สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

3

การผลิตเห็ดวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์

นางสาวมยุรี พิชญวรกุล
นางสาวอัจฉรา งามวรโรจน์สกุล
นางสาวอัมภาภรณ์ สิริวัตถานันต์

ฐพ.
๒/๑๔๑ก
2536

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

b12537433

โครงงานพิเศษที่เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต
ภาควิชา ชีววิทยาประยุกต์
คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2536

Commercial Production of Vinegar Mushroom From Coconut Juice

Miss Mayuree Phichayaworakul

Miss Ajchara Ngamworarojskul

Miss Ampaporn Sirivathanant

A Special Project Submitted in Partial Fulfillment of the

Reguirement for the Degree of Bachelor of Science

Department of Biotechnology

Faculty of Science

King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang

1993

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตเห็ดวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์
โดย	นางสาวมยุรี พิชญวรกุล
	นางสาวอัจฉรา งามวรโรจน์สกุล
	นางสาวอัมภาภรณ์ สิริวัตถานันต์
ภาควิชา	ชีววิทยาประยุกต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณมณี

ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง อนุมัติให้นับโครงงานพิเศษฉบับนี้ เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

---------- หัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์

(อาจารย์อุ่นเรือน ศิริวานิชกุล)

คณะกรรมการโครงงานพิเศษ

---------- ประธานกรรมการ

(อาจารย์พรรณี ฐิตาภิชิต)

---------- กรรมการ

(อาจารย์มาลินี ตันติยาภรณ์)

---------- กรรมการ

(ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณมณี)

ลิขสิทธิ์ของภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

หัวข้อโครงงานพิเศษ	**การผลิตเห็ดวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์**
นักศึกษา	**นางสาวมยุรี พิชญวรกุล**
	นางสาวอัจฉรา งามวรโรจน์สกุล
	นางสาวอัมภาภรณ์ สิริวัตถานันต์
อาจารย์ที่ปรึกษา	**ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณมณี**
ภาควิชา	**ชีววิทยาประยุกต์**
ปีการศึกษา	**2536**

บทคัดย่อ

โครงงานพิเศษนี้ เป็นการศึกษาการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์ จากเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ในน้ำมะพร้าวแก่ โดยศึกษาสภาวะต่างๆ และสูตรอาหารที่เหมาะสม พบว่าใช้ปริมาณกล้าเชื้อ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงในน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร, ยีสต์สกัด 0.05 กรัม เพื่อเตรียมหัวเชื้อ จากนั้นนำหัวเชื้อใส่ลงในอาหารที่ประกอบด้วย $(NH_4)_2SO_4$ 9 กรัม, น้ำตาลทราย 60 กรัม, น้ำส้มสายชู 300 มิลลิลิตร, และน้ำมะพร้าว 1 ลิตร โดยใช้หัวเชื้อปริมาณ 10 เปอร์เซนต์ หมักในถาดเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ได้วุ้นหนาประมาณ 1.5-2.5 เซนติเมตร นำไปฟอกสีด้วย H_2O_2 2 เปอร์เซนต์ 15 นาที เนื้อวุ้นมีลักษณะขาวและใส เมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค นอกจากนี้ยังได้ศึกษาถึงการออกแบบภาชนะและอุปกรณ์เพื่อลดการปนเปื้อน โดยใช้ถาดสเตนเลสขนาด 12"x8"x2" ที่มีฝาปิด ซึ่งมีช่องขนาด Φ 2 เซนติเมตร สำหรับต่อท่อให้อากาศที่ผ่านเครื่องกรอง สามารถป้องกันการปนเปื้อนได้ 100 เปอร์เซนต์ และให้วุ้นที่หนา โดยใช้ระยะเวลาสั้น ส่งผลให้คุณภาพวุ้นดีขึ้น

Special Project Title	**Commercial Production of Vinegar Mushroom From Coconut Juice**
Name	**Miss Mayuree Pichayaworakul**
	Miss Ajchara Ngamworarojskul
	Miss Ampaporn Sirivathanant
Special Project Advisor	**Asst.Prof.Dr Reum Tachasoponmanee**
Department	**Applied Biology**
Academic Year	**1993**

Abstract

This project experiments about Production of Vinegar Mushroom in Commercial from bacteria *Acetobacter xylinum* 893 in coconut juice. Investigate conditions and optimal formular was found inoculum 1 ml. in 100 ml. coconut juice, 0.05 g. yeast extract for prepare of starter. Then 10% starter was added in medium was consist of 9 g. $(NH_4)_2SO_4$, 60 g. sucrose, 300 ml. acetic acid 5% and 1 l. coconut juice. Cultivated in tray for 14 days at room temperature in static liquid. Formation of cellulose about 1.5 to 2.5 cm. and bleaching with 2% H_2O_2 15 mins. A characteristic cellulose has white and bright. Sensory evaluation test was accepted by consumer. In addition design container and equipment for decrese contamination. It was made from stainless size 12″x8″x2″, which have cover, the central of pore Φ 2 cm., connected to air tube (was past membrane filter). It could be protected contamination 100%, thicked-cellulose form in short time and higher quality.

กิตติกรรมประกาศ

รายงานโครงงานพิเศษฉบับนี้ ได้จัดทำขึ้นตามหลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคโนโลยีชีวภาพ) ซึ่งไม่อาจสำเร็จลุล่วงไปได้ หากไม่ได้รับการช่วยเหลือ ด้านปัจจัยวัตถุต่างๆ ตลอดทั้งคำแนะนำจากบุคคล ดังต่อไปนี้

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.ดร. เรียม เตชะโสภณมณี ผู้ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษา และอาจารย์วันชัย สุทธินุ่น ที่ได้กรุณาให้คำแนะนำซึ่งเป็นประโยชน์อย่างยิ่งในการทำโครงงานพิเศษ ตลอดจนแนะแนวทางแก้ไขปัญหาต่างๆ

ขอกราบขอบพระคุณหัวหน้าภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ ตลอดทั้งกรรมการทุกๆท่าน ที่มีส่วนช่วยเหลือในด้านต่างๆ

ขอขอบพระคุณป้าตุ๊ เจ้าของร้านมะพร้าวกะทิที่ตลาดหัวตะเข้ ซึ่งได้ให้ความอนุเคราะห์น้ำมะพร้าวแก่อันเป็นวัตถุดิบที่สำคัญในโครงงานพิเศษนี้ และขอบพระคุณพี่ๆ เพื่อนๆ และน้องๆ ทุกท่านที่ได้สละเวลาในการเป็นผู้ทดสอบ

คณะผู้จัดทำ

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	**ก**
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	**ข**
กิตติกรรมประกาศ	**ค**
สารบัญตาราง	**ง**
สารบัญรูป	**จ**
บทที่ 1 บทนำ	**1**
- วัตถุประสงค์	**2**
- ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	**2**
บทที่ 2 ทฤษฎีและหลักเกณฑ์ที่เกี่ยวข้อง	**3**
- จุลินทรีย์ที่ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว	**3**
- แนวทางในการสังเคราะห์เซลลูโลส	**4**
- วัตถุดิบที่ใช้ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว	**12**
- ขั้นตอนการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว	**18**
- ส่วนประกอบของวุ้นน้ำมะพร้าว	**20**
- การควบคุมกระบวนการผลิต	**21**
- การแปรรูป	**25**
- ปัญหาในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์	**28**
บทที่ 3 ขั้นตอนการดำเนินการ	**29**
- จุลินทรีย์	**29**
- อุปกรณ์และสารเคมี	**29**
- การเตรียมเชื้อบริสุทธิ์ของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*	**30**
- วิธีการทดลอง	**31**
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	**36**
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	**51**
ภาคผนวก ก	**53**
ภาคผนวก ข	**55**

หน้า

ภาคผนวก ค 56

ภาคผนวก ง 59

เอกสารอ้างอิง 64

สารบัญตาราง

		หน้า
ตารางที่ 1	เปรียบเทียบน้ำตาลในน้ำมะพร้าวระยะต่างๆ	**13**
ตารางที่ 2	ส่วนประกอบต่างๆ ในน้ำมะพร้าวอ่อนเทียบกับน้ำมะพร้าวแก่	**14**
ตารางที่ 3	ค่าความชื้นและเถ้าของวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำหมักชนิดต่างๆ	**21**
ตารางที่ 4	แสดงผลผลิตของวุ้นน้ำมะพร้าวเมื่อใช้ความเข้มข้นน้ำตาลต่างๆ กัน	**24**
ตารางที่ 5	ผลของปริมาณกล้าเชื้อที่มีต่อจำนวน *Acetobacter xylinum* ในหัวเชื้อ	**36**
ตารางที่ 6	ผลของปริมาณกล้าเชื้อต่อความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าว	**38**
ตารางที่ 7	ผลของความเข้มข้นของหัวเชื้อต่อความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าว	**39**
ตารางที่ 8	สูตรอาหารต่างๆ ที่มีผลต่อความหนาและลักษณะของวุ้นน้ำมะพร้าว	**43**
ตารางที่ 9	ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่มีต่อวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อมจากอาหารสูตรต่างๆ	**43**
ตารางที่ 10	ผลของระดับความสูงของอาหารเหลวที่มีต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าว	**46**
ตารางที่ 11	ผลของขนาดภาชนะที่ใช้ในการหมักต่อความหนาและน้ำหนักของวุ้นน้ำมะพร้าว	**47**
ตารางที่ 12	ผลของระยะเวลาในการฟอกสีวุ้นน้ำมะพร้าวด้วยไฮโดรเจน-เปอร์ออกไซด์	**48**
ตารางที่ 13	แสดงข้อเปรียบเทียบระหว่างภาชนะหมัก	**50**

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
ภาพที่ 1 แผนผังวิถีการเปลี่ยนแปลงการใช้กลูโคสใน *A. xylinum*	**6**
ภาพที่ 2 แผนภาพแสดงการผลิตและการแปรรูปวุ้นน้ำมะพร้าว	**19**
ภาพที่ 3 แสดงอัตราการสร้างวุ้นของ *A. xylinum* ที่ปริมาณกล้าเชื้อต่างๆกัน	**37**
ภาพที่ 4 แสดงความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวหลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน เมื่อใช้กล้าเชื้อต่างๆ	**38**
ภาพที่ 5 ความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวหลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน ที่ความเข้มข้นต่างๆ	**40**
ภาพที่ 6 แสดงอัตราการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวในสูตรอาหารต่างๆ	**42**
ภาพที่ 7 ผลของระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวของ *A. xylinum*	**45**
ภาพที่ 8 เปอร์เซนต์ยิวด์ของวุ้นที่ระดับความสูงของอาหารเหลวต่างๆ	**46**
ภาพที่ 9 ภาชนะและอุปกรณ์ที่ออกแบบในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวเพื่อลดการปนเปื้อน	**49**

บทที่ 1

บทนำ

วุ้นน้ำมะพร้าว มีชื่อเรียกแตกต่างกัน เช่น เห็ดวุ้นน้ำมะพร้าว เห็ดรัสเซีย วุ้นน้ำส้ม หรือวุ้นสวรรค์ เป็นของหวานที่นิยมรับประทานกันมากของชาวฟิลิปปินส์ ชื่อภาษาอังกฤษคือ nata de coco มาจากภาษาฟิลิปปินส์ การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวนี้ทำขึ้นจากเชื้อน้ำส้มสายชู ได้แก่ *Acetobacter xylinum* โดยใช้วัตถุดิบทางการเกษตร เช่น น้ำมะพร้าวแก่ น้ำสับปะรด น้ำอ้อย น้ำนมสดและน้ำกะทิ เนื้อวุ้นที่ได้จะมีลักษณะคล้ายกันอาจจะมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตติดมาบ้าง

ในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวหรือ nata de coco นิยมใช้น้ำมะพร้าวแก่มากกว่าวัตถุดิบทางการเกษตรอื่นๆ เนื่องจากในอดีตน้ำมะพร้าวแก่ส่วนมากจะถูกปล่อยทิ้งเป็นของเสียลงตามท่อระบายน้ำและแม่น้ำลำคลอง ก่อให้เกิดปัญหาน้ำเสียในภายหลัง นอกจากนี้ยังหาได้ง่ายเพราะเป็นวัตถุเหลือทิ้งทางการเกษตร และในน้ำมะพร้าวแก่มีคุณค่าทางอาหารเหมาะแก่การเจริญเติบโตได้เป็นอย่างดี

วุ้นน้ำมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตรที่น่าสนใจ เพราะสามารถทำการผลิตได้ง่ายทั้งในระดับครัวเรือนและระดับอุตสาหกรรม ในทางการผลิตระดับครัวเรือนอาจกล่าวได้ว่าเป็นการเพิ่มพูนรายได้ให้กับครอบครัวทางหนึ่ง เพราะการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวใช้ต้นทุนการผลิตต่ำ วัตถุดิบหาได้ง่าย รวมทั้งขั้นตอนการผลิตไม่ยุ่งยากซับซ้อน และสามารถนำมาแปรรูปเป็นอาหารคาว-หวาน ได้มากมายหลายชนิด เช่น วุ้นในน้ำเชื่อม ยำต่างๆ เป็นต้น ส่วนในระดับอุตสาหกรรมจะเป็นการเพิ่มรายได้ให้กับประเทศ และเป็นการนำน้ำมะพร้าวเหลือทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรมมะพร้าวต่างๆ มาใช้ให้เกิดประโยชน์ต่อโรงงานอุตสาหกรรมมะพร้าวในประเทศ เช่น โรงงานอุตสาหกรรมกะทิ โรงงานอุตสาหกรรมมะพร้าวแห้ง อย่างไรก็ตาม การผลิตในระดับอุตสาหกรรมไม่ได้พัฒนาวิธีการไปมากนัก ยังคล้ายคลึงกับการผลิตระดับครัวเรือน โดยผลิตในภาชนะปากกว้าง เนื่องจากวุ้นขึ้นบริเวณผิวหน้าของอาหารเท่านั้น เพราะเชื้อแบคทีเรียที่สร้างวุ้นต้องการออกซิเจน (strickly aerobe) ในการเจริญเติบโต การกระทบกระเทือนจะทำให้วุ้นจมลง เมื่อเชื้อเจริญใหม่บนผิวหน้าของน้ำมะพร้าว จะเกิดวุ้นแผ่นใหม่ทำให้แผ่นวุ้นบาง จึงน่าจะมีการศึกษาถึงภาชนะหมักที่วุ้นสามารถขึ้นได้ทั่วบริเวณอาหาร และใช้สารอาหารได้หมดพอดีภายในระยะเวลาที่เหมาะสม ทำให้ไม่เหลืออาหารที่ด้านล่างภาชนะ

โดยเปล่าประโยชน์ ทั้งนี้เพราะอาหารที่ให้หมักทางอุตสาหกรรมมีการเติมสารต่างๆลงไป ซึ่งเป็นสารที่มีราคาและทำให้การผลิตคุ้มทุนมากยิ่งขึ้น

วัตถุประสงค์ของโครงงานพิเศษ

1. เพื่อศึกษาปริมาณกล้าเชื้อ *Acetobacter xylinum* ที่มีผลต่อการสร้างวุ้นให้ได้ปริมาณสูงสุด

2. เพื่อศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมในการหมักวุ้นให้มีรสชาติและคุณภาพดี

3. เพื่อศึกษารูปแบบของภาชนะและปริมาณของอาหารที่เหมาะสมในการผลิตเชิงพาณิชย์

4. เพื่อศึกษาระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมในการหมักวุ้นน้ำมะพร้าว

5. เพื่อศึกษาการปรับปรุงคุณภาพวุ้นหลังการเก็บเกี่ยวให้เก็บรักษาได้นาน โดยมีรสชาติและคุณภาพดี ปลอดภัยสำหรับผู้บริโภค

ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงปัจจัยต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าว

2. ทราบระยะเวลาการหมักที่เหมาะสมในการผลิตระดับที่ใหญ่ขึ้น ทำให้คุ้มต่อการลงทุนทางเศรษฐกิจยิ่งขึ้น

3. การปรับปรุงวุ้นน้ำมะพร้าวในช่วงการฟอกสีของวุ้น ให้ปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากขึ้น

4. เป็นแนวทางในการเพิ่มผลผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว โดยคำนึงถึงการปรับปรุงภาชนะหมักให้ใช้อาหารได้อย่างคุ้มค่า

บทที่ 2

การตรวจเอกสาร

วุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าวหรือที่เรียกในภาษาฟิลิปปินส์ ว่า "Nata de coco" (สมคิด, 2531) Nata เป็นคำในภาษาสเปนที่ถ่ายทอดมาจากคำในภาษาละติน คือ Natare ซึ่งหมายถึง ลักษณะที่ลอยได้ (Africa, 1949) ส่วนใน Encyclopedia Universal Ilustrada ได้ให้ความหมายของ Nata ว่าเป็นวัตถุหนาจากบางส่วนของของเหลวโดยจะลอยอยู่เหนือของเหลวนั้น ดังนั้นจึงนำคำว่า Nata มาใช้เรียกแผ่นของกลุ่มวุ้นที่ก่ออยู่บริเวณผิวหน้าของสารละลายที่มีน้ำตาล โดยเฉพาะน้ำตาลทรายหรือน้ำตาลอ้อย (Africa, 1949) ต่อมา Mendoza (1991) ได้ให้ความหมายของ Nata นี้ในอีกแง่หนึ่งคือ เป็นเนื้อเยื่อของตัวเซลล์และสายของโมเลกุลน้ำตาล ลักษณะเป็นแผ่นหนา มีสีขาว หรือครีมไม่ละลายน้ำเป็นแผ่นวุ้นที่เซลล์ *Acetobacter xylinum* สร้างขึ้นที่ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่ประกอบด้วยกรด น้ำตาล เอธิลแอลกอฮอล์ และสารอาหารอื่นๆ

จุลินทรีย์ที่ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว

จุลินทรีย์ที่ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวนี้จะกล่าวถึงในเรื่องลักษณะต่างๆของจุลินทรีย์ แนวทางในการสังเคราะห์เซลลูโลส และยังกล่าวถึงลักษณะทางเคมีและคุณสมบัติของวุ้นน้ำมะพร้าวอีกด้วย ซึ่งจะกล่าวโดยละเอียดดังนี้

ลักษณะของจุลินทรีย์ที่สร้างวุ้นน้ำมะพร้าว

จากการศึกษาจุลินทรีย์ที่ได้จากการแยกเซลล์แบคทีเรีย ที่ผลิตวุ้นออกจากอาหารน้ำมะพร้าวในแง่ของลักษณะทางกายภาพ ลักษณะของเชื้อและคุณสมบัติทางชีวเคมีของเชื้อที่สร้างวุ้นนี้ ทำให้สรุปได้ว่าจุลินทรีย์นี้คือ *Acetobacter xylinum* ซึ่งมีลักษณะดังนี้คือ เซลล์มีรูปร่างเป็นแท่ง มีขนาด 2 ไมโครเมตร ไม่มีแฟลกเจลลา ที่ผนังเซลล์ปกคลุมด้วยชั้นของเมือกลื่น เซลล์อาจอยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรือเป็นเส้นสาย ไม่เคลื่อนที่ และติดสีแกรมลบ เซลล์นี้ต้องการอากาศ เจริญเติบโตช้า สามารถเจริญได้ในน้ำหมักที่เป็นกรด สามารถสร้างกรดกลูโคสเอธิลและโพรพิลแอลกอฮอล์และไกลคอลได้ สามารถออกซิไดซ์เอธานอล

เป็นกรดอะซิติก และออกซิไดซ์กรดอะซิติกไปเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ ไม่รีดิวซ์ในเตรต *Acetobacter xylinum* นี้จะให้ผลการทดสอบ catalase เป็นบวก ไม่มีการเปลี่ยนสีลิตมัสมิลค์ สามารถสร้าง 5-ketogluconate, 2-ketogluconate และ gluconate ไม่มีการสร้างอัลโดส, α-pyrone และไม่สร้างสีน้ำตาล คุณสมบัติสำคัญที่ทำให้แยกจุลินทรีย์ตัวนี้ได้คือ ความสามารถในการสร้างเยื่อเหนียวที่สามารถยึดเซลล์ให้รวมกันและให้ผลบวกเมื่อทำการทดสอบเซลลูโลส

ในปี 1978 Sowdeb L C ได้ศึกษาถึงโครงสร้างและการพัฒนาโคโลนีของ *Acetobacter xylinum* และพบว่าการพัฒนารูปร่างและโครงสร้างของโคโลนีของ *Acetobacter xylinum* ที่เจริญบนวุ้น ศึกษาโดยใช้กล้องจุลทรรศน์และกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน เซลล์จะแบ่งล้อมรอบโดย sheath ของ cellulose microfibrils ซึ่งจากรูปร่างกลมรีคล้ายไข่ก็จะแบนราบลงคล้ายหมอนอิง รูปร่างที่ได้นี้เป็นผลมาจากการไหลของเซลล์จาก sheath เป็นการสร้างรูปร่างขึ้นมาใหม่โดยส่วนของ sheath ที่ขับของเหลวออกมานอกเซลล์

แนวทางในการสังเคราะห์เซลลูโลส

การสร้างเซลลูโลสของพืชและของ *Acetobacter xylinum* จะคล้ายคลึงกันทั้งทางเคมีและกลไกการสร้าง เนื้อเยื่อพืชที่ถูกแยกจะต้องการคาร์โบไฮเดรตและออกซิเจนเพื่อจะสานต่อโครงสร้างเป็นเซลลูโลส อัตราการเกิดปฏิกิริยาโพลิเมอไรซ์เชชั่นของกลูโคสและกาซออกซิเจนภายในเซลล์จะเกิดในอัตราต่ำมากจนไม่ต้องสนใจ การสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรียจะเป็นที่รู้จักกันดีในลักษณะที่เป็นมาตรฐานคือจะเกิดเป็นผลึกที่มีกลุ่มของโพลิเมอร์อยู่สูงซึ่งจะใช้ α-cellulose ที่พบในฝ้ายเป็นตัวแทน ผลิตภัณฑ์ที่เป็นสายยาวเหล่านี้จะถูกนำมารวมกันภายนอกเซลล์ และสามารถมองเห็นได้

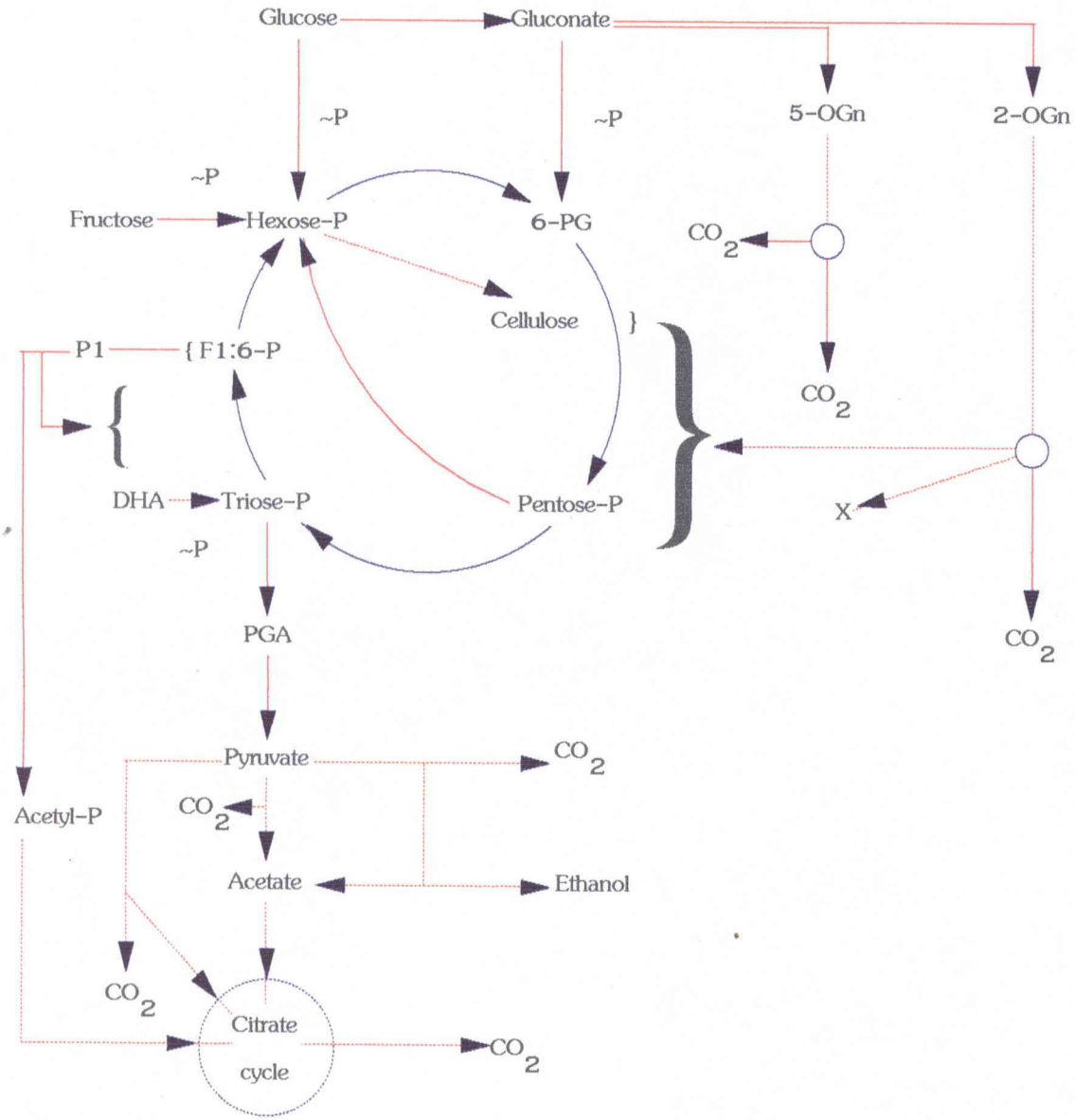
จากการทดลอง (Glaser, 1958) ที่ใช้ uridine diphosphoglucose โดยจะสังเกตที่คาร์บอน-14 ในส่วนของกลูโคส เพื่อแสดงให้เห็นการรวมตัวของกลูโคสไปเป็นเซลลูโลสโดยผ่านทาง uridine diphosphoglucose ใน *Aetobacter xylinum* ดังแสดงในปฏิกิริยาต่อไปนี้

$$\text{Uridine diphosphoglucose} + (\text{Glucose})_n \longrightarrow \text{Uridine diphosphate} + (\text{Glucose})_{n+1}$$

Gromet *et al.* (1957) ได้แสดงแผนผังวิถีการเปลี่ยนแปลงการใช้กลูโคสใน *Acetobacter xylinum* (ภาพที่ 1) เซลจะสร้างเซลลูโลสจากเฮกโซสที่มีคาร์บอน-14 เป็นตัวชี้เฉพาะ โดยจะเข้าวงจร pentose ทางเดียวกับ hexose-p ในการสังเคราะห์เซลลูโลส นอกจากจะใช้กลูโคสเป็นวัตถุดิบแล้วยังสามารถใช้ กลูโคเนท (Gluconate 2-OG_n, 5-OG_n) วัตถุดิบที่มีคาร์บอน 3 ตัว

(Glycerol และ Dihydroxy acetone) และฟรุคโตส เป็นต้น กลูโคสที่อยู่ในเซลล์จะถูกเปลี่ยนแปลงเป็นกลูโคเนทได้อย่างรวดเร็ว จากนี้กลูโคสในส่วนนี้จะถูกเซลล์เปลี่ยนต่อไปเป็น 5-OG_n และ 2-OG_n ซึ่งทั้ง 2 และ 5-OG_n นี้อาจถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) ซึ่งอาจเข้าร่วมในการสร้างเซลลูโลสก็ได้ ส่วนไพรูเวท (pyruvate), อะซิเตท (acetate) และสารตัวกลางในวงจรซิเตรต จะถูกเซลล์ออกซิไดซ์จนได้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์ แต่คาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้นี้จะไม่เกี่ยวข้องกับการสร้างเซลลูโลสเลย วัตถุดิบที่จะสร้างเซลลูโลสได้จะต้องสามารถเข้าสู่วงจรเพนโตสได้ ในขณะที่วัตถุดิบที่ให้คาร์บอนไดออกไซด์แต่ไม่ได้เข้าร่วมในการสังเคราะห์เซลลูโลส ก็จะถือว่าเป็นส่วนที่ผ่านวงจรเพนโตสไป เช่น 2 และ 5-OG_n จะมีส่วนที่ผ่านและไม่ผ่านวงจร วงจรเพนโตสที่แสดงนี้เป็นหนึ่งในทางเข้าสู่วงจรจากจำนวนมากมายหลายทางวิถีที่ต้องใช้ glucokinase จะต้องผ่านตัวกลางก่อน และยังมีอีกหลายวิถีทางที่จะต้องผ่านการเปลี่ยนแปลงจากกลูโคสไปเป็นกลูโคเนทก่อน ซึ่งกลูโคเนทนี้สามารถเข้าสู่วงจรได้ 2 วิธี คือ การเข้าโดยตรงซึ่งจะต้องใช้ gluconokinase และโดยทางอ้อมซึ่งจะผ่านทาง 2 และ 5-OG_n ตามลำดับ ยังมีอีกหลายวิธีที่คาร์บอนจะถูกแยกออกจากวงจรเพนโตสและเข้าสู่วงจรซิเตรตได้ วิธีหนึ่งในการแยกคือ การออกซิเดชั่น โดยเริ่มต้นที่ triose-P ซึ่งพบว่าเป็นปฏิกิริยาที่คล้ายกับที่พบในวงจรเพนโตสภายในเซลล์เมมเบรนของจุลินทรีย์ คาร์บอนที่ออกจากวงจรเพนโตสจะถูกนำเข้าสู่วงจรซิเตรต ตัวกลางในวงจรเพนโตสที่เกิดการเปลี่ยนแปลงโดยจุลินทรีย์พวกที่ไม่ใช้อากาศจะทำให้เกิด acetyl-P ขึ้นมา

การสังเคราะห์เซลลูโลสจากกลูโคสสามารถถูกขัดขวาง โดยตัวยับยั้งการหายใจที่เหมาะสม sulfhydryl reagent narcotics oxidizable metabolites acetate และ acetate forming pyruvate อะซิเตท เป็นต้น นอกจากนี้การสังเคราะห์เซลลูโลสยังถูกทำให้ช้าลงด้วย สารหนู (arsenate) ซึ่งสามารถแก้ไขได้โดยการเติมสาร orthophosphate สารฟลูออไรด์สามารถยับยั้งการสังเคราะห์ เซลลูโลส สาร 2,4-dinitrophenol จะทำให้มีการสร้าง oxogluconate เกิดขึ้นได้แต่จะไปยับยั้งการสร้างเซลลูโลส และทำให้ช้าลงเนื่องจากการสังเคราะห์คาร์บอนไดออกไซด์จากกลูโคสช้าลง (Schramn และคณะ, 1957)



ภาพที่ 1 แผนผังวิถีการเปลี่ยนแปลงของการใช้กลูโคสใน *A. xylinum*

ที่มา : Gromet และคณะ (1957)

ปฏิกิริยาต่างๆ เชื่อมต่อกันด้วยเส้นที่ลากต่อเนื่องกัน เป็นปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นในเซลล์อิสระที่สกัดออกมา ปฏิกิริยาที่มิได้นำมาแสดงแต่อาจเกิดได้ในเซลล์สมบูรณ์จะใช้เส้นประแทน P จะแทน ATP ที่ถูกใช้ไป สารตัวกลางในวงจรเพนโตสที่จุลินทรีย์พวกไม่ใช้อากาศสร้างขึ้นจะแยกออกจากวงจรแล้วเปลี่ยนแปลงจนได้ acetyl-P โดยใช้ Pi ไปซึ่งจะใช้แทนด้วยลูกศรทางซ้ายมือของแผนผัง วิถีการเมตาบอลิซึมของ 2 และ 5-OG_n ที่มีบางส่วนเข้าสู่วงจรเพนโตสและลูกศรจะแสดงอยู่ทางขวาของแผนผัง ส่วนสารที่ยังไม่ทราบแน่ชัดซึ่งเกิดจากการเมตาบอลิซึมของ 2-OG_n จะใช้ x เป็นตัวแทน

เส้นใยเซลลูโลสที่ได้จากสารเริ่มต้นที่ *Acetobacter xylinum* สร้างนั้น จะถูกนำมารวมกันภายนอกเซลล์โดยจะไม่เกิดการสลายตัว (extensive) การเจริญของเส้นใยสามารถเจริญได้ที่ปลายด้านใดด้านหนึ่งหรือทั้งสองปลาย ในอัตรา 0.1 ไมโครเมตรต่อนาที ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ทั้งนี้การสร้างจะเกิดอย่างต่อเนื่องในระหว่างการบ่ม (Colvin and Beer, 1960)

การรวมตัวของเส้นใยเซลลูโลสภายนอกเซลล์บนผิวหน้าอาหารเหลว จะรวมได้ในส่วนที่ไกลออกไปจากเยื่อหุ้มเซลล์ โดยจะไม่นำสารตัวกลางหรือโพลิเมอร์ที่มีโครงสร้างไม่สมบูรณ์มาเกี่ยวข้อง เส้นใยแต่ละเส้นจะเจริญที่บริเวณปลายเท่านั้น อัตราการยืดจะเป็น 0.2 ไมโครเมตรต่อเซลล์แบคทีเรียต่อนาที ที่ 34 องศาเซลเซียส อัตราการเกิดนิวเคลียสของเส้นใยใหม่ประมาณ 40 ต่อ 10^3 ของเซลล์แบคทีเรียต่อนาที ที่ 43 องศาเซลเซียส แต่จะคงที่หลังจากเวลาผ่านไปประมาณ 30 นาทีแล้ว เส้นใยที่เพิ่งถูกสร้างจากนิวเคลียสพบว่ารูปร่างจะไม่สมมาตรกันพอดี แต่จะยาวต่ำลงมามากกว่า 0.5 ไมโครเมตร ลักษณะการเจริญของเซลลูโลสบนผิวหน้าของแผ่นวุ้นจะรวมกันเป็นกลุ่มของเส้นใยพร้อมๆกันกับมีการตัดอย่างหยาบๆในแนวขนาน (Millman and Colvin, 1961)

ระบบเอนไซม์จาก *Acetobacter xylinum* ที่บ่มไว้กับ uridine diphosphoglucose จะแสดงให้เห็นว่ามีสารโพลิเมอร์เกิดขึ้นในระหว่างการสังเคราะห์ เซลลูโลสตัวกลางเหล่านี้จะมีคุณสมบัติเป็นโอลิโกเมอร์ของกลูโคส โดยทั่วไปสารเหล่านี้จะติดอยู่กับอนุภาคหนักในสารแขวนลอยแต่จะเป็นอิสระได้เมื่อถูกย่อยสลาย ที่เหนือกว่านั้นคือจะมีการดูดซับส่วนที่รวมกันเป็นเซลลูโลส ซึ่งอาจทำให้เกิดการก่อตัวเป็นสายใยสั้นๆได้ เมื่อทำการตกตะกอนด้วยเอธานอลในสารละลายเกลือ (Kjosbakken and Colvin, 1975)

องค์ประกอบของเซลลูโลสใน *Acetobacter xylinum* มีรูปร่างเป็นเนื้อเยื่อ และมีลักษณะเด่น คือ กลไกการสร้างไมโครไฟบริล ซึ่งองค์ประกอบของเซลลูโลสโดยธรรมชาติจะเกิดได้น้อย เนื่องจากมีการรบกวนเยื่อของ *Acetobacter xylinum* ซึ่งมี 3 โครงสร้างด้วยกัน คือ microfibrillar, interconected, brush-wood แต่โครงสร้างเหล่านี้ไม่ได้เป็นจุดเริ่มต้นของการสร้าง

cellulose microfibril *Acetobacter xylinum* อาจจะผลิตเบตา-1,4-กลูแคน โดยกลไกตามธรรมชาติ ซึ่งเป็นสารที่ถูกสร้างขึ้นมาก่อนการสร้างเซลลูโลส (Colvin JR และคณะ, 1982) นอกจากนี้ การควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลสใน *Acetobacter xylinum* ยังพบว่ามี unique guanyl oligonucleotide เป็นตัวกระตุ้นเอนไซม์ synthase ที่ใช้สังเคราะห์เซลลูโลส (Ross P, 1986)

ชีววิทยาของการเลี้ยงเชื้อบริสุทธิ์ของจุลินทรีย์ที่ผลิตเซลลูโลสยังเป็นสิ่งใหม่ ทั้งระหว่างการเจริญและระยะพัก ซึ่งเลี้ยงในอาหารเหลวที่ประกอบด้วยแหล่งคาร์บอน, ไนโตรเจนและสารอนินทรีย์ที่จุลินทรีย์สามารถนำไปใช้ได้เลย *Acetobacter xylinum* สามารถที่จะปล่อยเซลลูโลสออกมาได้โดยการเคลื่อนที่ถอยหลัง โดยจะปล่อยเป็นระยะๆ จนกระทั่งได้ทิศทางที่ดีที่สุด คือตามความยาวของสายที่มารวมกันก่อนโดยจะเพิ่มความยาวของสายออกไป และจะรวมตัวเป็นกลุ่มซึ่งมีอย่างน้อยที่สุด 2 สายที่ยาวไม่เท่ากัน จะทำการเลี้ยงจุลินทรีย์ที่ 20-40 องศาเซลเซียส พีเอช 3-7 ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ (ระยะเจริญ และระยะพัก) สายเซลลูโลสส่วนใหญ่จะเป็น polymorph ของ cellulose I และ cellulose II จุลินทรีย์นี้จะผลิตเซลลูโลสที่มีโครงสร้างแข็งแรงมาก (Brown R M, 1989) ที่สภาวะนี้จุลินทรีย์จะสามารถเคลื่อนที่ถอยหลัง และตามด้วยการพ่นฟองก่อนที่เซลลูโลสจะมารวมกันเป็นสาย เพื่อเพิ่มสายให้ยาวออกไปและสร้างเป็นกลุ่ม (Univ Texas-Syst, 1989)

ได้มีการศึกษาถึงการสร้างเซลลูโลสโดยแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ในสภาวะที่มีอากาศ เป็นเหตุให้คิดได้ว่า ปัจจัยของการสร้างเซลลูโลส คือเซลล์จะต้องอยู่ในสภาพแวดล้อมที่มีอากาศ ในการศึกษานี้ ได้แสดงให้เห็นว่า *A. xylinum* มีความสามารถในการเจริญทาง microaerophilically การสร้างเยื่อเซลลูโลสขึ้นก็เพื่อป้องกันเซลของ *A. xylinum* จากการถูกฆ่าโดยแสงอุลตราไวโอเลต ในการทดลองวัดขนาดโคโลนีของ *A. xylinum*, รา และแบคทีเรียอื่นบนชิ้นแอปเปิล พบว่าเยื่อเซลลูโลสที่สร้างขึ้น จะทำให้โคโลนีของ *A. xylinum* ที่เลี้ยงบนสับสเตรทช่วยป้องกันจุลินทรีย์อื่นที่ใช้แหล่งอาหารเหมือนกัน อาจมีปัจจัยหลายอย่างที่ทำให้ *A. xylinum* สร้างเซลลูโลสเพื่อการเจริญเติบโตและการอยู่รอดในธรรมชาติ (Williams W S ; Cannon R E ; 1989)

Acetobacter xylinum ATCC 23768, LMG 1517 และ LMG 1518 จะเจริญในอาหาร 100 มิลลิลิตร (ซูโครสหรือฟรุคโตส 40 กรัมต่อลิตร, ยีสต์สกัด 10 กรัมต่อลิตร, KH_2PO_4 1.5 กรัมต่อลิตร $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.5 กรัมต่อลิตร และน้ำมะเขือเทศที่กรองแล้ว 10 มิลลิกรัมต่อลิตร) เลี้ยงในจานเพาะเชื้อ, Erlenmeyer flask, Roux flask เป็นเวลาอย่างน้อย 10 วัน ที่ 30 องศาเซลเซียส สำหรับการผลิตเซลลูโลส ผลที่ดีที่สุดได้จากการเลี้ยงในจานเพาะเชื้อและ Erlenmeyer flask ที่อยู่นิ่งๆ อิทธิพลของอัตราส่วนระหว่างพื้นที่ผิวกับปริมาตร ได้ถูกศึกษา

ในจานเพาะเชื้อกับสายพันธุ์ LMG 1517 ที่มีผลิตผลมาก ค่ายิวด์ของเซลลูโลสดูเหมือนจะเหมาะสมสำหรับอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่ 2.2 ต่อเซนติเมตร ปรากฏว่าอัตราส่วนพื้นที่ผิวต่อปริมาตรที่เหมาะสม อยู่ตรงกลางระหว่างระดับการละลายของออกซิเจนในปริมาณสูงซึ่งทำให้มีการผลิตเซลลูโลสเกินต้องการ และระดับการละลายออกซิเจนในปริมาณต่ำ ซึ่งจะยับยั้งการเจริญและการสร้างเซลลูโลสของเซลล์ และพบอยู่ในแบคทีเรียที่อยู่ลึกลงไปในอาหาร ค่าพีเอชที่เหมาะสม คือ 5.5 และ 5.0 ที่เลี้ยงในซูโครสและฟรุคโตสตามลำดับ การผลิตเซลลูโลสที่เหมาะสม จะใช้ซูโครสหรือฟรุคโตส 70 กรัมต่อลิตร ในทางตรงกันข้ามการผลิตให้ได้ปริมาณสูงสุดจะใช้แหล่งคาร์บอน 40 กรัมต่อลิตร ค่ายิวด์ของเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้นเป็น 5 เท่า โดยการเพิ่มระดับแมกนีเซียมอิออนเป็น 10 เท่า (Joris K และคณะ, 1990)

การศึกษาการผลิตแบคทีเรียลเซลลูโลส (เบตา-1,4-กลูแคน) โดยใช้ *A. xylinum* พบว่าค่ายิวด์ของแบคทีเรียลโพลีแซคคาไรด์ ขึ้นอยู่กับปัจจัยแวดล้อมทั้งทางกายภาพและทางเคมีเป็นอย่างมาก อัตราส่วนของพื้นที่ผิวต่อปริมาตรของการเพาะเลี้ยงและพีเอชเริ่มต้น จะมีอิทธิพลต่อยิวด์ของเซลลูโลสสุดท้ายที่ได้อย่างเห็นได้ชัด การเพิ่มความเข้มข้นเริ่มต้นของแหล่งคาร์บอนซึ่งใช้ซูโครสหรือฟรุคโตส ทำให้ค่ายิวด์ของเซลลูโลสเพิ่มขึ้นเป็น 2.2 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้น้ำตาล 70 กรัมต่อลิตร แต่ประสิทธิภาพของการเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพจะสูงที่สุดเมื่อใช้แหล่งคาร์บอน 40 กรัมต่อลิตร การใช้แมกนีเซียมอิออนจะช่วยกระตุ้นค่ายิวด์ของเซลลูโลสด้วย (Joris K ; Billiet S ; Drieghe S ; Braekx D ; Vandamme E, 1990) อาจกล่าวได้ว่า เซลลูโลสเป็นองค์ประกอบที่เป็นความลับใน *A. xylinum* อาหารเหลวที่มีความหนืดสูงจะถูกพัฒนาเพื่อให้เกิดการแลกเปลี่ยนมวลและผสมกัน กำลังการผลิตและค่ายิวด์จะถูกรีดิวซ์โดยการกวนที่สูงในฟลาสก์ที่เขย่าแล้วจะเลือกมาใช้พิสูจน์หาการเตรียมโพลีอะคริลาไมด์หลายๆแบบซึ่งใช้เป็น "โพรเทคแทนท์" สารประกอบต่างๆนี้จะช่วยลดความเสียหายจากกระบวนการส่งผ่านอากาศ โพรเทคแทนท์นี้จะถูกทดสอบในถังหมักและจะมีผลต่อ specific productivity ที่ความหนาแน่นสูงๆ เพราะอัตราการเจริญของเซลล์จะถูกรีดิวซ์ สารอาหารที่เป็นกุญแจซึ่งมีอยู่จำกัดในคอมเพลกซ์มีเดีย ได้ถูกพิสูจน์แล้ว และ productivity ที่สูงจะถูกทำให้ยาวขึ้น โดยการใส่สารอาหารนี้ลงไประหว่างการเลี้ยงเชื้อ (Bauer K ; Coddington K ; Ben-Bassat A, 1992)

การสังเคราะห์เซลลูโลสโดย *Acetobacter xylinum* ใช้กลูโคส และ modified carbonsources ผลของกลูโคส, modified glucose, modified cellulose, cellobiose, และน้ำตาลชนิดอื่นๆในการผลิตเซลลูโลส ผลของแหล่งคาร์บอนที่แตกต่างกันในการผลิตเซลลูโลสโดย *A. xylinum* ซึ่งพบว่าเจริญในอาหาร Schramm และ Hestrin ที่ 28 องศาเซลเซียส การใช้เซลลูโลสเป็นผลให้เกิดการผลิตเยื่อเซลลูโลสขึ้นโดยการใช้ กลูโคส-6-ฟอสเฟต และเซลโลไบโอส

ภายในเซลลูโลสจะประกอบด้วย mannose, glc-NHAc, glucosamine, o-2-Ph'c-glucose, o-3-methyl-glucose, methyl-alpha-D-glucopyranoside, methyl-beta-D-glucopysanoside, pentamethyl-beta-D-glucose, cellobiose-8-Ac, alpha-glucose-5-Ac, beta-glucose-5-Ac และ 2-,3- และ 6-Ph'c-glu-4-Ac ไม่มีเซลลูโลสชนิดใดที่ใช้กรดกลูโคโรนิกเป็นแหล่งคาร์บอน เซลลูโลสมีโครงสร้างเป็นเนื้อเยื่อซึ่งสามารถเก็บน้ำได้น้อย นั่นคือมีโครงสร้างเป็นเยื่อใยแบบเจล (Schmauder H P, 1992)

จากการคัดเลือกจุลินทรีย์ในจีนัส Acetobacter และ Agromobacterium จำนวน 41 สายพันธุ์ พบว่า *Acetobacter xylinum* IFO 13693 เป็นแบคทีเรียที่สามารถผลิตเซลลูโลสได้ดีที่สุด (0.312 กรัม) เซลลูโลสจะถูกสร้างขึ้นที่ผิวหน้าของอาหารเหลวที่ตั้งอยู่นิ่งๆ ประกอบด้วยเปปโตน 2 เปอร์เซนต์, ยีสต์สกัด 0.5 เปอร์เซนต์, $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.1 เปอร์เซนต์ และเอธานอล 0.2 เปอร์เซนต์ อัตราการสร้างเซลลูโลสขึ้นอยู่กับพื้นที่ผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อและไม่มีผลต่อความลึกและปริมาตรของอาหาร พีเอชที่เหมาะสมสำหรับการผลิตเซลลูโลส คือ 4.0-6.0 โดยใช้กลูโคส, ฟรุคโตส และกลีเซอรอลเป็นแหล่งคาร์บอน ค่ายิวด์ของเซลลูโลสที่ได้เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณกลูโคสที่ใช้ พบว่าจะลดลงเมื่อมีการเพิ่มความเข้มข้นของกลูโคสเริ่มต้น และการสะสมของกรดกลูโคนิคเมื่อใช้ความเข้มข้นเริ่มต้นของกลูโคสสูงๆ เนื่องมาจากการเกิดเมตาโบไลซ์กลูโคสไปเป็นกรดกลูโคนิค อย่างไรก็ตามกรดกลูโคนิคจะไม่มีผลในการสร้างเซลลูโลส เมื่อสภาวะที่ใช้เลี้ยงแบคทีเรียเพื่อให้สร้างเซลลูโลสมีความเหมาะสม อัตราการผลิตเซลลูโลสสูงสุดจะได้ 3.6 กรัมต่อวันต่อตารางเมตร (Masaoks S ; OHE T ; Sakota N, 1993)

การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวแก่ โดยใช้เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum* TISTR 86 ได้ผลสรุปว่าการทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวแก่ 1 ลิตร ควรปรับค่าพีเอชเป็น 4.5 เติมน้ำตาลทราย 50 กรัมต่อลิตร, เอธิลแอลกอฮอล์ 60 มิลลิลิตร, แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.5 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.3 กรัมต่อลิตร เมื่อหมักที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) ในสภาพดังกล่าวจะได้แผ่นวุ้นหนา 2.5 เซนติเมตรในเวลา 14 วัน จากการฟอกสีแผ่นวุ้นเปรียบเทียบระหว่างการฟอกสีด้วย ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2 เปอร์เซนต์ โซเดียมไฮดรอกไซด์ 2 เปอร์เซนต์ และโซเดียมไทโอซัลเฟต 0.5 เปอร์เซนต์ ได้ผลการฟอกสีโดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2 เปอร์เซนต์ จะได้แผ่นวุ้นที่มีสีขาวเนื้อสัมผัสนุ่ม (สมศรี ลีปิพัฒนวิทย์, 2531)

ลักษณะทางเคมีและคุณสมบัติของวุ้นน้ำมะพร้าว

ในปี 1880 Brown ได้อธิบายถึงแบคทีเรียชนิดหนึ่งซึ่งสร้างเยื่อที่มีความแข็งเมื่อเลี้ยงให้เจริญในอาหารที่มีคาร์โบไฮเดรตอยู่มาก เขาพบว่าเยื่อเหนียวสามารถละลายได้ใน ammoniacal copper hydroxide และให้น้ำตาลรีดิวซ์เมื่อถูกย่อยด้วยกรดซัลฟูริก และเนื่องจากเขามาพบว่าในฝ้ายก็สามารถเกิดสารเหล่านี้เช่นกันเขาจึงเรียกจุลินทรีย์นี้ว่า *Acetobacter xylinum*

เมื่อมองผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอน พบว่าเซลลูโลสที่สร้างจาก *Acetobacter xylinum* จะสร้างมาจากเส้นใยไฟเบอร์ที่มีเส้นผ่าศูนย์กลางเหมือนกับเส้นใยเซลลูโลส ที่มาจากผนังเซลล์พืชชนิดอื่นๆ สำหรับ *Acetobacter xylinum* สายพันธุ์นี้จะทำการสังเคราะห์อยู่นอกเซลล์ ซึ่งการสังเกตเซลล์เหล่านี้จะกระทำได้โดยการมองผ่านกล้องจุลทรรศน์อิเลคตรอนเท่านั้น

ในการสังเคราะห์เซลลูโลส แบคทีเรียจะเริ่มจากการปล่อยสารเมือกที่มีโครงสร้างเป็นเนื้อเดียวกัน หลังจากนั้นอีกไม่นานจะก่อตัวกันขึ้นเป็นเส้นใยเซลลูโลส สารที่ปล่อยออกมานอกเซลล์เหล่านี้จะเป็นตัวเริ่มต้นของเซลลูโลส โดยจะมีการต่อกันเป็นโซ่ยาวต่อไปภายนอกเซลล์ โดยมีการสันนิษฐานว่ามีเอ็นไซม์เข้ามาช่วย ภายในชิ้นวุ้นที่เห็นทั้งหมดจะประกอบด้วยเซลลูโลสทั้งชิ้น

จากการศึกษาการเจริญของวุ้นในน้ำมะพร้าวและในน้ำผลไม้ พบว่าเซลลูโลสสามารถดูดซับน้ำได้ประมาณ 90 เปอร์เซนต์ จากลักษณะทางกายภาพของแผ่นวุ้นสด และจากรายงานที่เกี่ยวข้องกับจุลินทรีย์ที่สร้าง เป็นสิ่งที่นำไปสู่การศึกษาเซลลูโลสทางด้านเคมี เช่น ความสามารถในการละลาย และการทดสอบทางด้าน X-ray spectrometer และ infrared spectrometer ซึ่งผลการทดสอบทั้งหมดนี้สามารถยืนยันได้ว่าส่วนที่เป็นของแข็งของวุ้นนี้ คือ เซลลูโลส (Miranda และคณะ, 1965)

Dimaguila (1967 b) ได้ทำการทดสอบทางเคมีโดยทั่วไปและทางกายภาพในเชิงคุณภาพ พบว่าวุ้นน้ำมะพร้าวนี้คือเซลลูโลสตามธรรมชาตินั่นเอง ทั้งนี้เพราะเซลลูโลสนี้สามารถทำปฏิกิริยากับกรดซัลฟูริกและสารละลายไอโอดีนได้ และวุ้นน้ำมะพร้าวนี้จะละลายได้ในตัวทำละลายเซลลูโลส การย่อยมันจนได้เป็นกลูโคสสามารถกระทำได้โดยการใช้กรดและเอนไซม์

วัตถุดิบที่ใช้ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าว

น้ำจากมะพร้าวอ่อนหรือเอ็นโดสเปอร์มส่วนที่เป็นของเหลว เป็นเครื่องดื่มที่สะอาดบริสุทธิ์ มีคุณค่าทางโภชนาการ และป้องกันการไหม้ของผิวหนังเนื่องจากแสงอาทิตย์สำหรับเด็กที่อยู่ในเขตร้อน เนื่องจากน้ำมะพร้าวทำให้ร่างกายเย็นซึ่งจะช่วยป้องกันโรคผดผื่นคัน และลดความร้อนของผิวหนังลงได้เป็นอย่างดี นอกจากนั้นแล้วน้ำมะพร้าวยังช่วยบรรเทาผื่นคันซึ่งเกิดจากโรคฝีดาษและโรคหัด ตามปกติแล้วน้ำมะพร้าวจะมีน้ำตาลอยู่ประมาณร้อยละ 5 ส่วนเกลือแร่ธาตุต่างๆ กรดอะมิโน และวิตามินซีจะมีอยู่ 2.2-3.7 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และให้พลังงาน 17.4 แคลอรี่ต่อ 100 กรัม ประโยชน์ของน้ำมะพร้าวคือ สามารถเปลี่ยนไปเป็นแอลกอฮอล์และน้ำส้มสายชูโดยการหมัก นอกจากนั้นน้ำมะพร้าวยังมีคุณสมบัติในการช่วยเสริมความเจริญเติบโต ซึ่งสามารถนำไปใช้สำหรับเทคนิคการเพาะเนื้อเยื่อของพืชได้

คุณสมบัติในทางเป็นยาของน้ำมะพร้าวอ่อน คือ มีคุณสมบัติในการระบาย เช่น ฆ่าพยาธิในลำไส้ และการที่มีเกลือและอัลบูมินอยู่ด้วยจะทำให้ใช้เป็นเครื่องดื่มที่ดีสำหรับผู้ที่เป็นโรคอหิวาต์ แก้การคลื่นไส้อาเจียร และถ้าใช้ล้างผิวหนังเป็นประจำจะทำให้ผิวหนังไม่เหี่ยวย่นและเต่งตึงอยู่เสมอ ทำให้ผิวหนังเหมือนคนหนุ่มสาว

น้ำมะพร้าวอ่อนเป็นเครื่องดื่มสำหรับเด็กและผู้ใหญ่ซึ่งทุกคนชอบที่จะดื่ม นอกจากนั้นยังใช้ในงานเลี้ยงสำหรับสุภาพสตรี และยังมีเรื่องราวเล่ากันต่อมาตั้งแต่โบราณกาลเกี่ยวกับคุณสมบัติในการบำบัดโรคภัยไข้เจ็บต่างๆ

คำว่าน้ำมะพร้าวอาจจะมีความสับสนกับกะทิ โดยที่น้ำมะพร้าวเป็นของเหลวที่บรรจุอยู่ในผลมะพร้าว Child ได้ศึกษาถึงคุณสมบัติในทางยาของน้ำมะพร้าว และรายงานว่าน้ำมะพร้าวเป็นเครื่องดื่มตามธรรมชาติซึ่งเป็นที่รู้จักกันทั่วไป คุณค่าทางโภชนาการมาจากน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าว ในมะพร้าวลูกใหญ่น้ำมะพร้าวจะมีน้ำตาลประมาณ 1 ออนซ์ หรือ 28.4 กรัม น้ำตาลในน้ำมะพร้าวระยะเริ่มแรกที่มะพร้าวยังอ่อนอยู่ จะอยู่ในสภาพเป็นน้ำตาลชนิดอินเวอร์ทและจะเปลี่ยนไปเป็นน้ำตาลชนิดซูโครสเมื่อผลมะพร้าวมีอายุ 5 ถึง 6 เดือน ซึ่งปรากฏการณ์นี้จะเกิดได้เช่นเดียวกันในเนื้อมะพร้าวที่เกิดขึ้นในผลมะพร้าว และในเวลาเดียวกันปริมาณของน้ำตาลจะลดลง

คุณภาพของโปรตีนในน้ำมะพร้าว

โปรตีนในน้ำมะพร้าวจะมีเปอร์เซนต์ของอะลานีน อาร์จินีน ซิสตีน และเซอรีน สูงกว่าโปรตีนในนมวัว ด้วยเหตุนี้น้ำมะพร้าวจึงเหมาะสมที่จะใช้เป็นเครื่องดื่มสำหรับทารก

ส่วนประกอบของน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าวมีบทบาทสำคัญในการทำให้ผลมะพร้าวนั้นแก่ขึ้น และเจริญต่อไปเป็นต้นใหม่ นอกจากนี้สารประกอบต่างๆ ในน้ำมะพร้าวจะมีการเปลี่ยนแปลงทุกระยะ ดังตารางที่ 1 ซึ่งแสดงค่าการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลในน้ำมะพร้าว จากระยะที่เป็นมะพร้าวอ่อนจนเมื่อมะพร้าวนั้นแก่เต็มที่

ตารางที่ 1 เปรียบเทียบน้ำตาลในน้ำมะพร้าวจากผลมะพร้าวระยะต่างๆ

ลักษณะผลมะพร้าว	น้ำตาลในน้ำมะพร้าว (%)		
	reducing sugar	sucrose	น้ำตาลทั้งหมด
ผลอ่อนที่สุด เปลือกสีเขียว ไม่มีเนื้อมะพร้าว	1.88	0	1.88
ผลอ่อน เปลือกสีเขียว ไม่มีเนื้อมะพร้าว	2.34	0	2.34
ผลอ่อน ไม่มีเนื้อมะพร้าว	2.63	0	2.63
ผลสีเขียว เนื้อมะพร้าวมีลักษณะเป็นน้ำ	3.24	0	3.24
ผลเขียว มีเนื้อมะพร้าว	3.14	0.08	3.22
ผลเขียว มีเนื้อมะพร้าว	2.52	0.57	3.09
ผลแก่ที่สุด เปลือกสีน้ำตาล	1.45	0.58	2.03

ที่มา : วิเชียร (2521)

แสดงว่าเมื่อผลไม้อ่อนเจริญเป็นผลไม้แก่ปริมาณ และชนิดน้ำตาลเปลี่ยนไปโดย ปริมาณน้ำตาลทั้งหมดจะค่อยๆเพิ่มขึ้นจนถึงระยะหนึ่งจึงลดลง จากการศึกษายังพบว่าน้ำมะพร้าวมี total solid ประมาณ 2.5 เปอร์เซต์ และค่อยๆเพิ่มขึ้นในขณะที่ผลมะพร้าวเริ่มแก่จะมี total solid ประมาณ 6 เปอร์เซนต์ และค่อยๆลดลงระหว่างการงอกของต้นอ่อนจนเหลือ total solid ประมาณ 2 เปอร์เซนต์

ตารางที่ 2 สารประกอบต่างๆ ที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวอ่อนเทียบกับน้ำมะพร้าวแก่

สารอาหาร	น้ำมะพร้าวอ่อน	น้ำมะพร้าวแก่
น้ำ	91.9 กรัม	94.6 กรัม
โปรตีน	0.1 กรัม	1.0 กรัม
คาร์โบไฮเดรต	7.4 กรัม	2.1 กรัม
เถ้า	0.6 กรัม	0.5 กรัม
วิตะมินซี	0.6 มิลลิกรัม	1.4 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	6.6 มิลลิกรัม	25.4 มิลลิกรัม
เหล็ก	0.2 มิลลิกรัม	0.4 มิลลิกรัม
แคลเซี่ยม	-	20.7 มิลลิกรัม
วิตะมินบีรวม	ไม่พบ	พบ
กาก	ไม่พบ	ไม่พบ
ไขมัน	ไม่พบ	ไม่พบ

ที่มา : วิเชียร (2521)

จากตารางที่ 2 จะพบว่า

- คาร์โบไฮเดรตเป็นส่วนประกอบที่สำคัญรองจากน้ำ และในน้ำมะพร้าวแก่จะมีอยู่น้อยกว่าน้ำในผลอ่อน อย่างไรก็ตามไม่สามารถบอกได้ว่ามีน้ำตาลชนิดใดเป็นองค์ประกอบอยู่บ้าง

- ปริมาณโปรตีนและไขมันมีอยู่น้อยมากจึงไม่จัดเป็นแหล่งอาหารโปรตีน หรือ ไขมัน อย่างไรก็ตามได้มีการค้นพบกรดอะมิโนอิสระ 4.0135 ไมโครกรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรของส่วนที่ไม่ละลายในแอลกอฮอล์

- วิตามินโดยเฉพาะวิตามินซีจะมีมากที่สุด และยังประกอบด้วยวิตามินบีรวมซึ่งเป็นแหล่งอาหารเสริมที่สำคัญของจุลินทรีย์หลายชนิดที่ไม่สามารถสังเคราะห์วิตามินนี้

- เกลือแร่ประกอบด้วยธาตุรองต่างๆ โดยมีธาตุโปแตสเซี่ยมเป็นส่วนประกอบหลัก และแร่ธาตุอื่นๆ ที่มีความจำเป็นในการเจริญของจุลินทรีย์ โดยธาตุบางตัวจะทำหน้าที่เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาเคมี, เป็นส่วนประกอบของเอนไซม์ และเป็นองค์ประกอบบางอย่างของเซลล์

จะเห็นได้ว่า ในน้ำมะพร้าวมีแหล่งอาหารต่างๆที่จุลินทรีย์จำเป็นต้องใช้ในการเจริญและเพิ่มจำนวนเซลล์ อาจกล่าวได้ว่าน้ำนี้สามารถเป็นอาหารเลี้ยงเชื้ออย่างดีของเซลล์จุลินทรีย์

น้ำมะพร้าวที่เป็นกรด และ peptone yeast water จะนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งอาหารเลี้ยงเชื้อนี้ไม่เพียงแต่จะให้ชิ้นวุ้นที่มีความหนาเท่านั้น แต่ยังเป็นการปรับสภาวะที่สามารถยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอื่นๆด้วย จากความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์อื่นนี้เองที่ทำให้ตัวมันเองสามารถเจริญได้ดี Tanner (1944) และ Africa (1949) ได้รายงานว่ากรดอะซิติก ใน nutrient broth สามารถยับยั้งจุลินทรีย์ที่ทำให้อาหารเสียหลายชนิด และจากรายงานนี้ จุลินทรีย์ที่สร้างกรดจะยับยั้งการเจริญได้ โดยในส่วนของไฮโดรเจนอิออน และในส่วนของโมเลกุลกรดอะซิติกที่ไม่ละลายน้ำ

วุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวสามารถสร้างได้ทั้งในน้ำมะพร้าวหรือน้ำกะทิ น้ำมะพร้าวจะเป็นน้ำในส่วนของเอนโดสเปิร์มซึ่งจะอยู่ตรงกลางของมะพร้าว น้ำกะทิได้จากการบดเนื้อและน้ำแล้วกรอง และทิ้งไว้ให้ชั้นของครีมหรือหัวกะทิลอยตัวขึ้น น้ำที่อยู่ใต้หัวกะทิจะเป็นน้ำหางกะทิ (Mendoza, 1961) ถ้าใช้น้ำมะพร้าวเป็นวัตุดิบ จะต้องนำมาเติมน้ำตาล, กรดอะซิติก, แหล่งไนโตรเจน $(NH_4)H_2PO_4$, เปปโตน, ทริปโตเฟน, ยีสตต์สกัด, แหล่งอาหารเสริม โดยเฉพาะวิตามินบีรวมและแหล่งไนโตรเจนที่หาได้ (Africa, 1949) ส่วนในกรณีน้ำหางกะทิเป็นวัตถุดิบ จะต้องเติมน้ำตาล (ซูโครส, เดกซ์โตส), กรดอะซิติกและแหล่งไนโตรเจน (เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต, แอมโมเนียมฟอสเฟต) วัตถุดิบเหล่านี้จะให้วุ้นที่มากกว่า (Lapuz และคณะ, 1949) ในทางการค้าวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวจะทำจากมะพร้าวขูด 1 กิโลกรัม, น้ำตาลทรายขาว 2 กิโลกรัม, กรดอะซิติก 400 มิลลิกรัม, หัวเชื้อ 5 ลิตร และ น้ำ 28 ลิตร (Sanchez, 1978)

การใช้ประโยชน์ของน้ำมะพร้าว

ในสมัยก่อนๆยังไม่อาจที่จะเก็บถนอมรักษาน้ำมะพร้าวอ่อน เพื่อใช้เป็นเครื่องดื่มตามท้องถิ่นได้ นอกจากจะถูกบรรจุอยู่ตามธรรมชาติในกะลามะพร้าว จนกระทั่งถึงเวลารับประทานจึงเจาะรูที่ตาของกะลามะพร้าวเพื่อเอาน้ำมะพร้าวออกมาใช้ แต่ในปัจจุบันนี้มีการถนอมรักษาน้ำมะพร้าวอ่อนโดยการบรรจุกระป๋อง หรือบรรจุถุงพลาสติก เพื่อให้เก็บไว้บริโภคได้เป็นเวลานานๆ และเพื่อความสะดวกในการใช้ประโยชน์ และส่งออกจำหน่ายยังต่างประเทศ

น้ำมะพร้าวอ่อนจะมีรสชาติอร่อย และเป็นที่ยอมรับในการบริโภคมากที่สุด มื่อผลมะพร้าว มีอายุได้ประมาณ 7 เดือน ภายหลังจากที่มีการผสมเกสร และเริ่มเกิดเป็นผลมะพร้าว น้ำมะพร้าวจะมีปริมาณ total solids ประมาณร้อยละ 5 ถ้าใช้ผลมะพร้าวที่มีอายุอ่อนกว่านี้ จะได้น้ำมะพร้าวที่ขาดความหวาน และรสชาติซึ่งจำเป็นจะต้องทิ้งไป แต่ถ้าผลมะพร้าวแก่เกินไปกว่านี้จะได้น้ำมะพร้าวที่มีรสชาติเปลี่ยนไปไม่ตรงกับรสชาติที่ต้องการ ซึ่งรสชาติที่ต้องการคือ หวาน และมีรสเฝื่อนเล็กน้อย

มะพร้าวอ่อนที่นำมาจำหน่ายเป็นการค้าส่วนใหญ่จะมีเฉพาะแต่ในท้องถิ่นเท่านั้น ถ้าผลมะพร้าวแก่เกินไปจนน้ำมะพร้าวไม่สามารถใช้รับประทานได้ ก็สามารถขูดเอาเนื้อมะพร้าวมารับประทานได้แบบสดๆเพื่อให้เกิดความสดชื่น ตามปกติแล้วมะพร้าวอ่อนจะจำหน่ายให้แก่ผู้ใช้เสียงในการโฆษณา พ่อค้าจร พ่อค้าขายปลีก ภายหลังที่เก็บจากต้นมะพร้าวแล้วทันทีเพื่อนำไปจำหน่ายตามเมือง ร้านอาหาร สถานีรถไฟ และตามสถานที่ต่างๆตามแต่จะสะดวก ซึ่งก็มีลักษณะการดำเนินการเช่นเดียวกันกับประเทศไทยเรา และประเทศอื่นๆที่สามารถปลูกมะพร้าวได้

น้ำมะพร้าวสามารถใช้ผสมกับนมวัวเพื่อใช้เป็นเครื่องดื่ม และยังใช้ผสมใน น้ำมันละหุ่งเพื่อใช้ในการล้างเครื่องมือเครื่องใช้ให้สะอาดเป็นมันวาวได้

ประโยชน์ในทางการแพทย์ของน้ำมะพร้าว คือ

1. ใช้ในการรักษาโรคอหิวาต์ ทำลายพวกพยาธิในลำไส้ และใช้บรรเทาอาการปวดท้องเนื่องจากว่าน้ำมะพร้าวมีปริมาณเกลือและอัลบูมินสูงตามธรรมชาติอยู่แล้ว

2. ใช้ในการผสมเทียม โดยการนำเอาน้ำมะพร้าวจากมะพร้าวอ่อน มาผสมกับไข่แดงเพื่อใช้เป็นตัวทำให้น้ำเชื้อ (Semen) หมูตัวผู้ เจือจางลงประมาณร้อยละ 30 ในการทดลองนี้ไม่มีความแตกต่างในเรื่องการตายของตัวสเปอร์ม เมื่อสังเกตจากการทำให้เจือจาง 3 ระดับคือ น้ำมะพร้าวอ่อนบริสุทธิ์ น้ำมะพร้าวอ่อนผสมกับไข่แดงร้อยละ 1 และน้ำมะพร้าวอ่อนผสมกับไข่แดงร้อยละ 5 ปรากฏว่าประสิทธิภาพในการผสมติดจะสูงในสารละลายเจือจางระดับที่ 1 ประมาณร้อยละ 50 ระดับที่ 2 และที่ 3 ร้อยละ 44.4 และร้อยละ 31.6 ตามลำดับ โดยน้ำเชื้อ (Semen) จะเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 41 องศาฟาเรนไฮด์ เป็นเวลาประมาณ 8 วัน เป็นอย่างสูง และใช้เวลาเก็บเพียง 2-3 วัน เพื่อให้น้ำเชื้อมีประสิทธิภาพตามผลของการทดลองข้างต้น

3. ใช้ในงานวิจัยทางชีววิทยา โดยน้ำมะพร้าวสามารถที่จะเร่งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ที่เรียกว่า *Mycobacterium tuberculosis* ซึ่งเชื้อพวกนี้ตามปกติแล้ว สามารถเจริญเติบโตบนผิวของสารที่ใช้เพาะเชื้อ แต่เมื่อเติมน้ำมะพร้าวลงไปใน standard culture media แม้ว่าจะเจือจางประมาณ 10,000 เท่า จะลดเวลาในการให้เจริญเติบโตเต็มที่ลงเหลือเพียง 12 วัน เมื่อเติมน้ำมะพร้าวลงไป ซึ่งตามปกติแล้วจะใช้เวลาประมาณ 20 วัน ในการที่จะให้เชื้อเจริญเติบโตเต็มที่ แต่ถ้าใช้น้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียวจะไม่ได้ผลในกรณีเช่นนี้ น้ำมะพร้าวจะมีผลต่อเชื้อก็ต่อเมื่อ เราเติมน้ำมะพร้าวลงไปใน standard culture media ซึ่งปัจจัยที่ส่งเสริมในการเจริญเติบโตของเชื้อนี้ ได้แก่สารพวก polysaccharides ซึ่งมีอยู่ในน้ำมะพร้าว

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

4. ใช้น้ำมะพร้าวฉีดเข้าเส้นเลือดดำเพื่อเป็นการให้อาหารคนไข้ ซึ่งการทดลองนี้ได้กระทำที่โรงพยาบาลเซนต์หลุยส์ กรุงเทพมหานคร แสดงถึงความเป็นไปได้ในการที่จะใช้น้ำมะพร้าวฉีดเข้าเส้นเลือดดำให้แก่คนไข้ 21 คนจากจำนวนคนไข้ทั้งหมด 26 คน ซึ่งคนไข้ทั้ง 21 คนไม่เกิดปฏิกิริยารุนแรงแต่อย่างใด

5. ใช้น้ำมะพร้าวในท้องถิ่นทุรกันดารที่ห่างไกล หรือในกรณีฉุกเฉินทางทหารเมื่อการขนส่งน้ำตาลและน้ำเกลือที่ใช้สำหรับฉีดเข้าเส้นเลือดดำหยุดชะงักไป เพราะมีอุปสรรคเกิดขึ้นก็ใช้น้ำมะพร้าวแทนได้ เพราะในน้ำมะพร้าวมี โปแตสเซียมคลอไรด์ (ส่วนประกอบของเกลือ) ฟอสเฟต น้ำตาล แมกนีเซียม แคลเซียม และ โปรตีน รวมอยู่ในน้ำมะพร้าวตามธรรมชาติ

สรุปได้ว่า น้ำมะพร้าวมีประโยชน์นานาประการซึ่งนอกจากจะใช้เป็นเครื่องดื่มแล้วยังมีประโยชน์ในทางการแพทย์และทางด้านการเกษตรดังกล่าวมาแล้วข้างต้น ช่วยทำให้ร่างกายเรารู้สึกสดชื่น แข็งแรง ถ้าได้บริโภคเป็นประจำ เพราะเป็นเครื่องดื่มที่สะอาดบริสุทธิ์มีคุณค่าทางโภชนาการ และช่วยในการป้องกัน และบรรเทาโรคภัยไข้เจ็บต่างๆได้เป็นอย่างดี

นอกเหนือจากน้ำมะพร้าวแล้วการผลิตวุ้นด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* นี้ อาจใช้วัตถุดิบทางการเกษตรอื่นๆได้อีก เช่นน้ำสับปะรด น้ำอ้อย น้ำตาลปี๊บ น้ำนมสด น้ำกะทิ และน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ เป็นต้น เนื้อวุ้นที่ได้จะมีลักษณะคล้ายกัน อาจจะมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตติดมาบ้าง ทั้งนี้ปัจจัยในการผลิตย่อมแตกต่างกันออกไป เช่น ความเข้มข้นของวัตถุดิบ, ปริมาณน้ำตาล, สารไนโตรเจน และสายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้

วุ้นสวรรค์จากสับปะรดจะได้จากการสร้างวุ้นในอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มีน้ำสับปะรด หรือผสมเนื้อตีป่นกับน้ำ ซึ่งอาจเติมน้ำตาลลงไปด้วยเพื่อป้องกันการขาดน้ำตาลในอาหาร (Africa, 1949)

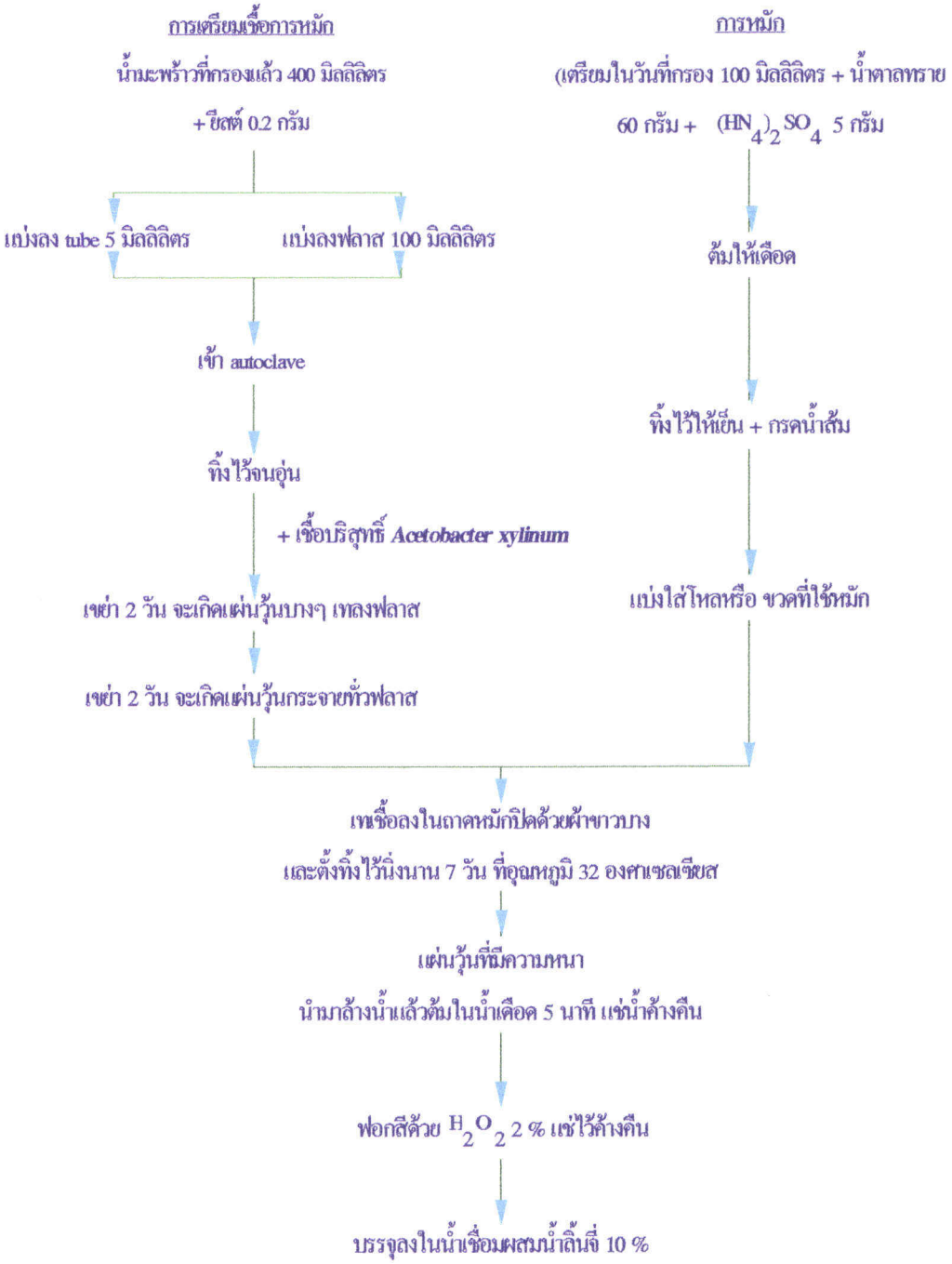
Baldonado (1966) ได้ใช้ผลไม้ที่หาได้ง่ายในท้องถิ่น เช่น ฝรั่ง เพื่อเป็นวัตถุดิบในการสร้างวุ้นสวรรค์ กลิ่น รส ตามธรรมชาติของผลไม้ที่นำมาใช้ทำนี้ยังหลงเหลืออยู่ในชิ้นวุ้นด้วย ส่วนวุ้นที่สร้างจากน้ำมะพร้าว และฝรั่ง ก็อยู่ในระดับที่ใกล้เคียงกัน

Tubongbanua (1978) แสดงให้เห็นว่ากากน้ำตาลก็สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการสร้างวุ้นสวรรค์ได้ สีของชิ้นวุ้นจะมีสีน้ำตาล ซึ่งสามารถกำจัดออกได้ง่าย โดยการแช่และเปลี่ยนน้ำบ่อยๆ เป็นเวลา 3 วัน

Miranda และคณะ (1965) พบว่าน้ำจากมะพร้าวกะทิ น้ำมะพร้าว น้ำสับปะรด และน้ำมะม่วง สามารถนำมาใช้เป็นอาหารเลี้ยงเชื้อในการผลิตวุ้นสวรรค์ได้ ซึ่งสามารถหาความแตกต่างของวุ้นเหล่านี้ได้จากการวิเคราะห์หาเถ้า และความชื้น

ขั้นตอนการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว

นำน้ำมะพร้าวที่ได้มากรองด้วยผ้าขาวบาง จากนั้นนำมาเติมน้ำตาล และแอมโมเนียมซัลเฟตประมาณ 6 เปอร์เซนต์ และ 0.5 เปอร์เซนต์ ตามลำดับ นำส่วนผสมที่ได้มาต้มให้เดือด ทิ้งไว้ให้เย็น นำมาเติมน้ำส้มสายชู 5 เปอร์เซนต์ ปริมาณ 1.5 เปอร์เซนต์ และเติมเชื้อ *Acetobacter xylinum* ที่หมักเตรียมไว้ประมาณ 30 เปอร์เซนต์ ของน้ำหมัก ปิดปากโถด้วยผ้าขาวบาง 2 ชั้น บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส ในเวลา 7 วัน จะเกิดชั้นของโพลิแซคคาไรด์หนา เมื่อครบกำหนดเวลา จะเก็บชิ้นวุ้นนี้มาล้างในน้ำเดือด ฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 2 เปอร์เซนต์ และบรรจุในน้ำเชื่อมผสมน้ำลิ้นจี่ ในสภาพที่เหมาะสม น้ำหมัก 150 มิลลิลิตร จะให้เนื้อวุ้นหนักประมาณ 76 กรัม สำหรับแผนภาพการผลิต และการแปรรูปวุ้นน้ำมะพร้าว แสดงอยู่ในภาพที่ 2



ภาพที่ 2 แผนภาพแสดงการผลิตและการแปรรูปวุ้นน้ำมะพร้าว

ที่มา : ดัดแปลงสมคิด 2531

ส่วนประกอบของวุ้นน้ำมะพร้าว

น้ำ	94.40	เปอร์เซนต์
ไขมัน	0.50	เปอร์เซนต์
สารเยื่อใย	1.10	เปอร์เซนต์
โปรตีน	0.68	เปอร์เซนต์
เถ้า	0.77	เปอร์เซนต์
คาร์โบไฮเดรต (คิดจากผลต่าง)	3.00	เปอร์เซนต์
แคลเซียม	34.50	มม. ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	0.20	มม. ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	22.00	มม. ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี 1	0.01	มม. ต่อ 100 กรัม
วิตามินบี 2	0.06	มม. ต่อ 100 กรัม
ไนอาซีน	0.22	มม. ต่อ 100 กรัม

(จากการรายงานกิจกรรมของกรมวิทยาศาสตร์ กระทรวงอุตสาหกรรม ฉบับที่ 31)

วุ้นที่ได้จากน้ำสับปะรดประกอบด้วย โปรตีน 0.67 เปอร์เซนต์ ไขมัน 0.37 เปอร์เซนต์ และคาร์โบไฮเดรต 7.04 เปอร์เซนต์ ให้พลังงาน 340 แคลอรีต่อกิโลกรัม (Anonymous, 1939) วุ้นที่ได้จัดว่าเป็นอาหารที่อร่อยและมีราคาถูก แผ่นวุ้นสดจากน้ำสับปะรดจะมีความชื้น 96.04 เปอร์เซนต์ ขณะที่มีเถ้า 0.058 เปอร์เซนต์ (Villanueva, 1937) ตารางที่ 3 แสดงค่าความชื้นและเถ้าของวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำหมักชนิดต่างๆ

ตารางที่ 3 ค่าความชื้นและเถ้าของวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำหมักชนิดต่างๆ

ชนิดของน้ำหมัก	ค่าความชื้น (เปอร์เซนต์)	ค่าของเถ้า (เปอร์เซนต์)
น้ำมะพร้าวอ่อน	89.79	2.50
น้ำมะพร้าว	93.00	1.36
น้ำสับปะรด	92.03	2.37
น้ำมะม่วง	89.33	1.34

ที่มา : Miranda และคณะ (1965)

ในการยืดอายุการเก็บวุ้นน้ำมะพร้าวโดยการใช้วิตามินบางชนิด และเกลือแร่ที่จำเป็น จะทำให้เกิดประโยชน์แก่ผลิตภัณฑ์นี้มากยิ่งขึ้น

คุณค่าทางโภชนาการของวุ้นน้ำมะพร้าวจะเพิ่มมากขึ้น เมื่อทำการยืดอายุด้วย วิตามิน และเกลือแร่บางชนิด ได้แก่ (จะกล่าวในรูปของหน่วย มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม) ไนอาซิน 7.522, ไรโบฟลาวิน 0.3682, ไทอามีน 0.6443, กรดแอสคอบิค 27.67, แคลเซียม 62.86 และ ฟอสฟอรัส 9.14 (Dolando and Maniquis, 1967) สารอาหารที่ช่วยยืดอายุนี้จะทำให้สามารถเก็บวุ้นนี้ได้ทั้งที่อุณหภูมิห้องหรืออุณหภูมิที่ตู้เย็น

Pusta (1980) ได้รายงานว่า เมื่อเติมสารให้กลิ่นรสต่างๆ เช่น อัลมอนต์ กล้วย เลมอน ส้ม สตรอเบอรี่ และวนิลา ในระหว่างขบวนการผลิต จะทำให้ได้วุ้นที่มีกลิ่นรสต่างๆ กันมากมาย

การควบคุมกระบวนการผลิต

เชื้อ *Acetobacter xylinum* จะเจริญได้ดีที่ พีเอช 3.5-7.0 ในน้ำมะพร้าว คือมีพีเอชประมาณ 5.0-5.5 แผ่นวุ้นจะถูกสร้างได้ที่อุณหภูมิ 20-31 องศาเซลเซียส ถึงแม้ว่าเชื้อนี้เจริญได้บนน้ำตาลซูโครส แลคโตส มอลโตส และกาแลคโตส แต่จะเลือกใช้ซูโครสที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ เนื่องจากจะให้ผลผลิตที่สูงที่สุด และเป็นน้ำตาลที่มีราคาถูกที่สุด ในอาหารที่มีแอมโมเนียมซัลเฟตประกอบอยู่ พบว่าเชื้อชนิดนี้สามารถเจริญได้ดี ดังนั้นสามารถเลือกใช้ไดไฮโดรเจนแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.5 เปอร์เซนต์ เป็นแหล่งไนโตรเจน นอกจากนี้การเติมโซเดียม หรือ โปแตสเซียมไนเตรต จะทำให้เซลล์สร้างชิ้นวุ้นได้บางกว่าที่ไม่เติม

(Lapuz และคณะ, 1967) การผลิตวุ้นให้ได้ผลผลิตมากที่สุดเมื่อน้ำหมักประกอบด้วยน้ำตาล 6 เปอร์เซนต์ พีเอช 3.5 บ่มที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส (Galvez, 1985) จากการศึกษา Africa (1985) พบว่าจุลินทรีย์ที่สร้างวุ้นจะให้ผลผลิตสูงสุดที่ความเข้มข้น 13 เปอร์เซนต์ ทั้งน้ำมะพร้าว และ peptone yeast water ที่เป็นกรดเท่ากัน

จาก Villanuve (1937) พบว่าเมื่อเติมน้ำตาลลงไปในเนื้อสับปะรดปั่น จะเพิ่มผลผลิตวุ้นเป็น 2 เท่า หรือมากกว่า 3 เท่าจากเดิม ในสภาวะที่เหมาะสม ความเข้มข้นของน้ำตาลที่จะให้ผลผลิตมากที่สุดจะอยู่ในช่วง 6-10 เปอร์เซนต์ ซึ่งเป็นปริมาณของน้ำตาลในสับปะรด

ไนโตรเจนเป็นสารที่จำเป็นของแบคทีเรีย แบคทีเรียบางชนิดจะเจริญได้ดีในสารไนโตรเจนที่จำเพาะ แหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้กับกลุ่มแบคทีเรียนี้ มักเป็นสารอินทรีย์ตามธรรมชาติ เช่น โปรตีน หรือ โปรตีนขนาดย่อยที่ละลายน้ำได้ เช่น peptone, peptide หรือ กรดอะมิโน การเติม peptone หรือ tryptophan 2 กรัมต่อน้ำมะพร้าว 1 ลิตรจะให้วุ้นมากกว่าที่เติมไดไฮโดรเจนแอมโมเนียมฟอสเฟต หรือ แอมโมเนียมซัลเฟต จะเห็นว่าแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมนั้นจะได้จากกลุ่มของสารประกอบอินทรีย์

สภาวะที่เหมาะสมของการผลิตวุ้น ใช้น้ำตาลเป็นสับสเตรท ประมาณ 20 เปอร์เซนต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) พีเอช 6.0 และเติม 1 เปอร์เซนต์ ไดไฮโดรเจนแอมโมเนียมฟอสเฟต ทั้งนี้ไม่จำเป็นต้องเติมสารอื่นๆ เช่น กรดซิตริก และ น้ำตาล (Tubongbanua, 1978)

ปัจจัยต่างๆ และวิธีการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวให้มีคุณภาพดี

การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวแบ่งเป็น 2 ขั้นตอน

1. การเตรียมหัวเชื้อ
2. การหมัก

มะพร้าวได้ถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายแง่หลายมุม ตั้งแต่ลำต้น ก้าน เปลือก ใบ กะลา เนื้อ และน้ำ ในที่นี้จะกล่าวถึงเฉพาะน้ำมะพร้าวแก่ซึ่งปกติจะไม่มีราคาในการซื้อขาย แต่มีคุณค่าสามารถใช้ประโยชน์ได้หลายอย่างเช่น ใช้ทำน้ำส้มสายชู ใช้ปรุงแต่งในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์ รา แม้กระทั่งเห็ด หรือใช้เป็นอาหารสัตว์ได้โดยตรง และนำไปทำปุ๋ยเพิ่มความอุดมสมบูรณ์ให้แก่ดินก็กระทำได้

วุ้นน้ำมะพร้าวมีชื่อเรียกหลายอย่างด้วยกัน อาจเรียกว่า วุ้นสวรรค์ วุ้นน้ำส้ม เห็ดรัสเซีย หรือลูกพร้าว แผ่นวุ้นมีลักษณะเป็นเยื่อเหนียว มีสีขาวหรือครีม การจะผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว ให้ได้ผลผลิตสูงและมีคุณภาพดี คือมีเนื้อวุ้นที่เนียนนุ่มเหนียวพอเหมาะไม่เป็นเส้นใยแน่น มีปัจจัยที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

1. สายพันธุ์เชื้อวุ้นใช้ในการหมักเชื้อวุ้น น้ำมะพร้าวมีเชื้อแบคทีเรียที่พบในการหมักน้ำส้มสายชูตามธรรมชาติทั่วไป มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum* แต่ถ้าหากต้องการจะผลิตวุ้นให้ได้ผลและมีประสิทธิภาพดี ควรใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่แยกและคัดเลือกแล้วว่าเหมาะสมสำหรับการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว โดยเฉพาะเชื้อนี้มีลักษณะเป็นท่อน ขนาด 2x0.6 ถึง 0.8 ไมครอน มี G-C content ของ DNA 55-64 โมลเปอร์เซนต์ เมื่อเลี้ยงบนอาหารวุ้นมีโคโลนีกลม นูน ทึบแสง สีน้ำตาลอ่อนผิวเรียบมันขนาด 1-2 มิลลิเมตร จะสามารถสร้างวุ้นได้มีที่อุณหภูมิ 28-32 องศาเซลเซียส ในอาหารที่มีพีเอชระหว่าง 4 ถึง 5 ปริมาณของเชื้อที่ใช้ในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว (inoculum) จะต้องใช้ในปริมาณที่มากพอเพื่อให้สร้างวุ้น ในช่วงแรกได้ทันกับเชื้อที่อาจจะติดมากับน้ำมะพร้าวหรือเชื้อที่ปนเปื้อนลงไปในระหว่างการหมัก

2. น้ำมะพร้าว น้ำมะพร้าวที่ใช้ควรเป็นมะพร้าวแก่ (รูปที่ 2-1 ภาคผนวก ง) เพราะเป็นวัสดุเหลือใช้ทางการเกษตรและอุตสาหกรรมที่หาได้ง่าย และมีคุณค่าทางอาหารเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อวุ้นอยู่แล้ว โดยเลือกน้ำมะพร้าวสดและใหม่ มีไขมันน้อย ไม่มีการปนเปื้อนของน้ำมะพร้าวที่เน่าเสียมาก่อน โดยนำมาต้มเพื่อให้ ไขมันละลายและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่ปะปนมาการใช้ น้ำมะพร้าวที่เจือจาง มาผลิตวุ้นจะทำให้ได้ผลผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวลดลง

3. ออกซิเจน เนื่องจากเชื้อแบคทีเรียที่สร้างวุ้นน้ำมะพร้าวต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวควรเลือกภาชนะในการหมักที่มีพื้นที่ผิวหน้ากว้างเพราะเชื้อจะสร้างแผ่นวุ้นเฉพาะส่วนบนของน้ำมะพร้าวเท่านั้น และระหว่างการหมักต้องระวังไม่ให้มีการกระทบกระเทือน เพราะเมื่อแผ่นวุ้นจม เชื้อจะเจริญใหม่ บนผิวหน้าของน้ำมะพร้าวเกิดแผ่นวุ้นแผ่นใหม่ ทำให้แผ่นวุ้นบาง วัสดุที่ใช้ในการปิดโหลหมักควรจะระบายอากาศได้ เช่น ผ้าขาวบาง ไม่ควรใช้แผ่นพลาสติก หรือผ้าที่หนาจนเกินไป

4. กรดน้ำส้ม (Acetic acid) ถ้าต้องการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวให้ได้ผลผลิตสูง ในเวลาอันสั้น ควรเติมกรดน้ำส้ม จากการทดลองของกลุ่มงานวิเคราะห์วิจัยวัสดุเหลือใช้จากการเกษตรและอุตสาหกรรม กองเกษตรเคมี พบว่า ถ้าต้องการเก็บวุ้นเร็วภายใน 10 วัน โดยต้องการความหนาของวุ้นประมาณ 1.0-1.5 เซนติเมตร ควรเติมกรดน้ำส้ม 1-2 เปอร์เซนต์ แต่ถ้าต้องการวุ้นหนาประมาณ 1.5-2.5 เซนติเมตร โดยปล่อยให้การหมักนานเกิน 10 วัน จะต้องเติมกรดน้ำส้มในปริมาณ 2-3 เปอร์เซนต์จึงจะเหมาะสมที่สุด

5. ผลผลิตของพีเอช เชื้อจุลินทรีย์ *Acetobacter xylinum* เป็นเชื้อแบคทีเรียที่สามารถเจริญได้ดีที่พีเอชต่ำ และเชื้อสามารถเจริญได้ในช่วงพีเอช 3.5-7.5 ซึ่งถ้าต่ำกว่า 3

และสูงกว่า 8 จะไม่มีการสร้างวุ้น การสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวจะดีที่สุดที่พีเอช 4.6-4.6 ซึ่งน้ำมะพร้าวจะมีพีเอชที่เหมาะสม 5.0-5.5

6. ปริมาณน้ำตาล น้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอนให้เชื้อเจริญเติบโต และสร้างแผ่นวุ้น ในการหมักวุ้นน้ำมะพร้าวเชื้อสามารถใช้น้ำตาลหลายชนิด เช่น กาแลคโตส เดกซ์โตรส ซูโครส แลคโตส มอลโตส ทั้งนี้พบว่าน้ำตาลเดกซ์โตรสจะให้ความหนาของวุ้นสูงสุด รองลงมาได้แก่ ซูโครส ส่วนน้ำตาลชนิดอื่นๆ จะให้วุ้นบางและนิ่ม ดังนั้นน้ำตาลที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวคือ น้ำตาลซูโครส หรือ น้ำตาลทราย โดยใช้ปริมาณ 5-8 เปอร์เซนต์ (ตารางที่ 4) ถ้าใช้ปริมาณน้ำตาลน้อยกว่า 5 เปอร์เซนต์ จะทำให้เนื้อวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้นิ่ม

ตารางที่ 4 แสดงผลผลิตของวุ้นน้ำมะพร้าว เมื่อใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลต่างๆกัน หลังจากหมักไว้ 14 วัน

ความเข้มข้นของน้ำตาล (เปอร์เซนต์)	ความหนาเฉลี่ย (เซนติเมตร)	น้ำหนัก (กรัม)
0	2.00	102.95
1	1.75	111.45
2	1.90	111.75
3	2.00	133.95
4	2.10	134.00
5	2.20	127.50
6	2.45	128.85
7	2.50	135.85
8	2.55	121.75
9	2.10	115.25
10	1.55	81.00

ที่มา : สมคิด (2531)

7. สารประกอบไนโตรเจน การเติมสารประกอบไนโตรเจนในการหมักวุ้นน้ำมะพร้าวจะช่วยเร่งให้การผลิตแผ่นวุ้นได้หนาในเวลาอันสั้น สารที่ใช้ได้ดี คือแอมโมเนียมฟอสเฟต แอมโมเนียมซัลเฟต โดยใช้ปริมาณ 0.5-0.6 เปอร์เซนต์ และถ้าใส่ในปริมาณมากกว่านี้จะทำให้การผลิตลดลง

8. อุณหภูมิ ในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว อุณหภูมิเป็นปัจจัยที่สำคัญอย่างหนึ่งต่อการเจริญของเชื้อ พบว่าที่อุณหภูมิ 10, 15, 35 และ 40 องศาเซลเซียส ไม่พบการเจริญและสร้างแผ่นวุ้นในระยะเวลา 48 ชั่วโมงภายหลังการเติมหัวเชื้อ ช่วงอุณหภูมิ 25-31 องศาเซลเซียส จะเป็นช่วงที่เหมาะสมที่สุดในการทำวุ้นน้ำมะพร้าว

9. เอธานอล ในการใช้เอธานอลรวมกับกลูโคสหรือกรดอะซีติกพบว่าเชื้อ *Acetobacter xylinum* ไม่มีการสร้างแผ่นวุ้น และเชื้อน้ำส้มจะเปลี่ยนวิถีไปในการสร้างกรดอะซีติก

การผลิตวุ้นด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* นี้อาจใช้วัตถุดิบทางการเกษตรอื่นๆได้อีก เช่น น้ำสับปะรด น้ำอ้อย น้ำตาลปี๊บ และน้ำนมสด เนื้อวุ้นที่ได้จะมีลักษณะคล้ายกัน อาจจะมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตติดมาบ้าง ทั้งนี้ปัจจัยในการผลิตย่อมแตกต่างกันออกไปบ้าง เช่นความเข้มข้นของวัตถุดิบ ปริมาณน้ำตาล สารไนโตรเจน และสายพันธุ์ของเชื้อที่ใช้

วุ้นน้ำมะพร้าวหรือวุ้นสวรรค์ เป็นผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมเกษตรอีกชนิดหนึ่งที่น่าสนใจ เพราะสามารถผลิตได้ง่ายทั้งในระดับครัวเรือนซึ่งมีอยู่ทั่วไป หรือในโรงงาน อุตสาหกรรมกะทิ นำมาทำเป็นวัตถุดิบ หมักด้วยวิธีการง่ายๆกับเชื้อแบคทีเรีย ที่สร้างกรดอะซิติกหรือกรดน้ำส้มสายชู เมื่อได้แผ่นวุ้นแล้วสามารถนำมาแปรรูปเป็น อาหารคาวหวานได้มากมายหลายชนิด เช่น วุ้นในน้ำเชื่อม (รูปที่ 2-2 ภาคผนวก ง) แยมวุ้น น้ำมะพร้าว ฟรุทสลัด ยำต่างๆ เป็นต้น

การแปรรูป

แผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวที่ผลิตได้สามารถเก็บไว้ได้นานหลายเดือน เมื่อทิ้งไว้ในน้ำมะพร้าวที่หมัก และเมื่อเก็บขึ้นแล้วน้ำมาล้าง จะเก็บโดยแช่ในน้ำสะอาดไว้ในตู้เย็นได้ 1-2 เดือน แต่ถ้านำมาต้มให้สุกจะเก็บได้ไม่นานเท่าวุ้นที่ยังไม่ได้ต้ม แผ่นวุ้นน้ำมะพร้าวที่เก็บใหม่ๆ จะมีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นกรดน้ำส้มปะปนอยู่ ก่อนนำมาประกอบอาหารจะต้องล้างให้สะอาด ถ้าต้องการให้มีสีขาวใสจะนำไปแช่ใน ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) 1-2 เปอร์เซนต์ ประมาณ 6-12 ชั่วโมง หรือแช่ค้างคืน แล้วจึงนำมาต้มและแช่น้ำไว้ เปลี่ยนน้ำ 2-3 ครั้ง

จนหายเปรี้ยวและหมดกลิ่นกรด จึงนำมาประกอบอาหารคาวหวานได้หลายชนิด อาหารชนิดต่างๆ ที่กองเกษตรเคมี กรมวิชาการเกษตร ได้ทดลองปรุงและทดสอบการยอมรับโดยคนกลุ่มต่างๆ ซึ่งได้รับความนิยมสูง ได้แก่ อาหารคาวที่ปรุงโดยใช้วุ้นน้ำมะพร้าวแทนเนื้อปลาหมึก หรือแมงกระพรุน เช่น ยำต่างๆ ผัดเผ็ด ผัดกระเพรา แกงเผ็ด และต้มเค็ม อาหารหวาน ได้แก่ วุ้นในน้ำเชื่อม วุ้นลอยแก้ว รวมมิตร แกงบวดวุ้นน้ำมะพร้าว เยลลี่ วุ้นกรอบแยมวุ้นน้ำมะพร้าว ฟรุทสลัด รับประทานกับไอศกรีม ผสมกับน้ำผลไม้ เช่น ลิ้นจี่ (วราวุฒิ, 2536)

การนำวุ้นน้ำส้มที่ได้มาเชื่อม

1. วิธีชาวบ้าน

นำวุ้นน้ำส้มที่ได้มาล้างน้ำให้สะอาด ตัดเป็นแผ่นๆให้ได้ขนาดตามที่ต้องการ แล้วนำไปต้มในน้ำเดือดจนกระทั่งวุ้นน้ำส้มที่ได้ไม่มีกลิ่นของกรดอยู่ นำมาสะเด็ดน้ำ แล้วนำไปต้มกับน้ำเชื่อม (น้ำตาล : น้ำ เท่ากับ 1 : 1 โดยน้ำหนัก) ตั้งไฟอ่อนๆ แล้วเติมน้ำตาลลงไปทีละน้อยจนได้ความหวานตามต้องการ ตักวุ้นบรรจุขวด เติมน้ำเชื่อมลงไปให้เต็ม แล้วไล่อากาศออก ทำการฆ่าเชื้ออีกครั้ง นำไปรับประทานได้ทันที หรือจะนำไปเก็บไว้ก็ได้

การทำวุ้นเชื่อมด้วยวิธีนี้ เมื่อนำมาทำการวิเคราะห์จะได้ผลดังนี้

น้ำ	67.7	เปอร์เซนต์
โปรตีน	ไม่มี	
ไขมัน	0.2	เปอร์เซนต์
แคลเซี่ยม	12.0	มก. ต่อ 100 กรัม
เหล็ก	5.0	มก. ต่อ 100 กรัม
ฟอสฟอรัส	2.0	มก. ต่อ 100 กรัม
ไทอามีน	น้อยมาก	
ไรโบเฟลวิน	0.01	ไมโครกรัม ต่อ 100 กรัม

จะเห็นว่าวิธีนี้สูญเสียคุณค่าทางอาหารไปมาก มีแต่ความอร่อยอย่างเดียว

2. วิธีทางการค้า

จากวุ้นเชื่อมดังกล่าวมีการสูญเสียคุณค่าทางอาหารบางอย่างไป จึงมีการเติมวิตามินและเกลือแร่ที่จำเป็นบางอย่างลงไป ซึ่งเป็นการเพิ่มคุณค่าทางอาหารโดยไม่ทำให้ความนิยมของผู้บริโภคลดลงเกี่ยวกับรสชาติ เนื้ออาหารและสี วิธีการประกอบด้วย

2.1 Leading of nata

เป็นการล้างเอากรดที่สะสมอยู่ในวุ้นน้ำส้มออก โดยนำวุ้นน้ำส้มที่ล้างน้ำจนสะอาดแล้วมาตัดเป็นแผ่นๆ ไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วล้างด้วยน้ำธรรมดาทันที นำไปจุ่มในน้ำที่ไหลเวียนตลอดคืนในช่วงนี้จะทำทุกวันจนกระทั่งวุ้นน้ำส้มปราศจากกลิ่นของกรด

2.2 Syruping

เป็นขั้นของการทำวุ้นเชื่อม โดยนำวุ้นน้ำส้มที่ปราศจากกลิ่นไปต้มในสารละลายน้ำตาลที่มีอัตราส่วนน้ำตาลต่อน้ำ เท่ากับ 2 ต่อ 1 ผ่านการกรองมาแล้วเป็นเวลานาน 5 นาที ของผสมนี้จะทำให้น้ำเชื่อมมี soluble solids 67 เปอร์เซนต์ แล้วทำให้เย็นจนถึงอุณหภูมิห้องแล้วนำไปเก็บไว้ในตู้เย็นเพื่อป้องกันการหมักอื่นๆ ในขั้นนี้จะทำซ้ำกันทุกๆวัน ตลอดทุก 24 ชั่วโมง เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลลดลงต่ำกว่า 45-50 เปอร์เซนต์ ก็ต้องเพิ่มน้ำตาลเข้าไปจนกระทั่งได้ความเข้มข้นตามต้องการ

2.3 Fortification

วุ้นน้ำเชื่อมที่ได้นำมาตักออก เตรียมน้ำเชื่อมใหม่ (น้ำตาลต่อน้ำ เท่ากับ 1 ต่อ 1 โดยน้ำหนัก) เติมลงไปในน้ำเชื่อม เติมจนกระทั่งได้น้ำหนักเท่ากับวุ้นน้ำเชื่อมที่ตักออก นำน้ำเชื่อมนี้มาต้มให้เดือดในภาชนะที่เป็น stainless steel จนกระทั่งได้น้ำเชื่อมที่ใส นำไปกรองผ่าน cheese cloth แล้วเติมวิตามินและเกลือแร่เหล่านี้ลงไปคือ ไนอาซีน ไทอามีน ไรโบฟลาวิน วิตามินบี แคลเซียม ฟอสฟอรัส

การคำนวณหาปริมาณของสารที่เติมลงไปในน้ำเชื่อมโดยเทียบกับวิธีของ Flavour profile method ของ Caircross (1950) เติมลงไปในน้ำเชื่อมที่กำลังเดือด คนจนกระทั่งละลายหมด แล้วทำให้เย็นลงจนถึงอุณหภูมิ 50-60 องศาเซลเซียส เพื่อให้วิตามินเหล่านี้มีความคงตัวไม่สลายง่าย ภาชนะนี้ปิดด้วยฝาที่มีที่ว่างพอ สำหรับที่ตักที่ทำด้วย stainless steel สามารถเคลื่อนที่ได้รอบเพื่อป้องกันแสงและอากาศที่มีมากเกินไปในน้ำเชื่อม ระหว่างการกวนใส่สารที่ให้กลิ่นลงไปเล็กน้อยที่ ใช้กันคือ Kalamansi oil (citrus microcarpa Bunge)

2.4 Packaging

การบรรจุวุ้นน้ำเชื่อมจะใส่ในขวดแก้วปากกว้างใสๆ ป้องกันการถูกแสง โดยใช้เซลโลเฟนสีเขียวเข้ม ซึ่งจะช่วยให้เห็นผลิตภัณฑ์ได้ด้วย หรืออาจจะทำการหุ้มด้วยกระดาษมะนิลา ถ้าใช้ Amber glass jar หรือ enameled can ไม่จำเป็นต้องมีอะไรมาหุ้ม

วุ้นน้ำส้มเป็น Cartilaginous substance ซึ่งสร้างโดยพวกแบคทีเรียที่ให้กรดน้ำส้มในสารละลายน้ำตาลหรือน้ำมะพร้าวและน้ำผลไม้ ความต้องการของแบคทีเรียพวกนี้ในการสร้างวุ้นน้ำส้ม ได้แก่ สารอาหารซึ่งมีส่วนประกอบเป็น growth-promoting factors

เช่นที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวอุณหภูมิที่เหมาะสมประมาณ 28-31 องศาเซลเซียส ค่าพีเอช 4.0-5.5 สารประกอบไนโตรเจน สารประกอบคาร์บอน

วุ้นน้ำส้มที่ได้นี้สามารถนำมาเชื่อมและเพิ่มคุณค่าทางอาหาร โดยมีการเติมวิตามินและเกลือแร่ เช่น ไนอาซีน 7.522 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, ไรโบฟลาวิน 0.3682 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, ไทอามีน 0.6433 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, วิตามินซี 27.61 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม, แคลเซียม 62.85 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และฟอสฟอรัส 95.14 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม และสามารถเก็บได้นานถึง 11 เดือน เมื่อเก็บไว้ในตู้เย็น

นอกจากจะนำมาเชื่อมแล้วอาจจะนำมาทำเป็นอาหารอย่างอื่นได้ เช่น ใช้ทานกับไอศกรีมแทนเยลลี่ หรืออาจจะนำมาทำเป็นอาหารคาวโดยทำยำวุ้นน้ำมะพร้าว หรือสลัดวุ้นน้ำมะพร้าว ซึ่งเป็นอาหารที่แปลกและน่าสนใจ

ปัญหาในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์

นอกเหนือไปจากปัญหาทางเทคนิค การผสมสูตรอาหาร ปัจจัยประกอบอื่นๆ ที่จำเป็นสำหรับการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว ยังไม่ให้ผลผลิตที่สูงพอในเชิงพาณิชย์หรืออุตสาหกรรมแล้ว ปัญหาที่เกิดขึ้นอีกประการหนึ่ง คือ ผู้ผลิตส่วนใหญ่มักไม่ใช่นักวิทยาศาสตร์ แต่เป็นชาวบ้าน เกษตรกร หรือผลิตเป็นอุตสาหกรรมในครัวเรือนเพื่อเพิ่มรายได้ให้กับครอบครัว แต่ยังขาดความรู้ โดยเฉพาะในเรื่องของจุลินทรีย์ เมื่อเป็นเช่นนี้ จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนสูงถึงประมาณ 80 เปอร์เซนต์ (มติชน, 2537) ทำให้สูญเสียผลผลิตและมีประสิทธิภาพในการผลิตต่ำ

โครงการปัญหาพิเศษนี้ จึงมุ่งหาข้อแก้ไขจุดบกพร่องต่างๆ ที่จะนำไปสู่การผลิตวุ้นในเชิงพาณิชย์ให้ประสบความสำเร็จมากขึ้น

บทที่ 3
ขั้นตอนการดำเนินการ

3.1 จุลินทรีย์

Acetobacter xylinum 893 อยู่ในรูปของเชื้อในอาหารเหลว ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ใช้ในโครงงานนี้ ได้รับความอนุเคราะห์จาก MIRCEN สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.2 อุปกรณ์และสารเคมี

อุปกรณ์

1. หลอดทดลอง
2. Haemacytometer
3. กล้องจุลทรรศน์
4. เครื่องชั่ง
5. เครื่องเขย่า
6. ฟลาสก์ขนาด 250 500 และ 800 มิลลิลิตร
7. บีกเกอร์
8. ปิเปตต์
9. หม้อนึ่งความดันไอ
10. โหลแก้วและถาด
11. ผ้าขาวบาง
12. ขวดแก้วมีฝาปิด
13. pH meter
14. refractometer

สารเคมี

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหาร

1. น้ำมะพร้าว (นำมากรองด้วยผ้าขาวบางก่อนใช้ ดังรูปที่ 3-1 ภาคผนวก ง)
2. ยีสต์สกัด (yeast extract)
3. น้ำกลั่น
4. แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($NH_4H_2PO_4$)
5. แอมโมเนียมซัลเฟต [$(NH_4)_2SO_4$]
6. แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4 \cdot 7HO$)
7. กรดอะซีติก 5 เปอร์เซนต์
8. glacial acetic
9. เอธานอล 95 เปอร์เซนต์
10. น้ำตาลทราย

สารเคมีที่ใช้ในการฟอกสี

1. ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

สารเคมีที่ใช้ในการย้อมสีแบคทีเรีย

1. Crystal violet
2. Safranin-O
3. Gram-Iodine
4. alcohol 95%

3.3 การเตรียม stock culture ของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

การเตรียม stock culture อายุ 3 ถึง 5 วัน สามารถทำได้ดังนี้

1. ถ่ายเชื้อ *Acetobacter xylinum* จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ลงบนอาหาร Glucose yeast extract broth ที่ฆ่าเชื้อโดยหม้อนึ่งความดันไอ
2. นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (27-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 ถึง 5 วัน
3. นำ stock culture มาย้อมแกรม ดูลักษณะเชื้อโดยกล้องจุลทรรศน์เพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อตัวอื่น

4. นำ stock culture ของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.4 วิธีการทดลอง

การทดลองที่ 1 การศึกษาปริมาณกล้าเชื้อของเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* ที่เหมาะสมในอาหารเหลว

แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้

ขั้นตอนที่ 1

1. เตรียมอาหารเหลวสูตร A ใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร
2. ใส่กล้าเชื้อของเชื้อแบคทีเรียลงในอาหารที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ปริมาณตั้งแต่ 1, 2, 3, 4 และ 5 มิลลิลิตร โดยวิธีปราศจากเชื้อ
3. นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า ที่ปรับความเร็วรอบเป็น 150 รอบต่อนาที
4. หลังจากครบ 3 วัน เก็บหัวเชื้อไปนับจำนวนเชื้อโดยใช้ haemacytometer
5. บันทึกจำนวนเชื้อ และวิเคราะห์ผลทางสถิติเพื่อหาปริมาณเชื้อที่เจริญดีที่สุด

ขั้นตอนที่ 2

1. เตรียมอาหารเลี้ยงวุ้นสูตร 1 ต้มฆ่าเชื้อลงในโหลที่สะอาด ปริมาณโหลละ 1 ลิตร
2. ใส่หัวเชื้อที่ปริมาณกล้าเชื้อต่างๆ จากขั้นตอนที่ 1 ลงในแต่ละโหล โดยใช้ปริมาณ 200 มิลลิลิตร (20 เปอร์เซนต์โดยปริมาตร) โดยวิธีปราศจากเชื้อ
3. ปิดด้วยผ้าขาวบางที่สะอาด หมักที่อุณหภูมิห้อง จนครบ 14 วัน
4. บันทึกผลความหนาของวุ้น และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติถึงปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสมที่มีผลต่อความหนาของวุ้น

การทดลองที่ 2 การศึกษาปริมาณ (เปอร์เซนต์) หัวเชื้อที่เหมาะสม

หลังจากที่ได้ปริมาณกล้าเชื้อแล้ว ทำวิธีการดังนี้

1. เตรียมหัวเชื้อ อายุ 3 วัน ดังการทดลองที่ 1 โดยใช้กล้าเชื้อ 1 มิลลิลิตร ในปริมาณต่างๆ คือ 50 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร (5 เปอร์เซนต์)

100 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร (10 เปอร์เซนต์)

200 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 400 มิลลิลิตร (20 เปอร์เซนต์)

300 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 800 มิลลิลิตร (30 เปอร์เซนต์)

400 มิลลิลิตร ในฟลาสก์ขนาด 800 มิลลิลิตร (40 เปอร์เซนต์)

2. เตรียมอาหารเลี้ยงวุ้น สูตร 1 ที่ต้มฆ่าเชื้อ ปริมาตร 1 ลิตร ลงในโหลที่ทำความสะอาดแล้ว ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น

3. ใส่หัวเชื้อลงในแต่ละโหล โดยวิธีปราศจากเชื้อ

4. ปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักจนครบ 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

5. วัดความหนาของวุ้น และชั่งน้ำหนักของวุ้นที่ได้

6. บันทึกผลเพื่อเปรียบเทียบ เปอร์เซนต์หัวเชื้อ ที่ 5, 10, 20 และ 40 เปอร์เซนต์

การทดลองที่ 3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวที่ให้รสชาติและคุณภาพดี

1. เตรียมอาหารเหลวสูตร A และ สูตร B อย่างละ 2 ฟลาสก์ จำนวน 100 มิลลิลิตร

2. ใส่ stock culture ของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ลงไปในอาหาร ฟลาสก์ละ 100 มิลลิลิตร

3. นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องบนเครื่องเขย่า ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที

4. หลังจากครบ 3 วัน เก็บหัวเชื้อที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส เพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

5. เตรียมอาหารเลี้ยงวุ้น สูตร 1 และสูตร 2 อย่างละ 2 โหล ปริมาณอาหารเลี้ยงวุ้น 1 ลิตร ในแต่ละโหล ต้มอาหารเลี้ยงวุ้นให้เดือดเพื่อฆ่าเชื้อก่อนใส่โหลที่ทำความสะอาดแล้ว

6. ใส่หัวเชื้อที่เตรียมจากข้อ 4 ลงในแต่ละโหลดังนี้

หัวเชื้ออาหารเหลว A ในอาหารเลี้ยงวุ้นสูตร 1 (A1)

หัวเชื้ออาหารเหลว A ในอาหารเลี้ยงวุ้นสูตร 2 (A2)

หัวเชื้ออาหารเหลว B ในอาหารเลี้ยงวุ้นสูตร 1 (B1)

หัวเชื้ออาหารเหลว B ในอาหารเลี้ยงวุ้นสูตร 2 (B2)

7. ปิดด้วยผ้าขาวบาง หมักจนครบ 14 วันที่อุณหภูมิห้อง

8. วัดอัตราการเจริญของวุ้นทุกวัน

9. นำวุ้นที่ได้ฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ความเข้มข้น 2 เปอร์เซนต์เป็นเวลา 1 คืน

10. รินสารเคมีทิ้ง ต้มวุ้นในน้ำเดือด 5 นาที

11. แช่น้ำสะอาดอีก 1 วัน โดยเปลี่ยนน้ำ 2 ถึง 3 ครั้ง

12. นำวุ้นเชื่อมในน้ำเชื่อม 40 บริกซ์ ต้มเดือด 5 นาที ทิ้งไว้ค้างคืน

13. เก็บวุ้นในน้ำเชื่อม 20 บริกซ์ ในขวดแก้วที่มีฝาปิด เก็บไว้ในตู้เย็น

14. บันทึกผลการทดลองทางด้านเนื้อสัมผัส รสชาติ ลักษณะปรากฏ และความชอบรวม โดยใช้ผู้ทดสอบชิม จำนวน 16 คน

15. วิเคราะห์ผลทางสถิติ เพื่อหาความแตกต่างของอาหารทั้ง 4 สูตร

การทดลองที่ 4 การศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตวุ้น โดยเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum*

ศึกษาโดยใช้อาหารสูตร A1

1. ทำวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3 โดยใช้อาหารเหลวสูตร A ในการเตรียมหัวเชื้ออายุ 3 วัน (รูปที่ 3-2 ภาคผนวก ง) และหมักในโหลหมัก โดยใช้อาหารเลี้ยงวุ้น สูตร 1

2. หมักวุ้นในโหลหมัก และเก็บเกี่ยววุ้นที่เวลาต่างๆ เริ่มตั้งแต่ วันที่ 14 จนถึง วันที่ 21

3. บันทึกความหนาของวุ้นทุกวัน เริ่มตั้งแต่วันที่ 1

4. เมื่อครบ 14 วัน วัดความหนาสุดท้าย บันทึกผล

5. ทำเช่นเดียวกับวันที่ 14 จนกระทั่งครบ 21 วัน

6. เปรียบเทียบความหนาและน้ำหนักวุ้นที่ได้เพื่อหาระยะเวลา ในการหมักวุ้นโดยใช้วิธีการทางสถิติ

*หมายเหตุ โหลที่ใช้ในการหมักวุ้นหัวข้อ 3.5 ถึง 3.8 มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 เซนติเมตร

การทดลองที่ 5 การศึกษาระดับความสูงของอาหารเหลว ที่มีผลต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าว

ศึกษาโดยใช้อาหารสูตร A1

1. เตรียมหัวเชื้ออายุ 3 วัน โดยใช้อาหารสูตร A

2. ต้มอาหารเลี้ยงวุ้น สูตร 1 ให้เดือดเพื่อฆ่าเชื้อ จากนั้นเทใส่โหลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 21.5 เซนติเมตร จำนวน 1, 5, 2 และ 2.5 ลิตร ตามลำดับ

3. ใส่หัวเชื้อลงในแต่ละโหล ปริมาณ 10 เปอร์เซนต์ของปริมาตรอาหารเลี้ยงวุ้น

4. ปิดปากโหลด้วยผ้าขาวบาง หมักที่อุณหภูมิห้อง

5. วัดความหนาของวุ้น จนครบ 14 วัน และชั่งน้ำหนักที่ได้

6. บันทึกผลการทดลองหาเปอร์เซนต์ยิวด์และวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

การทดลองที่ 6 การศึกษาผลของภาชนะและรูปแบบต่างๆ กันในการหมักวุ้น

ศึกษาโดยใช้อาหารสูตร A1

1. เตรียมหัวเชื้อ อายุ 3 วัน

2. เตรียมอาหารเลี้ยงวุ้นที่ต้มเดือดลงในภาชนะต่างๆ ได้แก่ โหลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 และ 21.5 เซนติเมตร จำนวน 1 ลิตร ถาดทรงสูงขนาด (กxย) 9.8x30 เซนติเมตร จำนวน 1.7 ลิตร

3. ใส่หัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ของปริมาตรอาหารเลี้ยงวุ้นลงในไปในภาชนะหมัก

4. ปิดด้วยผ้าขาวบางบนภาชนะหมัก และตั้งทิ้งที่อุณหภูมิห้อง

5. เมื่อครบ 14 วัน วัดความหนาและชั่งน้ำหนักของวุ้น

6. บันทึกผลและเปรียบเทียบน้ำหนักของวุ้น (ต่อลิตร)

การทดลองที่ 7 การศึกษาการปรับปรุงคุณภาพวุ้นในช่วงการฟอกสี โดยใช้ไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ศึกษาโดยใช้สูตร A1

1. ทำวิธีการเช่นเดียวกับการทดลองที่ 3

2. หลังจากหมักวุ้นครบ 14 วันแล้ว นำวุ้นฟอกสีด้วย H_2O_2 2 เปอร์เซนต์ โดยใช้เวลาต่างๆ กันดังนี้ 15 นาที, 30 นาที, 1 ชั่วโมง, 6 ชั่วโมง, 12 ชั่วโมง, 18 ชั่วโมง และ 24 ชั่วโมง ตามลำดับ

3. สังเกตสีของวุ้นก่อนนำไปฟอกสี

4. เปรียบเทียบสีของวุ้นก่อนและหลังฟอกสีที่เวลาต่างๆ กัน

5. บันทึกและสรุปผลการฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

การทดลองที่ 8 การศึกษารูปแบบภาชนะที่ใช้ในการหมักวุ้นน้ำมะพร้าว เพื่อช่วยลดการปนเปื้อน

ออกแบบภาชนะและอุปกรณ์ในเชิงพาณิชย์ ที่คาดว่าจะสามารถลดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์อื่นๆ ลง เพื่อเป็นแนวทางสำหรับพัฒนาการผลิตในเชิงพาณิชย์ต่อไป

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

ผลการทดลองที่ 1 ผลของปริมาณกล้าเชื้อ (inoculum) ของ *Acetobacter xylinum* ที่เหมาะสม

ในการศึกษาปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสม (1-5 มิลลิลิตร) ต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าว จะเริ่มศึกษาถึงจำนวนโคโลนีของ *A. xylinum* ในหัวเชื้อ (starter) ที่ได้ หลังจากเติมปริมาณกล้าเชื้อต่างๆกัน และนำไปเขย่าเป็นเวลา 3 วัน แล้วนำมาตรวจนับโคโลนีด้วย Haemacytometer (ตารางที่ 5)

ตารางที่ 5 ผลของปริมาณกล้าเชื้อที่มีต่อเชื้อ ***A. xylinum*** ในหัวเชื้อ

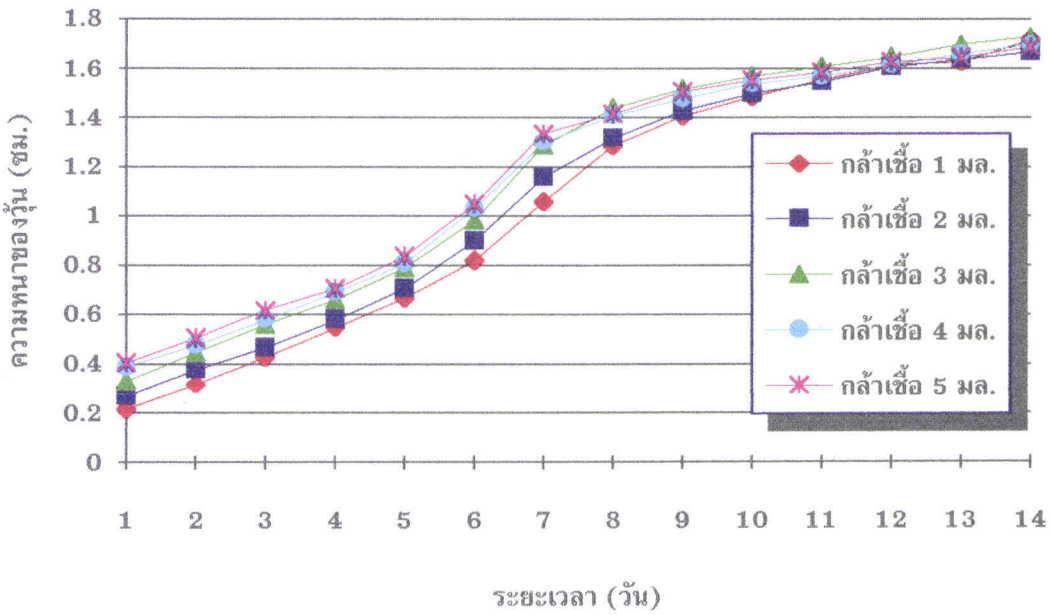
ปริมาณ inoculum	จำนวนโคโลนีในหัวเชื้อ (โคโลนี/มล.)
1	5.1×10^5 a
2	8.2×10^5 b
3	1.4×10^6 c
4	1.6×10^6 c
5	1.7×10^6 c

ค่าเฉลี่ย 2 ค่าใดที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน จะไม่ต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

จากนั้นนำหัวเชื้อที่มีปริมาณหัวเชื้อต่างๆกันนี้ไปหมักวุ้นน้ำมะพร้าว เพื่อศึกษาถึงผลของปริมาณกล้าเชื้อต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวและความหนาของวุ้นที่ได้หลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน (ภาพที่ 3) ในการหมักวุ้นน้ำมะพร้าวจะใช้หัวเชื้อ 20 เปอร์เซนต์เติมลงในอาหารน้ำมะพร้าว (น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร, น้ำตาล 6 เปอร์เซนต์, น้ำส้ม 1.5 เปอร์เซนต์, แอมโมเนียมซัลเฟต 0.5 เปอร์เซนต์) และเลี้ยงในโหลขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 เซนติเมตร

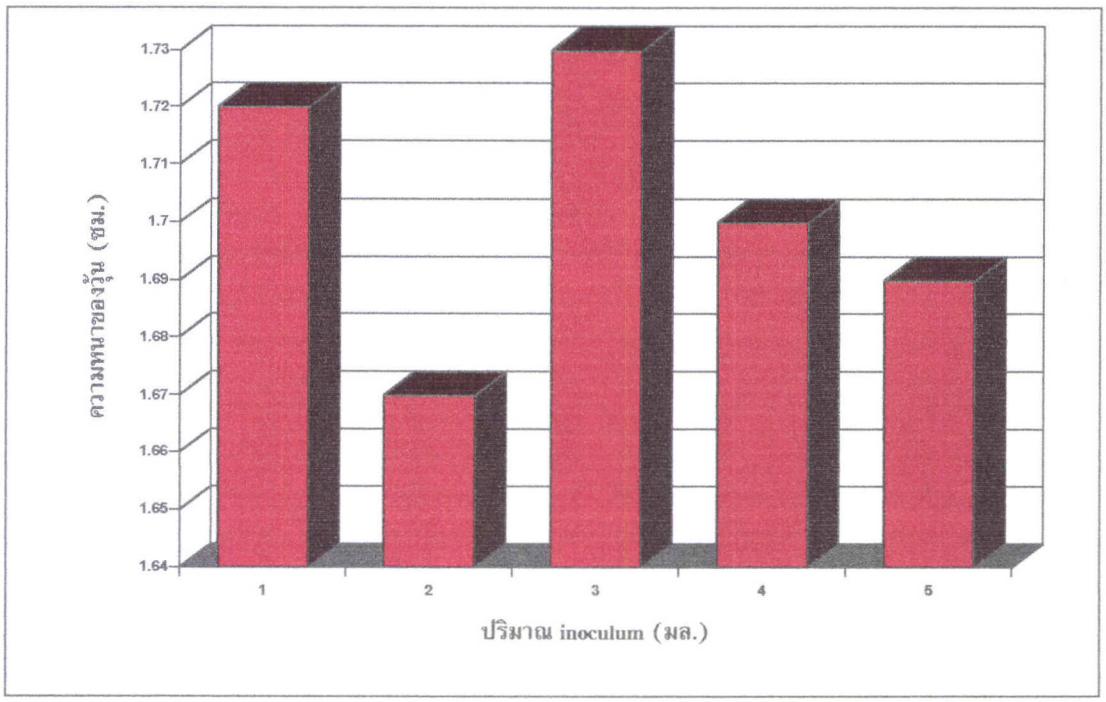
จากตารางที่ 5 จะพบว่าจำนวนเซลล์ของ *A. xylinum* ในหัวเชื้อจะเพิ่มขึ้นเมื่อมีการเพิ่มปริมาณของกล้าเชื้อ โดยจำนวนเซลล์จะมีอัตราการเพิ่มขึ้นในช่วงของปริมาณกล้าเชื้อที่ 1-3 มล. และอัตราการเพิ่มจำนวนเซลล์จะคงที่เมื่อมีการเพิ่มปริมาณกล้าเชื้อ (4-5 มิลลิลตร) เมื่อนำข้อมูลมาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Ducan's Multiple Range Test (DMRT) พบว่าจำนวนเซลล์ ($1.4x10^6$ โคโลนีต่อมิลลิลตร) ในหัวเชื้อที่มีปริมาณกล้าเชื้อ 3 มิลลิลิตร ให้ผลดีที่สุด โดยจะแตกต่างจากปริมาณกล้าเชื้อที่ 1 และ 2 มิลลิลิตรอย่างเห็นได้ชัด แต่ที่ 4 และ 5 มิลลิลิตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่นัยสำคัญ 0.05

ภาพที่ 3 แสดงอัตราการสร้างวุ้นของ *A. xylinum* ที่ปริมาณกล้าเชื้อต่าง ๆ



จากการศึกษาอัตราการสร้างวุ้นในปริมาณกล้าเชื้อต่างๆกัน (ภาพที่ 3) จะพบว่าปริมาณกล้าเชื้อที่ 1-2 มิลลิลิตร จะมีอัตราการสร้างวุ้นในช่วงแรกค่อนข้างช้า แต่จะมีแนวโน้มขึ้นเรื่อยๆ จนมีอัตราการเพิ่มสูงสุดในวันที่ 7 และอัตราการสร้างวุ้นจะเริ่มลดลงมาอย่างช้าๆ ส่วนในปริมาณกล้าเชื้อที่ 3, 4 และ 5 มิลลิลิตรนี้ อัตราการสร้างวุ้นจะไม่แตกต่างกัน กล่าวคือในช่วงแรกจะมีอัตราการสร้างวุ้นสูง และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนสูงสุดในวันที่ 6 และอัตราการสร้างวุ้นจะเริ่มลดลงมากกว่าในปริมาณกล้าเชื้อ ที่ 1 และ 2 มิลลิลิตร จากภาพที่ 4 พบว่าปริมาณกล้าเชื้อที่ 3 มิลลิลิตร จะให้วุ้นหนาที่สุด เมื่อนำความหนาของวุ้นวันสุดท้ายของการหมัก (14 วัน) มาเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT (ตารางที่ 6) แล้วจะพบว่าไม่ว่าจะใช้กล้าเชื้อปริมาณเท่าใดก็ตาม ความหนาของวุ้นที่ได้หลังจากหมัก 14 วัน จะไม่แตกต่างกันอย่างเห็นได้ชัด

ภาพที่ 4 แสดงความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวหลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน เมื่อใช้กล้าเชื้อต่าง ๆ



ตารางที่ 6 ผลของปริมาณกล้าเชื้อ ต่อความหนาของวุ้นสวรรค์หลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน

ปริมาณ inoculum (มล.)	ความหนาของวุ้น (ซม.)
1	1.72 a
2	1.67 a
3	1.73 a
4	1.70 a
5	1.69 a

ค่าเฉลี่ย 2 ค่าใดที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน จะไม่ต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ถึงแม้ว่าปริมาณกล้าเชื้อที่ 3 มิลลิลิตร จะให้จำนวนเซลล์ของ *A. xylinum* ดีที่สุด แต่เมื่อนำไปหมักวุ้นน้ำมะพร้าวต่อจะพบว่า ความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวนั้นจะไม่แตกต่างกันเมื่อหมักด้วยปริมาณกล้าเชื้อต่างๆกัน ดังนั้นปริมาณกล้าเชื้อ 1 มิลลิลิตร สำหรับใช้ในการหมักวุ้นน้ำมะพร้าวจึงเหมาะที่สุด ถึงแม้ว่าปริมาณกล้าเชื้อที่มากกว่านี้จะใช้ได้ก็ตาม แต่จะเป็นการสิ้นเปลืองโดยเปล่าประโยชน์

ผลการทดลองที่ 2 ผลของความเข้มข้นของหัวเชื้อ (starter) ที่เหมาะสม

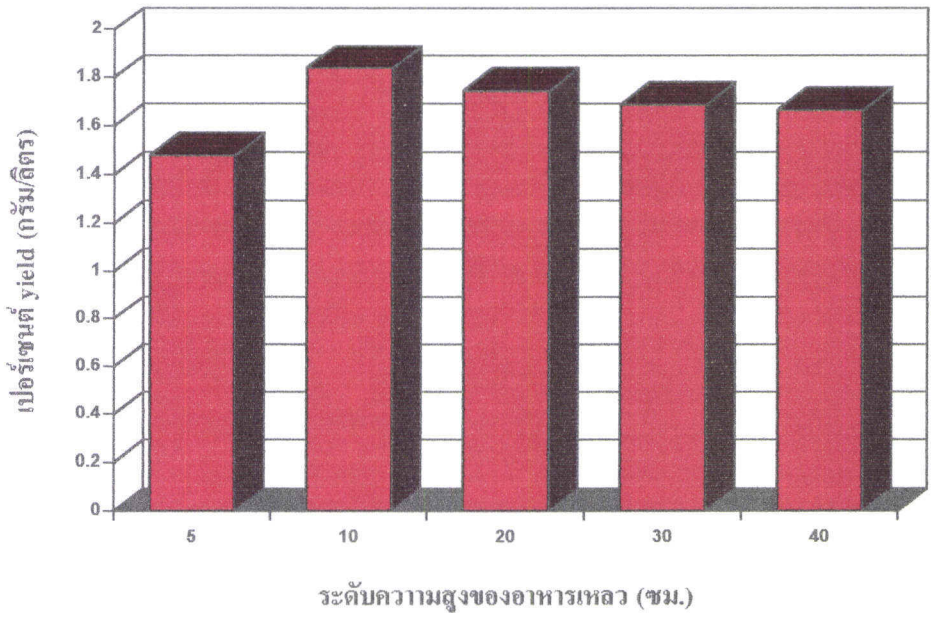
ในการศึกษาความเข้มข้นของหัวเชื้อที่เหมาะสม (5, 10, 20, 30 และ 40 เปอร์เซนต์) โดยเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวที่ประกอบด้วย น้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร, น้ำตาล 6 เปอร์เซนต์, แอมโมเนียซัลเฟต 0.9 เปอร์เซนต์ และกรดอะซิติก 1.5 เปอร์เซนต์ ซึ่งหมักในภาชนะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 เซนติเมตร ผลปรากฏว่า หัวเชื้อที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ จะให้แผ่นวุ้นที่มีความหนาสูงสุด คือ 1.34 เซนติเมตร (ตารางที่ 7 และภาพที่ 5) หลังจากหมักวุ้นเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ตารางที่ 7 ผลของความเข้มข้นของหัวเชื้อ ต่อความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้หลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน

ความเข้มข้นของหัวเชื้อ (เปอร์เซนต์)	ความหนาของวุ้น (ซม.)
5	1.48 b
10	1.84 a
20	1.75 a
30	1.69 ab
40	1.67 b

ค่าเฉลี่ย 2 ค่าใดที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน จะไม่ต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ภาพที่ 5 ความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวหลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน ที่ความเข้มข้นของหัวเชื้อต่างๆ



จากตารางที่ 7 และภาพที่ 5 สังเกตได้ว่า ความหนาของวุ้นจะเพิ่มขึ้นตามความเข้มข้นของหัวเชื้อ ซึ่งเพิ่มจาก 5-10 เปอร์เซนต์ โดยมีอัตราการเพิ่มที่สูงมาก แต่เมื่อเพิ่มความเข้มข้นตามความเข้มข้นหัวเชื้ออีกความหนากลับลดลง ดังนั้นความเข้มข้นของหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นสวรรค์ คือ ที่ความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ และเมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี DMRT จะแสดงให้เห็นว่า การสร้างวุ้นที่ความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ (ใส่กล้าเชื้อ 1 มิลลิลิตร ในอาหารน้ำมะพร้าว 100 มิลลิลิตร) มีความแตกต่างกับความเข้มข้น 5 เปอร์เซนต์ แต่ไม่มีความแตกต่างกับความเข้มข้น 20-40 เปอร์เซนต์ ดังนั้นเราอาจใช้หัวเชื้อที่ความเข้มข้นมากกว่า 10 เปอร์เซนต์ได้ เพราะให้ความหนาของวุ้นไม่แตกต่างกัน แต่จะมีความยุ่งยากในการเตรียม เนื่องจากต้องเตรียมในปริมาณมากและสิ้นเปลือง

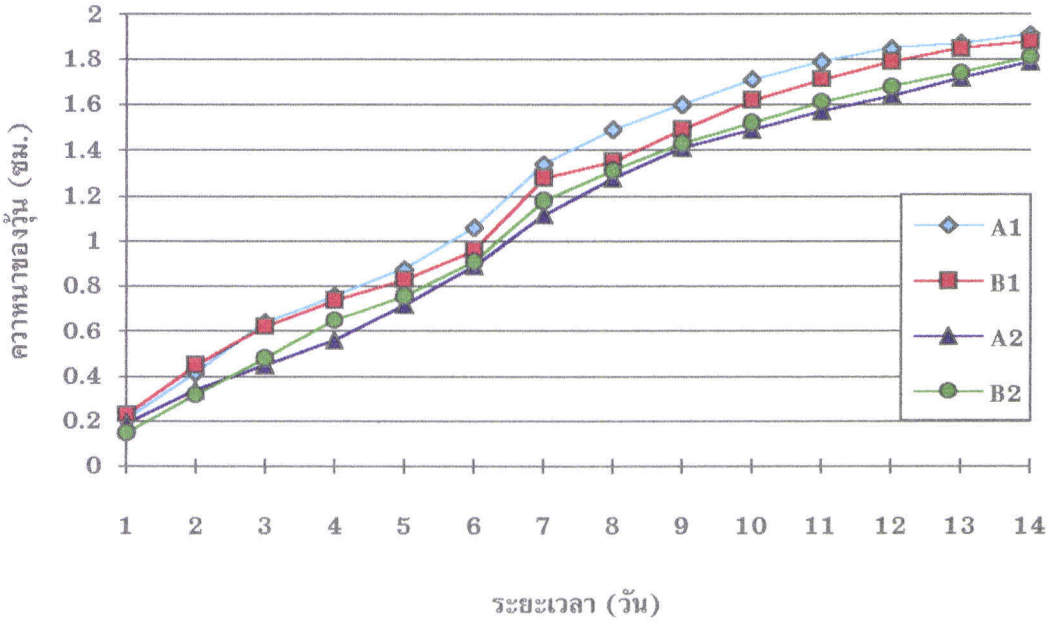
ผลการทดลองที่ 3 การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสม สำหรับผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว

ในการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมนั้นเราจะต้องคำนึงถึงปริมาณของวุ้นที่ได้ (ความหนาที่ได้หลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน ในภาชนะขนาดเท่ากัน) ลักษณะของวุ้นน้ำมะพร้าว (ความกรอบ, เยื่อใย, สี) คุณภาพ, รสชาติ ตลอดจนถึงการยอมรับของผู้บริโภคที่มีต่อวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้จากสูตรต่างๆ ซึ่งจากการศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสม มีดังต่อไปนี้

3.1 ผลของอัตราการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวในอาหารสูตรต่าง ๆ

ในการศึกษาอัตราการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวที่มีต่อสูตรอาหารต่างๆนี้ เราจะใช้ความเข้มข้นของหัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ (มีปริมาณเชื้อ 1 มิลลิลิตร) เลี้ยงลงในอาหาร A1, A2, B1 และ B2 (สูตรต่างๆนี้จะแสดงในภาคผนวก ก) โดยหมักในภาชนะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 เซนติเมตร เป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จะพบว่าในอาหารสูตร A1 และ B1 (A1 และ B1 จะมีอัตราการสร้างวุ้นไม่แตกต่างกัน) จะมีอัตราการสร้างวุ้นในช่วงแรกสูงกว่าในสูตร A2 และ B2 (A2 และ B2 มีอัตราการสร้างวุ้นไม่แตกต่างกัน) และสำหรับช่วงหลังสูตร A1 และ B1 จะมีแนวโน้มที่จะสร้างวุ้นลดลงเร็วกว่าสูตร A2 และ B2 โดยในช่วงวันที่ 10-14 สูตร A1 และ B1 จะมีอัตราการสร้างวุ้นลดลงมาก ส่วน A2 และ B2 อัตราการสร้างวุ้นลดลงเพียงเล็กน้อยเท่านั้น หรือมีอัตราการสร้างวุ้นที่สูงกว่าสูตร A1 และ B1 นั่นเอง อย่างไรก็ตามเมื่อหมักวุ้นน้ำมะพร้าวครบ 14 วัน พบว่าวุ้นจากสูตร A1 และ B2 หนากว่า แต่ถ้าใช้เวลาในการหมักนานกว่า 14 วันนั้น วุ้นที่ได้จากสูตร A2 และ B2 ก็จะมีแนวโน้มหนาขึ้น ส่วนวุ้นจากสูตร A1 และ B1 ความหนาจะค่อนข้างคงที่ ในช่วงแรก (วันที่ 1-4) แผ่นวุ้นจากสูตร A1 และ B1 จะมีความหนากว่าสูตร A2 และ B2 อย่างเห็นได้ชัด หลังจากนั้นความหนาของแต่ละสูตรจะใกล้เคียงกัน และหลังจากหมักได้ครบ 14 วัน สูตร A1 จะมีความหนาสูงที่สุด ผลของอัตราการสร้างวุ้นในอาหารสูตรต่างๆ นั้นได้แสดงไว้ใน ภาพที่ 6

ภาพที่ 6 แสดงอัตราการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวในสูตรอาหารต่าง ๆ



3.2 ผลของสูตรอาหารที่มีต่อความหนาและลักษณะของวุ้นน้ำมะพร้าว

จาก 3.1 เราจะได้วุ้นน้ำมะพร้าวจากสูตรอาหารทั้ง 4 สูตร (A1, A2, B1 และ B2) เมื่อวัดความหนาหลังจากหมักเป็นเวลา 14 วัน แล้วนำข้อมูลมาเปรียบเทียบโดยใช้ DMRT จะพบว่าความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวที่เลี้ยงในสูตรอาหาร A1 และ B1 จะไม่มีความแตกต่างกัน (A2 และ B2 ไม่มีความแตกต่างเช่นกัน) ความหนาของวุ้นที่ได้จากสูตร A1 และ B1 จะมีความหนามากกว่าสูตร A2 และ B2 แต่ความหนาของวุ้นน้ำมะพร้าวจากทั้ง 4 สูตร ไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมัน 95 เปอร์เซนต์ ดังแสดงในตารางที่ 8 นอกจากนี้ลักษณะของวุ้นที่ได้ยังแตกต่างกันอีกด้วย โดยลักษณะของวุ้นที่ได้จากการหมักในสูตรอาหาร A1 และ B1 จะมีลักษณะคล้ายกัน แต่จะมีลักษณะแตกต่างกันกับวุ้นที่ได้จากการหมักในสูตรอาหาร A2 และ B2 (ตารางที่ 8) คือ สูตร A1 และ B1 จะมีเยื่อใยและกรอบมากกว่า A2 และ B2 ซึ่งนิ่มและเยื่อใยน้อยมาก

ตารางที่ 8 สูตรอาหารต่าง ๆ ที่มีผลต่อความหนาและลักษณะของวุ้นน้ำมะพร้าว

สูตรอาหาร	ความหนาของวุ้น (ซม.)	ลักษณะปรากฏ
A1	1.91 a	สีขาวขุ่นออกเหลืองเล็กน้อย, กรอบ,เนื้อค่อนข้างเหนียว
B1	1.88 a	สีขาวขุ่นออกเหลือง, กรอบ, เนื้อเหนียวเล็กน้อย
A2	1.79 a	สีขาวค่อนข้างใสและเนื้อค่อนข้างนิ่ม
B2	1.81 a	สีขาวค่อนข้างใส, เนื้อนิ่มและ

ค่าเฉลี่ย 2 ค่าใดที่ตามด้วยอักษรเหมือนกัน จะไม่ต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

3.3 ผลของสูตรอาหารที่ใช้ในการหมักที่มีต่อการยอมรับวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้

ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่มีต่อวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้จากการหมักในสูตรอาหารต่างๆ (A1, A2, B1 และ B2) โดยจะใช้วุ้นที่ได้หลังจากการหมักเป็นเวลา 14 วัน มาฟอกสีด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2) และนำมาแปรรูปเป็นวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อม (ดูวิธีทำที่ภาคผนวก ข) เพื่อใช้ในการทดสอบทางประสาทสัมผัสแบบฮีโดนิกสเกล (ตารางที่ 9) โดยใช้ผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 16 คน

ตารางที่ 9 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่มีต่อวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อม ที่หมักในสูตรอาหารต่าง ๆ

สูตรอาหาร	ลักษณะปรากฏ	รสชาติ	ความกรอบ	ความชอบรวม
A1	3.56 a	3.50 a	4.12 a	4.20 a
B1	3.50 a	3.31 a	4.06 a	3.81 b
A2	3.87 a	3.62 a	2.26 b	3.56 b
B2	3.69 a	3.37 a	2.50 b	3.25 b

ค่าเฉลี่ย 2 ค่าใดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน จะไม่ต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

*หมายเหตุ

ระดับความชอบ 1 = ไม่ชอบมาก
2 = ไม่ชอบ
3 = ระบุไม่ได้ว่าชอบหรือไม่ชอบ
4 = ชอบ
5 = ชอบมาก

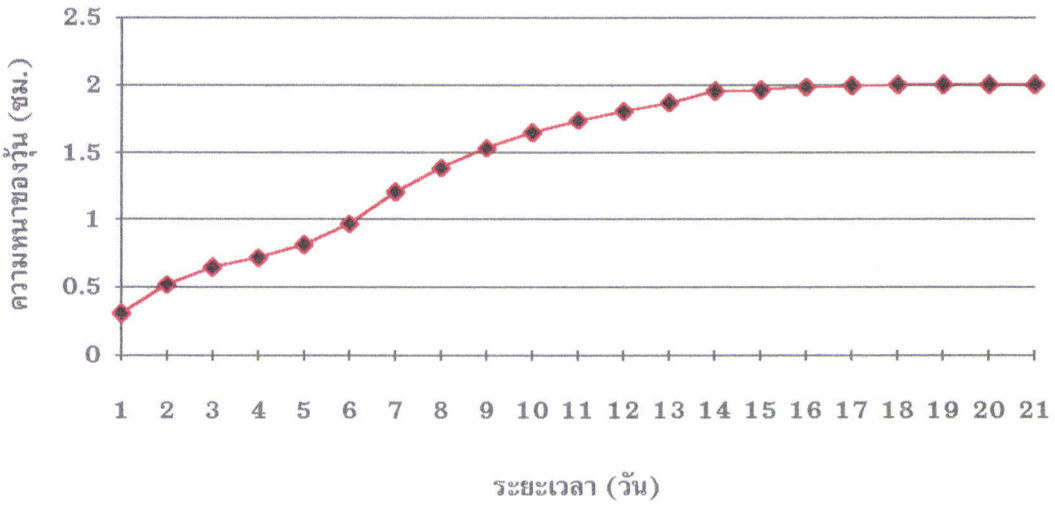
จากการทดสอบทางประสาทสัมผัส พบว่าผู้ทดสอบนั้นให้การยอมรับวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อมที่หมักจากสูตรอาหาร A1 มากที่สุด โดยให้อัตราความชอบรวมเป็น 4.20 ซึ่งแตกต่างจากวุ้นที่หมักจากอาหารสูตร A2, B1 และ B2 อย่างมีนัยสำคัญ แต่มีที่น่าสังเกตคือ รสชาติจะไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติ อาจเนื่องมาจากวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้นำมาเชื่อมในน้ำตาลปริมาณเท่ากัน จึงทำให้รสชาติที่ได้ไม่มีความแตกต่างกัน

จากการศึกษาหาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อการหมักวุ้นน้ำมะพร้าวนี้ จะพบว่าสูตรอาหารที่เหมาะสมคือ สูตร A1 เพราะอาหารสูตรนี้จะทำให้ได้วุ้นที่มีความหนากว่าสูตรอื่นๆ ใช้ระยะเวลาน้อยสำหรับการสร้างวุ้นที่มีความหนาเท่ากัน มีความกรอบมากกว่าถึงแม้จะมีเยื่อใยอยู่บ้าง และเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัสจะพบว่าได้รับความชอบมากที่สุด

ผลการทดลองที่ 4 ระยะเวลาที่เหมาะสมในการรผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวโดย *A. xylinum*

ในการศึกษาผลของระยะเวลาที่มีต่อการสร้างวุ้นของ *A. xylinum* โดยหมักในอาหารสูตร A1 หัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ (จากผลการทดลองข้างต้น) บ่มที่อุณหภูมิห้อง และหมักในภาชนะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 เซนติเมตร ผลปรากฏว่าระยะเวลา 14 วัน สร้างแผ่นวุ้นได้สูงที่สุด (รูปที่ 4-1 และ 4-2 ภาคผนวก ง) คือมีความหนา 1.96 เซนติเมตร ดังแสดงในภาพที่ 7

ภาพที่ 7 ผลของระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าวของ *A. xylinum*



ความหนาของวุ้นจะสูงขึ้นเรื่อยๆ และจะสูงที่สุดหลังจากทำการหมักเป็นเวลา 14 วัน แต่หลังจาก 14 วัน จะพบว่าชิ้นวุ้นมีความหนาเพิ่มขึ้นเพียงเล็กน้อยเท่านั้น อาจเป็นเพราะว่าสารอาหารต่างๆถูกใช้ไปจนเกือบหมด มีจุลินทรีย์อยู่กันอย่างหนาแน่นและพีเอชลดลง จึงทำให้มีสภาพไม่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้น สามารถสร้างวุ้นได้เพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ผลการทดลองที่ 5 ระดับความสูงของอาหารเหลวที่มีผลต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าว

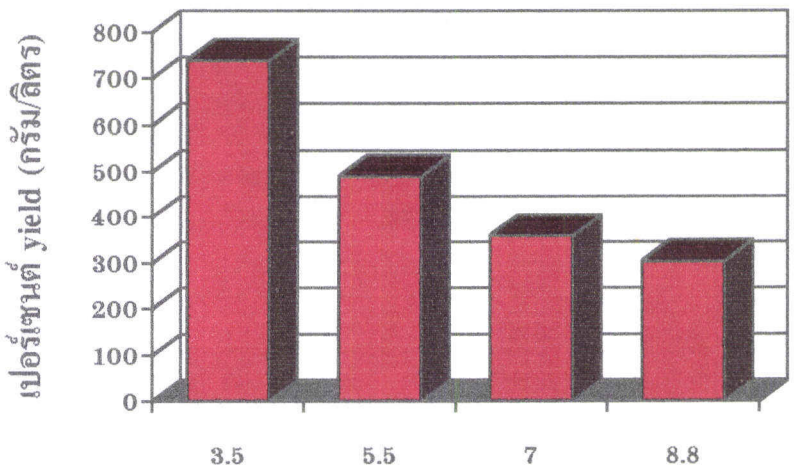
ในการศึกษาระดับความสูงของอาหารเหลวที่มีผลต่อการสร้างวุ้น โดยจะหมักในอาหารสูตร A1 หัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ หมักวุ้นเป็นเวลา 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (จากการทดสอบข้างต้น) โดยใช้ภาชนะขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 21.5 เซนติเมตร ซึ่งจะเลี้ยงในปริมาณอาหารต่างกัน คือ 1, 1.5, 2 และ 2.5 ลิตร ทำให้ได้ความสูงของอาหารเหลวเป็น 3.5, 5.5, 7.0 และ 8.8 ตามลำดับ โดยผลของระดับความสูงที่มีต่อความหนา, น้ำหนัก และเปอร์เซนต์ยิวด์ของวุ้นจะแสดงในตารางที่ 10 และภาพที่ 8

ตารางที่ 10 ผลของระดับความสูงของอาหารเหลวที่มีต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าว

ระดับความสูง (ซม.)	ปริมาณอาหาร (ลิตร)	ความหนาของวุ้น (ซม.)	น้ำหนักวุ้น (กรัม)	% Yield (กรัมต่อลิตร)
3.5	1	1.67 a	740	740.0 a
5.5	1.5	1.65 a	735	490.0 b
7.0	2	16.0 a	720	360.0 b
8.8	2.5	1.72 a	758	303.2 c

ค่าเฉลี่ย 2 ค่าใดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน จะไม่ต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

ภาพที่ 8 เปอร์เซนต์ยิวด์ของวุ้นที่ระดับความสูงของอาหารเหลวต่าง ๆ



ความหนาและน้ำหนักของวุ้นจะค่อนข้างคงที่ เมื่อมีการเพิ่มระดับความสูงของอาหารเหลว และเปอร์เซนต์ยิวด์จะลดลงเมื่อระดับความสูงของอาหารเหลวเพิ่มขึ้น จากผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูล แสดงให้เห็นว่าความหนาและน้ำหนักของวุ้นไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความสูงของอาหารเหลวที่ระดับต่างๆกัน ดังนั้นระดับความสูงของอาหารเหลวที่ 3.5 เซนติเมตร จึงเหมาะสมที่สุด ส่วนเปอร์เซนต์ยิวด์จะมีความแตกต่างกันทางสถิติ เมื่อนำข้อมูลมาวิเคราะห์โดยวิธี DMRT จะพบว่าเปอร์เซนต์ยิวด์จะมีความแตกต่างกัน

โดยระดับความสูงของอาหารเหลวที่ 3.5 เซนติเมตร

ในการศึกษาขนาดภาชนะบรรจุที่ใช้ในการหมักวุ้นน้ำมะพร้าวนี้ มีความแตกต่างจากระดับความสูงของอาหารเหลวที่ 5.5, 7.0 และ 8.8 เซนติเมตรอย่างเห็นได้ชัด

ผลการทดลองที่ 6 ศึกษาขนาดภาชนะที่มีผลต่อการหมักวุ้นน้ำมะพร้าว

เพื่อใช้เป็นแนวทางในการขยาดขนาดการผลิตเพื่อผลิตเป็นระดับอุตสาหกรรมต่อไป โดยจะใช้ภาชนะขนาดต่างๆกันดังนี้ โหลแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 และ 21.5 เซนติเมตร ตามลำดับ และถาดขนาด (กว้างxยาว) 19.8x30.0 เซนติเมตร (รูปที่ 4-3 ภาคผนวก ง) โดยใช้สูตรอาหาร A1 หัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ และให้ระดับความสูงของอาหารจากก้นภาชนะเป็น 3.5 เซนติเมตรเท่ากัน บ่มที่ อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน (ผลจากการทดลองข้างต้น) โดยผลของขนาดภาชนะบรรจุต่อ ความหนาและน้ำหนักของวุ้นแสดงไว้ในตารางที่ 11

ตารางที่ 11 ผลของขนาดภาชนะที่ใช้ในการหมักต่อความหนา และน้ำหนักของวุ้นน้ำมะพร้าวที่ได้หลังจากหมักเป็นเวลา 7 วัน

ชนิดของภาชนะบรรจุ	ความหนาของวุ้น (ซม.)	น้ำหนักของวุ้น (กรัม)
x	1.73 a	204.33 a
y	1.70 a	759.66 b
z	1.74 a	1264.00 c

ค่าเฉลี่ย 2 ค่าใดที่ตามด้วยตัวอักษรเหมือนกัน จะไม่ต่างกันทางสถิติ โดยใช้ DMRT ที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซนต์

*หมายเหตุ

ชนิดของภาชนะ x คือ โหลแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 11.5 เซนติเมตร พื้นที่ผิว 103.86 ตารางเซนติเมตร

y คือ โหลแก้วขนาดเส้นผ่าศูนย์กลาง 21.5 เซนติเมตร พื้นที่ผิว 363.05 ตารางเซนติเมตร

z คือ ถาดขนาด (กว้าง x ยาว) 19.8 x 30.0 เซนติเมตร พื้นที่ผิว 594 ตารางเซนติเมตร

จากผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของข้อมูล จะพบว่าความหนาของวุ้นที่หมักเป็นเวลา 14 วัน ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ภาชนะบรรจุขนาดต่างๆกัน (รูปที่ 4-4 ภาคผนวก ง) แสดง ว่าความหนาของวุ้นไม่ขึ้นอยู่กับขนาดภาชนะ ส่วนผลการวิเคราะห์ค่าความแปรปรวนของ น้ำหนักวุ้นที่หมัก 14 วัน พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ และเมื่อนำข้อมูลมา วิเคราะห์ทางสถิติโดยวิธี DMRT ได้แสดงให้เห็นชัดเจนว่า น้ำหนักของวุ้นเพิ่มขึ้นตามขนาดของภาชนะ ดังนั้นในการขยายขนาดการผลิตภาชนะที่ใช้หมักควรมีพื้นที่ผิวในการสัมผัสมาก ที่สุด เพื่อที่จะได้ผลผลิตที่สุด

ผลการทดลองที่ 7 ผลของระยะเวลาในการฟอกสีวุ้นน้ำมะพร้าว ด้วย H_2O_2 2 เปอร์เซนต์

ในการนำวุ้นน้ำมะพร้าวไปแปรรูปนั้นจะผ่านการฟอกสีก่อน เพื่อให้ได้วุ้นที่มีสีขาวน่ารับประทาน ซึ่งสารเคมีที่ใช้ในการฟอกสี คือ H_2O_2 2 เปอร์เซนต์ที่เวลาต่างๆกัน ดังตารางที่ 12

ตารางที่12 ผลของระยะเวลาในการฟอกสีของวุ้นน้ำมะพร้าวด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์

ระยะเวลา	หน่วย	ลักษณะปรากฏ
15	นาที	วุ้นขาวและใส
30	นาที	วุ้นขาวและใส
1	ชั่วโมง	วุ้นขาวและใส
6	ชั่วโมง	วุ้นขาวและใส
12	ชั่วโมง	วุ้นขาวและใส
18	ชั่วโมง	วุ้นขาวและใส
24	ชั่วโมง	วุ้นขาวและใส

จากตารางที่ 12 ปรากฏว่าผลของระยะเวลาไม่มีผลต่อการฟอกสี กล่าวคือ ไม่ว่าจะฟอกสีด้วยระยะเวลานานเท่าใดก็ตาม วุ้นที่ได้จะมีลักษณะที่เหมือนกัน คือ ขาวและใส ดังนั้นเพื่อเป็นการประหยัดเวลา จึงควรใช้เวลาในการฟอกสีให้น้อยที่สุด และการที่จะฟอกสีให้ดีและรวดเร็วนั้นควรจะตัดวุ้นเป็นชิ้นเล็กๆ รูปสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ (รูปที่ 4-5 ภาคผนวก ง) จากการทดลองจะใช้เวลา 15 นาที จะได้วุ้นที่มีสี ขาว (รูปที่ 4-6 ภาคผนวก ง)น่ารับประทาน เหมาะแก่การแปรรูปในขั้น

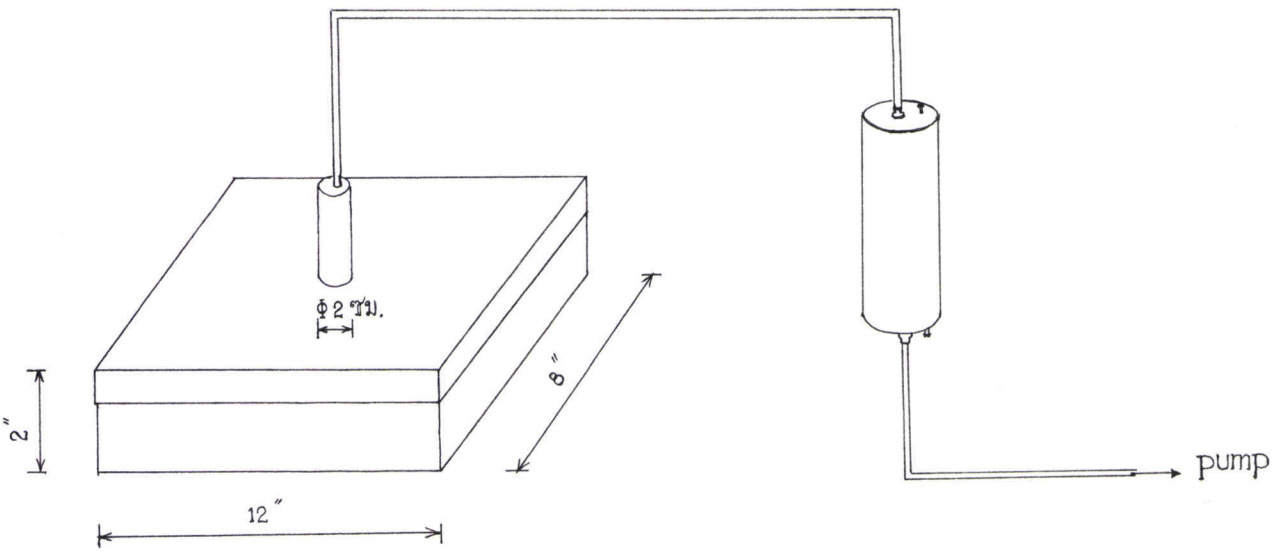
ต่อไป และเนื่องจากว่าการล้าง H_2O_2 ให้หมดทำ ได้ยาก ดังนั้นการแช่ด้วย H_2O_2 ด้วยเวลาอันสั้นจะทำให้การล้างวุ้น H_2O_2 ออกได้ยากขึ้น ซึ่งการ ล้าง H_2O_2 ทำได้โดยการล้างด้วยน้ำและแช่ทิ้งไว้ แต่จะต้องทำการเปลี่ยนน้ำบ่อยๆ จนกว่าเนื้อ วุ้นจะหมดรสซ่าของ H_2O_2

ผลการทดลองที่ 8 การออกแบบภาชนะและอุปกรณ์ ที่ใช้ผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์เพื่อลดการปนเปื้อน

ภาชนะและอุปกรณ์ ประกอบด้วย ถาดสเตนเลสขนาด (กxยxส) 8"x12"x2" มีฝาปิดทำด้วยสเตนเลสที่สวมกันอย่างพอดี ส่วนบนของฝามีช่องขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 2 เซนติเมตรสำหรับต่อท่อให้อากาศ ที่ท่อนี้จะอุดด้วยสำลีเพื่อลดการปนเปื้อน (ภาพที่ 9) ท่ออากาศต่อมาจากเครื่องปั๊มโดยผ่านการกรองด้วยท่อกรองบรรจุภายในด้วยเมมเบรนฟิลเตอร์ (membrame filter) ซึ่งมีขนาดรู (pore size) 0.2 มิลลิไมครอน เพื่อกรองจุลินทรีย์และสิ่งสกปรกก่อนพ่นอากาศลงไปในถาดหมักวุ้น

เมื่อได้สูตรอาหารที่เหมาะสมและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำมาเติมหัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ เทลงในถาดหมักวุ้นให้เท่ากับความหนาของวุ้นที่ต้องการ เดินเครื่องปั๊มอากาศ 5-10 นาที แล้วปิดเครื่อง ดูผลการเกิดวุ้นทุก 5 วัน พบว่า วุ้นที่ได้จะมีลักษณะเป็นแผ่นทึบ และได้ความหนาของวุ้น ประมาณ 2.5 เซนติเมตร ในระยะเวลา 10 วัน

ภาพที่ 9 ภาชนะและอุปกรณ์ที่ออกแบบในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวเพื่อลดการปนเปื้อน



ตารางที่ 13 เปรียบเทียบภาชนะหมัก

	ภาชนะหมัก	
	แบบเดิม	แบบใหม่
1. การปนเปื้อน	เกิดมากกว่า 80 %	ป้องกันได้เกือบ 100 %
2. ระยะเวลา	14 วัน (นาน fiber มาก)	< 14 วัน ส่งผลให้คุณภาพวุ้นดีขึ้น (fiber น้อย)
3. อาหาร	เหลือทิ้ง 50 %	ใช้ได้เกือบหมด
4. การใช้อุปกรณ์พิเศษ	ไม่มี	ต้องใช้ท่อกรองบรรจุ membrane filter สั่งจากต่างประเทศ แต่ใช้ได้นาน
5. ความแพร่หลาย	เป็นที่นิยมทั้งในระดับ อุตสาหกรรมและครัวเรือน	ยังไม่เป็นที่รู้จัก

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

1. จากการศึกษาพบว่า ปริมาณกล้าเชื้อที่เหมาะสม คือ 1 มิลลิลิตร ในอาหารสำหรับเตรียมหัวเชื้อ 100 มิลลิลิตร และปริมาณหัวเชื้อ 10 เปอร์เซนต์ ของอาหารสำหรับหมักวุ้นสร้างวุ้นหนาในระดับที่น่าพอใจ และเหมาะสมต่อการผลิตระดับอุตสาหกรรม

2. จากการศึกษาอาหารสูตรต่างๆ ที่มีผลต่อการสร้างวุ้นน้ำมะพร้าว โดยทดสอบลักษณะเนื้อสัมผัส พบว่าสูตรอาหาร A1 และ B1 มีเยื่อใยมากกว่า A2 และ B2 ส่วนลักษณะปรากฏ รสชาติ ความกรอบและความชอบ ซึ่งวิเคราะห์ผลทางสถิติด้วยวิธีฮีโดนิกเสกล พบว่าสูตรอาหาร A1 ได้รับ การยอมรับจากกลุ่มผู้บริโภคมากที่สุด

3. จากการศึกษารูปแบบภาชนะในการหมักวุ้นน้ำมะร้าวที่เหมาะสม คือรูปทรงแบบถาดที่มีความสูงประมาณ 2 นิ้ว บรรจุอาหารสูง 3/4 ของถาด ได้นำมาประยุกต์ออกแบบภาชนะหมักเบื้องต้นเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นๆ โดยต่อกับท่อกรองบรรจุภายในด้วย membrane filter พบว่าป้องกันการปนเปื้อนได้ 100 เปอร์เซนต์ และสามารถใช้อาหารได้เกือบหมดในการสร้างวุ้น โดยใช้ระยะเวลาน้อยลง

4. จากการศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการหมัก คือ 14 วัน ทำให้ได้วุ้นหนา 1.5-2.0 เซนติเมตร ถ้าหมักระยะเวลานานมากกว่า 14 วัน ความหนาของวุ้นจะเพิ่มในอัตราที่น้อยมาก ทำให้สิ้นเปลืองเวลา และไม่เหมาะที่จะผลิตในเชิงพาณิชย์ ซึ่งต้องคำนึงถึงทางเศรษฐกิจ

5. จากการศึกษาการฟอกสีวุ้นที่ได้ด้วย H_2O_2 2 เปอร์เซนต์ที่เวลาต่างๆกัน พบว่าเวลา 15 นาที ทำให้วุ้นขาวและใสไม่แตกต่างจากการใช้เวลามากขึ้น ซึ่งการใช้ระยะเวลาฟอกสีน้อยๆ H_2O_2 จะตกค้างน้อยกว่าใช้เวลานาน และมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคมากยิ่งขึ้น

ข้อเสนอแนะ

โครงงานพิเศษ การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวในเชิงพาณิชย์นี้ เป็นการศึกษาเบื้องต้นซึ่งควรมีการวิจัยในขั้นต่อไป จึงควรมีการศึกษาการใช้กากของเสียที่มีประโยชน์ในอาหารเลี้ยงวุ้น เช่น

partial yeast extract จากโรงงานผลิตยีสต์ผง และพัฒนาการออกแบบภาชนะหมักให้ใช้ ได้ใน ระดับอุตสาหกรรมเพื่อเพิ่มผลผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวให้ได้ปริมาณมากและคุณภาพดี ภายใน ระยะเวลาอันสั้น

ภาคผนวก ก

1. การเตรียมน้ำมะพร้าวแก่

นำน้ำมะพร้าวแก่มากรองด้วยผ้าขาวบาง แล้วจึงนำมาต้มเดือด 5 นาที เพื่อไล่ไขมันและทำลายจุลินทรีย์ที่ปะปนมาก่อนทุกครั้ง

2. สูตรอาหารสำหรับเลี้ยงกล้าเชื้อ

กลูโคส	100	กรัม
ยีสต์สกัด	10	กรัม
น้ำกลั่น	1	ลิตร

โดยใช้ขวดวัดปริมาตร ขนาด 1 ลิตร

3. สูตรอาหารสำหรับหัวเชื้อ

สูตร A ประกอบด้วย

ยีสต์สกัด	0.05	กรัม
น้ำมะพร้าว	100	มิลลิลิตร

สูตร B ประกอบด้วย

$NH_4H_2PO_4$	0.5	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.3	กรัม
น้ำตาลทราย	50	กรัม
น้ำมะพร้าว	1	ลิตร

*หมายเหตุ ต้มให้ละลายเป็นเนื้อเดียวกัน นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ

4. สูตรอาหารสำหรับหมักวุ้นน้ำมะพร้าว

สูตร 1 ประกอบด้วย

$(NH_4)_2SO_4$	9	กรัม
น้ำตาลทราย	60	กรัม
น้ำส้มสายชู	300	มิลลิลิตร

	น้ำมะพร้าว	1	ลิตร

สูตร 2 ประกอบด้วย

$NH_4H_2PO_4$	0.5	กรัม
$MgSO_4 \cdot 7H_2O$	0.3	กรัม
น้ำตาลทราย	50	กรัม
เอธานอล	60	มิลลิลิตร
น้ำมะพร้าว	1	ลิตร

ปรับพีเอชด้วย glacial acetic acid ให้ได้ 4.5

*หมายเหตุ ฆ่าเชื้อโดยการต้มเดือด 5 นาที

ภาคผนวก ข

1. การเตรียมน้ำส้มสายชู (acetic acid 5 เปอร์เซนต์)

1.1 เตรียม glacial acetic ปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

1.2 รินกรดลงในน้ำกลั่น

1.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น ในขวดวัดปริมาตร ขนาด 1 ลิตร

2. การเตรียมไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 2 เปอร์เซนต์

2.1 เตรียม H_2O_2 (ความเข้มข้น 1 โมลาร์) ในกระบอกตวง

2.2 ริน H_2O_2 ลงในน้ำกลั่น

2.3 ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร ในขวดวัดปริมาตร

*หมายเหตุ คำนวณโดยใช้สูตร M1V1 = M2V2

3. การเตรียมน้ำเชื่อมความหวาน 20 บริกซ์ และ 40 บริกซ์

โดยใช้ refractometer

3.1 ค่อยๆ เทน้ำตาลทรายลงในน้ำที่กำลังต้ม

3.2 ต้มจนเดือด และนำมาวัดความหวาน โดย refractometer

3.3 เติมน้ำตาลทรายเพิ่มจนได้ความหวานที่ต้องการ

*หมายเหตุ ไม่สามารถวัดความหวานเกินกว่า 36 บริกซ์ได้

โดยใช้วิธีคำนวณของ Pearson' s square ดังนี้

ความหวานของน้ำตาลทรายที่เติมลงไป = a

ความหวานของน้ำ (0 บริกซ์) หรือน้ำเชื่อมเดิม = b

ความหวานที่ต้องการเตรียม = c

ปริมาณน้ำเชื่อมที่ต้องการเตรียม = X ลิตร

สูตร

ปริมาณน้ำตาลทรายที่ต้องเติม = X^x (b-c)/ (a-c) กิโลกรัมต่อลิตร

ภาคผนวก ค
การแปรรูปวุ้นน้ำมะพร้าว

วุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อม

ส่วนผสม

วุ้นน้ำมะพร้าวตัดเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมขนาดพอเหมาะ	500 กรัม
น้ำตาลทราย	500 กรัม
น้ำ	1 ถ้วย
สีและกลิ่นผสมอาหารตามชอบ	

วิธีทำ

นำวุ้นที่เตรียมไว้ไปลวกน้ำร้อน แล้วบีบน้ำออกจนหายเปรี้ยวและหมดกลิ่นกรด ผึ่งไว้ให้สะเด็ดน้ำ ต้มน้ำเชื่อมแล้วกรองให้สะอาด ใส่วุ้นที่เตรียมไว้ต้มจนเดือด แช่ทิ้งไว้ค้างคืนให้น้ำตาลซึมเข้าเนื้อ วันรุ่งขึ้นจึงนำมาต้มใหม่อีกครั้งหนึ่ง แล้วจึงเติมกลิ่นและสีตามชอบ เช่น สีแดงกลิ่นสละ สีส้มกลิ่นส้ม สีเขียวกลิ่นใบเตย สีขาว (หรือฟอกสี) กลิ่นมะลิ หรือ วนิลา เป็นต้น บรรจุลงในขวดที่ลวกฆ่าเชื้อ วุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อมนี้รับประทานเป็นของหวาน แช่เย็นหรือใส่น้ำแข็ง รับประทานกับไอศกรีมหวานเย็น ผสมผลไม้อื่นเป็นฟรุทสลัด หรือทำเป็นรวมมิตร

เยลลี่วุ้นน้ำมะพร้าว

ส่วนผสมและวิธีทำเหมือนวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อม

เมื่อเชื่อมวุ้นไว้ค้างคืนแล้ว วันรุ่งขึ้นนำมาเคี่ยวไฟอ่อนๆจนเหนียว ผิววุ้นใสเป็นเงา ยกลงแล้วเติมสีและกลิ่นตามชอบ ตักขึ้นใส่จาน เรียงผึ่งไว้จนน้ำตาลแห้ง จึงบรรจุลงภาชนะปิดด้วยแผ่นพลาสติก

วุ้นกรอบจากวุ้นน้ำมะพร้าว

ส่วนผสมและวิธีทำเหมือนวุ้นน้ำมะพร้าวในน้ำเชื่อม

เมื่อได้วุ้นเชื่อมค้างคืนไว้แล้ว วันรุ่งขึ้นนำมาเคี่ยวด้วยไฟปานกลาง คนตลอดเวลา จนวุ้นใสเป็นเงา และน้ำตาลเริ่มเป็นผลึก จึงยกลงเติมกลิ่นและสีตามชอบ เรียงผึ่งจนผิววุ้นแห้งและกรอบ มีเนื้อข้างในนุ่ม

ยำเชี่ยงไฮ้วุ้นน้ำมะพร้าว

เครื่องปรุง (สำหรับ 4-5 คน)

วุ้น (ต้ม-ล้างจนกลิ่นกรดหาย)	3 ขีด
ซ้อสมะเขือเทศ	2 ช้อนโต๊ะ
น้ำปลา	1 ช้อนโต๊ะ
น้ำตาลทราย	1 ช้อนชา
มะนาว	1 1/2 ช้อนโต๊ะ
หอมหัวใหญ่	1 หัว
แครอท (หั่นฝอย)	2 ช้อนโต๊ะ
พริกขี้หนู	7-10 เม็ด
ต้นคื่นฉ่าย	1/2 ถ้วย
กระเทียม	3 กลีบ
ผักกาดหอม (สำหรับรองจาน)	1 ต้น

การปรุง - เตรียมน้ำปรุง

น้ำซ้อสมะเขือเทศ ผสม น้ำปลา น้ำตาลทราย ตามสูตร คนให้เข้ากัน แล้วตั้งไฟพอละลาย

- นำวุ้นที่เตรียมไว้ตัดเป็นชิ้นยาว (คล้ายปลาหมึก) ลงไปคลุกในน้ำซ้อสเข้าเนื้อ
- โขลกพริกขี้หนูกับกระเทียมพอแตก ใส่ลงไปด้วย
- เติมน้ำมะนาว และปรุงรสเพิ่มตามชอบ
- นำผักที่เตรียมไว้ ลงไปคลุกให้ทั่ว
- จัดใส่จาน เสริฟทันที

สำหรับรับประทาน 4-5 คน (อาจเติมเนื้อกุ้งพองามเพื่อเพิ่มรสชาติ)

วุ้นสวรรค์ในน้ำลิ้นจี่

ส่วนผสม

น้ำลิ้นจี่เข้มข้น 10 เปอร์เซนต์

น้ำตาลทราย

กรดซิตริกเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์

วิธีทำ

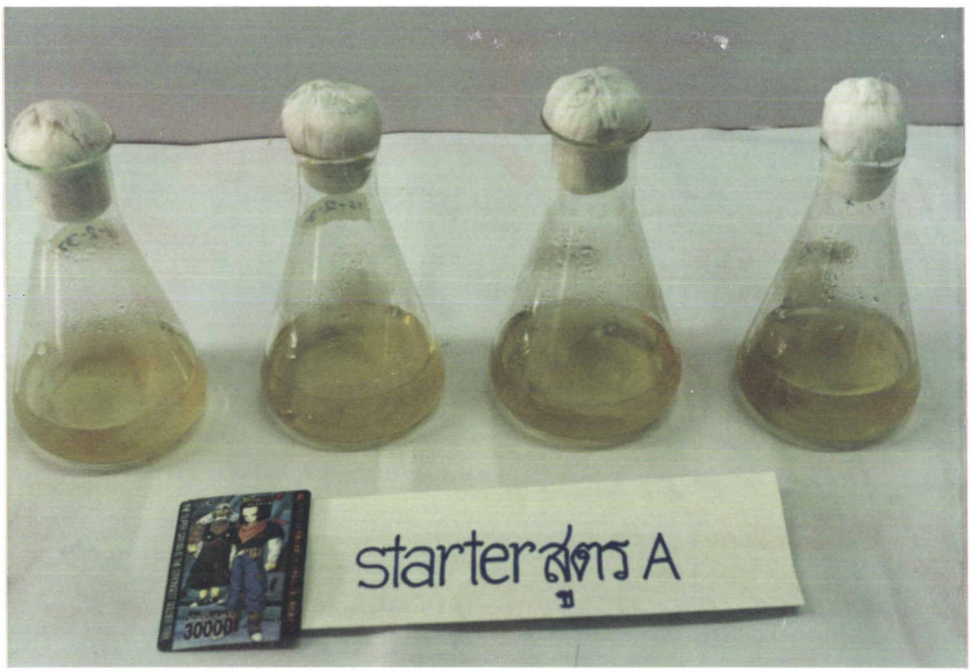
นำชิ้นวุ้นน้ำมะพร้าวทำให้หมดรสเปรี้ยวแล้ว ไปผสมกับน้ำลิ้นจี่เข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ และปรับความหวานเท่ากับ 40 องศาบริกซ์ และทำการปรับพีเอชให้อยู่ในระดับ 3.6 ด้วยกรดซิตริกความเข้มข้น 10 เปอร์เซนต์ จะทำให้ได้รสเปรี้ยวคล้ายรสเปรี้ยวในผลไม้ตามธรรมชาติ และยังช่วยในการถนอมรักษาผลิตภัณฑ์วุ้นน้ำมะพร้าวผสมน้ำลิ้นจี่ด้วย

ภาคผนวก ง

รูปที่ 2-1 ผลมะพร้าวแก่

รูปที่ 2-2 วุ้นในน้ำเชื่อม 20 บริกซ์

รูปที่ 3-1 การกรองน้ำมะพร้าว

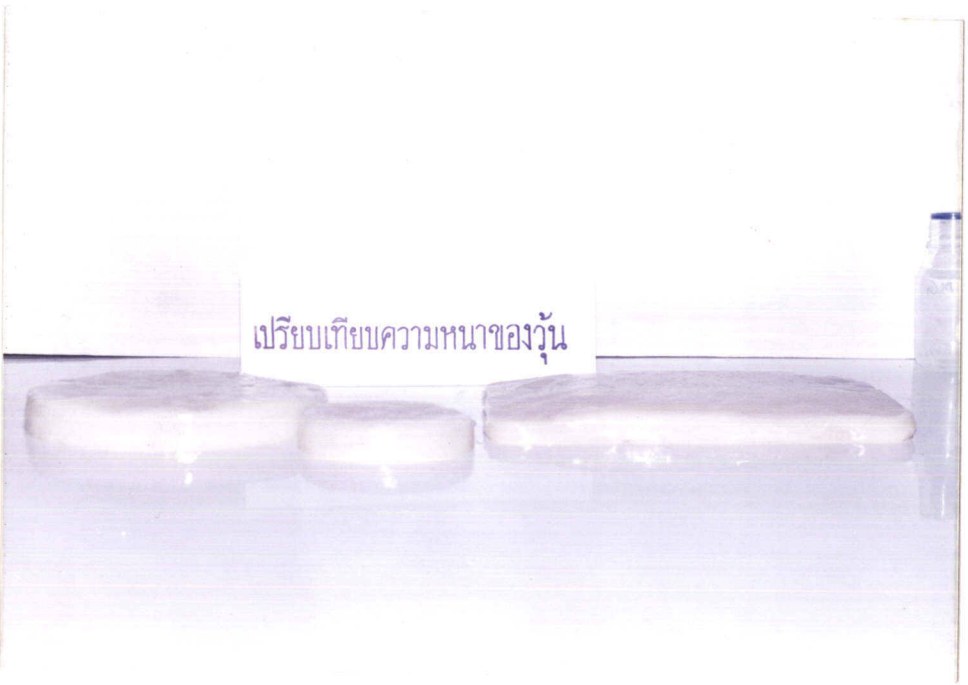


รูปที่ 3-2 หัวเชื้อจากอาหารเหลวสูตร A

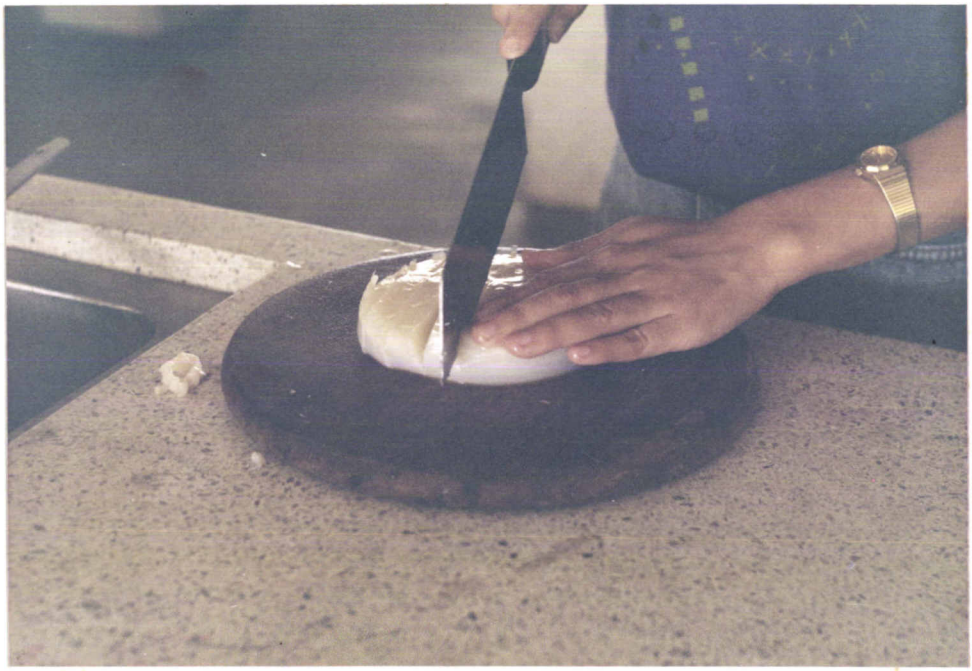
รูปที่ 4-1 วุ้นสวรรค์ที่หมักเป็นเวลา 7 วัน

รูปที่ 4-2 วุ้นสวรรค์ที่หมักเป็นเวลา 14 วัน

รูปที่ 4-3 แผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักโดยใช้ถาด



รูปที่ 4-4 วุ้นที่ได้จากการหมักโดยภาชนะแบบต่างๆ



รูปที่ 4-5 การตัดวุ้นเป็นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์

รูปที่ 4-6 เปรียบเทียบวุ้นที่ฟอกสีด้วย H_2O_2 2 เปอร์เซนต์ กับวุ้นที่ไม่ได้ฟอกสี

เอกสารอ้างอิง

วราวุฒิ ครูส่ง. " การพัฒนาผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ในน้ำลิ้นจี่." อุตสาหกรรมเกษตร. 1(2). (2536) : 5-9

วิเชียร กิจปรีชาวนิช. " ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญและการผลิตเชื้อ Bacillus megaterium ATCC 13639 ในน้ำมะพร้าวแก่. "วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2521.

สมคิด ธรรมรัตน์. " การผลิตวุ้นสวรรค์ และการแปรรูป " วารสารอาหาร . 18. (2531) : 250-256

สมศรี ลีปิพัฒนวิทย์. "การหาสูตรอาหารที่เหมาะสมสำหรับทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวแก่." วารสารอาหาร . 18(4). (2531) :

Africa,T.K. "The production of nata from coconut water." Unitas 22.(1949) : 61-105.

Anonymous. "Ahandbook of Phillippine agiculture." College of Agriculture, University of the Philipines at Los Banos, College, Laaguna, Philipines, 1939.

Baldonado,A.Q. "A study of nata preparation using locally available fruits." AGR. and Ind. Life 28 : 35

Bauer K, Coddington K, Ben-Basat A "Methods for improving production of bacteria cellulose-optimization of productivity in *Acetobacter xylinum* submerged culture using polyacrylamide protectant for reduction of shear damage" Abstr. Pap. Am. Chem. Sec. 203 Meet., Pt.1, Bioot 94, Emeryville, USA, 1992.

Brown, A.J. "An acetic ferment which forms cellulose." J.chem.Sec. London. 49.(1886) : 432-439

Brown R M. "Microbial cellulose production and application to materials-*Acetobacter xylinum* fermentation." U.S. Pat 4, 14 Dec. 89, 9001.

Buchanan,R.E. and N.E. Gibbons. "Bergy's manual of determinative bactiriology." 8th Ed. Williams and Williams and Wilkins, Bultimore, 1974.

Colvin,J.R. and M. Beer. "The formation of cellulose microbial." J. Microbiol. 6.(1960) : 631-637.

Dimaguila,L.A.S. "The "Nata de coco". 1." Characterization and identity of the casual organism. 51.(1967) : 463-474

Dolendo, A.L. and maniquis. "Preparation and storage qualities of fortified nata de coco." Phil. J. sci. 96.(1967) : 363-376

Glaser, L. "the synthesis of cellulose in cell-free extracts of *Acetobacter xylinum.*" J. Biol. chem. 232.(1958) : 627-636

Gromet,Z., M.Scramm and S.Hestrin. "Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum.* 4. Enzyme systems present in a crude extract of glucose-grown cell." Biochem.J. 67.(1957) : 679-689

Joris K, Billiet F, Drieghe S, Brackx D, Vandamme E. "Microbial production of Beta-1,4-glucans." Mededelingen van de Faculteit Landobouwwetenschappen Rijksuniversiteit Gent. 54(4).(1990) : 1563-1566

Kjosbakken,J. and J.R. Colvin. "New evidence for an intermediate polymer of glucose in cellulose biosynthesis by *Acetobacter xylinum.*" Cam. J. Microbiol. 21.(1975) : 111-120

Lapuz, M.M. , E.C. Gallardo and M.A. Palo. "The nata organism, culture requirements, characteristics and identity." Philip. J. Sci. 96.(1967) : 91-109.

Schramm, M. , Z. Gromet and Hestrin. "Synthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum.* Sybstrates and inhibitors. " Biochem. J. 67.(1957) : 669-679

Mendosa, J.M. "Philippine Foods, Their processing and manufacture. Published in the Philippines by the author." 1961

Millman, B. and J.R. Colvin. "The formation of cellulose microfibrils by *Acetobacter xylinum* in agar surface." Can. J. Microbial. 7.(1961) : 383-387

Miranda, B.T.,S. R. Miranda,L.P. Clean and E.R. Saqueton. "Some studies on nata." Nat.Appl. Sci. Bull. 19.(1965) : 67-79

Pusta, S. Y. "Processing of flavored and nutritious "nata". " BS thesis in Food Technology, UPLB, College Laguna, Philippines, 1980

Ross P, Aloni Y, Weingouse H, Michaeli D, Weinberger- Ohana P, Mayer R, Benziman M. Control of cellulose synthesis in *Acetobacter xylinum* a unique guanyl ligonucleotidide is the immediate activater of the cellulose synthase." Carbohydrate research. 149(1).(1986) : 101-118

Sanchez, P.C. "Nata de coco production." Dept. of food Sci. and Tech , UPLB, College Laguna, Phillipines, 1978

Schmauder H P, Einfledt L, Geyer U, Klemm D, "Biosynthesis of cellulose by *Acetobacter xylinum* using glucose and modified. carbon- sources- effect of glucose, modified glucoses, cellobiose, modified cellobioses an other sugars on cellulose production." Meded. Fac. Landbouwwet. Rijsuniv. Gent. (57,4a). (1992) : 1797-1799

Schramm, M. , Z. Gromet and Hestrin. "Synthesis of cellulose by Acetobacter xylinum . Sybstrates and inhibitors." Biochem. J. 67.(1957) : 669-679.

Sowden LC, Colvin J R. " Morphology micro structure and development of colonies of *Acetobacter xylinum.*" Canadian Journal of Microbiology. 24(7). (1979) : 772-779

Tanner, F.W. "The microbiology of foods. Champaign, " Illinois : Garrad press, Illinois, 1944

Tubongbanua, L.P. "The use of mollases as substrate for nata production." BS thesis in Food Tech., UPLB, College laguna , Philippines, 1978

Villanueva, L.J. " The effect of varying amounts of sugar added to pineapple pulp mash on acidity and yield of "nata de pina." Philip. Agric. 26. (1937) : 508-514

Williams W S, Cannon R E. "Alternative environmental roles for Cellulose produced by *Acetobacter xylinum* ." Applied and Environment Microbiology. " 55(10), (1989) : 2448-2452.