะพร้าวแก่ เติมน้ำตาลทรายร้อยละ 5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.1 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ให้ความร้อนอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เติมกรดอะซิติกร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และเอทานอลร้อยละ 1 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นเทใส่ถาดพลาสติกขนาด 28X42.5X9.5 เซนติเมตร ปริมาณ 2,000 มิลลิลิตร ปิดด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อ และเติมหัวเชื้อร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน ซึ่งได้จากการศึกษาในหัวข้อ 3.2.1 จะได้แผ่นเซลลูโลสมาใช้ในการศึกษาต่อไป

3.2.2.2 วิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ให้ปราศจากเซลล์แบคทีเรีย โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง

ดัดแปลงวิธีการจาก Kamal *et al.*, (2020) นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักขั้นตอนที่ 3.2.2.1 ล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเชื้อออก นำมาอัดรีดน้ำด้วยเครื่องอัดรีดน้ำ จากนั้นทำแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์โดยการนำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นต่าง ๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1, 2 และ 3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นนำแผ่นเซลลูโลสใสในน้ำเดือด เป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียออก

จากแผ่นเซลลูโลส เมื่อครบเวลานำแผ่นเซลลูโลสมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนกว่าพีเอชบนแผ่นเซลลูโลสมีค่าเป็นกลาง อัดรีดน้ำออกจากแผ่นเซลลูโลสอีกครั้ง จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drier) ที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสแห้งวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของแผ่นเซลลูโลสโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM)

3.2.2.3 วิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของแผ่นเซลลูโลสด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) (Meftahi *et al.*, 2015)

นำตัวอย่างแผ่นเซลลูโลสแห้งที่ได้จากขั้นตอนข้างต้นตัดให้มีขนาด 0.50 × 1.00 เซนติเมตร เคลือบด้วยทอง จากนั้นนำไปส่องดูเซลล์แบคทีเรีย ด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) โดยใช้กำลังขยาย 5000 เท่า คัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมในการกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลส มาใช้ในการศึกษาในหัวข้อต่อไป

3.2.3 ศึกษาการผลิตผงเซลลูโลสแห้ง

โดยแบ่งออกเป็น 2 วิธี

วิธีที่ 1 ทำแผ่นเซลลูโลสเปียกให้บริสุทธิ์ก่อนทำเป็นผงแห้ง

นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักขั้นตอนที่ 3.2.2.1 ล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเชื้อออก อัดรีดน้ำด้วยเครื่องอัดรีดน้ำ และนำมาแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นที่ เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในขั้นตอนที่ 3.2.2.2 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง นำแผ่นเซลลูโลสต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลส เมื่อครบเวลานำแผ่นเซลลูโลสมาล้างด้วยน้ำสะอาดจนกว่าพีเอชบนแผ่นเซลลูโลสมีค่าเป็นกลาง อัดรีดน้ำออกจากแผ่นเซลลูโลสด้วยเครื่องอัดรีดน้ำ จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drier) ที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เมื่อเซลลูโลสแห้งนำไปบดเป็นผงให้ละเอียดด้วยเครื่องบดผง (Pin mill) ให้ผงเซลลูโลสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร

วิธีที่ 2 บดหยาบแผ่นเซลลูโลสเปียกก่อนทำให้บริสุทธิ์และทำเป็นผงแห้ง

นำแผ่นเซลลูโลสที่ได้จากการหมักขั้นตอนที่ 3.2.2.1 ล้างด้วยน้ำสะอาด เพื่อกำจัดอาหารเลี้ยงเชื้อออก ตัดเซลลูโลสให้มีขนาด 1x1x1 เซนติเมตร จากนั้นบดให้ละเอียด ด้วยโถปั่นไฟฟ้าโดยใช้ความเร็วสูงสุด เป็นเวลา 30 วินาที ได้เป็น paste จากนั้นนำ paste ที่ได้มาทำการบีบอัดน้ำออกด้วยผ้าขาวบาง และนำไปแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นที่เหมาะสมซึ่งได้จากการศึกษาในขั้นตอนที่ 3.2.2.2 นาน 24 ชั่วโมง หลังจากนั้นนำ paste มาล้างด้วยน้ำสะอาด และนำไปต้มในน้ำเดือด เป็นเวลา 30 นาที เพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากเซลลูโลส เมื่อครบเวลานำ paste มาล้างด้วยน้ำสะอาดจนกว่าพีเอชของเซลลูโลสมีค่าเป็นกลาง และนำไปเกลี่ยบนจานเพาะเชื้อ

ให้มีความหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร จากนั้นนำไปแช่แข็งที่อุณหภูมิ -80 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 12 ชั่วโมง และนำไปทำแห้งด้วยเครื่องทำแห้งแบบแช่เยือกแข็ง (Freeze drier) ที่อุณหภูมิ -50 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง เมื่อเซลลูโลสแห้งนำไปบดเป็นผงให้ละเอียดด้วยเครื่องบดผง (pin mill) ให้ผงเซลลูโลสมีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 0.5 มิลลิเมตร จากนั้นนำผงเซลลูโลสที่ได้จากวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติต่าง ๆ ในหัวข้อต่อไป โดยมีผงเซลลูโลสทางการค้าอยู่ในรูปเกรดอาหาร (food grade) เป็นชุดควบคุม

3.2.4 ศึกษาสมบัติของผงแห้งเซลลูโลส

3.2.4.1 ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water-holding capacity)

ดัดแปลงวิธีของ Ang (1991) โดยนำตัวอย่างผงเซลลูโลสจากขั้นตอนที่ 3.2.3 ใส่หลอดปั่นเหวี่ยง (Centrifuge tube) ปริมาณ 1 กรัม เติมน้ำกลั่นลงไป 20 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทน้ำส่วนที่เหลือออก และนำตะกอนส่วนที่เหลือชั่งน้ำหนัก นำมาคำนวณค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water-holding capacity)

จากสูตร ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำ = $(W_2 - W_1) / W_1$

เมื่อ W_1 คือ น้ำหนักของผงเซลลูโลส (กรัม)

W_2 คือ น้ำหนักของตะกอนหลังปั่นเหวี่ยง (กรัม)

3.2.4.2 ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (Oil-holding capacity)

ดัดแปลงวิธีของ Ang (1991) โดยนำตัวอย่างผงเซลลูโลสจากขั้นตอนที่ 3.2.3 ใส่หลอดปั่นเหวี่ยง ปริมาณ 1 กรัม เติมน้ำมันปาล์มลงไป 15 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ 20 นาที เมื่อครบเวลานำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3,000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที เทน้ำมันปาล์มส่วนที่เหลือออก และนำเซลลูโลสผงชั่งน้ำหนัก นำมาคำนวณค่าความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (Oil-holding capacity)

จากสูตร ค่าความสามารถในการอุ้มน้ำมัน = $(W_2 - W_1) / W_1$

เมื่อ W_1 = น้ำหนักของผงเซลลูโลส (กรัม)

W_2 = น้ำหนักของตะกอนหลังปั่นเหวี่ยง (กรัม)

3.2.4.3 วิเคราะห์ค่าสี (Color analysis)

นำตัวอย่างผงเซลลูโลสที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.2.3 ปริมาณ 3 กรัม วิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดสี MiniScan EZ (HunterLab, U.S.A) บรรจุในถ้วยพลาสติก จากนั้นเกลี่ยผิวหน้าตัวอย่างผงเซลลูโลสให้เรียบ นำหัววัดสีวางทาบลงบนตัวอย่างในแนวตั้งฉากและอ่านค่าบนจอแสดงผล

ค่า L^* = ค่าความสว่าง (Lightness) มีค่าตั้งแต่ 0 – 100 โดย 0 คือ สีดำ และ 100 คือ สีขาว

ค่า a^* = ค่าแสดงสีเขียว ($-a^*$) จนถึง สีแดง ($+a^*$)

ค่า b^* = ค่าแสดงสีน้ำเงิน ($-b^*$) จนถึง สีเหลือง ($+b^*$)

3.2.4.4 วิเคราะห์ความชื้น (Moisture) (AOAC, 2000)

นำกระป๋องอลูมิเนียมที่มีฝาปิดนำไปอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำออกจากตู้อบ ใส่ลงในโถดูดความชื้น (Desiccator) จากนั้นชั่งน้ำหนักบันทึกน้ำหนักไว้ นำกระป๋องอลูมิเนียมที่เตรียมไว้มาชั่งผงเซลลูโลสที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.2.3 ปริมาณ 3 กรัม นำไปอบในตู้อบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำออกจากตู้อบใส่ลงในโถดูดความชื้น และชั่งน้ำหนักจนกว่าน้ำหนักจะคงที่ จากนั้นนำมาคำนวณหาปริมาณความชื้น

จากสูตร ปริมาณความชื้น (ร้อยละ) =[$(M_1 - M_2) / M_1$] X 100

เมื่อ M_1 คือ น้ำหนักตัวอย่างก่อนอบ

M_2 คือ น้ำหนักตัวอย่างหลังอบ

3.2.4.5 วิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (Water activity, a_w) (กมลวรรณ, 2554)

นำตัวอย่างผงเซลลูโลสจากขั้นตอนที่ 3.2.3 ใส่ลงในตลับพลาสติกให้ได้ปริมาตรร้อยละ 80-90 นำตลับใส่ตัวอย่างมาวางไว้ใน Measuring chamber และปิดฝาให้เรียบร้อย ตั้งอุณหภูมิที่ 25 องศาเซลเซียส จากนั้นรอจนกระทั่งได้อุณหภูมิตามที่ตั้งไว้ และความชื้นสัมพัทธ์ของอากาศที่วัดได้อยู่ในสภาวะที่สมดุลกับตัวอย่างจะได้ค่า Water activity, a_w

3.2.4.6 ทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ (Cytotoxicity)

นำตัวอย่างผงเซลลูโลสจากขั้นตอนที่ 3.2.3 ปริมาณ 10 กรัม แช่ลงในอาหาร DMEM +10%FBS (น้ำหนักต่อปริมาตร) นำไปกรองสารละลายตัวอย่างด้วยแผ่นกรองสารขนาด 0.22 ไมโครเมตร และนำมาเจือจางให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ไลน์ Vero โดยทำการปลูกเซลล์ไลน์ จำนวน $1x10^5$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร ลงในจานพลาสติกใส 96 ช่อง ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ดูดอาหารออกจากหลุมและเติมสารละลายตัวอย่างความเข้มข้น 1,000 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ข้างต้นปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มตามเวลาที่กำหนด จากนั้นเติมสารละลาย MTT ความเข้มข้น 5 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาตร 10 ไมโครลิตรต่อหลุม นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส คาร์บอนไดออกไซด์ร้อยละ 5 เป็นเวลา 4 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา ดูดสารละลาย MTT ทิ้ง และเติมสารที่ละลายผลึก Formazan คือ 100%DMSO:10%SDS อัตราส่วน 9:1 ปริมาตร 100 ไมโครลิตรต่อหลุม จากนั้นนำไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 570 นาโนเมตร โดยตั้งโปรแกรมเขย่าเป็นเวลา 5 นาที ก่อนวัดค่าดูดกลืนแสง และนำมาคำนวณค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (% cytotoxicity) โดยใช้สูตร

$$\text{ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ (\% cytotoxicity)} = \frac{A-B}{A} \text{X100}$$

เมื่อ A คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมควบคุม (หลุมที่มีเซลล์ในอาหารเพาะเลี้ยง)

B คือ ค่าการดูดกลืนแสงของหลุมที่มีเซลล์ในสารตัวอย่าง

โดยค่า A และ B จะต้องนำค่าการดูดกลืนแสงของ Blank (ในที่นี้ คือหลุมที่เติมสารละลาย 100%DMSO:10%SDS) มาหักลบออกก่อน จากนั้นจึงนำไปคำนวณจากสูตรข้างต้น

จากการศึกษาสมบัติของผงแห้งเซลลูโลสที่ได้จากการผลิตในวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 เปรียบเทียบกับผงเซลลูโลสทางการค้า คัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตผงแห้งเซลลูโลส โดยมีคุณสมบัติใกล้เคียงกับเซลลูโลสทางการค้า และมีความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำที่สุด เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาในการทำผลิตภัณฑ์กุนเชียง

3.2.5 ศึกษาการนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

3.2.5.1 ศึกษาการทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

นำผงเซลลูโลสที่ที่คัดเลือกได้จากขั้นตอนที่ 3.2.4 มาทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยแปรผันปริมาณผงเซลลูโลสและลดปริมาณไขมันลง แบ่งเป็นชุดการทดลอง 5 ชุด โดยมีกุนเชียงสูตรควบคุมไว้สำหรับเปรียบเทียบกับสูตรต่าง ๆ ดังนี้

ชุดการทดลองที่ 1 เป็นกุนเชียงสูตรควบคุม ซึ่งมีปริมาณไขมันร้อยละ 24 (ตามสูตร)
ชุดการทดลองที่ 2 (Cs1) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 0.5 ร่วมกับไขมันร้อยละ 23.50
ชุดการทดลองที่ 3 (Cs2) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 1.0 ร่วมกับไขมันร้อยละ 23.00
ชุดการทดลองที่ 4 (Cs3) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 2.0 ร่วมกับไขมันร้อยละ 22.00
ชุดการทดลองที่ 5 (Cs4) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 3.0 ร่วมกับไขมันร้อยละ 21.00

กระบวนการผลิตกุนเชียงทั้ง 5 ชุดการทดลอง โดยนำหมูเนื้อแดงและมันแข็งบดละเอียดด้วยเครื่องบด นำเนื้อหมูทั้งหมดมาคลุกกับส่วนประกอบต่าง ๆ ดังตารางที่ 3.1 โดยในแต่ละสูตรของกุนเชียงจะมีส่วนประกอบที่แตกต่างกัน ผสมให้เข้ากันจนเป็นเนื้อเดียวกันจากนั้นกรอกเนื้อหมูที่ปรุงรสใส่ไส้ด้วยเครื่องกรอก นำไปอบแห้งด้วยตู้อบที่อุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง จากนั้นลดอุณหภูมิลงอยู่ที่ 65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 16 ชั่วโมง และสุดท้ายลดอุณหภูมิลงอยู่ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำมาบรรจุในถุงพลาสติกชนิดพอลิเอทิลีน (Polyethylene: PE) ในสภาวะสุญญากาศ จากนั้นนำกุนเชียงสูตรต่าง ๆ มาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้

ตารางที่ 3.1 ส่วนประกอบในการทำกุนเชียง

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (ร้อยละโดยน้ำหนักต่อน้ำหนัก)
เนื้อหมู	55.00
มันแข็ง	24.00
ไนไตรท์	0.01
ผงพะโล้	0.03
เกลือ	0.80
น้ำตาล	20.00
ซอสปรุงรส	0.16

ที่มา : กมลวรรณ (2555)

3.2.5.2 การวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารของผลิตภัณฑ์กุนเชียง

นำกุนเชียงแต่ละสูตรวิเคราะห์ปริมาณโปรตีน ไขมัน ใยอาหาร เถ้า และคาร์โบไฮเดรต ด้วยวิธีของ AOAC (1995) ภาคผนวก ข

3.2.5.3 วิเคราะห์ปริมาณความชื้น (Moisture content)

วิธีการเหมือนหัวข้อที่ 3.2.4.4

3.2.5.4 วิเคราะห์ค่าวอเตอร์แอคติวิตี (a_w)

วิธีการเหมือนหัวข้อที่ 3.2.4.5

3.2.5.5 วิเคราะห์สี (Color analysis)

วิธีการเหมือนหัวข้อที่ 3.2.4.3

3.2.5.6 วิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด

นำตัวอย่างมา 25 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (น้ำหนักต่อปริมาตร)ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันในเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาเจือจางให้ได้ระดับความเจือจาง 10^{-2} 10^{-3} และ 10^{-4} ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ Plate count agar (PCA) เพื่อใช้ในการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด ด้วยเทคนิค pour plate บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง (กมลวรรณ, 2554)

3.2.5.7 วิเคราะห์ปริมาณยีสต์และเชื้อรา

สำหรับการตรวจนับจำนวนเชื้อยีสต์และเชื้อราที่ปนเปื้อนในผลิตภัณฑ์กุนเชียง นำตัวอย่างมา 25 กรัม ผสมกับสารละลายโซเดียมคลอไรด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.85 (น้ำหนักต่อ

ปริมาตร) ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 225 มิลลิลิตร ผสมให้เข้าในเครื่อง stomacher เป็นเวลา 1 นาที หลังจากนั้นนำตัวอย่างมาเจือจางให้ได้ระดับความเจือจาง 10^{-2} 10^{-3} และ 10^{-4} ทำการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ได้แก่ Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol ager (DRBC) ด้วยเทคนิค spread plate บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 48-72 ชั่วโมง (กมลวรรณ, 2555)

3.2.5.8 วิเคราะห์เนื้อสัมผัส

นำกุนเชียงแต่ละชุดการทดลองตัดให้มีขนาด 10 x 10 มิลลิเมตร โดยวัดด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Texture analyzer) ด้วยวิธี Texture Profile Analysis (TPA) ใช้หัววัดทรงกระบอกขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 50 มิลลิเมตร (P/50) กำหนดให้ test speed 0.8 มิลลิเมตรต่อวินาที post-test speed 40 มิลลิเมตรต่อวินาที เพื่อวิเคราะห์หาค่าความแข็ง (Hardness) ค่าความเหนียว (Adhesiveness), ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ค่าการยึดเกาะ (Cohesiveness) และค่าการเคี้ยว (Chewiness) (ชิดชนก, 2559)

3.2.5.9 การทดสอบคุณภาพทางด้านประสาทสัมผัส

นำตัวอย่างกุนเชียงแต่ละชุดการทดลองหั่นเป็นชิ้นหนาประมาณ 0.5 เซนติเมตร ทอดด้วยน้ำ โดยเทน้ำลงในกระทะ 100 มิลลิลิตร เมื่อน้ำเดือด ใส่ตัวอย่างกุนเชียง 100 กรัม คนจนน้ำระเหยหมดเป็นเวลา 2-3 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง นำมาทดสอบทางประสาทสัมผัส ซึ่งผู้ทดสอบเป็นอาสาสมัครจำนวน 30 คน ใช้แบบทดสอบแบบ 9- point hedonic scale โดย 1 เท่ากับ ไม่ชอบมากที่สุด และ 9 เท่ากับ ชอบมากที่สุด ประเมินคุณภาพด้านลักษณะดังนี้ ลักษณะเนื้อสัมผัส (Texture), สี (Colour), กลิ่น (Smelling), รสชาติ (Flavor) และการยอมรับโดยรวม (Overall acceptability) (กมลวรรณ, 2554)

จากการวิเคราะห์คุณภาพของกุนเชียงทั้งห้าสูตร ทำการคัดเลือกสูตรกุนเชียงที่มีไขมันต่ำ มีใยอาหารสูง และได้รับคะแนนสูงจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส เพื่อนำมาศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อไป

3.2.6 ศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง

นำผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่คัดเลือกจากขั้นตอนที่ 3.2.5 บรรจุใส่ในถุงพลาสติกชนิดพอลิเอทีลีน (Polyethylene, PE) ในสภาวะสุญญากาศและเปรียบเทียบการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส ซึ่งอยู่ในช่วงเดือน ตุลาคม พ.ศ. 2565) และอุณหภูมิตู้เย็น (อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยเก็บตัวอย่างกุนเชียงทุกสัปดาห์ (0, 1, 2, 3 และ 4 สัปดาห์) นำมาวิเคราะห์คุณภาพผลิตภัณฑ์กุนเชียงดังเช่นขั้นตอนที่ 3.2.5.3 ถึง 3.2.5.9 และวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชั่น

3.2.6.1 วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances หรือ TBARS

นำตัวอย่างกุนเชียงซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ นำส่งวิเคราะห์ที่คณะสาธารณสุขศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล โดยมีวิธีการวิเคราะห์ดังนี้

นำตัวอย่างกุนเชียงหั่นเป็นชิ้นขนาดเล็ก ชั่งตัวอย่าง 5 กรัม ผสมกับน้ำกลั่นปริมาตร 15 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายบิวทิเลเทตไฮดรอกซีแอนิซอล (Butylated hydroxyanisole : BHA) ร้อยละ 7.2 (สารละลาย 7.2% BHA ในเอทานอล) ปริมาตร 50 ไมโครลิตร และผสมให้เข้ากันด้วยหัวปั่นผสม (Homogenizer) เมื่อครบเวลานำสารแขวนลอยตัวอย่างปริมาตร 2 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลายกรดไทโอบาร์บิทูริก (Thiobarbituric acid : TBA) ความเข้มข้น 20 มิลลิโมลาร์ (สารละลาย 20 mM TBA ใน 15% TCA) ปริมาตร 4 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง นำไปบ่มในอ่างควบคุมอุณหภูมิ ที่อุณหภูมิ 90 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เมื่อครบเวลา ทำให้เย็นทันทีด้วยน้ำหล่อเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา จากนั้นนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 10, 5579 g เป็นเวลา 10 นาที เมื่อครบเวลานำไปวัดค่าดูดกลืนแสงของสารละลายส่วนใสที่ความยาวคลื่น 532 นาโนเมตร และนำมาคำนวณปริมาณมาโลนัลดีไฮด์ (Malonaldehyde : MDA) โดยเทียบกับค่าดูดกลืนแสงที่เกิดขึ้นของตัวอย่างในช่วงของกราฟสารละลายมาตรฐานของเตตระเมทอกซีโพรเพน (Tetramethoxypropane) รายงานผลในหน่วยไมโครกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อน้ำหนักตัวอย่าง 1 กรัม (µg MDA/g sample)

3.2.7 การวิเคราะห์ทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design, CRD) มีชุดการทดลองละ 3 ซ้ำ นำผลการทดลองมาวิเคราะห์ด้วยโปรแกรม SPSS เปรียบเทียบความแตกต่างระหว่างค่าเฉลี่ยของแต่ละชุดการทดลองด้วยวิธีวิเคราะห์แบบ Duncan’s New Multiple Range Test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

บทที่ 4

ผลการวิจัยและอภิปรายผล

4.1. ศึกษาการเจริญและการผลิตเซลลูโลสของเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว

จากการเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเพื่อศึกษาการเจริญและผลผลิตเซลลูโลสที่ได้ โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นระยะเวลา 14 วัน พบว่าความหนาและผลผลิตเซลลูโลสที่ได้จากการเลี้ยงในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวจะเพิ่มขึ้นในช่วง 4-10 วัน มีความหนาและผลผลิตเซลลูโลสสูงที่สุดในวันที่ 10 วัน โดยแผ่นเซลลูโลสจะมีความหนาเฉลี่ยอยู่ที่ 0.80±0.00 เซนติเมตร และผลผลิตเซลลูโลสอยู่ที่ 0.89±0.01 กรัมต่อลิตร ดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.1 หลังจากนั้นความหนาและผลผลิตเซลลูโลสจะคงที่

จากการทดลองพบว่าเมื่อเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวเป็นเวลา 10 วัน จะได้ความหนาและผลผลิตแผ่นเซลลูโลสสูงสุด ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ วิจิตราและคณะ (2555) ได้ศึกษาการหมักเซลลูโลสด้วยเชื้อ *Acetobacter* xylinum ที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากผลิตภัณฑ์การเกษตร พบว่า น้ำหนักของวุ้นมะพร้าวสูงสุดภายหลังระยะเวลาในการหมักเป็นเวลา 10 วัน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับการทดสองของ จินตนาและคณะ (2560) ศึกษาการหมักเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 975 ในน้ำมะม่วง พบว่า ภายหลังการหมักเป็นเวลา 10 วัน สามารถผลิตวุ้นมะพร้าวได้สูงสุด ผู้จัยจึงเลือกระยะเวลาในการหมัก 10 วัน เพื่อนำมาเลี้ยงเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในการผลิตผงเซลลูโลสต่อไป

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

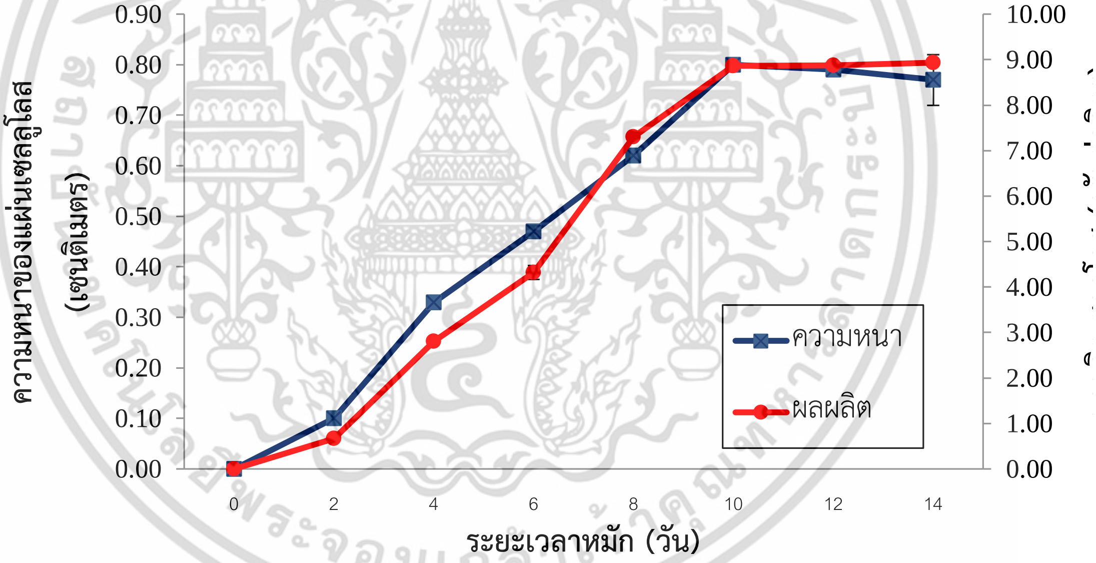
ระยะเวลาการหมัก (วัน)	**ความหนาของแผ่นเซลลูโลส (เซนติเมตร)**	**ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)**
0	-	-
2	0.10 ± 0.01^{e}	0.07 ± 0.01^{e}
4	0.33 ± 0.00^{d}	0.28 ± 0.06^{d}
6	0.47 ± 0.01^{c}	0.44 ± 0.15^{c}

ตารางที่ 4.1 (ต่อ) การเปลี่ยนแปลงความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

ระยะเวลาการหมัก (วัน)	**ความหนาของแผ่นเซลลูโลส (เซนติเมตร)**	**ผลผลิตเซลลูโลส (กรัมต่อลิตร)**
8	0.62±0.00^{b}	0.73±0.01^{b}
10	0.80±0.00^{a}	0.89±0.01^{a}
12	0.79±0.01^{a}	0.89±0.00^{a}
14	0.77±0.05^{a}	0.90±0.00^{a}

หมายเหตุ - คือ ไม่สามารถวัดความหนาและผลผลิตได้

หมายเหตุ พิจารณาในแถวแนวตั้ง อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)



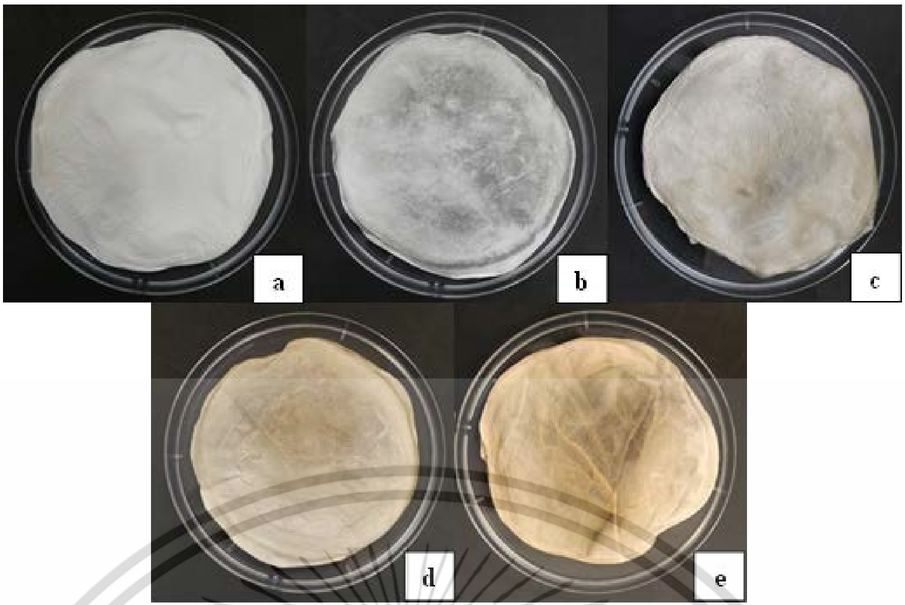
รูปที่ 4.1 ความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จาก *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าวหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน

4.2 ศึกษาวิธีการทำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียให้บริสุทธิ์ให้ปราศจากเซลล์แบคทีเรียโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เจือจาง

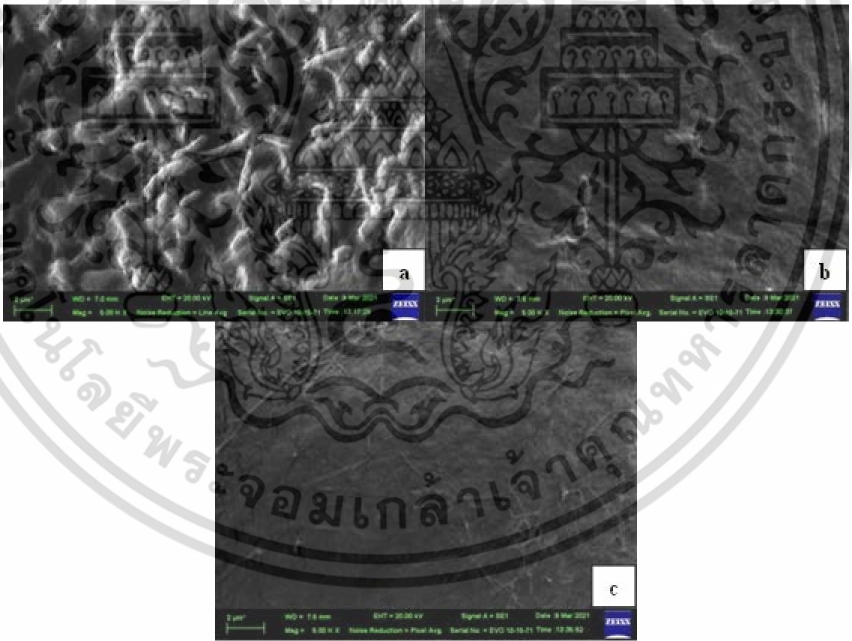
จากการนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียทำให้บริสุทธิ์ให้ปราศจากเชื้อโดยแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง เพื่อกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลส จากนั้นนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 90-100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พบว่า แผ่นเซลลูโลสที่แช่ใน

สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 และ 1.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีสีขาวใกล้เคียงกับแผ่นเซลลูโลสชุดควบคุม ดังรูปที่ 4.2a, 4.2b และ 4.2c แต่เมื่อความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เพิ่มขึ้นเป็นร้อยละ 2.0 และ3.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สีของแผ่นเซลลูโลสจะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองมากขึ้นดังรูปที่ 4.2d และ 4.2e ซึ่งเป็นผลมาจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ เมื่อทำปฏิกิริยากับ ความร้อน ออกซิเจน หรือการฉายรังสี จะทำให้เปลี่ยนแปลงโครงสร้างเป็นโครโมฟอร์ (Chromophore) ซึ่งเป็นโครงสร้างที่ทำให้มีสี มีผลทำให้แผ่นเซลลูโลสเป็นสีเหลืองหรือน้ำตาลเกิดขึ้น (Ahn *et al*, 2019) จึงคัดเลือกแผ่นเซลลูโลสที่ทำให้บริสุทธิ์โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) , 0.5 และ 1.0 มาใช้ในการทดลองต่อไป เนื่องจากแผ่นเซลลูโลสยังคงมีสีขาวและหากนำไปผสมในอาหารจะไม่ทำให้สีของอาหารเปลี่ยนแปลง จากนั้นนำมาวิเคราะห์ความบริสุทธิ์ของแผ่นเซลลูโลสโดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมในการกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลส พบว่า แผ่นเซลลูโลสชุดควบคุมและแผ่นเซลลูโลสที่ทำให้บริสุทธิ์โดยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ไม่สามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากเส้นใยของแผ่นเซลลูโลสได้ เนื่องจากพบเซลล์แบคทีเรียบนเส้นใย ดังรูปที่ 4.3a และ 4.3b แผ่นเซลลูโลสชุดควบคุมจะพบเซลล์แบคทีเรียมากที่สุด ดังรูป 4.3a แผ่นเซลลูโลสที่ทำให้บริสุทธิ์โดยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากเส้นใยของแผ่นเซลลูโลสได้หมด เนื่องจากเส้นใยของแผ่นเซลลูโลสไม่พบเซลล์แบคทีเรีย ดังรูปที่ 4.3c อาจเนื่องมาจากสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นสูง ๆ จะทำให้โครงสร้างเส้นใยของเซลลูโลสมีความแข็งแรงลดลง (Suryanto *et al.*, 2019) ขณะเดียวกันรูพรุนบนผิวเซลลูโลสจะขยายกว้างมากขึ้น (Meftahi *et al.*, 2015) เมื่อนำแผ่นเซลลูโลสที่ถูกทำให้บริสุทธิ์ไปชะล้างหรือต้มเพื่อกำจัดสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ออกจะทำให้เซลล์แบคทีเรียหลุดออกจากเส้นใยได้ง่ายมากยิ่งขึ้น สอดคล้องกับงานวิจัยของ Kamal *et al* (2020) พบว่า สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1 มีประสิทธิภาพในการกำจัดสิ่งปนเปื้อนออกจากเส้นใยเซลลูโลสได้ และมีการเปลี่ยนแปลงของเส้นใยเพียงเล็กน้อย นอกจากนี้งานวิจัยของ Santos *et al.*, (2015) พบว่า แผ่นเซลลูโลสที่ใช้ความร้อนในการกำจัดเซลล์เพียงอย่างเดียวไม่สามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากเส้นใยของเซลลูโลสได้ การใช้สารละลายด่าง (alkaline) ร่วมกับความร้อนจะมีประสิทธิภาพในการกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากเส้นใยได้ดีขึ้น

ดังนั้นจากผลการทดลองพบว่า สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) สามารถทำให้แผ่นเซลลูโลสบริสุทธิ์ปราศจากเซลล์แบคทีเรีย จึงเลือกสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อนำมาใช้ในการผลิตผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียในขั้นตอนต่อไป



รูปที่ 4.2 แผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียทำให้บริสุทธิ์โดยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น
ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) (a) , 0.5 (b), 1.0 (c), 2.0 (d) และ 3.0 (e)

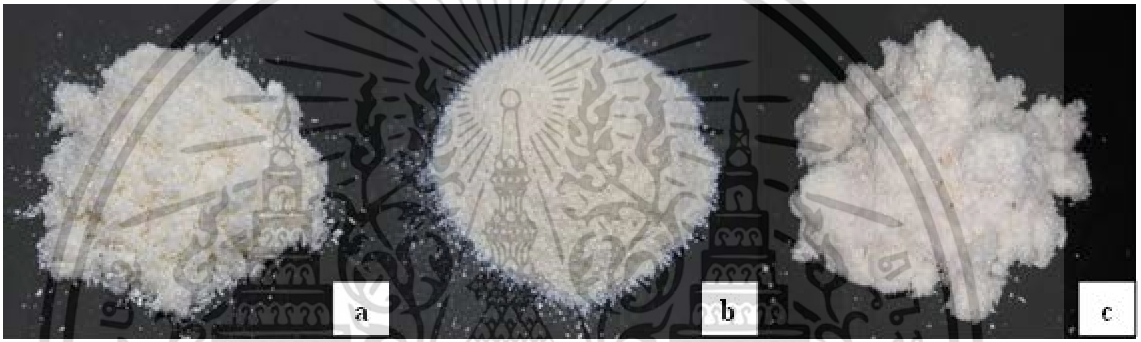


รูปที่ 4.3 พื้นผิวของแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียชุดควบคุม (a), ทำให้บริสุทธิ์ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ร้อยละ 0.5 (b) และร้อยละ 1.0 (c) ส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) กำลังขยาย 5000 เท่า

4.3 ศึกษาการผลิตผงเซลลูโลสแห้งและคุณสมบัติของผงเซลลูโลส

4.3.1 การผลิตผงเซลลูโลสแห้ง

จากการนำแผ่นเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาผลิตผงเซลลูโลสโดยแบ่งออกเป็น 2 วิธีดังนี้ วิธีที่ 1 ทำแผ่นเซลลูโลสเปียกให้บริสุทธิ์ก่อนทำเป็นผงแห้ง และ วิธีที่ 2 ทำการบดหยาบแผ่นเซลลูโลสเปียกก่อนทำให้บริสุทธิ์และทำเป็นผงแห้ง พบว่า ลักษณะทางกายภาพของผงเซลลูโลสวิธีที่ 1 ผงมีความละเอียด ไม่เกาะตัวกันเป็นก้อน ดังรูปที่ 4.4b วิธีที่ 2 มีผงละเอียด เกาะตัวกันเป็นก้อนคล้ายสำลี ดังรูปที่ 4.4c ซึ่งมีลักษณะทางกายภาพใกล้เคียงกับผงเซลลูโลสทางการค้า ดังรูปที่ 4.4a เนื่องจากการบดเปียกทำให้โครงสร้างเส้นใยขาดและอนุภาคขยายมากขึ้น ทำให้ลักษณะของผงเซลลูโลสเกาะตัวกันอย่างหลวมๆ จึงมีลักษณะคล้ายสำสี (Lumbikananda *et al.*, 2018)



รูปที่ 4.4 ลักษณะทางกายภาพของผงเซลลูโลสทางการค้า (a), วิธีที่ 1 (b) และวิธีที่ 2 (c)

4.3.2 คุณสมบัติของผงเซลลูโลส

จากการนำผงแห้งเซลลูโลสที่ได้จากการผลิตวิธีที่ 1 และวิธีที่ 2 ศึกษาคุณสมบัติความสามารถในการอุ้มน้ำและความสามารถในการอุ้มน้ำมัน พบว่า ผงแห้งเซลลูโลสวิธีที่ 2 มีค่าความสามารถในการอุ้มน้ำและความสามารถอุ้มน้ำมัน 9.15±0.10 และ 7.39±0.05 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่าผงแห้งเซลลูโลสจากวิธีที่ 1 และมีความแตกต่างทางสถิต ($p<0.05$) ขณะที่ความสามารถในการอุ้มน้ำและน้ำมันของผงแห้งเซลลูโลสวิธีที่ 2 จะน้อยกว่าหรือใกล้เคียงผงเซลลูโลสทางการค้าและไม่มีความแตกต่างทางสถิติ แสดงดังตารางที่ 4.2 โดยปกติแล้วเส้นใยของเซลลูโลสจะมีลักษณะจับตัวกันหนาแน่น ซึ่งมีทั้งโมเลกุลตั้งเรียงตัวไปในทิศทางเดียวกัน หากมีปัจจัยด้านอื่นๆ มาเกี่ยวข้องเช่น ความร้อน การกวน หรือการบดละเอียด จะทำให้โครงสร้างของเซลลูโลสเกาะกันหลวมขึ้น ทำให้มีการสร้างพันธะที่แข็งแรงระหว่างเซลลูโลสกับน้ำได้ดีขึ้น ซึ่งส่งผลต่อความสามารถในการอุ้มน้ำได้ดีขึ้น (วิภา และคณะ, 2541) ซึ่งสอดคล้องการงานวิจัยของ ฐิตา และคณะ (2557) พบว่า การสกัดเซลลูโลสจากกากเมล็ดมะรุมด้วยความร้อนมีความสามารถในการอุ้มน้ำมากกว่าความสามารถในการอุ้มน้ำมัน นอกจากนี้ยังสอดคล้องกับงานวิจัยของ นิธิมาและปราณี (2546) พบว่า ผงเซลลูโลสจากเปลือกส้มโดยการนำไปบดมีความสามารถในการอุ้มน้ำได้สูง

ค่าความชื้นของผงเซลลูโลสวิธีที่ 1 และผงเซลลูโลสวิธีการที่ 2 มีค่า 2.96±0.13 และ 2.66±0.06 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) ขณะที่ผงเซลลูโลสทางการค้ามีค่าความชื้นสูงกว่าผงเซลลูโลสที่ผลิตได้ มีค่า 4.02±0.12 แสดงดังตารางที่ 4.2 อาจเนื่องมาจากการผลิตเซลลูโลสทางการค้าผลิตมาเป็นระยะเวลานาน และเก็บรักษาในถุงพลาสติก มีผลทำให้ความชื้นสูงกว่าผงเซลลูโลสที่ผลิตได้ ซึ่งสัมพันธ์กับค่าวอเตอร์เอกติวิตี้

ค่าสีของผงเซลลูโลสที่ผลิตได้ พบว่า เซลลูโลสวิธีที่ 2 มีค่าความสว่าง (L^*) 81.98±0.54 รองลงมาเป็นเซลลูโลสทางการค้าและเซลลูโลสวิธีที่ 1 ซึ่งมีค่า 80.05±0.18 และ 78.57±0.18 ตามลำดับ และมีความแตกต่างทางสถิติ แสดงดังตารางที่ 4.2 โดยเซลลูโลสวิธีที่ 2 มีค่าความสว่างสูงสุด เนื่องมาจาก การบดเปียกทำให้โครงสร้างเส้นใยขยายตัว เมื่อทำการแช่ลงในสารละลายที่เป็นด่างเช่น สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ที่มีฤทธิ์ในการกำจัดเซลล์แบคทีเรียและนิยมใช้เป็นสารฟอกขาว ทำให้สารละลายด่างนี้จับกับโครงสร้างของเส้นใยได้ง่ายและเข้าถึงพื้นผิวของเส้นใยได้ทั่วถึงจึงทำให้เซลลูโลสมีสีสว่างหรือสีขาวมากขึ้น (Pereira *et al*, 2011)

ผงเซลลูโลสวิธีที่ 2 มีค่าสีแดง (a^*) 1.67±0.14 ต่ำกว่าผงเซลลูโลสวิธีที่ 1 และผงเซลลูโลสทางการค้า ซึ่งมีค่า 3.51±0.03 และ 1.76±0.05 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ค่าสีแดงของผงเซลลูโลสวิธีที่ 2 และผงเซลลูโลสทางการค้าไม่แตกต่างกันทางสถิติ (p>0.05) แต่จะแตกต่างทางสถิติกับผงเซลลูโลสวิธีที่ 1 (p<0.05) แสดงดังตารางที่ 4.2

ผงเซลลูโลสวิธีการที่ 2 มีค่าสีเหลือง (b^*) 10.61±0.15 ซึ่งมีค่าต่ำกว่าผงเซลลูโลสวิธีการที่ 1 และผงเซลลูโลสทางการค้า ซึ่งมีค่า 14.77±0.08 และ 12.55±0.10 ตามลำดับ และมีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) ดังตารางที่ 4.2 ซึ่งค่าสีแดงและค่าสีเหลืองของผงเซลลูโลสที่ต่ำเป็นค่าที่ดี เนื่องจากวัตถุประสงค์ต้องการนำไปเป็นส่วนประกอบอาหาร หากมีค่าสีแดงและค่าสีเหลืองที่สูง เมื่อนำไปเป็นส่วนผสมในอาหารจะทำให้สีของผลิตภัณฑ์ที่ได้มีการเปลี่ยนแปลง

จากการทดสอบความเป็นพิษต่อเซลล์ของผงเซลลูโลสที่ผลิตได้จากทั้งสองวิธี พบว่า ผงเซลลูโลสวิธีที่ 2 มีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ต่ำสุดร้อยละ 20.66±0.02 ขณะที่ผงเซลลูโลสวิธีที่ 1 และผงเซลลูโลสทางการค้ามีค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ 26.35±0.01 และ 22.58±0.01 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า ผงเซลลูโลสวิธีที่ 2 ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ไม่แตกต่างกับผงเซลลูโลสทางการค้า (p>0.05) แต่จะแตกต่างทางสถิติกับผงเซลลูโลสวิธีการที่ 1 (p<0.05) แสดงดังตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Lumbikananda *et al* (2018) ที่ได้ศึกษาการผลิตผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียเพื่อใช้เป็นวัสดุทางการแพทย์ พบว่า ผงเซลลูโลสที่ทำการบดเปียกก่อนนำมาทำเป็นผงเมื่อนำไปวิเคราะห์ค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ มีค่าต่ำกว่าร้อยละ 30 ซึ่งมีเพียงร้อยละ 1.93 หรือร้อยละการรอดชีวิตของเซลล์อยู่ที่ร้อยละ 98.07 ซึ่งบ่งบอกถึงไม่ส่งผลต่อเซลล์

จากผลการทดลองข้างต้น จะพบว่าผงเซลลูโลสที่ผลิตด้วยวิธีที่ 2 คือ นำแผ่นเซลลูโลสเปียกบดหยาบก่อนทำให้บริสุทธิ์ จากนั้นไปทำเป็นผงแห้ง มีคุณสมบัติใกล้เคียงผงเซลลูโลสทางการค้า และมีความเป็นพิษต่ำสุด จึงมีความปลอดภัยในการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบอาหาร ซึ่งตามมาตรฐาน

ISO 10993-5 กล่าวว่า ค่าความเป็นพิษของตัวอย่างเกินร้อยละ 30 ให้ถือว่าตัวอย่างนั้นมีความเป็นพิษ หากไม่เกินร้อยละ 30 ให้ถือว่าตัวอย่างนั้นปลอดภัยต่อเซลล์ ดังนั้นจึงเลือกใช้ผงเซลลูโลสที่ผลิตด้วยวิธีที่ 2 มาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียงต่อไป

ตารางที่ 4.2 คุณสมบัติของผงเซลลูโลสจากที่ได้จากแบคทีเรียผลิตด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน

คุณสมบัติ	**ผงเซลลูโลส**		
	ทางการค้า	**วิธีที่ 1**	**วิธีที่ 2**
ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity, WHC)	9.63 ± 0.09^{a}	7.91 ± 0.20^{b}	9.15 ± 0.10^{a}
ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (Oil Holding Capacity, OHC)	7.30 ± 0.20^{a}	6.24 ± 0.15^{b}	7.39 ± 0.05^{a}
ความชื้น (Moisture)	4.02 ± 0.12^{a}	2.96 ± 0.13^{b}	2.66 ± 0.06^{b}
วอเตอร์เอกติวิตี้ (Water activity, a_w)	0.59 ± 0.010^{a}	0.53 ± 0.00^{b}	0.52 ± 0.00^{b}
ความสว่าง (Lightness :*L**)	80.05 ± 0.18^{b}	78.57 ± 0.18^{c}	81.98 ± 0.54^{a}
ค่าสีแดง (Redness :*a**)	1.76 ± 0.05^{b}	3.51 ± 0.03^{a}	1.67 ± 0.14^{b}
ค่าสีเหลือง (Yellowness :*b**)	12.55 ± 0.10^{b}	14.77 ± 0.08^{a}	10.61 ± 0.15^{c}
ร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ Vero (% cytotoxicity)	22.58 ± 0.01^{b}	26.35 ± 0.01^{a}	20.66 ± 0.02^{b}

หมายเหตุ พิจารณาในแถวแนวนอน อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

CONTROL
0.5%
1.0%
2.0%
3.0%

รูปที่ 4.5 กุนเชียงชุดควบคุม (Control) และกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลสร้อยละ 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก)

4.4 ศึกษาการนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียมาใช้ทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง

จากการนำผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ผลิตได้มาทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง โดยทำการลดปริมาณไขมันลงและทดแทนด้วยผงเซลลูโลสในระดับต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม), 0.5, 1.0, 2.0 และ 3.0 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ดังรูปที่ 4.5 และนำมาวิเคราะห์คุณภาพ ดังนี้ องค์ประกอบทางอาหาร คือ โปรตีน ไขมัน เถ้า และใยอาหาร ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี สี เนื้อสัมผัส จุลินทรีย์ และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส เพื่อคัดเลือกสูตรกุนเชียงที่เหมาะสมที่มีไขมันต่ำ มีใยอาหารสูง และได้รับคะแนนสูงจากการทดสอบทางประสาทสัมผัส รวมทั้งมีคุณภาพใกล้เคียงกับกุนเชียงชุดควบคุม เพื่อนำมาใช้ในการศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อไป

4.4.1 ผลการวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหารของผลิตภัณฑ์กุนเชียง

จากการวิเคราะห์องค์ประกอบอาหารของกุนเชียงทั้งห้าสูตร พบว่า ปริมาณโปรตีนทั้งห้าสูตรมีค่าอยู่ในช่วงร้อยละ 13.10 -13.25 และไม่แตกต่างในทางสถิติ (p>0.05) แสดงดังตารางที่ 4.3 ขณะที่งานวิจัยของ Lin และ Lin (2004) พบว่า เมื่อเติมผงเซลลูโลสลงในลูกชิ้นเพิ่มขึ้น ส่งผลให้ปริมาณโปรตีนลดลง

กุนเชียงที่มีปริมาณผงเซลลูโลสเพิ่มขึ้นจะส่งผลให้ปริมาณไขมันในกุนเชียงลดลงโดยกุนเชียงสูตร Cs1 Cs2 Cs3 และCs4 มีปริมาณไขมันร้อยละ 22.85±0.06 21.91±0.06 20.40±0.05 และ 19.24±0.09 ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีปริมาณไขมันสูงสุดร้อยละ 23.48±0.11 และแตกต่างทางสถิติกับกุนเชียงที่เติมผงเซลลูโลส (p<0.05) แสดงดังตารางที่ 4.3 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Akoglu *et al* (2015) พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงเซลลูโลสลงไปในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกมากขึ้น ปริมาณไขมันในผลิตภัณฑ์ไส้กรอกจะลดลง

สำหรับปริมาณเถ้าและใยอาหารในกุนเชียง พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงเซลลูโลสเพิ่มขึ้นและลดปริมาณไขมันลงทำให้กุนเชียงที่ได้มีปริมาณเถ้าและใยอาหารเพิ่มขึ้น กุนเชียงสูตร Cs4 มีปริมาณเถ้าและใยอาหารสูงสุดร้อยละ 2.84±0.01 และ 8.98±0.31 ตามลำดับ ซึ่งสูงกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมที่มีปริมาณเถ้าและใยอาหารร้อยละ 2.48±0.01 และ 0.19±0.00 ตามลำดับ มีความแตกต่างทางสถิติ (p<0.05) แสดงดังตารางที่ 4.3 ปริมาณใยอาหารที่เพิ่มขึ้น เนื่องจาก ผงเซลลูโลสมีคุณสมบัติเป็นใยอาหารที่ไม่สามารถละลายน้ำ (Gibs *et al*., 2015) เมื่อนำไปวิเคราะห์ปริมาณกากใยที่เป็นวิธีการเรียนแบบการย่อยในกระเพาะอาหารของคน ไม่สามารถย่อยได้ ยังคงหลงเหลือกากใยอยู่ ซึ่งสอดคล้องงานวิจัยของ Lin และ Lin (2004) พบว่า ปริมาณใยอาหารในลูกชิ้นเพิ่มขึ้น เมื่อเติมผงเซลลูโลสเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.3 องค์ประกอบทางอาหารของกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

องค์ประกอบอาหาร (ร้อยละ)	**ชุดควบคุม**	**Cs1**	**Cs2**	**Cs3**	**Cs4**
โปรตีน	13.26±0.12^{a}	13.13±0.23^{a}	13.25±0.14^{a}	13.10±0.10^{a}	13.13±0.21^{a}
ไขมัน	23.48±0.11^{a}	22.85±0.06^{b}	21.91±0.06^{c}	20.40±0.05^{d}	19.24±0.09^{e}
เถ้า	2.48±0.01^{b}	2.54±0.04^{b}	2.56±0.15^{b}	2.64±0.02^{ab}	2.84±0.01^{a}
ใยอาหาร	0.19±0.00^{d}	1.19±0.06^{cd}	2.10±0.40^{c}	3.66±0.81^{b}	8.98±0.31^{a}

หมายเหตุ Cs1= ไขมันร้อยละ 23.50 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0.5, Cs2= ไขมันร้อยละ 23 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 1, Cs3= ไขมันร้อยละ 22 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 2, Cs4= ไขมันร้อยละ 21 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 3 และชุดควบคุม = ไขมันร้อยละ 24 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0

พิจารณาในแถวแนวนอน อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

4.4.2 ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี้ และค่าสี

จากการนำกุนเชียงทั้งห้าสูตรวิเคราะห์ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี้ และค่าสี พบว่า กุนเชียงสูตรที่เติมผงเซลลูโลสมากขึ้นและลดไขมันลง จะทำให้กุนเชียงนั้นมีความชื้นและค่าวอเตอร์เอกติวิตี้ลดลง อาจเนื่องมาจากปริมาณไขมันในกุนเชียงลง มีผลทำให้ปริมาณความชื้นลดลง กุนเชียงสูตร Cs1 Cs2 Cs3 และ Cs4 มีปริมาณความชื้นร้อยละ 74.63±0.04 74.41±0.14 73.25±0.48 และ 72.27±0.39 ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่ากุนเชียงสูตรควบคุมที่ไม่เติมผงเซลลูโลส และมีไขมันร้อยละ 24 มีความชื้นร้อยละ 75.34±0.56 แสดงดังตารางที่ 4.4 สำหรับค่าวอเตอร์เอกติวิตี้ของกุนเชียงสูตรต่างๆ ก็เป็นไปในลักษณะเดียวกันกับค่าความชื้น ซึ่งกุนเชียงสูตร Cs4 มีค่าวอเตอร์เอกติวิตี้ต่ำสุด 0.82±0.00 และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$)ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าสูงสุด 0.84±0.00

ค่าสีของกุนเชียงสูตรต่างๆ พบว่า เมื่อเติมผงเซลลูโลสเพิ่มขึ้น กุนเชียงจะมีค่าความสว่าง (L^*) เพิ่มขึ้น โดยกุนเชียงสูตร Cs1 Cs2 Cs3 และCs4 มีค่า L^* 29.41±0.02 31.91±0.03 32.14±0.01 และ 32.29±0.02 ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าความสว่างต่ำสุด เท่ากับ 28.12±0.03 แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.4 ค่าสีแดง (a^*) ในกุนเชียงทั้งห้าสูตร พบว่า เมื่อเติมผงเซลลูโลสเพิ่มขึ้น กุนเชียงจะมีค่าสีแดงลดลง โดยกุนเชียง Cs1 Cs2 Cs3 และ Cs4 มีค่าสีแดง 9.06±0.31 8.89±0.00 8.84±0.00 และ 8.71±0.00 ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าสีแดง 9.05±0.31 แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.4 สำหรับค่าสีเหลือง (b^*) ของกุนเชียงพบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงเซลลูโลส กุนเชียงจะมีการเปลี่ยนแปลงค่าสีเหลืองเล็กน้อย และไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี้ และค่าสี ของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

คุณสมบัติ	**ชุดควบคุม**	**Cs1**	**Cs2**	**Cs3**	**Cs4**
ความชื้น (ร้อยละ)	75.34±0.56^{a}	74.63±0.04^{a}	74.41±0.14^{ab}	73.25±0.48^{bc}	72.27±0.39^{c}
วอเตอร์เอกตอวิตี	0.84±0.00^{a}	0.84±0.00^{a}	0.84±0.00^{a}	0.82±0.00^{b}	0.82±0.00^{b}
ค่าความสว่าง (Lightness :*L**)	28.12±0.03^{a}	29.41±0.02^{a}	31.91±0.03^{a}	32.14±0.01^{a}	32.29±0.02^{a}
ค่าสีแดง (Redness :*a**)	9.05±0.31^{a}	9.06±0.31^{a}	8.89±0.00^{a}	8.84±0.00^{a}	8.71±0.00^{a}
ค่าสีเหลือง (Yellowness :*b**)	1.76±0.05^{a}	1.82±0.03^{a}	1.73±0.12^{a}	1.85±0.09^{a}	1.75±0.33^{a}

หมายเหตุ Cs1= ไขมันร้อยละ 23.50 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0.5, Cs2= ไขมันร้อยละ 23 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 1, Cs3= ไขมันร้อยละ 22 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 2, Cs4= ไขมันร้อยละ 21 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 3 และชุดควบคุม = ไขมันร้อยละ 24 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0 พิจารณาในแถวแนวนอน อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 (p<0.05)

4.4.3 วิเคราะห์เนื้อสัมผัส

จากการนำกุนเชียงทั้งห้าสูตรวิเคราะห์เนื้อสัมผัส พบว่า ค่าความแข็ง (Hardness) ของกุนเชียงจะเพิ่มขึ้นตามปริมาณผงเซลลูโลสที่เพิ่มขึ้น กุนเชียงสูตร Cs1 Cs2 Cs3 และ Cs4 มีค่าความแข็ง (N) 187.09±2.99 205.71±2.46 277.97±11.75 และ 486.19±9.50 ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าความแข็ง 188.02±1.34N กุนเชียง Cs1 และ Cs2 มีค่าความแข็งใกล้เคียงกุนเชียงสูตรควบคุม และไม่แตกต่างทางสถิติ (p>0.05) แต่แตกต่างทางสถิติ (p<0.05) กับกุนเชียงสูตร Cs3 และ Cs4 แสดงดังตารางที่ 4.5 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ วิภา และคณะ (2542) พบว่าคุกกี้ที่เติมผงเซลลูโลสแปรผันตรงกับค่าความแข็ง เมื่อเติมผงเซลลูโลสมากขึ้นจะทำให้มีค่าความแข็งเพิ่มขึ้น เช่นเดียวกันกับงานวิจัยของ Akoglu *et al.* (2015) พบว่า ผงเซลลูโลสที่เติมลงไปในไส้กรอกมีผลทำให้ผลิตภัณฑ์มีความแข็งมากขึ้น แต่จะไม่มีผลต่อความเคี้ยวได้ (Chewiness) ของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหากเติมในปริมาณที่เหมาะสม

ค่าความยืดหยุ่น (Springiness) ของกุนเชียงทั้งห้าสูตร พบว่า เมื่อเพิ่มปริมาณผงเซลลูโลสค่าความยืดหยุ่นของกุนเชียงจะลดลง กุนเชียงสูตร Cs1 Cs2 Cs3 และ Cs4 มีค่าความยืดหยุ่น 0.67±0.00 0.67±0.00 0.64±0.00 และ 0.64±0.00 ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าความยืดหยุ่น 0.67±0.00 กุนเชียงสูตร Cs1 และ Cs2 มีค่าความยืดหยุ่นใกล้เคียงกุนเชียงสูตรควบคุม

และไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) แต่จะแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุนเชียงสูตร Cs3 และ Cs4 แสดงดังตารางที่ 4.5

ค่าการเกาะตัว (Cohesiveness) และค่าความเคี้ยวได้ (Chewiness) ของกุนเชียงทั้งห้าสูตรจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามปริมาณผงเซลลูโลส โดยกุนเชียงสูตร Cs1 Cs2 Cs3 และ Cs4 มีค่าการเกาะตัว 0.14±0.00 0.14±0.00 0.16±0.00 และ 0.17±0.01 ตามลำดับ ขณะที่กุนเชียงสูตรควบคุมมีค่าการเกาะตัว 0.13±0.00 สำหรับค่าการเคี้ยวได้ของกุนเชียงจะเพิ่มขึ้นเมื่อใช้ผงเซลลูโลสร้อยละ 2 (Cs3) และใช้ผงเซลลูโลสร้อยละ 3 (Cs4) มีค่าการเคี้ยวได้ 0.34±0.05Nm และ 0.45±0.07Nm ตามลำดับ แตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) กับกุนเชียงสูตร Cs1 Cs2 และ กุนเชียงสูตรควบคุม แสดงดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ค่าเนื้อสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

เนื้อสัมผัส	ชุดควบคุม	Cs1	Cs2	Cs3	Cs4
ค่าความแข็ง (Hardness, N)	188.02 ± 1.34^{c}	187.09 ± 2.99^{c}	205.71 ± 2.46^{c}	277.97 ± 11.75^{b}	486.19 ± 9.50^{a}
ค่าความยืดหยุ่น (Springiness)	0.67 ± 0.00^{a}	0.67 ± 0.00^{a}	0.67 ± 0.00^{a}	0.64 ± 0.00^{b}	0.64 ± 0.00^{b}
ค่าการเกาะตัว (Cohesiveness)	0.13 ± 0.00^{c}	0.14 ± 0.00^{c}	0.14 ± 0.00^{c}	0.16 ± 0.00^{a}	0.17 ± 0.01^{a}
ค่าความเคี้ยวได้ (Chewiness,Nm)	0.14 ± 0.01^{c}	0.14 ± 0.01^{c}	0.14 ± 0.00^{c}	0.34 ± 0.05^{b}	0.45 ± 0.07^{a}

หมายเหตุ Cs1= ไขมันร้อยละ 23.50 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0.5, Cs2= ไขมันร้อยละ 23 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 1, Cs3= ไขมันร้อยละ 22 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 2, Cs4= ไขมันร้อยละ 21 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 3 และชุดควบคุม = ไขมันร้อยละ 24 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0 พิจารณาในแถวแนวนอน อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

จากผลการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงที่ได้ พบว่า กุนเชียง Cs1 และ Cs2 มีค่าความแข็ง ความยืดหยุ่น การเกาะตัว และการเคี้ยวได้ใกล้เคียงกุนเชียงสูตรควบคุมและไม่แตกต่างทางสถิติ

4.4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และเชื้อรา

จากการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและปริมาณยีสต์และเชื้อราในกุนเชียงทั้งห้าสูตร พบว่า ไม่พบจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และเชื้อรา ดังนั้น กุนเชียงทั้งห้าสูตรมีความปลอดภัยสามารถบริโภคได้ จึงนำมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสต่อไป

4.4.5 การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส

จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่า คะแนนด้านสี กลิ่น และรสชาติของกุนเชียงทั้งห้าสูตรมีคะแนนใกล้เคียงกันอยู่ในช่วง 7.43-7.50 6.90-7.10 และ 6.27-6.73 ตามลำดับ และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ระหว่างกุนเชียงทั้งห้าสูตร สำหรับคะแนนด้านเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของกุนเชียง พบว่า กุนเชียงสูตร Cs1 และ Cs2 มีคะแนนสูงใกล้เคียงกับกุนเชียงสูตรควบคุม และไม่มีความแตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) ขณะที่กุนเชียงสูตร Cs3 และ Cs4 มีคะแนนด้านเนื้อสัมผัสต่ำกว่ากุนเชียงสูตรควบคุม อาจเนื่องจากมีปริมาณผงเซลลูโลสสูง มีผลทำให้เนื้อสัมผัสของกุนเชียงแข็ง ทำให้คะแนนด้านความชอบโดยรวมต่ำกว่าสูตรควบคุมเช่นกัน และมีความแตกต่างทางสถิติ ($p<0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 คะแนนการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

คุณลักษณะของกุนเชียง	**ชุดควบคุม**	**Cs1**	**Cs2**	**Cs3**	**Cs4**
สี (Colour)	7.47 ± 0.15^{a}	7.43 ± 0.19^{a}	7.43 ± 0.12^{a}	7.50 ± 0.09^{a}	7.47 ± 0.12^{a}
กลิ่น (Smell)	7.10 ± 0.17^{a}	6.93 ± 0.20^{a}	6.90 ± 0.18^{a}	7.10 ± 0.19^{a}	6.93 ± 0.14^{a}
เนื้อสัมผัส (Texture)	6.83 ± 0.20^{a}	6.80 ± 0.27^{a}	6.73 ± 0.26^{ab}	5.83 ± 0.18^{b}	4.70 ± 0.28^{c}
รสชาติ (Flavor)	6.73 ± 0.34^{a}	6.50 ± 0.31^{a}	6.63 ± 0.34^{a}	6.73 ± 0.33^{a}	6.27 ± 0.31^{a}
ความชอบโดยรวม (Overall acceptability)	6.83 ± 0.24^{a}	6.87 ± 0.21^{a}	6.80 ± 0.34^{a}	5.63 ± 0.25^{b}	5.43 ± 0.26^{b}

หมายเหตุ Cs1= ไขมันร้อยละ 23.50 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0.5, Cs2= ไขมันร้อยละ 23 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 1, Cs3= ไขมันร้อยละ 22 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 2, Cs4= ไขมันร้อยละ 21 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 3 และชุดควบคุม = ไขมันร้อยละ 24 ร่วมกับผงเซลลูโลสร้อยละ 0 พิจารณาในแถวแนวนอน อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

จากผลการทดลองการทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียในผลิตภัณฑ์กุนเชียง เพื่อคัดเลือกกุนเชียงสูตรที่เหมาะสมที่สามารถลดปริมาณไขมันลง และใยอาหารเพิ่มขึ้น มีคะแนนการยอมรับในผลิตภัณฑ์ใกล้เคียงกับกุนเชียงสูตรควบคุม พบว่า กุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

ร้อยละ 0.5 (Cs1) และ ร้อยละ 1.0 (Cs2) เป็นสูตรที่เหมาะสม ในการทดลองต่อไปคัดเลือกกุนเชียงสูตร Cs2 ซึ่งเป็นกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลสร้อยละ 1.0 เนื่องจากมีใยอาหารสูงกว่ากุนเชียงสูตร Cs1 ขณะเดียวกันมีปริมาณไขมันต่ำกว่า จึงนำกุนเชียงสูตร Cs 2 ศึกษาอายุการเก็บรักษาต่อไป

4.5 ผลการศึกษาอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์กุนเชียง

จากการนำกุนเชียงสูตร Cs2 ซึ่งเป็นกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลสร้อยละ 1.0 นำมาบรรจุถุงพลาสติกชนิด PE (Polyethylene) ในสภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้อง (30±2 องศาเซลเซียส) และอุณหภูมิตู้เย็น (4-10 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 4 สัปดาห์ และนำมาวิเคราะห์คุณภาพดังนี้ ความชื้น ค่าสี เนื้อสัมผัส ปริมาณจุลินทรีย์ การทดสอบด้านประสาทสัมผัส และการเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน เพื่อศึกษาสภาวะและระยะเวลาการเก็บรักษาของกุนเชียงไขมันต่ำ

4.5.1 ความชื้นและค่าสี

ความชื้นของกุนเชียงเก็บที่อุณหภูมิห้อง วันแรกของการเก็บรักษามีความชื้นร้อยละ 23.70±0.12 ความชื้นลดลงเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษาหลังการเก็บรักษา 4 สัปดาห์ ความชื้นลดลงเหลือร้อยละ 23.32±0.24 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ พบว่าปริมาณความชื้นที่ระยะเวลาต่างๆ ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) สำหรับกุนเชียงเก็บที่อุณหภูมิตู้เย็น เริ่มต้นการเก็บรักษา กุนเชียงมีความชื้นร้อยละ 23.70±0.12 ปริมาณความชื้นลดลงเล็กน้อยระหว่างการเก็บรักษา ในสัปดาห์ที่ 4 มีปริมาณความชื้นร้อยละ 22.81±1.08 ไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) กับกุนเชียงช่วงแรกของการเก็บรักษา แสดงดังตารางที่ 4.7

ค่าความสว่าง (L^*) ของกุนเชียงที่เก็บรักษาทั้งสองอุณหภูมิ มีการเพิ่มขึ้นเล็กน้อย วันแรกของการเก็บรักษา ค่าความสว่างของกุนเชียงซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเท่ากับ 30.48±0.83 และ 30.48±0.83 ตามลำดับ สัปดาห์ที่ 4 ค่าความสว่างเพิ่มขึ้นในกุนเชียง ซึ่งเก็บในอุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็น เท่ากับ 31.22±0.33 และ 31.47±0.32 ตามลำดับ ระหว่างกระบวนการเก็บรักษากุนเชียงเป็นเวลา 4 สัปดาห์ ค่าความสว่างของกุนเชียงไม่มีความแตกต่างทางสถิติ (p>0.05) ค่าสีแดงและค่าสีเหลืองของกุนเชียงซึ่งเก็บรักษาทั้งสองอุณหภูมิ จะเพิ่มขึ้นตามเวลาในการเก็บรักษากุนเชียง ซึ่งกุนเชียงเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น วันแรกของการเก็บรักษามีค่าสีแดง 7.23±0.34 และ 7.23±0.34 ตามลำดับ สัปดาห์ที่ 4 ค่าสีแดงเพิ่มขึ้น จะพบว่ากุนเชียงซึ่งเก็บที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นมีค่าสีแดง เท่ากับ 8.65±0.02 และ 8.83±0.21 ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า กุนเชียงเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ มีค่าสีแดงแตกต่างทางสถิติกับวันแรกของการเก็บรักษา (p<0.05) สำหรับค่าสีเหลืองของกุนเชียงซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น จะเพิ่มขึ้นตามระยะการเก็บรักษาเป็นไปในทำนองเดียวกับค่าสีแดง แสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณความชื้นและค่าสีของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์

อุณหภูมิ	**สัปดาห์**	**ร้อยละความชื้น**	**ค่าความสว่าง** *L**	**ค่าความเป็นสีแดง** *a**	**ค่าความเป็นสีเหลือง** *b**
อุณหภูมิห้อง	0	23.70 ± 0.12^{a}	30.48 ± 0.83^{a}	7.23 ± 0.34^{b}	7.61 ± 0.34^{b}
	1	23.05 ± 0.42^{a}	30.70 ± 0.57^{a}	7.83 ± 0.35^{ab}	11.99 ± 0.86^{a}
	2	22.66 ± 0.42^{a}	30.85 ± 1.21^{a}	8.23 ± 0.22^{a}	12.67 ± 0.41^{a}
	3	23.87 ± 1.60^{a}	30.85 ± 0.36^{a}	8.35 ± 0.19^{a}	12.57 ± 0.43^{a}
	4	23.32 ± 0.24^{a}	31.22 ± 0.33^{a}	8.65 ± 0.02^{a}	12.50 ± 0.43^{a}
อุณหภูมิตู้เย็น 4 ℃	0	23.70 ± 0.12^{a}	30.48 ± 0.83^{a}	7.23 ± 0.34^{b}	7.61 ± 0.34^{c}
	1	23.14 ± 0.86^{a}	31.21 ± 0.13^{a}	7.41 ± 0.09^{b}	13.94 ± 0.39^{b}
	2	23.36 ± 0.83^{a}	30.82 ± 0.31^{a}	9.57 ± 0.31^{a}	15.69 ± 0.44^{a}
	3	22.60 ± 0.16^{b}	30.51 ± 0.15^{a}	9.37 ± 0.61^{a}	15.63 ± 0.42^{a}
	4	22.81 ± 1.08^{b}	31.47 ± 0.32^{a}	8.83 ± 0.21^{a}	15.52 ± 0.42^{a}

หมายเหตุ พิจารณาในแถวแนวตั้งอักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิเดียวกัน

4.5.2 วิเคราะห์เนื้อสัมผัส

จากการวิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า ค่าความแข็งของกุนเชียงจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาเก็บรักษา วันแรกของการเก็บรักษากุนเชียงซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นมีค่าความแข็ง 313.24±8.11N และ 313.24±8.11N สัปดาห์ที่ 4 กุนเชียงมีค่า 341.90±27.21N และ 349.52±8.37N เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าค่าความแข็งของกุนเชียงเก็บรักษาเป็นเวลาต่างๆ ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) สำหรับค่าการยืดหยุ่น ค่าการเกาะตัว และค่าความเคี้ยวได้จะลดลงตามระยะเวลาการเก็บรักษาทั้งกุนเชียงที่เก็บรักษาอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น แสดงดังตารางที่ 4.8 ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ชิดชนก (2559) พบว่า เมื่อเก็บรักษากุนเชียงในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องจะทำให้ความแข็ง เพิ่มขึ้นเล็กน้อย ส่วนค่าการยืดหยุ่น ค่าการเกาะตัว และค่าความเคี้ยว เปลี่ยนแปลงเล็กน้อยตามระยะเวลาที่เก็บรักษา

ตารางที่ 4.8 วิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้อง และอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์

สัปดาห์	อุณหภูมิ	ค่าความแข็ง Hardness (N)	ค่าความยืดหยุ่น Springiness	ค่าการเกาะตัว cohesiveness	ค่าความเคี้ยวได้ Chewiness (Nm)
0	อุณหภูมิห้อง	313.24±8.11^{a}	0.49±0.07^{a}	0.21±0.05^{a}	0.29±0.06^{a}
1		318.47±3.16^{a}	0.47±0.01^{a}	0.19±0.02^{a}	0.38±0.03^{a}
2		339.45±8.13^{a}	0.41±0.03^{a}	0.13±0.01^{a}	0.24±0.07^{a}
3		336.15±19.01^{a}	0.37±0.07^{a}	0.16±0.04^{a}	0.28±0.13^{a}
4		341.90±27.21^{a}	0.39±0.02^{a}	0.15±0.02^{a}	0.31±0.04^{a}
0	อุณหภูมิตู้เย็น 4 °C	313.24±8.11^{a}	0.49±0.07^{a}	0.21±0.05^{a}	0.29±0.06^{a}
1		347.77±3.92^{a}	0.33±0.05^{b}	0.15±0.02^{ab}	0.29±0.04^{a}
2		342.39±29.42^{a}	0.33±0.01^{a}	0.15±0.02^{ab}	0.30±0.04^{a}
3		342.34±29.40^{a}	0.33±0.01^{a}	0.15±0.02^{ab}	0.31±0.01^{a}
4		349.52±8.37^{a}	0.32±0.06^{a}	0.14±0.03^{b}	0.32±0.04^{a}

หมายเหตุ พิจารณาในแถวแนวตั้ง อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาที่อุณหภูมิเดียวกัน

4.5.3 วิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมดและยีสต์รา

จากการตรวจนับปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และเชื้อรา ของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุงสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์ โดยทำการตรวจนับสัปดาห์ที่ 0 และ สัปดาห์ที่ 4 พบว่า กุนเชียงที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นในสัปดาห์ที่ 0 ไม่พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และเชื้อรา กุนเชียงที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นในสัปดาห์ที่ 4 พบปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด 8.30x10^{5} และ 4.90x10^{5} CFU/mL ตามลำดับ แต่ไม่พบปริมาณยีสต์ และราในกุนเชียง ดังตารางที่ 4.9 ถึงแม้ว่าในสัปดาห์ที่ 4 จะตรวจพบจุลินทรีย์ทั้งหมดทั้งสองอุณหภูมิ แต่ก็ยังไม่เกินมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุนเชียงหมู (มผช. ๑๐๓/๒๕๕๕) ซึ่งระบุไว้ว่า จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดต้องน้อยกว่า 1x10^{6} ต่อตัวอย่าง 1 กรัม และจำนวนยีสต์และเชื้อราต้องน้อยกว่า 100 โคโลนีต่อตัวอย่าง 1 กรัม

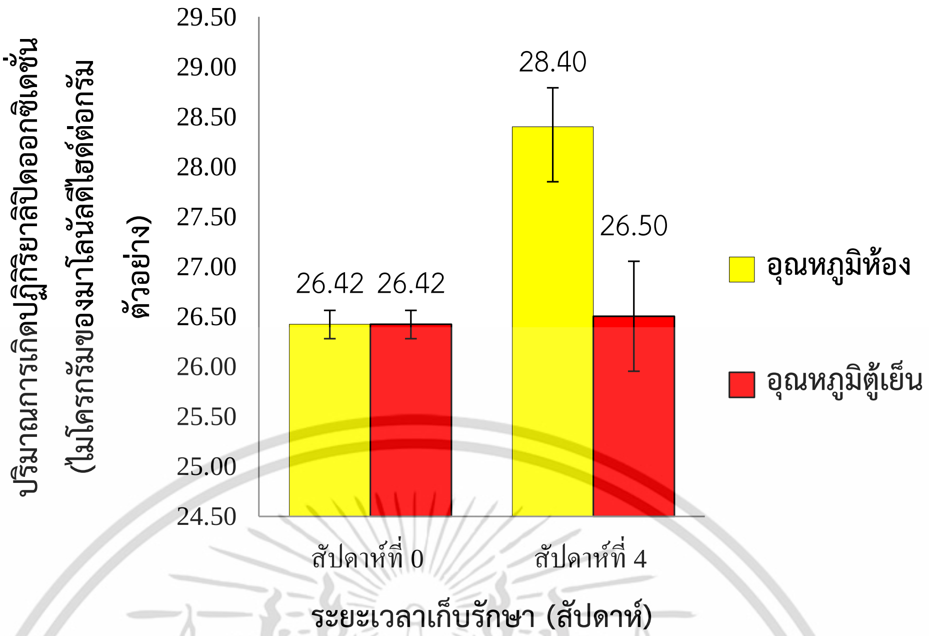
ตารางที่ 4.9 ปริมาณจุลินทรีย์ของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์

อุณหภูมิในการเก็บรักษา	**สัปดาห์ที่ 0**		**สัปดาห์ที่ 4**	
	จุลินทรีย์ทั้งหมด (Log CFU/mL)	**ยีสต์และเชื้อรา (Log CFU/mL)**	**จุลินทรีย์ทั้งหมด (Log CFU/mL)**	**ยีสต์และเชื้อรา (Log CFU/mL)**
อุณหภูมิห้อง	0	0	8.30×10^{5}	0
อุณหภูมิตู้เย็น	0	0	4.90×10^{5}	0

4.5.4 วิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances หรือ TBARS

สำหรับการวิเคราะห์ปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances หรือ TBARS เป็นตัวบ่งบอกระดับของการเกิดออกซิเดชันของไขมันและเป็นการวิเคราะห์ที่สำคัญในการบ่งบอกถึงคุณภาพของผลิตภัณฑ์ไส้กรอกหรือกุนเชียง หากมีปริมาณ TBARS ต่ำถือว่าผลิตภัณฑ์นั้นมีคุณภาพหรือสามารถเก็บรักษาได้เป็นระยะเวลานาน (Wenjiao *et al*, 2014)

จากการวิเคราะห์การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน กุนเชียงที่เก็บรักษาในถุงสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น ในสัปดาห์ที่ 0 และ 4 พบว่า กุนเชียงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นในสัปดาห์ที่ 0 มีค่า TBARS อยู่ที่ 26.42±0.14 ไมโครกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกรัมตัวอย่าง กุนเชียงที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องในสัปดาห์ที่ 4 พบว่ามีค่า TBARS เพิ่มขึ้น เท่ากับ 28.40±0.39 ไมโครกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกรัมตัวอย่าง ในขณะที่กุนเชียงซึ่งเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นมีค่า TBARS เท่ากับ 26.50±0.55 ไมโครกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงไปจากสัปดาห์ที่ 0 มากนัก ดังรูปที่ 4.6 ดังนั้นการเก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นสามารถ ทำให้ปฏิกิริยาลิปิดออกซิเจนชันเกิดขึ้นช้า เนื่องจากอุณหภูมิต่ำจะช่วยยับยั้งปฏิกิริยาการออกซิเดชันของลิปิดได้ (Wenjiao *et al.*, 2014) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Benjamas, และ Theprugsa (2022) พบว่า เมื่อเก็บผลิตภัณฑ์กุนเชียงที่อุณหภูมิ 35 และ 45 องศาเซลเซียส ในถุงพลาสติกสภาวะสุญญากาศ มีค่า TBARS เพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการเก็บรักษา



รูปที่ 4.6 การเกิดปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชันของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุงสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น ในสัปดาห์ที่ 0 และ 4

4.5.5 การทดสอบด้านประสาทสัมผัส

จากการเก็บรักษากุนเชียงไขมันต่ำในถุง PE ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กุนเชียงไขมันต่ำที่เก็บรักษาในอุณหภูมิห้องสัปดาห์ที่ 0 มีคะแนนด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมอยู่ที่ 6.90±0.30 7.13±0.30 7.00±0.30 7.03±0.28 และ7.13±0.22 ตามลำดับ เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีคะแนนด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมลดลง อยู่ที่ 6.70±0.27 6.67±0.29 6.57±0.25 6.43±0.22 และ6.73±0.20 ลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ (*p*>0.05) เช่นเดียวกันกับการเก็บรักษากุนเชียงในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิตู้เย็น (4°C) เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ พบว่า กุนเชียงไขมันต่ำที่เก็บรักษาในอุณหภูมิตู้เย็นสัปดาห์ที่ 0 มีคะแนนด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมอยู่ที่ 7.30±0.22 7.30±0.25 7.20±0.26 7.10±0.25 และ 7.43±0.14 ตามลำดับ เมื่อเก็บเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ มีคะแนนด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวมลดลง อยู่ที่ 7.00±0.20 6.90±0.30 6.53±0.27 6.57±0.28 และ7.27±0.22 ตามลำดับ แต่ไม่มีความแตกต่างในทางสถิติ (*p*>0.05) แสดงดังตารางที่ 4.10 ซึ่งคะแนนทางด้านประสาทสัมผัสที่ลดลง เนื่องจากอุณหภูมิและระยะเวลาในการเก็บรักษามีผลต่อคุณภาพของกุนเชียง เช่น การเก็บเป็นรักษาในระยะเวลานานกลิ่นอาจจะเปลี่ยนแปลงไป มีกลิ่นหืนเพิ่มขึ้น สีที่อาจจะเข้มไปจากเดิม หรือเนื้อสัมผัสมีความแข็งขึ้น แม้ว่าคะแนนทางด้านประสาทสัมผัสในทุกด้านจะลดลง แต่คะแนนของผู้ทดสอบยังอยู่ในระดับที่ผู้ยอมรับได้ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ ชิดชนก 2555 พบว่า เมื่อระยะเวลา

การเก็บรักษานานขึ้น ผลิตภัณฑ์ที่บรรจุถุงพอลิโพรพิลีนในสภาวะความดันบรรยากาศมีคะแนนความชอบทุกด้านมีแนวโน้มลดลง นอกจากนี้ยังมีกลิ่นหืนและสีของผลิตภัณฑ์คล้ำขึ้น

จากผลการทดลองจะพบว่ากุนเชียงสูตร Cs2 ซึ่งเป็นกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลสร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) บรรจุถุง PE ในสภาวะสุญญากาศ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์ กุนเชียงที่เก็บรักษาทั้งสองอุณหภูมิมีปริมาณความชื้น ค่าสี *L** *a** และ *b** เนื้อสัมผัส มีการเปลี่ยนแปลงน้อยมากเมื่อเทียบกับวันแรกของการเก็บรักษา (0 สัปดาห์) และเมื่อนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัส ผู้ทดสอบยังให้คะแนนการยอมรับด้านรสชาติและความชอบโดยรวมสูงไม่แตกต่างกับวันแรกของการเก็บรักษา

ตารางที่ 4.10 คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์

อุณหภูมิในการเก็บรักษา	ระยะเวลา	สี	กลิ่น	เนื้อสัมผัส	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
อุณหภูมิห้อง	0	6.90±0.30^{a}	7.13±0.30^{a}	7.00±0.30^{a}	7.03±0.28^{a}	7.13±0.22^{a}
	1	6.83±0.26^{a}	6.90±0.28^{a}	6.77±0.25^{a}	6.70±0.25^{a}	6.93±0.22^{a}
	2	6.78±0.27^{a}	6.73±0.26^{a}	6.67±0.25^{a}	6.60±0.25^{a}	6.87±0.21^{a}
	3	6.70±0.28^{a}	6.67±0.28^{a}	6.63±0.22^{a}	6.60±0.25^{a}	6.80±0.23^{a}
	4	6.70±0.27^{a}	6.67±0.29^{a}	6.57±0.25^{a}	6.43±0.22^{a}	6.73±0.20^{a}
อุณหภูมิตู้เย็น 4°C	0	7.30±0.22^{a}	7.30±0.25^{a}	7.20±0.26^{a}	7.10±0.25^{a}	7.43±0.14^{a}
	1	7.27±0.22^{a}	7.10±0.26^{a}	6.83±0.27^{a}	6.90±0.25^{a}	7.33±0.21^{a}
	2	7.23±0.23^{a}	7.00±0.27^{a}	6.80±0.26^{a}	6.77±0.25^{a}	7.33±0.19^{a}
	3	7.10±0.24^{a}	6.97±0.26^{a}	6.63±0.26^{a}	6.67±0.24^{a}	7.30±0.20^{a}
	4	7.00±0.20^{a}	6.90±0.30^{a}	6.53±0.27^{a}	6.57±0.28^{a}	7.27±0.22^{a}

หมายเหตุ พิจารณาในแถวแนวตั้ง อักษรต่างกันแสดงว่ามีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

บทที่ 5

สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการวิจัย

1. จากการนำเชื้อจุลินทรีย์ *Acetobacter xylinum* TISTR 976 ศึกษาการเจริญเติบโตและการผลิตเซลลูโลสในน้ำมะพร้าวแก่ที่เป็นของเหลือทิ้งทางเกษตรกรรมระยะเวลา 14 วัน ในสภาวะนิ่ง เพื่อศึกษาระยะเวลาที่เชื้อจุลินทรีย์สามารถผลิตเซลลูโลสมีความหนาและผลผลิตเซลลูโลสมากที่สุด พบว่า ระยะเวลา 10 วัน โดยมีความหนาเท่ากับ 0.80±0.00 เซนติเมตร และ ผลผลิตเซลลูโลสเท่ากับ 0.89±0.01 กรัมต่อลิตร

2. จากการศึกษาวิธีการทำแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์โดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม) 0.5 1.0 2.0 และ3.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมในการทำแผ่นเซลลูโลสให้บริสุทธิ์ โดยตรวจสอบลักษณะสีของแผ่นเซลลูโลสตัวอย่างและวิเคราะห์ความบริสุทธิ์โดยส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด (Scanning Electron Microscope, SEM) เพื่อคัดเลือกความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่เหมาะสมในการกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลส พบว่า แผ่นเซลลูโลสที่ทำให้บริสุทธิ์โดยการแช่ในสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อปริมาตร) มีลักษณะสีของแผ่นเซลลูโลสที่เป็นสีขาว และสามารถกำจัดเซลล์แบคทีเรียออกจากแผ่นเซลลูโลสได้หมด

3.จากการศึกษาวิธีการผลิตผงเซลลูโลสซึ่งจะนำไปใช้ในการทดแทนไขมันในกุนเชียง การศึกษาวิธีการทำผงเซลลูโลสแบ่งออกเป็น 2 วิธี คือ วิธีที่ 1 ทำแผ่นเซลลูโลสเปียกให้บริสุทธิ์ก่อนทำเป็นผงแห้ง และวิธีที่ 2 บดหยาบแผ่นเซลลูโลสเปียกก่อนทำให้บริสุทธิ์และทำเป็นผงแห้ง เพื่อคัดเลือกวิธีการที่เหมาะสมในการผลิตผงเซลลูโลส โดยวิเคราะห์จากลักษณะทางกายภาพ ค่าสี ความชื้น ความสามารถในการอุ้มน้ำ ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน และค่าความเป็นพิษต่อเซลล์ พบว่า ผงเซลลูโลสจากวิธีที่ 2 มีลักษณะการกายภาพที่มีความเป็นเส้นใยเกาะกันอย่างหลวมคล้ายสำสี มีค่าสีที่มีค่าความสว่าง (*L**) เท่ากับ 81.98±0.54 สูงใกล้เคียงกับผงเซลลูโลสทางการค้า นอกจากนี้ยังมีค่าร้อยละความเป็นพิษต่อเซลล์ เท่ากับ 20.66±0.02 ซึ่งมีปริมาณต่ำกว่าเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดว่าต้องมีค่าความเป็นพิษน้อยว่าร้อยละ 30 มีความปลอดภัยต่อผู้บริโภค จากคุณสมบัติเหล่านี้จึงเลือกผงเซลลูโลสที่ผลิตด้วยวิธีที่ 2 นำมาทดแทนไขมันในกุนเชียง

4. จากการศึกษาการนำผงเซลลูโลสทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียง แบ่งออกเป็น 5 ชุดการทดลอง ดังนี้ ชุดการทดลองที่ 1 เป็นกุนเชียงสูตรควบคุม ซึ่งมีปริมาณไขมันร้อยละ 24 ไม่มีการเติมผงเซลลูโลส (ตามสูตร) ชุดการทดลองที่ 2 (Cs1) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 0.5 ร่วมกับไขมันร้อยละ 23.50 ชุดการทดลองที่ 3 (Cs2) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 1.0 ร่วมกับไขมัน

ร้อยละ 23.00 ชุดการทดลองที่ 4 (Cs3) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 2.0 ร่วมกับไขมันร้อยละ 22.00 และชุดการทดลองที่ 5 (Cs4) ใช้ผงเซลลูโลสจากแบคทีเรียร้อยละ 3.0 ร่วมกับไขมันร้อยละ 21.00 เพื่อคัดเลือกกุนเชียงชุดการทดลองที่สามารถลดไขมัน มีใยอาหารมากขึ้น มีคุณสมบัติใกล้เคียงกับกุนเชียงชุดควบคุม และเป็นที่ยอมรับต่อผู้บริโภค มีการวิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหาร ค่าสี ความชื้น เนื้อสัมผัส จุลินทรีย์ และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส พบว่า กุนเชียงชุดการทดลองที่ 3 (Cs2) ที่ใช้ผงเซลลูโลสทดแทนไขมันร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) สามารถลดไขมันได้ และมีปริมาณใยอาหารเพิ่มขึ้น เท่ากับ 21.91±0.06 และ 2.10±0.40 ตามลำดับ นอกจากนี้ค่าสี L^* a^* และ b^* เท่ากับ 31.91±0.03 8.89±0.00 1.73±0.12 และเนื้อสัมผัสในด้านความยืดหยุ่น (Springiness) เท่ากับ 0.67±0.00 เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติไม่แตกต่างในทางสถิตกับกุนเชียงชุดควบคุม ($p>0.05$) รวมไปถึงการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสจากผู้ทดสอบจำนวน 30 คน ให้คะแนนในด้านสี กลิ่น เนื้อสัมผัส รสชาติ และความชอบโดยรวม กุนเชียงชุดการทดลองที่ 3 (Cs2) มีคะแนนสูงกว่าชุดการทดลองที่ 2, 4 และ5 แต่ไม่แตกต่างทางสถิติ ($p>0.05$) กับกุนเชียงชุดควบคุม จากนั้นจึงนำกุนเชียงที่ใช้ผงเซลลูโลสทดแทนไขมันร้อยละ 1.0 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) ทำการศึกษาอายุการเก็บรักษา

5. จากการศึกษาอายุการเก็บรักษาโดยนำกุนเชียงลดไขมันเก็บรักษาในถุงชนิด PE ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น (4°C) เป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ เพื่อศึกษาระยะเวลาและอุณหภูมิที่สามารถเก็บรักษากุนเชียงได้โดยยังคงคุณภาพเช่นเดิม พบว่า เมื่อเก็บรักษากุนเชียงไขมันต่ำที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์ คุณสมบัติและคุณภาพต่างๆ เช่น ค่าสี ความชื้น เนื้อสัมผัส และการทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส ลดลงตามระยะเวลาในการเก็บรักษาแต่ไม่แต่ต่างกันในทางสถิติ ($p>0.05$) สำหรับการวิเคราะห์ปฏิกิริยาลิปิดออกซิเดชัน ด้วยวิธี Thiobarbituric acid reactive substances หรือ TBARS พบว่า กุนเชียงไขมันต่ำที่เก็บในอุณหภูมิห้องในสัปดาห์ที่ 4 มีค่า TBARS เพิ่มขึ้นจาก 26.42±0.14 ไมโครกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกรัมตัวอย่าง เป็น 28.40±0.39 ไมโครกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งสูงกว่ากุนเชียงไขมันต่ำที่เก็บรักษาที่อุณหภูมิตู้เย็นในสัปดาห์ที่ 4 มีค่า TBARS อยู่ที่ 26.50±0.55 ไมโครกรัมของมาโลนัลดีไฮด์ต่อกรัมตัวอย่าง ซึ่งไม่เปลี่ยนแปลงจากสัปดาห์ที่ 0 มากนัก

5.2 ข้อเสนอแนะ

5.2.1 จากการศึกษาการนำผงเซลลูโลสมาทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์กุนเชียงผลคือสามารถทดแทนไขมันได้แต่ก็ลดไขมันได้เพียงร้อยละ 1 (น้ำหนักต่อน้ำหนัก) หากนำไปใช้ผงเซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียมาทดแทนไขมันในผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น ขนมปัง หรือคุกกี้ อาจจะสามารถช่วยลดไขมันได้มากกว่าผลิตภัณฑ์กุนเชียง

5.2.2 ผงเซลลูโลสที่ผลิตได้ในงานวิจัยนี้นอกจากจะสามารถลดไขมันของกุนเชียงได้บางส่วนแล้ว ในผลการทดลองจะเห็นได้ว่ามีปริมาณใยอาหารเพิ่มมากขึ้นนั้นแสดงว่าผงเซลลูโลสสามารถเพิ่ม

ปริมาณใยอาหารในผลิตภัณฑ์ได้ ดังนั้นจึงอาจจะนำคุณสมบัตินี้นำไปประยุกต์ใช้กับอาหาร หรือเครื่องดื่ม ที่ต้องเพิ่มใยอาหารเพื่อช่วยในเรื่องขับถ่าย ซึ่งกำลังเป็นที่นิยมในยุคปัจจุบัน

5.2.3 สำหรับอายุในการเก็บรักษาในงานวิจัยได้ทำการเก็บรักษาในสภาวะสุญญากาศทั้งในอุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นระยะเวลา 4 สัปดาห์ ซึ่งผลคือไม่เห็นการเปลี่ยนแปลง ในการศึกษาครั้งหน้าอาจจะเพิ่มระยะเวลาในการเก็บรักษามากยิ่งขึ้นเป็น 8 หรือ 12 สัปดาห์ เพื่อเห็นความเปลี่ยนแปลง หรืออาจจะเปลี่ยนจากการเก็บในสภาวะสุญญากาศเป็นการเก็บในถุงพลาสติกในสภาวะปกติ หากสามารถเก็บแบบสภาวะปกติในระยะเวลานานแล้วคุณสมบัติหรือคุณภาพไม่เปลี่ยนแปลงก็สามารถเป็นประโยชน์ต่อผู้บริโภค เพราะการเก็บกุนเชียงใส่ถุงพลาสติกแบบสุญญากาศต้องเพิ่มค่าใช้จ่ายการซื้อเครื่องบรรจุสุญญากาศ

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

อ้างอิง

กมลวรรณ ตันโสภณ และ ดวงใจ โอชัยกุล. 2554. การผลิตสารสีโดยเชื้อ *Monascus purpureus* TISTR 3090 บนลูกเดือยในสภาวะอาหารแข็ง. เรื่องเต็มการประชุมทางวิชาการ ครั้งที่ 49 มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สาขาวิทยาศาสตร์. หน้า 330-339.

กาญจนา จันทร์ทัต และ สิทธิศักดิ์ ยิบมีลาภผล. 2542. “ความเป็นไปได้ในการใช้วุ้นเซลลูโลสแทนไขมันในกุนเชียง.” ปัญญาพิเศษภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

จินตนา พรมวงษ์ป้อ, วนิดา โยคนิตย์ และ จุฬาลักษณ์ เขมาชีวะกุล. 2560. “การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมใน กระบวนการหมักเพื่อผลิตวุ้นด้วย *Acetobacter xylinum* TISTR 975 จากน้ำมะม่วง.” *วารสารวิจัย และพัฒนา มจธ.* 40(2) : 271-282.

จุฑามาศ สวนแก้ว, ดวงใจ โอชัยกุล และวนิดา จันทร์วิกูล. 2553. ฤทธิ์ในการยับยั้งเชื้อจุลินทรีย์ของเซลลูโลสจากแบคทีเรียที่ทำให้ชุ่มด้วยสารสกัดจากไพลและเปลือกมังคุดเพื่อเป็นแผ่นวัสดุปิดแผลต้านเชื้อแบคทีเรีย, วารสารวิทยาศาสตร์ลาดกระบัง. ปีที่ 19 ฉบับที่ 1 เดือนมกราคม - มิถุนายน. 76-86.

ชิดชนก ศุขศรีไพศาล. 2559. “การผลิตและการเก็บกุนเชียงลดไขมันพร้อมบริโภคโดยใช้เทคโนโลยีเฮอร์เดิล.” วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์.

ฐิตา ฟูเผ่า, อัจฉรา พรหมแสง, พัชรา อันโต และวีระ พุ่มเกิด. 2557. “ผลของวิธีการสกัดต่อคุณสมบัติของ สารสกัดเซลลูโลสจากกากเมล็ดมะรุม.” *มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนดุสิต.* 7(2) : 44-55.

ดารุณี วิจิตรปฐมกุล. 2544. “การผลิตกุนเชียงว่านหางจระเข้.” ปัญหาพิเศษครุศาสตร์อุตสาหกรรมบันทิต สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร ภาควิชาครุศาสตร์เกษตร คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรม สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

นันทรัตน์ พฤกษาพิทักษ์. 2558. “การผลิตเซลลูโลสจากน้ำคั้นยอดปาล์มน้ำมันโค่นทิ้งเพื่อการปลูกใหม่โดย เชื้อ *Acetobacter xylinum* TISTR 086.” มหาวิทยาลัยทักษิณ.

นิธิมา อรรถวานิช และปราณี อ่านเปรื่อง. 2546. “ใยอาหารผงจากเปลือกส้มเขียวหวานและการประยุกต์.” *อาหาร.* 33(1) : 45-55.

ปิยรัตน์ ศิริวงศ์ไพศาล. 2551. **วิศวกรรมแปรรูปอาหาร (Food process engineering)**. สงขลา : มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

บุปผาชาติ ยศคันโท, คมกฤต เล็กสกุล, มลทิรา ต๊ะบุญธง และวลัยลักษณ์ ไชยสกูล. 2555. “การศึกษาคุณสมบัติของเซลลูโลสแบคทีเรียเพื่อการผลิตกระถางย่อยสลายได้.” *การประชุมวิชาการข่ายงานวิศวกรรมอุตสาหการ.* :1281-1287.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิสิษฐ์. 2536. **“เทคโนโลยีเนื้อสัตว์และผลิตภัณฑ์”**. พิมพ์ครั้งที่ 2. เคยูเพลส. กรุงเทพฯ. 135 น.

วิจิตรา ใหม่จันทร์, พิชามญชุ์ กำมังละการ, สุวรรณา สุดปรึก, กุลนันท์ ปุ๊ดพรหม, ชุติมา อันชนะ, จันทร์ทิมา พงษ์พานิช และสุรศักดิ์ ละลอกน้ำ. 2560. “การผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* TISTR 086 โดยใช้ผลผลิตทางการเกษตรเป็นแหล่งคาร์บอน.” วารสารหน่วยวิจัยวิทยาศาสตร์เทคโนโลยีและสิ่งแวดล้อมเพื่อการเรียนรู้ ปีที่ 3 ฉบับที่ 2 เดือนตุลาคม – พฤศจิกายน. 92-97.

วิภา สุโรจนะเมธากุล, ตวิษา โลหะนะ, พะยอม อัตถวิบูลย์กุล และบุญมา นิยมวิทย์. 2541. “การใช้กากดอกกระเจี๊ยบและเปลือกถั่วเหลืองเพื่อผลิตเซลลูโลสผง.” *สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารมหาวิทยาลัยเกษตศาสตร์.* 28(4) : 255-267.

สุทธินี สีสังข์., อาภานวล ธนะศรีสุธารัตน์ และวัชรี คงรัตน์. 2561. “ผลของสารทดแทนไขมันต่อคุณสมบัติทางกายภาพของปลาเชียงที่ผลิตจากปลาน้ำจืด.” กองวิจัยและพัฒนาเทคโนโลยีอุตสาหกรรมสัตว์น้ำ กรมประมง.

สุภาวดี ผลประเสริฐ. 2557. “การปรับสภาพวัตถุดิบพวกลิกโนเซลลูโลสสำหรับการผลิตเอทานอล.” *วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.* 22(5) : 641-649.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2555**. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนกุนเชียงหมู.** มผช. 130/2555. กรุงเทพมหานคร: กระทรวงอุตสาหกรรม.

ศิริเพ็ญ สิริโรจนพุฒิ. 2550. “กระบวนการทำแห้งเซลลูโลสที่ผลิตจาก *Acetobacter xylinum* โดยวิธี สุญญากาศและแช่เยือกแข็งและการประยุกต์.” ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีทางการอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

Ahn, K., Zaccaron, S., Zwirchmayr, N.S., Hettegger, H., Hofinger, A., Bacher, M., Henniges, U., Hosoya, T., Potthast, A. and Rosenau, T. 2019. “Yellowing and brightness reversion of celluloses: CO or COOH, who is the culprit?.” *Springer* . 1-16.

Akoglu, A., Cakir, I., Karahan, A.G. and Cakmakci, M.L. 2015. “Effect of bacterial cellulose as a fat replacer on some quality characteristic of fat reduced sucuk” *Araflt›rmaResearch.* 40(3) : 133-139.

Akoglu, A., Cakir, I., Karahan, A.G. and Cakmakci, M.L. 2018. “Effects of bacterial cellulose as a fat replacer on some properties of fat-reduced mayonnaise.” *Romanian Biotechnological Letters.* 3(23) : 13674-13680.

Amornrat, S., Pattaraporn, Y., Yozo, Y. and Duangjai, O. 2014. “Statistical optimization of coltyre condition for biocellulose production by *Komagataeibacter* sp. PAP1 using soya bean whay.” *Maejo International Journal of Science and Technology*. 8(01) : 1-14.

Ang, J.F. 1991. “Water retention capacity and viscosity effect of powdered cellulose.” *Journal of Food Science*. 56(6) : 1682-1684.

AOAC. 1995. Official method of analysis 16th Ed. AOAC international: Gaithersburg, MD.

AOAC. 2000. Official method of analysis 16th Ed. AOAC international: Gaithersburg, MD.

Azeredo, H.M.C. 2009. “Nanocomposites for food packaging applications.” *Food Research International*. 42 : 1240-1253.

Bajaj, I., Chawla, P., Singhal, R. and Survase, S. 2009. “Microbial cellulose: fermentative production and applications.” *Food Technology and Biotechnology*. 47(2) : 107-124.

Belbekhouche, S., Bras, J. and Siqueira, G. 2011. “Water sorption behavior and gas barrier properties of cellulose whiskers and microfibrils films.” *Carbohydrate Polymers*. 83(4) : 1740-1748.

Benjamas, S. and Theprugsa, P. 2022. “Research and development of the healthy ready-to-eat strip Chinese sausage.” *International Journal of Agricultural Technology*. 18(3) : 939-950.

Brown, A.J. 1886. “An acetic acid ferment which forms cellulose.” *Journal of the Chemical Society*. 49 : 432-439.

Cazón, P., Velazquez, G., Ramírez, J. A. and Vázquez, M. 2017. “Polysaccharide-based films and coatings for food packaging: A review.” *Food Hydrocolloids*. 68 : 136-148.

Delmer, D.P. 1999. “Cellulose biosynthesis: exciting times for a difficult field of study.” *Annu Rev Plant Physiol Plant Mol Biol*. 50 : 245-276.

Embuscado, M.E., Marks, J.S. and Bemiller, J.N. 1994. “Bacterial cellulose optimization of cellulose production by *Acetobacter xylinum* through response surface methodology.” *Food Hydrocoll*. 8 : 419-430.

Esa, F., Tasirin, S.M. and Rahman, N.A. 2014. "Overview of bacterial cellulose production and application." *Agriculture and Agricultural Science Procedia.* 2 : 113-119.

Gea, S., Reynolds, C.T., Roohpour, N., Wirjosentono, B., Soykeabkaew, N., Bilotti, E. and Peijs, T. 2015. "Investigation into the structural, morphological, mechanical and thermal behaviour of bacterial cellulose after a two-step purificationvprocess" *Bioresource Technology.* 102 : 9105-9110.

George, J., Ramana, K.V., Bawa, A.S. and Siddaramaiah. 2011. "Bacterial cellulose nanocrystals exhibiting high thermal stability and their polymer nanocomposites." *International Journal of Biological Macromolecules.* 48(1) 50-57.

Gibis, M., Schuh, V. and Weiss, J. 2015. "Effects of carboxymethyl cellulose (CMC) and microcrystalline cellulose (MCC) as fat replacers on the microstructure and sensory characteristics of fried beef patties." *Food Hydrocoll.* 45 : 236–246.

Halib, N., Amin, M.C.I.M. and Ahmad, I. 2012. "Physicochemical properties and characterization of nata de coco from local food industries as a source of cellulose." *Sains Malaysiana.* 41(2) : 205-211.

ISO 10993-5. 2009. Biological evaluation of medical devices —Part 5: Tests for in vitro cytotoxicity.

Izidoro, D., Sierakowski, M.R., Waszczynskyj, N., Haminiuk, C.W.U. and Scheeer, A.P. 2008. "Sensory evaluation and rheological behavior of mayonnaise." *International Journal of Food Engineering.* 3(1) : 1-15.

Jiménez-Colmenero, F., Carballo, J. and Cofrades, S. 2001. " Healthier meat and meat products: their role as functional foods." *Meat Science.* 59 : 5-13.

Kamal, A.S.M., Misnon, M.I. and Fadil, F. 2020. "The effect of sodium hydroxide concentration on yield and properties of bacterial cellulose membranes." *IOP Conference Series Materials Science and Engineering.* 732 : 1-7

Khan, T., Park , J.K., Kwon, J.H. 2007. "Functional biopolymers produced by biochemical technology considering applications in food engineering." *Korean Journal of Chemical Engineering.* 24(5) : 816-826.

Lavoine, N., Tabary, N., Desloges, I., Martel, B. and Bras, J. 2014. “Controlled release of chlorhexidine digluconate using ß-cyclodextrin and microfibrillated cellulose.” *Colloids and surfaces B: Biointerfaces.* 121 : 196–205.

Li, F., Mascheroni, E. and Piergiovanni, L. 2015. “The potential of nanocellulose in the packaging field: a review.” *Package Technology and Science*. 28(6):475-508.

Lin, K.W. and Lin, H.Y. 2004. “Quality characteristics of chinese-style meatball containing bacterial cellulose (Nata).” *Sensory and Nutritive Qualities of Food*. 69(3) : 107-111.

Lumbikananda, N., Siridamrong, P., Vairojanawong, T., Poonthananiwatkul, C., Iaungsopapun, G., Srichan, R. and Boonruang, A. 2018. “Preparation of bacterial cellulose powder for medical material: part 1.” *Srinakharinwirot Science journal*. 34(1) : 278-286.

Lumenlearning. 2020. **Phase diagram of water**. [Online] : https://courses.lumenlearning.com/cheminter/chapter/phase-diagram-for-water/

Meftahi, A., Khajavi, R., Rashidi, A., Rahimi, M.K. and Bahador, A. 2015. “Effect of purification on nano microbial cellulose pellicle properties.” *Procedia Materials Science*. 11 : 206-211

Mun, S., Kima, Y.L., Kang, C.G., Park, K.H., Shim, J.Y. and Kima, Y.R. 2009. Development of reduced-fat mayonnaise using 4αGTase-modified rice starch and xanthan gum.” *international Journal of Biological Macromolecules*. 44 : 400–407

Murphy, P. 1999. “Low fat developments with speciality starches.” *Food Technology International*. 22 : 24

Okiyama, A., Motoki, M., and Yamanaka, S. 1992. “Bacterial cellulose II. Processing of the gelatinous cellulose for food materials.” *Food Hydrocolloids*. 6 : 479-487.

Pereira, P.H.F., Voorwald, H.C.J., Cioffi, M.O.H., Mulinari, D.R., Luz, S.M.D. and Silva, M.L.C.P.D. 2011. “Sugarcane bagasse pulping and bleaching: Thermal and chemical characterization.” *Bioresources*. 6(3): 2471-2482.

Poletto, M., Dettenborn, J., Pistor, V., Zeni, M. and Zattera, A.J. 2010. "Materials produced from plant biomass: Part I: evaluation of thermal stability and pyrolysis of wood." *Materials Research*. 13(3) : 375–379.

Santos, S.M., Carbajo, J.M., Quintana, E., Ibarra, D., Gomez, N., Ladero, M., Eugenio, M.E. and Villar, J.C. 2015. "Characterization of purified bacterial cellulose focused on its use on paper restoration." *Carbohydrate Polymers*. 116 : 173-181.

Setyawati, M.I., Chien, L.J. and Lee, C.K. 2009. "Self-immobilized recombinant *Acetobacter xylinum* for biotransformation." *Biochemical Engineering Journal*. 43 : 78-84.

Suryanto, H., Muhajir, M., Sutrisno, T.A., Mudjiono, Zakia, N. and Yanuhar, U. 2018. "The mechanical strength and morphology of bacterial cellulose films: the effect of NaOH concentration." *IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering*. 515 : 1-7.

Tang, W., Jia, S., Jia, Y., Yang, H. 2010. "The influence of fermentation conditions and post-treatment methods on porosity of bacterial cellulose membrane." *World Journal of Microbiology and Biotechnology*. 26(1) : 125-131.

Tomé, L.C., Brandão, L., Mendes, A.M., Silvestre, A.J.D., Neto, C.P., Gandini, A., Freire, C.R.S. and Marrucho, I.M. 2010. "Preparation and characterization of bacterial cellulose membranes with tailored surface and barrier properties." *Cellulose*. 17 : 1203–1211.

Turbak, A. F., Snyder, F. W., and Sandberg, K. R. 1983. "Suspensions containing microfibrillated cellulose." U.S. Patent 4378381, U.S. Patent and Trademark Office.

Ul-Islam, M., Khan, T., and Park, J.K. 2012. "Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification." *Carbohydrate Polymers*. 88(2) : 596–603.

Underwood, R. 2020. **Bioprocesses in food industry**. United Kingdom : ED-Tech Press.

Winuprasith, T. and Suphantharika, M. 2013. "Microfibrillated cellulose from mangosteen (*Garcinia mangostana* L.) rind: preparation,characterization, and evaluation as an emulsion stabilizer." *Food Hydrocoll*. 32 : 383–394.

Winuprasith, T. and Suphantharika, M. 2015. “Properties and stability of oil-in-water emulsions stabilized by microfibrillated cellulose from mangosteen rind.” *Food Hydrocoll.* 43 : 690–699.

Xu, Z., Shi, Z. and Jiang, L. 2001. “Acetic and propionic acids.” *Bio-Based Chemicals*. 3 : 189-199.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหารสูตรน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าว	100	มิลลิลิตร
น้ำตาลทราย	ร้อยละ 5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
แอมโมเนียมซัลเฟต	ร้อยละ 0.1	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
กรดอะซิติก	ร้อยละ 1.0	(ปริมาตรต่อปริมาตร)

โดยน้ำมะพร้าวได้จากน้ำมะพร้าวแก่ กรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นเติมสารต่าง ๆ ตามสูตร เติมอาหารเลี้ยงเชื้อลงในฟลาสก์ ปิดจุดสำลีและนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหารสูตร Glucose-Yeast extract-Calcium carbonate Agar (GYC)

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
กลูโคส	ร้อยละ 10	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
ยีสต์สกัด	ร้อยละ 1	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
แคลเซียมคาร์บอเนต	ร้อยละ 2	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
วุ้น	ร้อยละ 1.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)

ชั่งส่วนประกอบอาหารตามสูตรอาหาร GYC แล้วเติมวุ้นลงไปร้อยละ 1.5 และนำไปให้ความร้อนเพื่อให้วุ้นละลายจนอาหารมีลักษณะใส คนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว และนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

3. อาหารสูตร Plate Count Agar (PCA)

น้ำกลั่น	100	มิลลิลิตร
เปปโตน	ร้อยละ 0.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
ยีสต์สกัด	ร้อยละ 0.25	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
กลูโคส	ร้อยละ 0.1	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
วุ้น	ร้อยละ 1.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)

ชั่งส่วนประกอบอาหารตามสูตรอาหาร PCA เติมวุ้นลงไปร้อยละ 1.5 และนำไปให้ความร้อนเพื่อให้วุ้นละลายจนอาหารมีลักษณะใส คนอาหารเลี้ยงเชื้อด้วยแท่งแก้ว และนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที เมื่อครบเวลา เทลงจานเพาะเชื้อขณะที่อาหารมีอุณหภูมิประมาณ 45 องศาเซลเซียส ปริมาตร 12-20 มิลลิลิตรต่อจาน โดยประมาณ

4. อาหารสูตร Dichloran Rose Bengal Chloramphenicol agar (DRBC)

น้ำกลั่น	ร้อยละ 1,000	มิลลิลิตร
กลูโคส	ร้อยละ 10	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
เปปโตน	ร้อยละ 5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH2PO4)	ร้อยละ 1	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
แมกนีเซียมซัลเฟตเฮปตะไฮเดรต (MgSO4.7H2O)	ร้อยละ 0.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
Rose Bengal	ร้อยละ 0.025	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
Dichloran	ร้อยละ 0.002	(น้ำหนักต่อปริมาตร)
Chloramphenicol solution	ร้อยละ 10	(ปริมาตรต่อปริมาตร)
วุ้น	ร้อยละ 1.5	(น้ำหนักต่อปริมาตร)

ชั่งส่วนประกอบอาหารตามสูตร DRBC ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร ปรับพีเอชให้อยู่ปริมาณ 5.6 จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ภาคผนวก ข

วิเคราะห์องค์ประกอบทางอาหาร

1. วิเคราะห์ปริมาณโปรตีน (Crude protein)

โดยวิธีการวิเคราะห์ปริมาณโปรตีนแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการย่อย ขั้นตอนการกลั่น และขั้นตอนการไตเตรต

ขั้นตอนการย่อย

นำตัวอย่างบดให้ละเอียด ชั่ง 3 กรัม และใส่ลงในหลอดย่อย จากนั้นเติมสารผสมระหว่างโพแทสเซียมและคอปเปอร์ซัลเฟต จำนวน 1 เม็ด เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ปริมาตร 25 มิลลิลิตร (หลังจากเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้นสารละลายภายในหลอดย่อยจะเป็นสีดำ) จากนั้นนำหลอดตัวอย่างประกอบเข้าเครื่องย่อยโปรตีน เพื่อทำการย่อยโปรตีน เป็นเวลา 2 ชั่วโมง หรือจนสารละลายภายในหลอดตัวอย่างเป็นสีฟ้าใส เมื่อครบเวลาทิ้งไว้ในเย็น และนำหลอดตัวอย่างไปกลั่นเพื่อเก็บก๊าซไนโตรเจนที่ได้จากการย่อย

ขั้นตอนการกลั่น

นำขวดรูปชมพูขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่กรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 ปริมาตร 25 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายอินดิเคเตอร์ จำนวน 3 หยด (ทำให้สารละลายกลายเป็นสีชมพูอ่อน) นำหลอดตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการย่อยและขวดรูปชมพูที่เตรียมไว้ข้างต้นประกอบเข้าเครื่องกลั่น เพื่อทำการเก็บก๊าซไนโตรเจน เป็นเวลา 4 นาที เมื่อครบเวลา นำขวดรูปชมพูตัวอย่าง ซึ่งสารละลายในขวดรูปชมพูจะเป็นสีฟ้า และนำไปไตเตรตเป็นขั้นตอนสุดท้าย

ขั้นตอนการไตเตรต

นำขวดรูปชมพูตัวอย่างที่ได้จากขั้นตอนการกลั่น ทำการไตเตรตกับกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล จนได้สารละลายเป็นสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาณกรดไฮโดรคลอริกที่ใช้ และคำนวณหาปริมาณโปรตีน

จากสูตร ร้อยละปริมาณไนโตรเจน = [(V2 – V1) x 0.1 x 0.014 x 100] / น้ำหนักตัวอย่าง
ร้อยละปริมาณโปรตีน = ร้อยละปริมาณไนโตรเจน x 6.25

เมื่อ V1 = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ใช้ไตเตรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)
V2 = ปริมาตรของกรดซัลฟิวริกเข้มข้นที่ใช้ไตเตรต Blank (มิลลิลิตร)
6.25 = Conversion factor

2. วิเคราะห์ปริมาณไขมัน (Crude fat) ด้วยวิธีสกัดด้วยตัวทำละลาย (Solvent extraction method)

นำตัวอย่างบดให้ละเอียด ชั่ง 2 กรัม บนกระดาษกรองเบอร์ 1 และใส่ลงในหลอดกระดาษกรองหรือ Extraction Thimble เติมปิโตรเลียมอีเทอร์ลงในขวดก้นกลมสำหรับสกัดไขมัน ปริมาตร 150 มิลลิลิตร จากนั้นนำ Extraction Thimble ที่มีตัวอย่างใส่ลงใน Extraction tube ประกอบคอนเดนเซอร์ ทำการสกัดเป็นเวลา 2 ชั่วโมง เมื่อครบเวลานำขวดก้นกลมออกจากชุดสกัด และนำไประเหยปิโตรเลียมอีเทอร์ออกโดยใช้เครื่องระเหยสารสุญญากาศ (Rotary evaporator) เทไขมันลงในบีกเกอร์ที่ทราบน้ำหนักแน่นอน และเอาไปอบต่อในตู้อบลมร้อน (Hot air oven) อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำไปใส่ในโถดูดความชื้น ทำการบันทึกน้ำหนัก และนำไปคำนวณหาปริมาณไขมัน

จากสูตร ร้อยละปริมาณไขมัน = [(W3 – W1) / W2] x 100

เมื่อ W1 = น้ำหนักของบีกเกอร์ (กรัม)
W2 = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)
W3 = น้ำหนักของบีกเกอร์ที่มีไขมัน (กรัม)

3. วิเคราะห์ปริมาณใยอาหารหยาบ (Crude Fiber)

นำตัวอย่างที่ทำการสกัดไขมันออก ชั่ง 1 กรัม ใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิริกความเข้มข้นร้อยละ 1.25 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร (เตรียมจากกรดซัลฟิวริก 14.17 มิลลิลิตร ต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร) นำไปตั้งบน Hot plate ปิดปากบีกเกอร์ด้วยขวดก้นกลมที่ใส่น้ำ รอเดือดและจับเวลา 30 นาที เมื่อครบเวลาชั่งกระดาษกรอง 541 และนำตัวอย่างกรองโดยใช้ชุดกรองบุชเนอร์ (Buchner Funnel) ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนจนกว่ากระดาษลิตมัสเปลี่ยนจากสีน้ำเงินเป็นแดง จากนั้นนำตะกอนที่อยู่บนกระดาษกรองใส่ลงในบีกเกอร์ขนาด 500 มิลลิลิตร เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 1.25 (กรัมต่อปริมาตร) (เตรียมจากชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 12.375 กรัม ต่อน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตร โดยใช้ขวดปรับปริมาตร) ปริมาตร 200 มิลลิลิตร นำตะกอนออกจากกระดาษกรองออกให้หมด นำไปตั้งบน Hot plate ปิดปากบีกเกอร์ด้วยขวดก้นกลมที่ใส่น้ำ รอเดือดและจับเวลา 30 นาที นำตัวอย่างกรอง ล้างตะกอนด้วยน้ำร้อนจนกว่ากระดาษลิตมัสเปลี่ยนจากสีแดงเป็นน้ำเงิน ชั่งคูซิเบิล (Crucible) นำกระดาษกรองที่มีตัวอย่างใส่ลงในคูซิเบิล อบในตู้อบ 102 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง รอให้เย็นใน desiccator ชั่งน้ำหนัก นำไปอบที่อุณหภูมิ 550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ใส่ลงใน desiccator รอให้เย็น และนำมาชั่งน้ำหนักเพื่อคำนวณหาปริมาณใยอาหารหยาบ

จากสูตร ร้อยละปริมาณใยอาหารหยาบ = [(W4-W3-W2) – (W5-W3)/W1] x100

เมื่อ W1 = น้ำหนักตัวอย่าง (กรัม)

W2 = น้ำหนักกระดาษกรองเบอร์ 541 (กรัม)

W3 = น้ำหนักถ้วย Crucible (กรัม)

W4 = น้ำหนักตัวอย่าง+กระดาษกรอง+crucible (กรัม)

W5 = น้ำหนักตัวอย่างหลังเผา (กรัม)

4. วิเคราะห์ปริมาณเถ้าทั้งหมด (Total ash)

นำถ้วยกระเบื้องเคลือบเข้าเตาเผาที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบเวลา นำออกจากเตาเผาและทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ทำการชั่งน้ำหนัก จากนั้นนำตัวอย่างสับให้ละเอียดและชั่ง 2 กรัม ใส่ลงในถ้วยกระเบื้องเคลือบ นำตัวอย่างเผาบนเตาไฟฟ้าจนหมดควันในตู้ดูดควัน และนำไปเผาต่อที่อุณหภูมิ 500-550 องศาเซลเซียส จนได้เถ้าสีขาว นำถ้วยกระเบื้องตัวอย่างออกจากเตาเผา ทำให้เย็นในโถดูดความชื้น ทำการชั่งน้ำหนักและนำมาคำนวณหาปริมาณเถ้าทั้งหมด

จากสูตร ร้อยละปริมาณเถ้าทั้งหมด = [(W3 – W2) / W1] x 100

เมื่อ W1 = น้ำหนักของตัวอย่าง (กรัม)

W2 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบ (กรัม)

W3 = น้ำหนักถ้วยกระเบื้องเคลือบและตัวอย่าง (กรัม)

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ค-1 การเปลี่ยนแปลงความหนาและผลผลิตของเซลลูโลสที่ได้จากเชื้อ Acetobacter xylinum TISTR 976 ในอาหารสูตรน้ำมะพร้าว โดยเลี้ยงในสภาวะนิ่งที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 14 วัน

เซลลูโลส									
	Time	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
ความหนา	2 day	3	0.10420	0.018091	0.010445	0.05926	0.14914	0.084	0.118
	4 day	3	0.32833	0.007364	0.004251	0.31004	0.34663	0.322	0.337
	6 day	3	0.47303	0.017936	0.010355	0.42848	0.51759	0.452	0.485
	8 day	3	0.61903	0.012902	0.007449	0.58698	0.65108	0.606	0.632
	10 day	3	0.79813	0.016264	0.009390	0.75773	0.83853	0.784	0.816
	12 day	3	0.78080	0.024722	0.014273	0.71939	0.84221	0.764	0.809
	14 day	3	0.76793	0.086548	0.049969	0.55294	0.98293	0.669	0.827
	Total	21	0.55307	0.253078	0.055226	0.43787	0.66827	0.084	0.827
ผลผลิต	2 day	3	0.06647	0.008718	0.005033	0.04481	0.08812	0.056	0.072
	4 day	3	0.28117	0.107192	0.061887	0.01489	0.54745	0.164	0.374
	6 day	3	0.43810	0.026465	0.015280	0.37236	0.50384	0.414	0.467
	8 day	3	0.73010	0.013733	0.007929	0.69599	0.76421	0.715	0.743
	10 day	3	0.88643	0.009029	0.005213	0.86400	0.90886	0.876	0.893
	12 day	3	0.89217	0.002237	0.001291	0.88661	0.89772	0.890	0.895
	14 day	3	0.89500	0.002128	0.001229	0.88971	0.90029	0.893	0.897
	Total	21	0.59849	0.322233	0.070317	0.45181	0.74517	0.056	0.897

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
ความหนา	Between Groups	1.262	6	0.210	159.476	0.000
	Within Groups	0.018	14	0.001		
	Total	1.281	20			
ผลผลิต	Between Groups	2.052	6	0.342	190.778	0.000
	Within Groups	0.025	14	0.002		
	Total	2.077	20			

ความหนา

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
2 day	3	0.10420				
4 day	3		0.32833			
6 day	3			0.47303		
8 day	3				0.61903	
14 day	3					0.76793
12 day	3					0.78080
10 day	3					0.79813
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	0.350

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผลผลิต

Duncan$_a$

day	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
2 day	3	0.06647				
4 day	3		0.28117			
6 day	3			0.43810		
8 day	3				0.73010	
10 day	3					0.88643
12 day	3					0.89217
14 day	3					0.89500
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	0.818

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค-2 คุณสมบัติของผงเซลลูโลสจากที่ได้จากแบคทีเรียผลิตด้วยวิธีการที่แตกต่างกัน

ผงเซลลูโลส

WHC	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ทางการค้า	3	9.6337	0.14715	0.08496	9.2681	9.9992	9.54	9.80
วิธีที่ 1	3	7.9135	0.40849	0.20284	8.2188	10.2483	8.80	9.61
วิธีที่ 2	3	9.1537	0.17806	0.10280	8.7113	9.5960	8.99	9.34
Total	9	8.9003	0.32352	0.32206	9.0916	9.5890	8.80	9.80

ANOVA

WHC	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.397	2	0.198	2.703	0.146
Within Groups	0.440	6	0.073		
Total	0.837	8			

ความสามารถในการอุ้มน้ำ (Water Holding Capacity, WHC)

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
วิธีที่ 1	3	7.9135	
วิธีที่ 2	3		9.1537
ทางการค้า	3		9.6337
Sig.		1.000	0.881

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผงเซลลูโลส

OHC	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ทางการค้า	3	7.3047	0.32699	0.18879	9.2343	10.8588	9.77	10.41
วิธีที่ 1	3	6.2362	0.15019	0.14671	5.8631	6.6093	6.07	6.35
วิธีที่ 2	3	7.3874	0.12830	0.05408	6.3086	6.9461	6.48	6.73
Total	9	6.9761	1.82534	0.12986	6.2336	9.0398	6.07	10.41

ANOVA

OHC	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.363	2	13.182	270.967	0.000
Within Groups	0.292	6	0.049		
Total	26.655	8			

ความสามารถในการอุ้มน้ำมัน (Oil Holding Capacity, OHC)

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
วิธีที่ 1	3	6.2362	
ทางการค้า	3		7.3047
วิธีที่ 2	3		7.3874
Sig.		1.000	0.080

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผงเซลลูโลส

ความชื้น	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ทางการค้า	3	4.0190	0.19889	0.11483	3.5249	4.5130	3.80	4.18
วิธีที่ 1	3	2.9565	0.22755	0.13138	2.3912	3.5217	2.77	3.21
วิธีที่ 2	3	2.6582	0.11004	0.06353	2.3848	2.9315	2.56	2.78
Total	9	3.2112	0.63998	0.21333	2.7193	3.7031	2.56	4.18

ANOVA

ความชื้น	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	3.070	2	1.535	44.512	0.000
Within Groups	0.207	6	0.034		
Total	3.277	8			

ความชื้น

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
วิธีที่ 2	3	2.6582	
วิธีที่ 1	3	2.9565	
ทางการค้า	3		4.0190
Sig.		0.097	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผงเซลลูโลส

a_w	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
					Lower Bound	Upper Bound		
ทางการค้า	3	0.59067	0.017010	0.009821	0.54841	0.63292	0.574	0.608
วิธีที่ 1	3	0.52733	0.000577	0.000333	0.51590	0.51877	0.517	0.518
วิธีที่ 2	3	0.52100	0.004583	0.002646	0.51462	0.53738	0.522	0.531
Total	9	0.54467	0.035805	0.011935	0.51714	0.57219	0.517	0.608

ANOVA

a_w	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	0.010	2	0.005	46.519	0.000
Within Groups	0.001	6	0.000		
Total	0.010	8			

วิเตอร์เอกติวิตี้ (Water Activity, a_w)

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
วิธีที่ 2	3	0.51733	
วิธที่1	3	0.52600	
ทางการค้า	3		0.59067
Sig.		0.337	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ผงเซลลูโลส

ค่าสี	Sample	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
L*	ทางการค้า	3	80.0533	0.30665	0.17704	79.2916	80.8151	79.79	80.39
	วิธีที่ 1	3	78.5733	0.30827	0.17798	77.8075	79.3391	78.33	78.92
	วิธีที่ 2	3	81.9800	0.93952	0.54243	79.6461	84.3139	80.95	82.79
	Total	9	80.2022	1.56730	0.52243	78.9975	81.4070	78.33	82.79
a*	ทางการค้า	3	1.4567	0.09074	0.05239	1.2313	1.6821	1.36	1.54
	วิธีที่ 1	3	3.5067	0.05033	0.02906	3.3816	3.6317	3.46	3.56
	วิธีที่ 2	3	1.6733	0.23798	0.13740	1.0822	2.2645	1.46	1.93
	Total	9	2.2122	0.98396	0.32799	1.4559	2.9686	1.36	3.56
b*	ทางการค้า	3	12.5467	0.17616	0.10171	12.1091	12.9843	12.44	12.75
	วิธีที่ 1	3	14.7733	0.08083	0.04667	14.5725	14.9741	14.68	14.82
	วิธีที่ 2	3	10.6133	0.25929	0.14970	9.9692	11.2575	10.43	10.91
	Total	9	12.6444	1.81008	0.60336	11.2531	14.0358	10.43	14.82

ANOVA

ค่าสี		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
L*	Between Groups	17.508	2	8.754	24.503	0.001
	Within Groups	2.144	6	0.357		
	Total	19.651	8			
a*	Between Groups	7.611	2	3.805	169.374	0.000
	Within Groups	0.135	6	0.022		
	Total	7.745	8			
b*	Between Groups	26.001	2	13.001	372.158	0.000
	Within Groups	0.210	6	0.035		
	Total	26.211	8			

L*

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
วิธีที่ 1	3	78.5733		
ทางการค้า	3		80.0533	
วิธีที่ 2	3			81.9800
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

a*

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
ทางการค้า	3	1.4567	
วิธีที่ 2	3	1.6733	
วิธีที่ 1	3		3.5067
Sig.		0.127	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b*

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
วิธีที่ 2	3	10.6133		
ทางการค้า	3		12.5467	
วิธีที่1	3			14.7733
Sig.		1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค-3 องค์ประกอบทางอาหารของกุนเชียงสูตรควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

องค์ประกอบทางอาหาร									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
fat	control	3	23.4839	0.18966	0.10950	23.0128	23.9551	23.32	23.69
	BC 0.5%	3	22.8510	0.10880	0.06281	22.5808	23.1213	22.74	22.96
	BC 1.0%	3	21.9058	0.10486	0.06054	21.6454	22.1663	21.78	21.97
	BC 2.0%	3	20.3890	0.08277	0.04778	20.1834	20.5946	20.29	20.44
	BC 3.0%	3	19.2368	0.15733	0.09083	18.8460	19.6276	19.07	19.39
	Total	15	21.5733	1.62453	0.41945	20.6737	22.4730	19.07	23.69
Protein	control	3	13.2600	0.20257	0.11695	12.7568	13.7632	13.06	13.47
	BC 0.5%	3	12.6783	0.40650	0.23469	11.6685	13.6881	12.22	12.99
	BC 1.0%	3	12.7305	0.24829	0.14335	12.1137	13.3473	12.48	12.98
	BC 2.0%	3	12.5884	0.16997	0.09813	12.1661	13.0106	12.44	12.78
	BC 3.0%	3	12.1263	0.35684	0.20602	11.2398	13.0127	11.72	12.39
	Total	15	12.6767	0.44801	0.11568	12.4286	12.9248	11.72	13.47
ash	control	3	2.4862	0.02244	0.01295	2.4304	2.5419	2.47	2.51
	BC 0.5%	3	2.5356	0.07821	0.04516	2.3413	2.7299	2.47	2.62
	BC 1.0%	3	2.5599	0.04161	0.02403	2.4565	2.6632	2.53	2.61
	BC 2.0%	3	2.6446	0.01915	0.01106	2.5970	2.6922	2.63	2.67
	BC 3.0%	3	2.8410	0.26366	0.15223	2.1861	3.4960	2.60	3.12
	Total	15	2.6134	0.16694	0.04310	2.5210	2.7059	2.47	3.12
fiber	control	3	0.1947	0.00452	0.00261	0.1835	0.2060	0.19	0.20
	BC 0.5%	3	1.1908	0.10534	0.06082	0.9292	1.4525	1.13	1.31
	BC 1.0%	3	2.0986	0.68356	0.39465	0.4005	3.7966	1.67	2.89
	BC 2.0%	3	3.6566	1.40749	0.81261	0.1602	7.1530	2.26	5.07
	BC 3.0%	3	8.9811	0.53118	0.30667	7.6616	10.3006	8.40	9.45
	Total	15	3.2244	3.26461	0.84292	1.4165	5.0323	0.19	9.45

ANOVA

องค์ประกอบของอาหาร		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
fat	Between Groups	36.766	4	9.192	508.354	0.000
	Within Groups	0.181	10	0.018		
	Total	36.947	14			
protein	Between Groups	1.962	4	0.490	5.781	0.011
	Within Groups	0.848	10	0.085		
	Total	2.810	14			
ash	Between Groups	0.234	4	0.058	3.734	0.041
	Within Groups	0.156	10	0.016		
	Total	0.390	14			
fiber	Between Groups	143.725	4	35.931	65.531	0.000
	Within Groups	5.483	10	0.548		
	Total	149.208	14			

fat

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
BC 3.0%	3	19.2368				
BC 2.0%	3		20.3890			
BC 1.0%	3			21.9058		
BC 0.5%	3				22.8510	
control	3					23.4839
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

protein

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
BC 3.0%	3	12.1263		
BC 2.0%	3	12.5884	12.5884	
BC 0.5%	3	12.6783	12.6783	
BC 1.0%	3		12.7305	12.7305
control	3			13.2600
Sig.		0.051	0.581	0.050

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ash

Duncan[a]

sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
control	3	2.4862	
BC 0.5%	3	2.5356	
BC 1.0%	3	2.5599	
BC 2.0%	3	2.6446	2.6446
BC 3.0%	3		2.8410
Sig.		0.179	0.083

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

fiber					
Duncan$_a$					
sample	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
control	3	0.1947			
BC 0.5%	3	1.1908	1.1908		
BC 1.0%	3		2.0986		
BC 2.0%	3			3.6566	
BC 3.0%	3				8.9811
Sig.		0.130	0.164	1.000	1.000
Means for groups in homogeneous subsets are displayed.					
a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.					

ตารางที่ ค-4 ความชื้น วอเตอร์เอกติวิตี้ และค่าสี ของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

กุนเชียงทดแทนไขมัน									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower	Upper		
moisture	control	3	73.0000	0.58275	0.33645	71.5524	74.4476	72.36	73.50
	BC 0.5%	3	74.6333	0.07024	0.04055	74.4589	74.8078	74.56	74.70
	BC 1.0%	3	74.2467	4.16000	2.40178	63.9126	84.5807	70.09	78.41
	BC 2.0%	3	73.8767	0.30501	0.17610	73.1190	74.6344	73.57	74.18
	BC 3.0%	3	72.2733	0.67678	0.39074	70.5921	73.9546	71.51	72.80
	Total	15	73.6060	1.84099	0.47534	72.5865	74.6255	70.09	78.41
a_w	control	3	0.8433	0.00950	0.00549	0.8197	0.8669	0.83	0.85
	BC 0.5%	3	0.8403	0.00351	0.00203	0.8316	0.8491	0.84	0.84
	BC 1.0%	3	0.8480	0.00265	0.00153	0.8414	0.8546	0.85	0.85
	BC 2.0%	3	0.8217	0.00153	0.00088	0.8179	0.8255	0.82	0.82
	BC 3.0%	3	0.8153	0.00100	0.00058	0.8505	0.8555	0.85	0.85
	Total	15	0.8413	0.01178	0.00304	0.8347	0.8478	0.82	0.85
*L**	control	3	28.1200	0.61147	0.35303	26.6010	29.6390	27.69	28.82
	BC 0.5%	3	29.4100	0.14526	0.08386	29.0492	29.7708	29.27	29.56
	BC 1.0%	3	31.9100	0.02855	3.17534	14.5776	41.9024	31.91	34.56
	BC 2.0%	3	32.1400	1.92803	1.11315	27.3505	36.9295	30.03	33.81
	BC 3.0%	3	32.2867	1.41302	0.81581	28.7765	35.7968	30.74	33.51
	Total	15	30.7733	2.96476	0.76550	28.3975	31.6812	24.54	34.56
*a**	control	3	9.0500	0.31271	0.34220	7.9576	10.9024	9.05	10.07
	BC 0.5%	3	9.0633	0.54519	0.31477	7.7090	10.4177	9.06	9.56
	BC 1.0%	3	8.8933	0.00528	0.00882	8.7854	8.8613	8.89	8.84
	BC 2.0%	3	8.8400	0.00000	0.00577	9.0152	9.0648	8.84	9.05
	BC 3.0%	3	8.1767	0.00577	0.00333	9.1923	9.2210	8.17	9.21
	Total	15	8.8047	0.36846	0.09514	8.9086	9.3167	8.48	10.07
*b**	control	3	1.7633	0.05000	0.49499	7.7136	11.9731	1.76	10.83
	BC 0.5%	3	1.8200	0.03000	0.36756	8.0285	11.1915	1.82	10.13
	BC 1.0%	3	1.7333	0.12000	0.45319	6.9834	10.8832	1.73	9.58
	BC 2.0%	3	1.8533	0.09000	0.36006	8.0341	11.1326	1.85	10.29
	BC 3.0%	3	1.7567	0.03300	0.33617	7.9702	10.8631	1.76	9.87
	Total	15	2.9552	0.06460	0.17397	9.1042	9.8505	1.79	10.83

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
miosture	Between Groups	11.047	4	2.762	0.759	0.575
	Within Groups	36.402	10	3.640		
	Total	47.450	14			
a_w	Between Groups	0.002	4	0.000	18.993	0.000
	Within Groups	0.000	10	0.000		
	Total	0.002	14			
L^*	Between Groups	50.342	4	12.586	1.731	0.219
	Within Groups	72.715	10	7.271		
	Total	123.057	14			
a^*	Between Groups	0.603	4	0.151	1.161	0.384
	Within Groups	1.298	10	0.130		
	Total	1.901	14			
b^*	Between Groups	1.387	4	0.347	0.698	0.611
	Within Groups	4.969	10	0.497		
	Total	6.356	14			

miosture

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BC 3.0%	3	72.2733
control	3	73.0000
BC 2.0%	3	73.8767
BC 1.0%	3	74.2467
BC 0.5%	3	74.6333
Sig.		0.193

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

a_w

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
BC 1.0%	3	0.8217		
BC 0.5%	3	0.8211		
BC 0.5%	3		0.8433	
BC 1.0%	3		0.8440	0.8410
control	3			0.8430
Sig.		0.088	0.088	0.227

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*L**

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BC 0.5%	3	28.1200
control	3	29.4100
BC 1.0%	3	31.9100
BC 2.0%	3	32.1400
BC 3.0%	3	32.2867
Sig.		0.112

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

a*

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
control	3	9.0500
BC 0.5%	3	9.0633
BC 1.0%	3	8.8933
BC 2.0%	3	8.8400
BC 3.0%	3	8.1767
Sig.		0.087

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

*b**		
Duncan$_a$		
sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
control	3	1.7633
BC 0.5%	3	1.8200
BC 1.0%	3	1.7333
BC 2.0%	3	1.8533
BC 3.0%	3	1.7567
Sig.		0.176
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.		

ตารางที่ ค-5 ค่าเนื้อสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

กุนเชียงทดแทนไขมัน									
เนื้อสัมผัส		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
Hard ness	control	3	188.0200	13.28928	1.34000	108.3443	174.3691	188.02	156.23
	BC 0.5%	3	187.0867	5.18036	2.99088	174.2179	199.9554	182.26	192.56
	BC 1.0%	3	205.7100	9.87230	2.46000	217.8558	266.9042	205.71	249.55
	BC 2.0%	3	277.9667	20.35544	11.75222	227.4009	328.5324	259.07	299.52
	BC 3.0%	3	486.1900	16.45161	9.49834	445.3219	527.0581	467.33	497.59
	Total	15	266.9960	123.8665	31.98221	198.4010	335.5910	130.65	497.59
Springi ness	control	3	0.6700	0.06245	0.03606	0.4849	0.7951	0.6700	0.71
	BC 0.5%	3	0.6667	0.00577	0.00333	0.6723	0.7010	0.6667	0.69
	BC 1.0%	3	0.6767	0.05508	0.03180	0.5399	0.8135	0.6767	0.74
	BC 2.0%	3	0.6400	0.04000	0.02309	0.5906	0.7894	0.6400	0.73
	BC 3.0%	3	0.6400	0.00000	0.00000	0.6400	0.6400	0.6400	0.64
	Total	15	0.6587	0.04186	0.01081	0.6435	0.6898	0.66	0.74
Cohe Sive ness	control	3	0.1333	0.03215	0.01856	0.0535	0.2132	0.11	0.17
	BC 0.5%	3	0.1400	0.00000	0.00000	0.1400	0.1400	0.14	0.14
	BC 1.0%	3	0.1363	0.00577	0.00333	0.1190	0.1477	0.13	0.14
	BC 2.0%	3	0.1570	0.00000	0.00000	0.1500	0.1500	0.15	0.15
	BC 3.0%	3	0.1700	0.02000	0.01155	0.1203	0.2197	0.15	0.19
	Total	15	0.1453	0.02031	0.00524	0.1341	0.1566	0.11	0.19
Che wi ness	control	3	0.1400	0.03606	0.02082	0.0204	0.1996	0.13	0.15
	BC 0.5%	3	0.1400	0.04359	0.02517	0.0317	0.2483	0.11	0.19
	BC 1.0%	3	0.1440	0.02646	0.01528	0.1843	0.3157	0.14	0.28
	BC 2.0%	3	0.3367	0.08021	0.04631	0.1374	0.5359	0.26	0.42
	BC 3.0%	3	0.4533	0.11590	0.06692	0.1654	0.7413	0.33	0.56
	Total	15	0.2580	0.14349	0.03705	0.1785	0.3375	0.08	0.56

ANOVA						
เนื้อสัมผัส		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
hardness	Between Groups	212829.169	4	53207.292	269.840	0.000
	Within Groups	1971.806	10	197.181		
	Total	214800.975	14			
springiness	Between Groups	0.007	4	0.002	1.080	0.417
	Within Groups	0.017	10	0.002		
	Total	0.025	14			
cohesiveness	Between Groups	0.003	4	0.001	2.420	0.117
	Within Groups	0.003	10	0.000		
	Total	0.006	14			
Chewiness	Between Groups	0.241	4	0.060	12.660	0.001
	Within Groups	0.048	10	0.005		
	Total	0.288	14			

hardness						
Duncan$_a$						
sample	N	Subset for alpha = 0.05				
		1	2	3	4	5
control	3	188.0200				
BC 0.5%	3		187.0867			
BC 1.0%	3			205.7100		
BC 2.0%	3				277.9667	
BC 3.0%	3					486.1900
Sig.		1.000	1.000	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

springiness		
Duncan$_a$		
sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
control	3	0.6700
BC 0.5%	3	0.6667
BC 1.0%	3	0.6767
BC 2.0%	3	0.6400
BC 3.0%	3	0.6400
Sig.		0.203

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

cohesiveness			
Duncan$_a$			
sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
control	3	0.1333	
BC 1.0%	3	0.1430	
BC 0.5%	3	0.1400	
BC 2.0%	3		0.1600
BC 3.0%	3		0.1700
Sig.		0.292	0.067

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

chewiness				
Duncan[a]				
sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
control	3	0.1400		
BC 0.5%	3	0.1400		
BC 1.0%	3	0.1400		
BC 2.0%	3		0.3367	
BC 3.0%	3			0.4533
Sig.		0.606	0.155	0.065
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.				

ตารางที่ ค-6 คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

กุนเชียงทดแทนไขมัน									
คะแนนทดสอบประสาทสัมผัส		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
color	control	30	7.4667	0.81931	0.14958	7.1607	7.7726	6.00	9.00
	BC 0.5%	30	7.4333	1.04000	0.18988	7.0450	7.8217	5.00	9.00
	BC 1.0%	30	7.4333	0.67891	0.12395	7.1798	7.6868	7.00	9.00
	BC 2.0%	30	7.5000	0.50855	0.09285	7.3101	7.6899	7.00	8.00
	BC 3.0%	30	7.4667	0.68145	0.12441	7.2122	7.7211	7.00	9.00
	Total	150	7.4600	0.75645	0.06176	7.3380	7.5820	5.00	9.00
smell	control	30	7.1000	0.92289	0.16850	6.7554	7.4446	6.00	9.00
	BC 0.5%	30	6.9333	1.08066	0.19730	6.5298	7.3369	5.00	9.00
	BC 1.0%	30	6.9000	0.99481	0.18163	6.5285	7.2715	5.00	9.00
	BC 2.0%	30	7.1000	1.06188	0.19387	6.7035	7.4965	5.00	9.00
	BC 3.0%	30	6.9333	0.73968	0.13505	6.6571	7.2095	6.00	8.00
	Total	150	6.9933	0.95886	0.07829	6.8386	7.1480	5.00	9.00
texture	control	30	6.8333	1.11675	0.20389	6.4163	7.2503	5.00	9.00
	BC 0.5%	30	6.8000	1.49482	0.27292	6.2418	7.3582	3.00	9.00
	BC 1.0%	30	6.3667	1.42595	0.26034	5.8342	6.8991	3.00	9.00
	BC 2.0%	30	5.8333	0.98553	0.17993	5.4653	6.2013	3.00	7.00
	BC 3.0%	30	4.7000	1.51202	0.27606	4.1354	5.2646	1.00	7.00
	Total	150	6.1067	1.52890	0.12483	5.8600	6.3533	1.00	9.00
flavor	control	30	6.4333	1.86960	0.34134	5.7352	7.1315	1.00	9.00
	BC 0.5%	30	6.5000	1.69685	0.30980	5.8664	7.1336	2.00	9.00
	BC 1.0%	30	6.8333	1.87696	0.34268	6.1325	7.5342	1.00	9.00
	BC 2.0%	30	6.7333	1.79911	0.32847	6.0615	7.4051	1.00	9.00
	BC 3.0%	30	6.2667	1.70057	0.31048	5.6317	6.9017	2.00	9.00
	Total	150	6.5533	1.77808	0.14518	6.2665	6.8402	1.00	9.00

ตารางที่ ค-6 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงชุดควบคุมและกุนเชียงทดแทนไขมันด้วยผงเซลลูโลส

overall	control	30	6.8333	1.34121	0.24487	6.3325	7.3342	5.00	9.00
	BC 0.5%	30	6.8667	1.13664	0.20752	6.4422	7.2911	4.00	8.00
	BC 1.0%	30	6.7333	1.85571	0.33881	6.0404	7.4263	1.00	9.00
	BC 2.0%	30	5.6333	1.37674	0.25136	5.1193	6.1474	1.00	7.00
	BC 3.0%	30	5.4333	1.45468	0.26559	4.8901	5.9765	3.00	7.00
	Total	150	6.3000	1.56621	0.12788	6.0473	6.5527	1.00	9.00

ANOVA

คะแนนด้านประสาทสัมผัส		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
color	Between Groups	0.093	4	0.023	0.040	0.997
	Within Groups	85.167	145	0.587		
	Total	85.260	149			
smell	Between Groups	1.160	4	0.290	0.310	0.871
	Within Groups	135.833	145	0.937		
	Total	136.993	149			
texture	Between Groups	93.893	4	23.473	13.379	0.000
	Within Groups	254.400	145	1.754		
	Total	348.293	149			
flavor	Between Groups	6.307	4	1.577	0.492	0.742
	Within Groups	464.767	145	3.205		
	Total	471.073	149			
overall	Between Groups	59.667	4	14.917	7.072	0.000
	Within Groups	305.833	145	2.109		
	Total	365.500	149			

color

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BC 0.5%	30	7.4333
BC 1.0%	30	7.4333
control	30	7.4667
BC 3.0%	30	7.4667
BC 2.0%	30	7.5000
Sig.		0.770

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

smell

Duncan$_a$

sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BC 1.0%	30	6.9000
BC 0.5%	30	6.9333
BC 3.0%	30	6.9333
control	30	7.1000
BC 2.0%	30	7.1000
Sig.		0.486

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

texture				
Duncan$_a$				
sample	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
BC 3.0%	30	4.7000		
BC 2.0%	30		5.8333	
BC 1.0%	30		6.3667	6.3667
BC 0.5%	30			6.8000
control	30			6.8333
Sig.		1.000	0.121	0.201
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.				

flavor		
Duncan$_a$		
sample	N	Subset for alpha = 0.05
		1
BC 3.0%	30	6.2667
control	30	6.4333
BC 0.5%	30	6.5000
BC 2.0%	30	6.7333
BC 1.0%	30	6.8333
Sig.		0.283
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.		

overall			
Duncan$_a$			
sample	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
BC 3.0%	30	5.4333	
BC 2.0%	30	5.6333	
BC 1.0%	30		6.7333
control	30		6.8333
BC 0.5%	30		6.8667
Sig.		0.595	0.741
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.			

ตารางที่ ค-7 ปริมาณความชื้นและค่าสีของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE ในสภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์

อายุการเก็บรักษา									
		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
moisture	0 day	3	23.6953	0.20128	0.11621	23.1953	24.1953	23.52	23.92
	7 day	3	23.0483	0.72362	0.41778	21.2508	24.8459	22.50	23.87
	14 day	3	22.6557	0.72674	0.41958	20.8503	24.4610	21.94	23.39
	21 day	3	23.8677	2.75703	1.59177	17.0188	30.7165	21.02	26.53
	28 day	3	23.3167	0.42132	0.24325	22.2701	24.3633	22.88	23.72
	Total	15	23.3167	1.21331	0.31328	22.6448	23.9886	21.02	26.53
*L**	0 day	3	30.4833	1.44074	0.83181	26.9043	34.0623	28.83	31.47
	7 day	3	30.7033	0.99606	0.57507	28.2290	33.1777	29.59	31.51
	14 day	3	30.8533	2.10129	1.21318	25.6334	36.0732	28.51	32.57
	21 day	3	31.8533	0.62083	0.35844	30.3111	33.3956	31.48	32.57
	28 day	3	31.2200	0.56666	0.32716	29.8123	32.6277	30.57	31.61
	Total	15	31.0227	1.19017	0.30730	30.3636	31.6818	28.51	32.57
*a**	0 day	3	7.2267	0.59652	0.34440	5.7448	8.7085	6.56	7.71
	7 day	3	7.8300	0.60308	0.34819	6.3319	9.3281	7.36	8.51
	14 day	3	8.2333	0.38423	0.22184	7.2789	9.1878	7.81	8.56
	21 day	3	8.3500	0.32078	0.18520	7.5531	9.1469	7.98	8.55
	28 day	3	8.6533	0.03215	0.01856	8.5735	8.7332	8.63	8.69
	Total	15	8.0587	0.63148	0.16305	7.7090	8.4084	6.56	8.69
*b**	0 day	3	7.6067	0.58799	0.33948	6.1460	9.0673	7.12	8.26
	7 day	3	13.9867	1.48971	0.86008	10.2860	17.6873	12.57	15.54
	14 day	3	12.6667	0.71808	0.41458	10.8829	14.4505	12.17	13.49
	21 day	3	12.5967	0.74447	0.42982	10.7473	14.4460	12.08	13.45
	28 day	3	12.5033	0.74795	0.43183	10.6453	14.3614	11.98	13.36
	Total	15	11.8720	2.40608	0.62125	10.5396	13.2044	7.12	15.54

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
moisture	Between Groups	2.868	4	0.717	0.404	0.802
	Within Groups	17.742	10	1.774		
	Total	20.610	14			
L^*	Between Groups	3.451	4	0.863	0.527	0.719
	Within Groups	16.380	10	1.638		
	Total	19.831	14			
a^*	Between Groups	3.641	4	0.910	4.686	0.022
	Within Groups	1.942	10	0.194		
	Total	5.583	14			
b^*	Between Groups	72.660	4	18.165	21.655	0.000
	Within Groups	8.389	10	0.839		
	Total	81.049	14			

moisture

Duncan$_a$

day	N	Subset for alpha = 0.05
		1
14 day	3	22.6557
7 day	3	23.0483
28 day	3	23.3167
0 day	3	23.6953
21 day	3	23.8677
Sig.		0.328

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

L*		
Duncan$_a$		
day	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0 day	3	30.4833
7 day	3	30.7033
14 day	3	30.8533
28 day	3	31.2200
21 day	3	31.8533
Sig.		0.255

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

a*			
Duncan$_a$			
day	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0 day	3	7.2267	
7 day	3	7.8300	7.8300
14 day	3		8.2333
21 day	3		8.3500
28 day	3		8.6533
Sig.		0.125	0.059

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

b*			
Duncan$_a$			
day	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
0 day	3	7.6067	
28 day	3		12.5033
21 day	3		12.5967
14 day	3		12.6667
7 day	3		13.9867
Sig.		1.000	0.094

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค-8 วิเคราะห์เนื้อสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็นเป็นเวลา 4 สัปดาห์

อายุการเก็บรักษา									
เนื้อสัมผัส		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
Hardness	0 day	3	313.2387	14.05417	8.11418	278.3262	348.1512	304.18	329.43
	7 day	3	318.4717	5.48108	3.16450	304.8559	332.0874	312.25	322.60
	14 day	3	339.4477	14.07711	8.12742	304.4782	374.4171	327.81	355.10
	21 day	3	336.1463	32.92259	19.00787	254.3621	417.9306	307.09	371.90
	28 day	3	341.9040	47.12995	27.21049	224.8267	458.9813	288.87	378.99
	Total	15	329.8417	26.06187	6.72915	315.4091	344.2742	288.87	378.99
Spriginess	0 day	3	0.4867	0.11378	0.06569	0.2040	0.7693	0.38	0.61
	7 day	3	0.4677	0.02468	0.01425	0.4063	0.5290	0.45	0.50
	14 day	3	0.4127	0.04922	0.02842	0.2904	0.5349	0.36	0.46
	21 day	3	0.3747	0.11309	0.06530	0.0937	0.6556	0.26	0.49
	28 day	3	0.3880	0.03439	0.01986	0.3026	0.4734	0.36	0.43
	Total	15	0.4259	0.07970	0.02058	0.3818	0.4701	0.26	0.61
CoheSiveness	0 day	3	0.2133	0.08467	0.04889	0.0030	0.4237	0.14	0.31
	7 day	3	0.1943	0.02774	0.01601	0.1254	0.2632	0.17	0.23
	14 day	3	0.1273	0.00945	0.00546	0.1039	0.1508	0.12	0.14
	21 day	3	0.1597	0.06442	0.03719	-0.0004	0.3197	0.12	0.23
	28 day	3	0.1517	0.03262	0.01884	0.0706	0.2327	0.12	0.18
	Total	15	0.1693	0.05390	0.01392	0.1394	0.1991	0.12	0.31
Chewiness	0 day	3	0.2870	0.10256	0.05921	0.0322	0.5418	0.17	0.37
	7 day	3	0.3753	0.05630	0.03250	0.2355	0.5152	0.32	0.43
	14 day	3	0.2440	0.11820	0.06824	-0.0496	0.5376	0.12	0.36
	21 day	3	0.2770	0.21665	0.12509	-0.2612	0.8152	0.14	0.53
	28 day	3	0.3067	0.06403	0.03697	0.1476	0.4657	0.23	0.35
	Total	15	0.2980	0.11526	0.02976	0.2342	0.3618	0.12	0.53

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
hardness	Between Groups	2047.381	4	511.845	0.686	0.618
	Within Groups	7461.712	10	746.171		
	Total	9509.093	14			
spriginess	Between Groups	0.029	4	0.007	1.211	0.365
	Within Groups	0.060	10	0.006		
	Total	0.089	14			
cohesiveness	Between Groups	0.014	4	0.004	1.340	0.321
	Within Groups	0.026	10	0.003		
	Total	0.041	14			
chewiness	Between Groups	0.029	4	0.007	0.454	0.768
	Within Groups	0.157	10	0.016		
	Total	0.186	14			

hardness

Duncan[a]

day	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0 day	3	313.2387
7 day	3	318.4717
21 day	3	336.1463
14 day	3	339.4477
28 day	3	341.9040
Sig.		0.263

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

spriginess

Duncan$_a$

day	N	Subset for alpha = 0.05
		1
21 day	3	0.3747
28 day	3	0.3880
14 day	3	0.4127
7 day	3	0.4677
0 day	3	0.4867
Sig.		0.134

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

cohesiveness

Duncan$_a$

day	N	Subset for alpha = 0.05
		1
14 day	3	0.1273
28 day	3	0.1517
21 day	3	0.1597
7 day	3	0.1943
0 day	3	0.2133
Sig.		0.089

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

chewiness		
Duncan$_a$		
day	N	Subset for alpha = 0.05
		1
14 day	3	0.2440
21 day	3	0.2770
0 day	3	0.2870
28 day	3	0.3067
7 day	3	0.3753
Sig.		0.264

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

ตารางที่ ค-9 คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์

Descriptives

สี		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
อุณหภูมิห้อง	0 week	30	6.8333	1.44039	0.26298	6.2955	7.3712	5.00	9.00
	1 week	30	6.9000	1.62629	0.29692	6.2927	7.5073	5.00	9.00
	2 week	30	6.7333	1.48401	0.27094	6.1792	7.2875	5.00	9.00
	3 week	30	6.7000	1.51202	0.27606	6.1354	7.2646	5.00	9.00
	4 week	30	6.7000	1.48904	0.27186	6.1440	7.2560	5.00	9.00
	Total	150	6.7733	1.49337	0.12193	6.5324	7.0143	5.00	9.00
อุณหภูมิตู้เย็น	0 week	30	7.0000	1.08278	0.19769	6.5957	7.4043	5.00	9.00
	1 week	30	7.2667	1.22990	0.22455	6.8074	7.7259	5.00	9.00
	2 week	30	7.2333	1.25075	0.22835	6.7663	7.7004	5.00	9.00
	3 week	30	7.3000	1.17884	0.21523	6.8598	7.7402	5.00	9.00
	4 week	30	7.1000	1.29588	0.23659	6.6161	7.5839	5.00	9.00
	Total	150	7.1800	1.19882	0.09788	6.9866	7.3734	5.00	9.00

ANOVA

สี		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิห้อง	Between Groups	0.960	4	0.240	0.105	0.981
	Within Groups	331.333	145	2.285		
	Total	332.293	149			
อุณหภูมิตู้เย็น	Between Groups	1.907	4	0.477	0.326	0.860
	Within Groups	212.233	145	1.464		
	Total	214.140	149			

อุณหภูมิห้อง

Duncan$_a$

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
3 week	30	6.7000
4 week	30	6.7000
2 week	30	6.7333
0 week	30	6.8333
1 week	30	6.9000
Sig.		0.656

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

อุณหภูมิตู้เย็น

Duncan$_a$

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0 week	30	7.0000
4 week	30	7.1000
2 week	30	7.2333
1 week	30	7.2667
3 week	30	7.3000
Sig.		0.402

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ตารางที่ ค-9 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์

อายุการเก็บรักษา									
กลิ่น		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
อุณหภูมิห้อง	0 week	30	6.7333	1.43679	0.26232	6.1968	7.2698	5.00	9.00
	1 week	30	7.1333	1.65536	0.30223	6.5152	7.7515	5.00	9.00
	2 week	30	6.6667	1.51620	0.27682	6.1005	7.2328	5.00	9.00
	3 week	30	6.9000	1.58332	0.28907	6.3088	7.4912	5.00	9.00
	4 week	30	6.6667	1.56102	0.28500	6.0838	7.2496	5.00	9.00
	Total	150	6.8200	1.54168	0.12588	6.5713	7.0687	5.00	9.00
อุณหภูมิตู้เย็น	0 week	30	6.9000	1.66816	0.30456	6.2771	7.5229	3.00	9.00
	1 week	30	7.3000	1.36836	0.24983	6.7890	7.8110	5.00	9.00
	2 week	30	6.9667	1.44993	0.26472	6.4253	7.5081	4.00	9.00
	3 week	30	7.1667	1.44039	0.26298	6.6288	7.7045	4.00	9.00
	4 week	30	7.0000	1.46217	0.26695	6.4540	7.5460	4.00	9.00
	Total	150	7.0667	1.46854	0.11991	6.8297	7.3036	3.00	9.00

ANOVA						
กลิ่น		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิห้อง	Between Groups	4.773	4	1.193	0.495	0.739
	Within Groups	349.367	145	2.409		
	Total	354.140	149			
อุณหภูมิตู้เย็น	Between Groups	3.200	4	0.800	0.365	0.833
	Within Groups	318.133	145	2.194		
	Total	321.333	149			

อุณหภูมิห้อง

Duncan$_a$

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
2 week	30	6.6667
4 week	30	6.6667
0 week	30	6.7333
3 week	30	6.9000
1 week	30	7.1333
Sig.		0.309

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

อุณหภูมิตู้เย็น

Duncan$_a$

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
0 week	30	6.9000
2 week	30	6.9667
4 week	30	7.0000
3 week	30	7.1667
1 week	30	7.3000
Sig.		0.361

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ตารางที่ ค-10 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์

อายุการเก็บรักษา									
เนื้อสัมผัส		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
อุณหภูมิห้อง	0 week	30	7.0000	1.57568	0.28768	6.4116	7.5884	5.00	9.00
	1 week	30	6.6333	1.21721	0.22223	6.1788	7.0878	5.00	8.00
	2 week	30	6.6667	1.37297	0.25067	6.1540	7.1793	5.00	9.00
	3 week	30	6.7667	1.35655	0.24767	6.2601	7.2732	5.00	9.00
	4 week	30	6.5667	1.38174	0.25227	6.0507	7.0826	5.00	9.00
	Total	150	6.7267	1.37522	0.11229	6.5048	6.9485	5.00	9.00
อุณหภูมิตู้เย็น	0 week	30	7.2000	1.42393	0.25997	6.6683	7.7317	5.00	9.00
	1 week	30	6.5333	1.45586	0.26580	5.9897	7.0770	5.00	9.00
	2 week	30	6.8000	1.44795	0.26436	6.2593	7.3407	5.00	9.00
	3 week	30	6.8333	1.46413	0.26731	6.2866	7.3800	5.00	9.00
	4 week	30	6.6333	1.40156	0.25589	6.1100	7.1567	5.00	9.00
	Total	150	6.8000	1.43775	0.11739	6.5680	7.0320	5.00	9.00

ANOVA

เนื้อสัมผัส		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิห้อง	Between Groups	3.427	4	0.857	0.446	0.775
	Within Groups	278.367	145	1.920		
	Total	281.793	149			
อุณหภูมิตู้เย็น	Between Groups	7.800	4	1.950	0.942	0.442
	Within Groups	300.200	145	2.070		
	Total	308.000	149			

อุณหภูมิห้อง		
Duncan$_a$		
time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
4 week	30	6.5667
1 week	30	6.6333
2 week	30	6.6667
3 week	30	6.7667
0 week	30	7.0000
Sig.		0.289
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.		

อุณหภูมิตู้เย็น		
Duncan$_a$		
time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1 week	30	6.5333
4 week	30	6.6333
2 week	30	6.8000
3 week	30	6.8333
0 week	30	7.2000
Sig.		0.113
Means for groups in homogeneous subsets are displayed. a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.		

ตารางที่ ค-10 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์

อายุการเก็บรักษา									
รสชาติ		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
อุณหภูมิห้อง	0 week	30	7.0333	1.54213	0.28155	6.4575	7.6092	5.00	9.00
	1 week	30	6.4333	1.22287	0.22326	5.9767	6.8900	5.00	8.00
	2 week	30	6.6000	1.35443	0.24728	6.0942	7.1058	5.00	9.00
	3 week	30	6.7000	1.34293	0.24518	6.1985	7.2015	5.00	9.00
	4 week	30	6.6000	1.35443	0.24728	6.0942	7.1058	5.00	9.00
	Total	150	6.6733	1.36346	0.11133	6.4534	6.8933	5.00	9.00
อุณหภูมิตู้เย็น	0 week	30	7.1000	1.34805	0.24612	6.5966	7.6034	4.00	9.00
	1 week	30	6.5667	1.52414	0.27827	5.9975	7.1358	4.00	9.00
	2 week	30	6.7667	1.38174	0.25227	6.2507	7.2826	4.00	9.00
	3 week	30	6.9000	1.37339	0.25075	6.3872	7.4128	4.00	9.00
	4 week	30	6.6667	1.32179	0.24132	6.1731	7.1602	4.00	9.00
	Total	150	6.8000	1.38545	0.11312	6.5765	7.0235	4.00	9.00

ANOVA						
รสชาติ		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิห้อง	Between Groups	5.960	4	1.490	0.797	0.529
	Within Groups	271.033	145	1.869		
	Total	276.993	149			
อุณหภูมิตู้เย็น	Between Groups	5.200	4	1.300	0.671	0.613
	Within Groups	280.800	145	1.937		
	Total	286.000	149			

อุณหภูมิห้อง

Duncan$_a$

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1 week	30	6.4333
2 week	30	6.6000
4 week	30	6.6000
3 week	30	6.7000
0 week	30	7.0333
Sig.		0.134

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

อุณหภูมิตู้เย็น

Duncan$_a$

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
1 week	30	6.5667
4 week	30	6.6667
2 week	30	6.7667
3 week	30	6.9000
0 week	30	7.1000
Sig.		0.192

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ตารางที่ ค-10 (ต่อ) คะแนนการทดสอบด้านประสาทสัมผัสของกุนเชียงที่เก็บรักษาในถุง PE สภาวะสุญญากาศที่อุณหภูมิห้องและอุณหภูมิตู้เย็น เป็นเวลา 4 สัปดาห์

อายุการเก็บรักษา									
ความชอบโดยรวม		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Min	Max
						Lower Bound	Upper Bound		
อุณหภูมิห้อง	0 week	30	7.1333	1.22428	0.22352	6.6762	7.5905	5.00	9.00
	1 week	30	6.8000	1.27035	0.23193	6.3256	7.2744	5.00	9.00
	2 week	30	6.8667	1.13664	0.20752	6.4422	7.2911	5.00	9.00
	3 week	30	6.9333	1.22990	0.22455	6.4741	7.3926	5.00	9.00
	4 week	30	6.7333	1.11211	0.20304	6.3181	7.1486	5.00	9.00
	Total	150	6.8933	1.18801	0.09700	6.7017	7.0850	5.00	9.00
อุณหภูมิตู้เย็น	0 week	30	7.4333	0.77385	0.14129	7.1444	7.7223	6.00	9.00
	1 week	30	7.3000	1.08755	0.19856	6.8939	7.7061	5.00	9.00
	2 week	30	7.3333	1.12444	0.20529	6.9135	7.7532	5.00	9.00
	3 week	30	7.3333	1.06134	0.19377	6.9370	7.7296	5.00	9.00
	4 week	30	7.2667	1.20153	0.21937	6.8180	7.7153	5.00	9.00
	Total	150	7.3333	1.04699	0.08549	7.1644	7.5023	5.00	9.00

ANOVA

ความชอบโดยรวม	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
อุณหภูมิห้อง	2.827	4	0.707	0.494	0.740
	207.467	145	1.431		
	210.293	149			
อุณหภูมิตู้เย็น	0.467	4	0.117	0.104	0.981
	162.867	145	1.123		
	163.333	149			

อุณหภูมิห้อง

Duncan[a]

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
4 week	30	6.7333
1 week	30	6.8000
2 week	30	6.8667
3 week	30	6.9333
0 week	30	7.1333
Sig.		0.257

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

อุณหภูมิตู้เย็น

Duncan[a]

time	N	Subset for alpha = 0.05
		1
4 week	30	7.2667
1 week	30	7.3000
2 week	30	7.3333
3 week	30	7.3333
0 week	30	7.4333
Sig.		0.596

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 30.000.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ	นางสาว ภณิดา อ่อนน้อม
วัน เดือน ปีเกิด	2 กรกฎาคม 2541
ที่อยู่ปัจจุบัน	7/24 ซอ พรีเมียร์ 1 แยก 14 ถนนศรีนครินทร์ แขวงหนองบอน เขตประเวศ กรุงเทพมหานคร 10250
ประวัติการศึกษา	(2565) วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงานทางวิชาการ	Oonnom, P., Rungjindamai, N. and Ochaikul, D. 2023. “Bacterial cellulose production and application on a fat replacer on fat-reduce Chinese sausage.” *International Journal of Agricultural Technology*. 19(3) : 1165-1178.