การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในกระบวนการหมักเพื่อผลิตวุ้นด้วย *Acetobacter xylinum* TISTR 975 จากน้ำมะม่วง

จินตนา พรมวงษ์ป้อ[1] วนิดา โยคนิตย์[1] และ จุฑาลักษณ์ เขมาชีวะกุล[2*]
มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ต.นครชุม อ.เมือง จ.กำแพงเพชร 62000

บทคัดย่อ

การศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมของแหล่งอาหารและปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นถือเป็นปัจจัยที่สำคัญต่อกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter xylinum* เพื่อผลิตวุ้นให้ได้อย่างมีประสิทธิภาพ วัตถุประสงค์ของงานวิจัยนี้คือเพื่อศึกษาเปรียบเทียบระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (8, 10, 12, และ 14 $^{\circ}$Brix) ค่า pH (3.0, 3.5, และ 4.0) ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (ร้อยละ 0, 0.3, 0.5, และ 0.7 (มวลต่อปริมาตร)) และระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้น (ร้อยละ 5, 10, และ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร)) ที่มีผลต่อน้ำหนักและความหนาของวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้จากนั้นเลือกสภาวะการหมักที่เหมาะสมไปใช้ในกระบวนการผลิตวุ้นในน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ มหาชนก และโชคอนันต์ เพื่อนำวุ้นที่ได้ไปใช้ในการเปรียบเทียบการประเมินทางประสาทสัมผัสวุ้นในโยเกิร์ต ผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้ คือ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 8 $^{\circ}$Brix ค่า pH เท่ากับ 4.0 ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 (มวลต่อปริมาตร) และระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายหลังการหมักเป็นเวลา 10 วัน สามารถผลิตวุ้นได้ปริมาณสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการหมักอื่นๆ โดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาได้เท่ากับ 43.83 $\pm$ 0.51 กรัม และ 5.05 $\pm$ 0.09 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของวุ้นจากน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ในโยเกิร์ต ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมเฉลี่ยเท่ากับ 7.77 $\pm$ 0.11 ซึ่งมากกว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์ในสภาวะการหมักเดียวกัน โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

คำสำคัญ : *Acetobacter xylinum / เซลลูโลส / วุ้น / การหมัก / มะม่วง*

* *Corresponding Author : Looktarn005@hotmail.com*
1 *นักศึกษา โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*
2 *ผู้ช่วยศาสตราจารย์ โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี*

A Study of the Optimal Fermentation Conditions for Nata de Coco Production by *Acetobacter xylinum* TISTR 975 from Mango Juice

Chintana Promwongpo[1] Wanida Yokhanit[1] and Julaluk Khemacheewakul[2*]

Kamphaeng Phet Rajabhat University, Nakhon Chum, Mueang Kamphaeng Phet District, Kamphaeng Phet 62000

Abstract

A study on the optimum culture conditions and inoculum are of importance for the production of nata de coco from *Acetobacter xylinum*. The objective of this study was to compare the effects of total soluble solids content (8, 10, 12, and 14 °Brix) pH (3.0, 3.5, and 4.0) concentration levels of ammonium sulphate (0, 0.3, 0.5, and 0.7 % (w/v)) and initial inocula (5, 10, and 15 % (v/v)) on the weight and thickness of nata de coco produced from mango juice (cv. Nam Dok Mai) as fermentation medium. The optimum fermentation condition was then selected for subsequent nata de coco production in mango juices cv. Nam Dok Mai, Maha Chanok, and Chok Anan. Sensory evaluation was conducted to compare the preference of different nata de coco samples in yogurt. The results showed that the most suitable condition for the fermentation by *A. xylinum* TISTR 975 in mango juice (cv. Nam Dok Mai) was the total soluble solids content of 8 °Brix, pH 4.0, 0.5% (w/v) ammonium sulphate, and 10% (v/v) of *A. xylinum* TISTR 975 starter. The maximum weight and thickness of nata de coco produced at the optimum condition were 43.83 ± 0.51 gand 5.05 ± 0.09 mm, respectively; these values were obtained after 10 days of the fermentation period. Sensory evaluation of nata de coco produced from the juice of mango cv. Nam Dok Mai in yogurt showed the average overall acceptance score of 7.77 ± 0.11, which was significantly higher ($p \leq 0.05$) than the scoresof nata de coco produced from the juices of mango cv. Maha Chanok and Chok Anan under the same fermentation conditions.

Keywords : *Acetobacter xylinum* / Cellulose / Natade coco / Fermentation / Mango

* Corresponding Author : Looktarn005@hotmail.com

1 Student, Division of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology.

2 Assistant Professor, Division of Food Science and Technology, Faculty of Science and Technology.

1. บทนำ

Nata de coco เป็นชื่อเรียกของวุ้น ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียน้ำส้มสายชูในสกุล *Acetobacter* sp. ซึ่งทำให้ได้เซลลูโลสในรูปเจลที่เรียกว่า cellulose microfiber การผลิตเซลลูโลสในรูปของวุ้นสามารถเลือกใช้วัตถุดิบได้หลากหลายชนิด เช่น น้ำมะพร้าว น้ำสับปะรด น้ำกะทิ และน้ำหางนม เป็นต้น เมื่อนำวัตถุดิบเหล่านี้มาผลิตวุ้น เนื้อวุ้นที่ได้จะมีลักษณะเป็นเยื่อเหนียว มีสีขาวหรือครีม มีกลิ่นตามแหล่งวัตถุดิบที่ใช้ ดังนั้นจึงทำให้วุ้นที่ได้จากกระบวนการหมักมีหลายชื่อเรียก เช่น วุ้นน้ำส้ม วุ้นสวรรค์ วุ้นมะพร้าว เห็ดชาแดง และเห็ดรัสเซีย นอกจากนี้ ยังพบว่ามีแบคทีเรียสกุลอื่นๆ ที่สามารถสร้างเซลลูโลสในกระบวนการหมักได้ เช่น *Rhizobium sp., Alcaligenes sp., Agrobacterium sp, Pseudomonas sp.,* และ *Trichoderma reesei* เป็นต้น [1]

เซลลูโลสเป็นสารชีวโมเลกุลที่อยู่ในกลุ่มคาร์โบไฮเดรต พบในเซลล์พืชและสามารถผลิตได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียที่ผลิตเซลลูโลส มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะไกลโคซิดิกชนิดบีตา (1,4) ซึ่งมีประโยชน์ต่อสุขภาพในแง่ของโภชนาการ ลดความเสี่ยงในการเกิดโรคมะเร็งในลำไส้ ลดระดับของน้ำตาลและโคเลสเตอรอลในเลือด รวมทั้งปรับสมดุลระบบขับถ่ายให้ทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ [2] อย่างไรก็ตาม เซลลูโลสที่ได้จากพืชมีความบริสุทธิ์ต่ำ เนื่องจากมีส่วนประกอบของเฮมิเซลลูโลสและลิกนินปนอยู่ ในขณะที่โครงสร้างของเซลลูโลสที่ได้จากการหมักด้วยแบคทีเรียมีขนาดเล็กกว่าเส้นใยจากพืชชั้นสูงมีลักษณะใสและสามารถทำปฏิกิริยากับสารเคมีต่างๆ ได้ดี ซึ่งเป็นคุณสมบัติที่เหมาะสมต่อการนำไปประยุกต์ใช้ประโยชน์ในงานด้านอื่นๆ [3]

การผลิตเซลลูโลสจากกระบวนการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *Acetobacter* ถูกนำมาประยุกต์ใช้ในการผลิตระดับอุตสาหกรรม เช่น กระดาษ เครื่องสำอาง รวมถึงการนำมาใช้เป็นส่วนประกอบในผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งกระบวนการดังกล่าวสามารถนำวัตถุดิบที่มีมูลค่าต่ำมาแปรรูปให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้นและยังเป็นการส่งเสริมให้เกิดแนวทางการบริโภคอาหารเพื่อสุขภาพปลอดภัยต่อสิ่งแวดล้อมซึ่งนำไปสู่สังคมการบริโภคอย่างยั่งยืน [4] จึงทำให้มีการค้นคว้าวิจัยเกี่ยวกับการนำวัตถุดิบเหลือใช้ทางการเกษตรมาผลิตเส้นใยเซลลูโลสจากแบคทีเรีย เช่น เปลือกสับปะรด [5] น้ำสับปะรด [6] กากน้ำตาล [7] และเนื้อแก้วมังกร [8] เป็นต้น โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มผลผลิตเซลลูโลสในระดับอุตสาหกรรมให้เพียงพอกับความต้องการของผู้บริโภคด้วยต้นทุนการผลิตต่ำสุด นอกจากนี้ยังพบว่ามีงานวิจัยจำนวนมากที่ศึกษากระบวนการผลิตเซลลูโลสให้ได้สูงสุด โดยพิจารณาจากปัจจัยต่างๆ ได้แก่ แหล่งคาร์บอนและไนโตรเจน pH และปริมาณหัวเชื้อตั้งต้นเป็นต้น [9] [10] [11]

Coban และ Biyik [9] ศึกษาเปรียบเทียบค่า pH (2.5, 3.5, 4.5, 6.5, 7.5 และ 8.5) ที่มีผลต่อปริมาณการผลิตเซลลูโลสจากการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธ์ *A. pasteurianus* ในกากน้ำตาล พบว่าการหมักที่ pH 6.5 ให้ปริมาณเซลลูโลสเข้มข้นสูงสุดเท่ากับ 0.029 กรัมต่อลิตรนอกจากนี้ Kurosumi และคณะ [12] ยังได้ศึกษาเปรียบเทียบปริมาณการผลิตเซลลูโลสจากการหมักด้วย *A. xylinum* ในน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ได้แก่ น้ำส้ม น้ำสับปะรด น้ำแอปเปิ้ล น้ำสาลี่ และน้ำองุ่น ผลการทดลองพบว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำส้มผลิตเซลลูโลสได้ปริมาณมากที่สุดเท่ากับ 100 กรัม

มะม่วงเป็นผลผลิตทางการเกษตรที่เพาะปลูกมากในทางภาคเหนือของประเทศไทย ซึ่งเป็นผลิตผลสด (perishable crops) มีอายุการเก็บรักษาสั้น เน่าเสียและบอบช้ำง่าย [13] รวมถึงในบางฤดูกาลมีราคาตกต่ำ โดยสาเหตุส่วนหนึ่งเกิดจากผลผลิตออกพร้อมกันจากแหล่งผลิตเดียวกันเป็นจำนวนมาก อีกทั้งข้อจำกัดในด้านระบบการจัดการหลังการเก็บเกี่ยว ทำให้ต้นทุนโดยรวมในการผลิตมะม่วงสูงและไม่สามารถอยู่ในสภาวะที่แข่งขันได้ดังนั้นการนำมะม่วงที่ล้นตลาดและมีราคาต่ำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าสูงขึ้น จึงเป็นทางเลือกหนึ่งในการลดปัญหาดังกล่าว อีกทั้งยังเป็นการพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารเพื่อสุขภาพให้เกิดความหลากหลายมากยิ่งขึ้น และเนื้อมะม่วงสุกมีระดับความเข้มข้นของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้สูงถึงร้อยละ 16-18 และวิเคราะห์ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่ในช่วงร้อยละ 5-6 [14] จึงมีความเหมาะสมสำหรับนำมาใช้เป็นแหล่งอาหารให้กับจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะในกระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ที่เหมาะสมโดยใช้เนื้อมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้เป็นแหล่งอาหารในกระบวนการหมัก โดยเปรียบเทียบระดับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) ค่า pH ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 เพื่อให้ได้วุ้นปริมาณสูงสุด หลังจากนั้นนำวุ้นที่ผลิตได้จากสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในสารละลายน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ มหาชนก และโชคอนันต์ มาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิม

2. วิธีการทดลอง

2.1 วัตถุดิบ

2.1.1 จุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 975 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย (TISTR, Thailand Institute of Scientific and Technological Research) เลขที่ 35 หมู่ที่ 3 เทคโนธานี ตำบลคลองห้า อำเภอคลองห้า อำเภอคลองหลวง จังหวัดปทุมธานี 12120

2.1.2 เนื้อมะม่วงสุกหั่นชิ้นแช่เยือกแข็งสายพันธุ์น้ำดอกไม้ มหาชนก และโชคอนันต์ จากบริษัทลานนาเกษตรอุตสาหกรรม จำกัด ตั้งอยู่ที่ 106/5 ม.8 ถ.เชียงใหม่-ลำปาง ต.สารภี อ.สารภี จ.เชียงใหม่ 50140

2.2 การแยกหัวเชื้อจุลินทรีย์

การแยกเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 975 โดยการเพาะเลี้ยง ในอาหารวุ้นที่ประกอบไปด้วยกลูโคส 2.5 กรัม ยีสต์สกัด 2.5 กรัม ผงวุ้น 3.75 กรัม ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น 250 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บรรยากาศ เป็นเวลา 15 นาที ด้วยถังความดันฆ่าเชื้อแบบเคลื่อนย้ายได้ แล้วถ่ายอาหารวุ้นลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อภายหลังจากตั้งทิ้งไว้จนมีระดับอุณหภูมิของอาหารวุ้นลดลงเท่ากับอุณหภูมิห้อง จากนั้นถ่ายเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 ลงบนอาหารวุ้นด้วยวิธี streak plate บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน [11]

2.3 การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมหัวเชื้อจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 975 ในแหล่งอาหารน้ำมะพร้าวปริมาตร 250 มิลลิลิตร ซึ่งประกอบไปด้วยซูโครส 2.5 กรัม ยีสต์สกัด 2.5 กรัม ภายหลังจากเตรียมแหล่งอาหารแล้ว นำอาหารไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บรรยากาศ เป็นเวลา 15 นาที ด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อแบบเคลื่อนย้ายได้เมื่ออุณหภูมิของอาหารเพาะเลี้ยงเชื้อลดลงจนเท่ากับอุณหภูมิห้องจึงถ่ายเชื้อจุลินทรีย์ที่เพาะเลี้ยงได้จากข้อ 2.2 ลงในอาหารจากนั้นนำไปบ่มในสภาวะเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที และตั้งทิ้งไว้ให้เกิดวุ้นที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน เมื่อครบกำหนดจึงแยกวุ้นออก แล้วนำสารละลายที่ได้เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์สำหรับใช้ในการทดลองเปรียบเทียบสภาวะต่างๆ ในกระบวนการหมัก [6]

2.4 การเตรียมอาหารสำหรับกระบวนการหมัก

เตรียมอาหารที่ใช้ในการหมักจากเนื้อมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยนำเนื้อมะม่วงที่หั่นเป็นชิ้นขนาดลูกเต๋าแล้วมาเติมน้ำกลั่นลงไปในอัตราส่วนเนื้อมะม่วงต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1:10 แล้วมาปั่นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น จากนั้นนำสารละลายเนื้อมะม่วงมากรองผ่านผ้าขาวบางเพื่อแยกตะกอน สารละลายน้ำมะม่วงที่ได้นำไปศึกษาการหมักเพื่อผลิตวุ้นมะม่วงด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ในสภาวะต่างๆ

2.5 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วง

2.5.1 การศึกษาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total Soluble Solid; TSS)

นำสารละลายน้ำมะม่วงปริมาตร 150 มิลลิลิตร ในโหลแก้วกลมขนาด 500 มิลลิลิตรมาปรับค่า pH ให้ได้ 4.0 ด้วยกรดแอซิติก [6] จากนั้นปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในแต่ละชุดทดลอง โดยการเติมซูโครสให้ได้เท่ากับ 8, 10, 12, และ 14 ^{o}Brix แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บรรยากาศ เป็นเวลา 15 นาที ด้วยถังความดันฆ่าเชื้อแบบเคลื่อน

ย้ายได้ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และหัวเชื้อ *A.xylinum* TISTR 975 ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปิดปากขวดโหลด้วยสำลี หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน [7] จากนั้นเก็บแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา

2.5.2 การศึกษาความเป็นกรด-ด่าง (pH)

นำสารละลายน้ำมะม่วงปริมาตร 150 มิลลิลิตร จากข้อ 2.4 ที่ผ่านการปรับให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่เหมาะสมจากข้อ 2.5.1 ถ่ายลงในโหลแก้วกลมขนาด 500 มิลลิลิตร จำนวน 3 ชุด และนำแต่ละชุดมาปรับค่า pH ให้ได้เท่ากับ 3.0, 3.5, และ 4.0 ด้วยกรดแอซิติก [6] จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บรรยากาศ เป็นเวลา 15 นาที ด้วยถังความดันฆ่าเชื้อแบบเคลื่อนย้ายได้ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แล้วจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในอาหาร ปิดปากขวดโหลด้วยสำลี หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน [7] เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา

2.5.3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต

นำสารละลายน้ำมะม่วงปริมาตร 150 มิลลิลิตร ที่ผ่านการปรับให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้และค่า pH ที่เหมาะสมจากข้อ 2.5.1 และ 2.5.2 ตามลำดับไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บรรยากาศ เป็นเวลา 15 นาที ด้วยถังความดันฆ่าเชื้อแบบเคลื่อนย้ายได้ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสจากนั้นเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในแต่ละชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0, 0.3, 0.5, และ 0.7 (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วถ่ายหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ลงในสารละลายน้ำมะม่วงของแต่ละชุดทดลอง ปิดปากขวดโหลด้วยสำลีเพื่อทำการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน [7] เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา

2.5.4 การศึกษาปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975

นำสารละลายน้ำมะม่วงปริมาตร 150 มิลลิลิตร ที่ผ่านการปรับให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้และค่า pH ที่เหมาะสมจากข้อ 2.5.1 และ 2.5.2 ตามลำดับไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 1 บรรยากาศเป็นเวลา 15 นาที ด้วยถังความดันฆ่าเชื้อแบบเคลื่อนย้ายได้ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสแล้วจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นที่เหมาะสมที่สุดจากข้อ 2.5.3 จากนั้นถ่ายหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 ลงไปในอาหารแต่ละชุดทดลองให้ได้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, และ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ปิดปากขวดโหลด้วยสำลีเพื่อทำการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน [7] เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา

2.6 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิม

2.6.1 การเตรียมตัวอย่างวุ้นในโยเกิร์ต

นำวุ้นที่ได้จากการหมักด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ในน้ำมะม่วง 3 สายพันธุ์ ได้แก่ น้ำดอกไม้ มหาชนก และโชคอนันต์ เป็นเวลา 10 วัน [7] โดยใช้สภาวะการหมักที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการทดลองในข้อ 2.5.1-2.5.4 มาล้างด้วยน้ำสะอาดจำนวน 2 ครั้งเพื่อชะล้างกรดแอซิติกที่ติดมากับวุ้น จากนั้นหั่นวุ้นให้มีขนาดเท่าลูกเต๋าแล้วนำไปแช่ในน้ำสะอาดเป็นเวลา 24 ชั่วโมง โดยเปลี่ยนน้ำทุก 12 ชั่วโมง เพื่อกำจัดรสเปรี้ยวเนื่องมาจากกรดแอซิติกที่ตกค้างอยู่ [11] เติมวุ้นลงในโยเกิร์ตรสธรรมชาติสำหรับนำไปให้ผู้ทดสอบชิมประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

2.6.2 การทดสอบชิมวุ้นในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ

ใช้วิธีการประเมินแบบ Hedonic nine point scale ใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 30 คน

โดยมีเพศชาย 15 คนและเพศหญิง 15 คน การประเมินคุณภาพได้เปรียบเทียบระหว่างชุดทดลองทั้ง 3 ชุด ซึ่งแบ่งลักษณะที่ใช้ประเมินวุ้นในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ ออกเป็น 6 ลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม

2.7 การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

วางแผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (completely randomized design; CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยโดยวิธี Turkey’s test ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ $P \leq 0.05$ โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS V.16

3. ผลการทดลองและอภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบสภาวะต่างๆ ที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ โดยการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 975 เพื่อคัดเลือกสภาวะที่ดีที่สุดจากน้ำหนักและความหนาของแผ่นวุ้นที่ผลิตได้ มาใช้ในการหมักเพื่อผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์ แล้วจึงนำแผ่นวุ้นที่ผลิตได้จากน้ำมะม่วงทั้ง 3 สายพันธุ์ (น้ำดอกไม้ มหาชนก และโชคอนันต์) มาทดสอบทางประสาทสัมผัส

3.1 การศึกษาเปรียบเทียบสภาวะต่างๆ ที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วง

การผลิตวุ้นจากการหมักด้วยจุลินทรีย์สายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 975 จากน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ภายใต้สภาวะต่างๆ ที่ต้องการศึกษา ได้แก่ ระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ค่า pH ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และระดับความเข้มข้นของปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* โดยเปรียบเทียบสภาวะต่างๆ นี้ จากการวิเคราะห์ค่าน้ำหนักและความหนาของแผ่นวุ้น ซึ่งผลการทดลองดังมีรายละเอียดต่อไปนี้

3.1.1 การศึกษาระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total Soluble Solid, TSS)

จากการศึกษาระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้โดยปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยการเจือจางน้ำมะม่วงด้วยน้ำกลั่นหรือเติมน้ำตาลซูโครสให้อยู่ในระดับต่างๆ ได้แก่ 8, 10, 12 และ 14 ^{o}Brix ซึ่งคำนวณโดยใช้วิธีเพียร์สัน สแควร์ (Pearson's square method) จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *A. xylinum* TISTR 975 ที่อุณหภูมิห้อง (25-30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วันพบว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงที่ผ่านการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ให้เท่ากับ 8 ^{o}Brix วิเคราะห์น้ำหนักและระดับความหนาของวุ้นได้สูงสุดเท่ากับ 44.39 ± 1.77 กรัม และ 5.64 ± 0.28 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับ 10 และ 12 ^{o}Brix (ตารางที่ 1) นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำหนักและระดับความหนาของวุ้นลดลงตามระดับการเพิ่มขึ้นของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ โดยที่ระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 14 ^{o}Brix วิเคราะห์น้ำหนักและระดับความหนาของวุ้นได้ค่อนข้างต่ำ (30.46 ± 1.85 กรัม และ 3.49 ± 0.57 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับวุ้นที่ผลิตได้จากน้ำมะม่วงที่ผ่านการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ให้เท่ากับ 8 ^{o}Brix ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Hameed และคณะ [15] ที่ใช้อินทผลัมสกัดในรูปน้ำเชื่อมซึ่งมีองค์ประกอบของซูโครสในปริมาณสูง (ร้อยละ 32-45 ของน้ำหนักผล) โดยใช้เป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* เพื่อผลิตเซลลูโลสโดยเปรียบเทียบอินทผลัมที่สกัดในรูปน้ำเชื่อมในระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 1, 2, 3, 4, และ 5 ผลการทดลองพบว่าที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 2 ผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดเท่ากับ 7.8 กรัมต่อลิตร ภายหลังการหมักเป็นเวลา 1 สัปดาห์ ที่ค่า pH เท่ากับ 7 อุณหภูมิ 30 องสาเซลเซียสและที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น (ร้อยละ 3-5) พบว่าปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง ซึ่งอาจจะเป็นผลของการเพิ่มขึ้นของกรดกลูโคนิกและกรดแอซิติกจึงทำให้ค่า pH ของอาหารลดลง และทำให้การผลิตเซลลูโลสลดลงด้วยเช่นกัน [16]

ตารางที่ 1 ผลของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (°Brix) ต่อการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (°Brix)	น้ำหนักวุ้น (กรัม)		ความหนาของวุ้น (มิลลิเมตร)	
8	44.39 ± 1.77	A	5.64 ± 0.28	A
10	40.99 ± 1.07	A	4.92 ± 0.27	AB
12	38.23 ± 1.42	AB	4.19 ± 0.29	AB
14	30.46 ± 1.85	B	3.49 ± 0.57	B

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน

: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้งของแต่ละชุดทดลองที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.1.2 การศึกษาระดับระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากการศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงที่ปรับให้มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 8 °Brix โดยเปรียบเทียบค่า pH ซึ่งปรับด้วยกรดแอซิติกให้อยู่ในระดับต่างๆ ได้แก่ 3.0, 3.5, และ 4.0 ภายหลังการหมักด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน พบว่า *A. xylinum* TISTR 975 สามารถผลิตวุ้นได้มากที่สุดที่ pH เท่ากับ 4.0 โดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาของวุ้นได้เท่ากับ 35.05 ± 0.17 กรัม และ 4.65 ± 0.05 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2) โดยน้ำหนักวุ้นที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักในน้ำมะม่วงมีค่า pH เท่ากับ 3.0 (28.87 ± 0.41 กรัม และ 3.40 ± 0.03 มิลลิเมตร) และ 3.5 (30.66 ± 0.04 กรัม และ 4.35 ± 0.05 มิลลิเมตร) สอดคล้องกับผลการทดลองของ Jagannath และคณะ [11] ที่เปรียบเทียบสภาวะที่ใช้ในการผลิตวุ้นในน้ำมะพร้าวระหว่างค่า pH เท่ากับ 3.5 และ 4.0 โดยผลการทดลองพบว่าสภาวะการหมักที่ประกอบไปด้วยซูโครสความเข้มข้นร้อยละ 15 แอมโมเนียมซัลเฟตความเข้มข้นร้อยละ 0.25 และปรับค่า pH ของน้ำมะพร้าวด้วยกรดแอซิติกเท่ากับ 4.5 วิเคราะห์ความหนาของวุ้นได้เท่ากับ 5.10 ± 0.10 มิลลิเมตร ซึ่งค่าที่ได้สูงกว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะพร้าวที่ปรับค่า pH เท่ากับ 3.5 (1.00 ± 0 มิลลิเมตร) เนื่องจากค่า pH ของกระบวนการหมักถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการผลิตวุ้นซึ่ง *A. xylinum* จะผลิตกรดในระหว่างการหมักเช่นเดียวกับการหมักด้วย Bacillus sp. ในแหล่งอาหารที่มีเปลือกซังข้าวโพดเป็นแหล่งคาร์บอนซึ่งตรวจพบปริมาณกรดแอซิติกสูงถึง 5.02 มิลลิโมลาร์ [17] จึงทำให้ปริมาณกรดเพิ่มมากขึ้นและค่า pH ลดลงและส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ผลิตเซลลูโลส [6,7] โดย Raghunathan [18] กล่าวว่าค่า pH ที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสอยู่ในช่วง 4-6 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xylinum* และที่ค่า pH ของอาหารต่ำกว่า 4 จะให้ปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง และ Verschuren และคณะ [19] ยังรายงานว่ากระบวนการหมักที่ปรับค่า pH เท่ากับ 4 เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xylinum* ในสภาวะการเลี้ยงแบบตั้งนิ่ง ทั้งนี้ค่า pH ของอาหารอาจจะลดลงเนื่องจากการผลิตกรดกลูโคนิก กรดแอซิติกและกรดแลคติกในระหว่างกระบวนการหมัก จากตารางที่ 1 แสดงให้เห็นว่าการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้สูงสุด (14 °Brix) อาจจะทำให้จุลินทรีย์ผลิตกรดกลูโคนิกปริมาณมาก และทำให้ค่า pH ของอาหารลดลง ส่งผลให้การผลิตวุ้นลดลงด้วยเช่นกัน (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 ผลของค่า pH ต่อการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

ค่า pH	น้ำหนักวุ้น (กรัม)		ความหนาของวุ้น (มิลลิเมตร)	
3.0	28.87 ± 0.41	C	3.40 ± 0.03	C
3.5	30.66 ± 0.04	B	4.35 ± 0.05	B
4.0	35.05 ± 0.17	A	4.65 ± 0.05	A

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้งของแต่ละชุดทดลองที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.1.3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต

การเปรียบเทียบปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตในสารละลายน้ำมะม่วงที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม), 0.3, 0.5, และ 0.7 (มวลต่อปริมาตร) ที่มีผลต่อการผลิตวุ้น ผลการศึกษาพบว่า กระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ในสารละลายน้ำมะม่วงที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (มวลต่อปริมาตร) ผลิตวุ้นได้สูงสุด โดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาของวุ้นได้เท่ากับ 42.56 ± 0.54 กรัม และ 4.66 ± 0.09 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 3) ซึ่งมากกว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในสารละลายน้ำมะม่วงซึ่งเติมแอมโมเนียมซัลเฟตระดับความเข้มข้นร้อยละ 0 และ 0.3 (มวลต่อปริมาตร) อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$) Panesar และคณะ [20] กล่าวว่าการเติมสารประกอบไนโตรเจนในการหมักช่วยเร่งการผลิตวุ้นให้หนาในระยะเวลาสั้น โดยทั่วไปแหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้คือแอมโมเนียมซัลเฟตในช่วงระดับความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 0.5-0.6

ตารางที่ 3 ผลของระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร) ต่อการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)	น้ำหนักวุ้น (กรัม)		ความหนาของวุ้น (มิลลิเมตร)	
0 (ชุดควบคุม)	12.06 ± 0.41	C	1.01 ± 0.03	C
0.3	21.66 ± 0.60	B	3.12 ± 0.02	B
0.5	42.56 ± 0.54	A	4.66 ± 0.09	A
0.7	40.46 ± 0.61	A	4.42 ± 0.06	A

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้งของแต่ละชุดทดลองที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

นอกจากนี้ที่ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตสูงขึ้นเท่ากับร้อยละ 0.7 (มวลต่อปริมาตร) ปริมาณการผลิตวุ้นลดลงโดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาของวุ้นได้เท่ากับ 40.46 ± 0.61 กรัม และ 4.42 ± 0.06 มิลลิเมตร ตามลำดับอย่างไรก็ตามปริมาณการผลิตวุ้นที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 และ 0.7 ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P>0.05$) ทั้งนี้ผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับผลของ Jagannath และคณะ [11] ที่หมัก

A. xylinum NCIM 2526 ในน้ำมะพร้าวโดยเติมซูโครสและแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 และ 0.5 (มวลต่อปริมาตร) ตามลำดับ และปรับค่า pH ให้ได้เท่ากับ 4 สามารถผลิตวุ้นได้ความหนาเท่ากับ 8.6 ± 0.51 มิลลิเมตรซึ่งสูงกว่าสภาวะการหมักที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้นเท่ากับร้อยละ 0.92 (มวลต่อปริมาตร) โดยวิเคราะห์ปริมาณวุ้นได้ลดลงเท่ากับ 7.4 ± 0.53 มิลลิเมตร ตามลำดับ ทั้งนี้อาจจะเป็นผลมาจากปริมาณไนโตรเจนบางส่วนถูกนำไปใช้สำหรับกระบวนการเมแทบอลิซึมภายในเซลล์ [16] ดังนั้นระดับความเข้มข้นของแหล่งของไนโตรเจนที่เพิ่มขึ้นอาจถูกนำไปใช้ในการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ จึงส่งผลให้การใช้ไนโตรเจนเพื่อผลิตเซลลูโลสลดลง ซึ่งจากการวิเคราะห์มวลชีวภาพแห้งของแบคทีเรียยังพบว่ามีปริมาณโปรตีนมากถึงร้อยละ 8-14 [16, 21]

3.1.4 การศึกษาปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975

จากการศึกษาผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้ในระดับต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 5, 10 และ15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดด้วยซูโครสให้เท่ากับ 8 ^{o}Brix และปรับค่า pH ของแหล่งอาหารด้วยกรดแอซิติกให้มีค่าเท่ากับ 4.0 แล้วจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตให้มีระดับความเข้มร้อยละ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ผลการทดลองภายหลังการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วันพบว่าปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 เริ่มต้นมีผลต่อการสร้างแผ่นวุ้นจากสารละลายน้ำมะม่วง โดยน้ำหนักและความหนาของแผ่นวุ้นเพิ่มสูงขึ้นตามระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อจุลินทรีย์ โดยที่ระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 ร้อยละ 15 (ปริมาตรต่อปริมาตร) วิเคราะห์น้ำหนักและความหนาของแผ่นวุ้นได้สูงสุดเท่ากับ 44.38 ± 0.43 กรัม และ 5.32 ± 0.11 มิลลิเมตร ตามลำดับ ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P>0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับการเติมหัวเชื้อที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาของแผ่นวุ้นได้เท่ากับ 43.83 ± 0.51 กรัม และ 5.05 ± 0.09 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 4) ดังนั้น ระดับความเข้มข้นหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) เหมาะสมในการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับ Zahan และคณะ [21] ที่รายงานว่าระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสจากแบคทีเรียภายหลังการหมักเป็นเวลา 4 วัน คือ ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และที่ระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อต่ำ (ต่ำกว่าร้อยละ 3 (ปริมาตรต่อปริมาตร)) หรือที่ระดับความเข้มข้นสูง (มากกว่าร้อยละ 20 (ปริมาตรต่อปริมาตร)) ส่งผลให้ปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง อย่างไรก็ตาม ผลการทดลองที่ได้ แตกต่างจากการรายงานของ Rangaswamy และคณะ [22] ซึ่งเปรียบเทียบการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสด้วยปริมาณของจุลินทรีย์เริ่มต้นที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ ในช่วงร้อยละ 1 - 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ผลการทดลองพบว่าจุลินทรีย์สามารถผลิตเซลลูโลสได้สูงสุดเท่ากับ 2.5 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้ความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) และที่ระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นที่สูงและต่ำกว่าค่านี้มีผลทำให้ปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง

ตารางที่ 4 ผลของระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 (ร้อยละโดยปริมาตรต่อปริมาตร) ต่อการผลิตวุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้

ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (ร้อยละโดยมวลต่อปริมาตร)	น้ำหนักวุ้น (กรัม)	ความหนาของวุ้น (มิลลิเมตร)
0 (ชุดควบคุม)	12.06 ± 0.41 C	1.01 ± 0.03 C
0.3	21.66 ± 0.60 B	3.12 ± 0.02 B
0.5	42.56 ± 0.54 A	4.66 ± 0.09 A
0.7	40.46 ± 0.61 A	4.42 ± 0.06 A

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้งของแต่ละชุดทดลองที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบชิมวุ้นในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ

การทดสอบการยอมรับวุ้นในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ โดยเป็นวุ้นที่ผ่านกระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์ต่างๆ ได้แก่ น้ำดอกไม้ มหาชนก และโชคอนันต์ ซึ่งใช้สภาวะการหมักที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากการทดลองในข้อ 3.1 คือ ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดด้วยซูโครสให้เท่ากับ 8 °Brix และค่า pH เท่ากับ 4.0 ปรับระดับความเข้มข้นแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับร้อยละ 0.5 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และระดับความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นนำวุ้นที่ผลิตได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์ต่างๆ เป็นเวลา 10 วัน มาเติมลงในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ เพื่อทำการเปรียบเทียบการยอมรับของผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 จากการประเมิน 6 ลักษณะ คือ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม และใช้วิธีทดสอบแบบ Hedonic nine point scale สำหรับผลการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสดังแสดงในตารางที่ 5

ตารางที่ 5 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วง 3 สายพันธุ์ในโยเกิร์ตรสธรรมชาติ

คุณภาพที่ใช้ประเมิน	การทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส			ค่าเฉลี่ยของทั้งสามชุดการทดลอง
	วุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้	วุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์มหาชนก	วุ้นจากน้ำมะม่วงพันธุ์โชคอนันต์	
1. ลักษณะปรากฏ	7.20 ± 0.19 A	5.83 ± 0.16 A	5.87 ± 0.18 B	6.30
2. สี	5.47 ± 0.15 ns	5.40 ± 0.14 ns	5.53 ± 0.16 ns	5.47
3. กลิ่น	7.37 ± 0.16 A	6.23 ± 0.18 B	5.10 ± 0.12 C	6.23
4. รสชาติ	7.10 ± 0.12 A	5.80 ± 0.13 B	5.43 ± 0.19 B	6.11
5. เนื้อสัมผัส	6.97 ± 0.23 A	6.60 ± 0.12 A	4.93 ± 0.17 B	6.17
6. ความชอบโดยรวม	7.77 ± 0.11 A	6.03 ± 0.13 B	5.17 ± 0.22 C	6.32

หมายเหตุ : ข้อมูลแสดงเป็นค่าเฉลี่ย ± ความคลาดเคลื่อนมาตรฐาน
: ตัวอักษรภาษาอังกฤษตัวพิมพ์ใหญ่ที่กำกับค่าของข้อมูลตามแนวตั้งของแต่ละชุดทดลองที่แตกต่างกัน แสดงว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%
: ns = ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

3.2.1 ลักษณะปรากฏ

ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนลักษณะปรากฏโดยให้คะแนนวุ้นจากน้ำมะม่วงสุกพันธุ์น้ำดอกไม้เฉลี่ยเท่ากับ 7.20 ± 0.19 ซึ่งมากกว่าวุ้นที่ได้จากน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์ซึ่งได้คะแนนเท่ากับ 5.83 ± 0.16และ 5.87 ± 0.18 ตามลำดับ โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ของเนื้อมะม่วงมีผลต่อลักษณะปรากฏของวุ้น

3.2.2 สี

ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบที่มีต่อลักษณะสีขาวขุ่นของวุ้นจากน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ มหาชนก และโชคอนันต์ ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

(P>0.05) โดยให้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 5.47 ± 0.15, 5.40 ± 0.14 และ 5.53 ± 0.16 ตามลำดับ แสดงว่าสายพันธุ์ของเนื้อมะม่วงไม่มีผลต่อสีของวุ้น แม้ว่าระดับความเข้มสีเหลืองของน้ำมะม่วงที่ใช้ในการหมักด้วย *A. xylinum* จะแตกต่างกัน แต่สีของวุ้นที่ผลิตได้ยังคงเป็นสีขาวขุ่นเหมือนกันในทุกชุดทดลอง โดยผู้ประเมินไม่สามารถแยกแยะความแตกต่างได้

3.2.3 กลิ่น

ผู้ประเมินให้คะแนนความชอบต่อกลิ่นของวุ้นจากน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้สูงสุดโดยมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 7.37 ± 0.16 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับวุ้นที่ได้จากน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์ โดยผู้ประเมินให้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 6.23 ± 0.18 และ 5.10 ± 0.12 ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าสายพันธุ์ของน้ำมะม่วงที่ใช้ในการหมักมีผลต่อกลิ่นของวุ้น โดยผู้ทดสอบชิมมีความชอบกลิ่นของวุ้นจากน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้มากที่สุด รองลงมาคือวุ้นจากสายพันธุ์มหาชนก ทั้งนี้ผู้ประเมินให้คะแนนความชอบวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสายพันธุ์โชคอนันต์ในระดับต่ำสุด

3.2.4 รสชาติ

ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนผลการประเมินความชอบต่อรสชาติของวุ้นจากน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้สูงสุดโดยมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 7.10 ± 0.12 ซึ่งมากกว่าวุ้นที่ได้จากน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์ (5.80 ± 0.13 และ 5.43 ± 0.19 ตามลำดับ) โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05) แสดงว่าผู้ทดสอบชิมมีความชอบรสชาติของวุ้นจากน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้มากที่สุด อย่างไรก็ตาม ผู้ทดสอบชิมไม่สามารถแยกความแตกต่างด้านรสชาติของวุ้นจากน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์ได้

3.2.5 เนื้อสัมผัส

ผู้ทดสอบชิมให้คะแนนเฉลี่ยความชอบทางด้านเนื้อสัมผัสของวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้ (6.97 ± 0.23) และมหาชนก (6.60 ± 0.12) ซึ่งมากกว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์โชคอนันต์ (4.93 ± 0.17) โดยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ทั้งนี้อาจเป็นผลมาจากคุณภาพของเซลลูโลสที่ผลิตได้แตกต่างกันในน้ำมะม่วงแต่ละสายพันธุ์

3.2.6 ความชอบโดยรวม

การเปรียบเทียบคะแนนความชอบโดยรวมระหว่างวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วง 3 สายพันธุ์ พบว่าผู้ประเมินให้คะแนนความชอบโดยรวมของวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้สูงสุด โดยมีคะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 7.77 ± 0.11 ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ (P≤0.05) เมื่อเปรียบเทียบกับคะแนนการประเมินวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์ โดยผู้ประเมินให้คะแนนเฉลี่ยเท่ากับ 6.03 ± 0.13 และ 5.17 ± 0.22 ตามลำดับ ซึ่งวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้และมหาชนกได้คะแนนเฉลี่ยมากกว่า 6 แสดงว่าวุ้นทั้ง 2 ชุดทดลองนี้เป็นที่ยอมรับของผู้ทดสอบชิม

4. สรุปผลการทดลอง

การผลิตวุ้นจากกระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ในสารละลายน้ำมะม่วงสายพันธุ์น้ำดอกไม้ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมของสารละลายน้ำมะม่วงสุกที่ปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 8 °Brix ค่า pH เท่ากับ 4.0 ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับร้อยละ 0.5 (มวลต่อปริมาตร) และใช้ระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ภายหลังการหมักเป็นเวลา 10 วัน สามารถผลิตวุ้นได้สูงสุดโดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาได้เท่ากับ 43.83 ± 0.51 กรัม และ 5.05 ± 0.09 มิลลิเมตร ตามลำดับ นอกจากนี้ ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของวุ้นในโยเกิร์ตรสธรรมชาติยังพบว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้ด้วยสภาวะที่เหมาะสมดังกล่าว ได้รับการยอมรับจากผู้ทดสอบชิม โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 7.77 ± 0.11 ซึ่งมากกว่าคะแนนของวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์มหาชนกและโชคอนันต์

5. กิตติกรรมประกาศ

ทีมงานวิจัย ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏกำแพงเพชร ที่ได้สนับสนุนทุนวิจัยในครั้งนี้ และขอขอบคุณโปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี ที่ให้ความอนุเคราะห์และอำนวยความสะดวกในการใช้เครื่องมือและอุปกรณ์ในการทำงานวิจัยนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

6. เอกสารอ้างอิง

1. Shoda, M. and Sugano, Y., 2005, "Recent Advances in Bacterial Cellulose Production," *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10, pp. 1-8.

2. Kulapichitr, F., Nitithamyong, A. and Kosulwat, S., 2015, "Extraction of Dietary Fiber from Corn Silk (Zea mays) and Its application in Food Products," *KMUTT Research and Development Journal*, 38, pp. 19-34.

3. Halib, N., Amin, M.C.I.M. and Ahmad, I., 2012, "Physicochemical Properties and Characterization of Nata De Cocofrom Local Food Industries as a Source of Cellulose," *Sains Malaysiana*, 41, pp. 205-211.

4. Pimdee, P., 2016, "Green Consumption Behaviors of Students: Confirmatory Factor Analysis," *KMUTT Research and Development Journal*, 39, pp. 317-326.

5. Amir, M.F.F.B., 2013, "Effect of Different Additives on the Production of Bacterial Cellulose from Pineapple Waste," *Bachelor of Chemical Engineering (Biotechnology)*, University Malaysia Pahang.

6. Lestari, P., Elfrida, N., Suryani, A. and Suryadi, Y., 2014, "Study on the Production of Bacterial Cellulose from *Acetobacter xylinum* Using Agro-Waste," *Jordan Journal of Biological Sciences*, 7, pp. 75-80.

7. Boonpan, A., Pongswat, S. and Khampha, C., 2009, "A Study on the Optimum Condition for Nata Production from Molasses," *Proceedings of 48th Kasetsart University Annual Conference*, Thailand, pp. 547-554. (In Thai)

8. Phattayakorn, K., Prommakool, A. and Saveboworn, W., 2015, "Characterization of Bacterial Cellulose (Nata De Coco) from Pitaya," *Khon Kaen Agriculture Journal*, 43, pp. 917-921.

9. Coban, E.P. and Biyik, H., 2011, "Evaluation of Different ph and Temperatures for Bacterial Cellulose Production in HS (Hestrin-Scharmm) Medium and Beet Molasses Medium," *African Journal of Microbiology Research*, 5, pp. 1037-1045.

10. Yodsuwan, N., Owatworakit, A., Ngaokla, A., Tawichai, N. and Soykeabkaew, N., 2012, "Effect of Carbon and Nitrogen Sources on Bacterial Cellulose Production for Bionanocomposite Materials," *Proceedings of 1st Mae Fah Luang University International Conference*, pp. 1-6.

11. Jagannath, A., Kalaiselvan, A., Manjunatha, S.S., Raju, P.S. and Bawa, A.S., 2008, "The Effect of pH, Sucrose and Ammonium Sulphate Concentrations on the Production of Bacterial Cellulose (Nata De Coco) by *Acetobacter xylinum," World Journal of Microbiology and Biotechnology*, 24, pp. 2593-2599.

12. Kurosumi, A., Sasaki, C., Yamashita, Y., Nakamura, Y. and Kurosumi, K., 2009, "Utilization of Various Fruit Juices as Carbon Source for Production of Bacterial Cellulose by *Acetobacter xylinum* NBRC 13693," *Carbohydrate Polymers*, 76, pp. 333-335.

13. Reddy, K.V. and Kumar, P., 2010, "An Economic Appraisal of Mango Processing Plants of Chittoor District in Andhra Pradesh," *Indian Journal of Agricultural Economics*, 65, pp. 277-296.

14. Tangtua, J., Leksawasdi, N. and Rattanapanone, N., 2014, "Quality Changes in Ripened Mango and Litchi Flesh After Cryogenic Freezing and During Storage," *Chiang Mai University Journal of Natural of Sciences*, 13, pp. 281-296.

15. Hameed, N.D., Al-Jailawi, M.H. and Jasim, H.M., 2012, "Enhancement and Optimization of Cellulose Production by *Gluconacetobacter xylinus*N2," *Scientific Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, 13, pp. 77-89.

16. Chawla, P.R., Ishwar, B.B., Survase, S.A. and Singhal, R.S., 2009, "Microbial Cellulose: Fermentative Production and Applications," *Food Technology and Biotechnology*, 47, pp.107-124.

17. Srinang, T., Tachaapaikoon, C., Kyu, K.L., Ratanakhanokchai, K. and Lee, Y.S., 2008, "Fermented Products of Bacillus sp. Strain TW-1 Grown on Corn Hull Medium under Limited Oxygen Condition," *KMUTT Research and Development Journal*, 31, pp. 291-304.

18. Raghunathan, D., 2013, "Production of Microbial Cellulose from the New Bacterial Strain Isolated from Temple Wash Waters," *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, 2, pp. 275-290.

19. Verschuren, P.G., Carodona, T.D., Nout, M.J.R., de Gooijer, K.D. and Van den Heuvel, J.C., 2000, "Location and Limitation of Cellulose Production By *Acetobacter xylinum* Established from Oxygen Profiles," *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 89, pp. 414-419.

20. Panesar, P.S., Chavan, Y.V., Bera, M.B., Chand, O. and Kumar, H., 2009, "Evaluation of *Acetobacter*Strain for the Production of Microbial Cellulose," *Asian Journal of Chemistry*, 21, pp. 99-102.

21. Zahan, K.A., Pae, N. and Muhamad, I.I., 2014, "Process Parameters for Fermentation in a Rotary Disc Reactor for Optimum Microbial Cellulose Production Using Response Surface Methodology," *Bio Resources*, 9, pp. 1858-1872.

22. Rangaswamy, B.E., Vanitha, K.P. and Hungund, B.S., 2015, "Microbial Cellulose Production from Bacteria Isolated from Rotten Fruit," *International Journal of Polymer Science*, 2, pp. 1-8.