บทความวิจัย

การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสจากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ

จตุพัฒน์ สมัปปิโต* ปิยวรรณ บุญฉลาด และ อรวรรณ แตบไธสง
สาขาวิชานวัตกรรมอาหารและแปรรูป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์

* ผู้นิพนธ์ประสานงาน โทรศัพท์ 08 6715 2096 อีเมล: jatupat.sa@bru.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2022.09.013
รับเมื่อ 6 พฤษภาคม 2564 แก้ไขเมื่อ 22 มิถุนายน 2564 ตอบรับเมื่อ 1 กรกฎาคม 2564 เผยแพร่ออนไลน์ 19 กันยายน 2565
© 2022 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำมาประยุกต์เป็นสารตั้งต้นสำหรับผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักคือ อัตราส่วนในการเตรียมสารละลายข้าวหมาก ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต และความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้น เพื่อให้สามารถผลิตวุ้นสวรรค์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ ผลการวิจัยพบว่า สภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักด้วย *A. xylinum* ในสารละลายข้าวหมาก คือ สารละลายข้าวหมากที่เตรียมจากข้าวหมาก : น้ำกลั่น (1 : 2) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 10 °Brix ค่าความเป็นกรด-ด่างเท่ากับ 4.0 ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.3 (มวลต่อปริมาตร) และความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) สามารถผลิตวุ้นได้ปริมาณสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการหมักอื่นๆ ซึ่งมีน้ำหนักและความหนาเท่ากับ 90.15 ± 1.17 กรัม และ 14.87 ± 2.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ การประเมินคุณสมบัติเนื้อสัมผัสแสดงให้เห็นว่าวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากการมีค่าทนต่อการเคี้ยวน้อยกว่าวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว ส่วนคุณภาพด้านสีของผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) และประเมินคุณสมบัติด้านประสาทสัมผัสของวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากและวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว โดยผู้ทดสอบชิม 30 คน พบว่า มีค่าความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมไม่แตกต่างกัน ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำสามารถใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นที่มีประสิทธิภาพสำหรับการผลิตวุ้นสวรรค์ และเป็นแนวทางหนึ่งที่น่าสนใจในการสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับวัตถุดิบในท้องถิ่น

คำสำคัญ: ปลายข้าว ข้าวเหนียวดำ ข้าวหมาก วุ้นสวรรค์ *Acetobacter xylinum*

การอ้างอิงบทความ: จตุพัฒน์ สมัปปิโต, ปิยวรรณ บุญฉลาด และ อรวรรณ แตบไธสง, "การผลิตแบคทีเรียเซลลูโลสจากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ," *วารสารวิชาการพระจอมเกล้าพระนครเหนือ*, 2565, doi: 10.14416/j.kmutnb.2022.09.013.

Research Article

The Production of Bacterial Cellulose from Sweet Fermented Broken Black Glutinous Rice

Jatupat Samappito*, Piyawan Boonchalad and Orawan Tabthaisong
Department of Food Innovation and Processing, Faculty of Science, Buriram Rajabhat University, Buri Ram, Thailand

* Corresponding Author, Tel. 08 6715 2096, E–mail: jatupat.sa@bru.ac.th DOI: 10.14416/j.kmutnb.2022.09.013
Received 6 May 2021; Revised 22 June 2021; Accepted 1 July 2021; Published online: 19 September 2022
© 2022 King Mongkut's University of Technology North Bangkok. All Rights Reserved.

Abstract

This research aimed to use sweet fermented broken black glutinous rice (Khao-Mak) as a substrate for bacterial cellulose (BC) production by *Acetobacter xylinum*. The optimum fermented conditions included Khao-Mak solution preparation, total soluble solid, pH, ammonium sulfate, and starter culture concentration for the production of bacterial cellulose from *A. xylinum*. The results showed that the optimum condition for the fermentation by *A. xylinum* in Khao-Mak solution were the ratio of Khao-Mak solution to distilled water at 1 : 2, the total soluble solid content of 10 °Brix, pH 4.0, 0.3% (w/v) ammonium sulphate, and 5% (v/v) of *A. xylinum* starter. The maximum weight and thickness of bacterial cellulose produced at the optimum condition were 90.15 ± 1.17 g and 14.87 ± 2.26 mm. respectively. When compared texture attribute, bacterial cellulose from Khao-Mak solution had significantly lower score ($p < 0.05$) of chewiness than that produced from coconut water. However, the color attribute was not significantly different in the bacterial cellulose of both raw materials. Sensory evaluation of BC from Khao-Mak solution and coconut juice was performed by a panel of 30 untrained sensory panels. It was found that there were no significant differences in appearance, color, odor, flavor, texture, and overall preferences. These results revealed that the sweet fermented broken black glutinous rice could be considered as one of the raw materials for the production of bacterial cellulose and an alternative for value added of local raw materials.

Keywords: Broken Rice, Black Glutinous Rice, Sweet Fermented Rice, Bacterial Cellulose, *Acetobacter xylinum*

Please cite this article in press as: J. Samappito, P. Boonchalad, and O. Tabthaisong, "The production of bacterial cellulose from sweet fermented broken black glutinous rice," *The Journal of KMUTNB*, 2022 (in Thai), doi: 10.14416/j.kmutnb.2022.09.013.

1. บทนำ

ข้าวเหนียวดำ (*Oryza sativa* L.) เป็นข้าวที่มีลักษณะเด่น คือเปลือกหุ้มเมล็ดเป็นสีแดงจนถึงสีม่วงเข้ม ข้าวเหนียวดำเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยสารพฤกษเคมี เช่น สารในกลุ่มฟลาโวนอยด์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งสารแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) สารดังกล่าวมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ นอกจากนี้ข้าวสีดำยังมีองค์ประกอบทางโภชนาการ เช่น เส้นใยอาหาร กรดไฟติก วิตามินอี และวิตามินบีที่สูงกว่าข้าวขัดสีอีกด้วย [1], [2] ปกติในกระบวนการสีข้าวจะเกิดผลพลอยได้ที่นอกเหนือจากแกลบ รำข้าว แล้วยังมีส่วนของปลายข้าว (Broken Rice) ออกมาด้วย ซึ่งในช่วงไม่กี่ปีที่ผ่านมาผลพลอยได้จากข้าวได้รับความสนใจเพิ่มมากขึ้นเพราะว่ายังคงมีสารอาหารที่มีประโยชน์ เช่น สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ วิตามิน แร่ธาตุ และไฟเบอร์ในปริมาณสูง [3], [4]

ข้าวหมากเป็นอาหารพื้นบ้านประเภทอาหารหวานของไทยที่มีมาแต่โบราณ มีลักษณะเป็นข้าวเหนียวหมักที่มีรสหวานให้กลิ่น และรสชาติที่พิเศษของแอลกอฮอล์และกรดแลคติก ข้าวหมากจะผลิตโดยการหมักข้าวเหนียวกับลูกแป้ง โดยลูกแป้งจะเป็นแหล่งของยีสต์ (*Saccharomyces cerevisiae* และ *Candida* species) และรา (*Aspergillus* species, *Rhizopus* species และ *Mucor* species) ซึ่งจะใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักข้าวหมาก [5] ลูกแป้งจากบางท้องถิ่นอาจพบแบคทีเรียกลุ่มสร้างกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) เช่น แบคทีเรีย *Pediococcus pentosaceus* และ *Lactobacillus* spp. [6] โดยราจะทำหน้าที่ในการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล ส่วนยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลบางส่วนให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ ในระหว่างกระบวนการหมักข้าวหมากจะมีแบคทีเรียกรดแลคติกสร้างกรดที่ทำให้ข้าวหมากมีรสเปรี้ยว และมีค่าความเป็นกรดด่างที่ต่ำลง ซึ่งการหมักเป็นกระบวนการที่ช่วยสลายโมเลกุลอินทรีย์ขนาดใหญ่ผ่านกิจกรรมของจุลินทรีย์ให้กลายเป็นสารที่มีโครงสร้างที่เล็กลง ตัวอย่างเช่น เอนไซม์จากยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลและแป้งเป็นแอลกอฮอล์ ในขณะที่โปรตีนถูกเปลี่ยนเป็นเปปไทด์หรือกรดอะมิโน [7]

วุ้นสวรรค์หรือแบคทีเรียเซลลูโลส (Bacterial Cellulose; BC) สำหรับอุตสาหกรรมอาหารเป็นที่รู้จักกันในชื่อ Nata de Coco ซึ่งผลิตมาจากการหมักน้ำมะพร้าวกับเชื้อ Acetic Acid Bacteria ส่วนที่นำมารับประทานคือ เส้นใยเซลลูโลสที่ลอยอยู่บนน้ำมะพร้าวที่ผสมกับน้ำส้มสายชูและแบคทีเรีย ปัจจุบันมีความต้องการสูงในตลาดเอเชียตะวันออก วุ้นสวรรค์เป็นโครงสร้างของเซลลูโลสที่ไม่สามารถย่อยได้ในลำไส้ของมนุษย์ ซึ่งได้รับการยอมรับว่าเป็นเซลลูโลสที่ปลอดภัย (Generally Recognized As Safe; GRAS) เนื่องจากคุณสมบัติด้านสุขภาพหลายประการ โดยเฉพาะอย่างยิ่งเกี่ยวกับโรคไม่ติดต่อ สามารถลดการเกิดอาการท้องผูก ริดสีดวงทวาร เบาหวาน ปรับปรุงการทำงานของลำไส้ ช่วยในการลดน้ำหนัก และป้องกันโรคหัวใจ [8] ปัจจุบันสามารถสังเคราะห์เซลลูโลสได้จากแบคทีเรียหลายสายพันธุ์ เช่น *Acetobacter*, *Rhizubium*, *Agrobacterium* และ Sarcina แต่สายพันธุ์ที่นิยมใช้มากที่สุด คือ *A. xylinum* เซลลูโลสที่ได้จากแบคทีเรียดังกล่าวจะมีสูตรโครงสร้างทางเคมีเหมือนกับเซลลูโลสจากพืช แต่มีความบริสุทธิ์สูงกว่า เส้นใยที่ได้จะมีขนาดเล็ก มีความเป็นผลึก มีน้ำหนักโมลุลสูง และอุ้มน้ำได้ดี [9] โดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter* สามารถเปลี่ยนน้ำตาล กลีเซอรอล หรือสารประกอบอินทรีย์อื่นๆ เป็นเซลลูโลสได้ [10] ในส่วนต้นทุนการผลิตของวุ้นสวรรค์ค่อนข้างสูง เนื่องจากอาหารในการเพาะเลี้ยงที่มีราคาแพงและต้องมีการเติมน้ำตาลกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งสารอาหารอื่นๆ ด้วย [11] เพื่อลดต้นทุนการผลิต วัตถุดิบที่เป็นแหล่งคาร์บอน และราคาไม่แพง เช่น น้ำเสียจากกระบวนการผลิตขนมจีน น้ำเสียจากกระบวนการแปรรูปสับปะรด เศษเนื้อจากซังข้าวโพด เปลือกมังคุด เปลือกกล้วย เปลือกเสาวรส น้ำสุมนไพร (กระชาย มะรุม ตะไคร้ ขิง) ผลปลังสุก น้ำมะม่วง น้ำฟักข้าว น้ำซาวข้าว น้ำตาลโตนด น้ำหวานต้นจาก และข้าวอินทรีย์ที่จำหน่ายไม่ได้ (ตกเกรด) กากน้ำตาล ถูกนำมาใช้ในกระบวนการหมักวุ้นสวรรค์

ทั้งนี้ ประสิทธิภาพในการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสโดยแบคทีเรียขึ้นอยู่กับปัจจัยที่หลากหลาย เช่น แหล่งอาหารคาร์บอนและไนโตรเจน ปริมาณออกซิเจน ค่าความเป็นกรด-ด่าง และระดับอุณหภูมิ ตัวอย่างการศึกษาสภาวะที่

เหมาะสมในการหมักวุ้นสวรรค์ เช่น การหมักวุ้นสวรรค์ด้วย *A. xylinum* TISTR 975 ในสารละลายน้ำมะม่วงสุกสายพันธุ์น้ำดอกไม้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักคือปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 8 °Brix ค่า pH เท่ากับ 4.0 ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 (มวลต่อปริมาตร) และระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) สามารถผลิตวุ้นได้ปริมาณสูงสุด [12] ในกรณีของการใช้ข้าวอินทรีย์เกรดต่ำ (ข้าวไรซ์เบอร์รี่ ข้าวกล้องหอมมะลิ ข้าวหอมมะลิ ข้าวหอมมะลิแดง และข้าวหอมนิล) เป็นสารตั้งต้นสำหรับการผลิตวุ้นสวรรค์ มีการย่อยตัวอย่างข้าวด้วยเอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส และกลูโคอะไมเลสก่อนเพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล แล้วปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 8 °Brix เติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.7 ค่าความเป็นกรด-ด่างเริ่มต้นเท่ากับ 5.0 และใช้หัวเชื้อร้อยละ 15 ทำการหมักด้วยเชื้อ *Komagatacibacter nataicola* TISTR 975 เป็นสภาวะที่เหมาะสมในการหมักที่ทำให้ได้น้ำหนักของวุ้นสวรรค์สูงที่สุด [8]

ดังนั้นนักวิจัยจึงได้พยายามคิดค้นการใช้วัตถุดิบต้นทุนต่ำ และปรับสภาวะการหมักให้เหมาะสมเพื่อการผลิตเซลลูโลสได้ในปริมาณสูง จากเหตุผลดังกล่าวจึงทำให้ผู้วิจัยมีแนวคิดที่จะนำปลายข้าวเหนียวดำที่เป็นผลพลอยได้การจากสีข้าวมาหมักให้เป็นข้าวหมากโดยจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักจะช่วยย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลและสารประกอบอื่นๆ เพื่อให้สามารถใช้เป็นแหล่งของสารอาหารและใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* ซึ่งคาดว่าผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์จากข้าวหมากที่ผลิตได้จะสามารถนำไปประยุกต์ใช้เป็นวัตถุดิบในผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ และยังมีคุณสมบัติเทียบเท่ากับวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าวอีกด้วย

2. วัสดุ อุปกรณ์และวิธีการวิจัย

2.1 วัสดุ

น้ำมะพร้าว ลูกแป้งข้าวหมาก ซื้อมาจากตลาดสดเทศบาลเมืองบุรีรัมย์ อำเภอเมือง จังหวัดบุรีรัมย์ ปลายข้าวเหนียวดำสายพันธุ์ลืมผัว ซื้อมาจากตลาดจำหน่ายสินค้าชุมชน ตำบลหัวถนน อำเภอนางรอง จังหวัดบุรีรัมย์ หัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* เป็นเชื้อที่ใช้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ได้มาจาก สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ สำหรับน้ำมะพร้าวและข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำจะเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ –20 องศาเซลเซียส

2.2 การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum*

สูตรอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อประกอบด้วยน้ำมะพร้าวที่ผ่านการกรองด้วยผ้าขาวบาง 1,000 มิลลิลิตร น้ำตาลทราย 50 กรัม (ร้อยละ 5) แอมโมเนียมซัลเฟต 5 กรัม (ร้อยละ 0.5) และกรดแอซีติก 10 มิลลิลิตร (ร้อยละ 1) แบ่งใส่ฟลาสก์ 500 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที และทิ้งไว้ให้เย็น สำหรับการถ่ายหัวเชื้อ *A. xylinum* ซึ่งเป็นเชื้อจุลินทรีย์ที่เจริญเติบโตได้ในอาหารเหลว เตรียมโดยถ่ายเชื้อร้อยละ 10 ลงในขวดแก้วที่บรรจุอาหารเหลวสำหรับเตรียมหัวเชื้อปริมาตร 500 มิลลิลิตร บ่มเชื้อที่อุณหภูมิห้อง (28-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 10 วัน จนกระทั่งเห็นแผ่นวุ้นสีขาวเกิดขึ้นที่ผิวหน้าของอาหารเหลว เมื่อครบกำหนดจึงแยกวุ้นออก สารละลายที่ได้จะใช้เป็นหัวเชื้อจุลินทรีย์สำหรับการทดลองเปรียบเทียบสภาวะต่างๆ ในกระบวนการหมักวุ้นสวรรค์ [13]

2.3 ขั้นตอนการทำข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ

การทำข้าวหมากจากปลายข้าวเหนียวดำ โดยนำปลายข้าวเหนียวดำที่เป็นข้าวสารเมล็ดหักมาล้างด้วยน้ำให้สะอาด 2 รอบ จากนั้นนำน้ำต้มเดือดมาเติมลงในปลายข้าวเหนียวดำให้ท่วมแล้วแช่ทิ้งไว้ 12 ชั่วโมง นำมาล้างทำความสะอาดแล้วนำไปนึ่งให้สุก จากนั้นล้างข้าวที่นึ่งให้หมดยางประมาณ 3 รอบ ทิ้งไว้ให้ข้าวสะเด็ดน้ำ แล้วนำไปผสมลูกแป้งข้าวหมากในอัตราส่วนร้อยละ 0.02 คลุกเคล้าให้เข้ากันและบรรจุในภาชนะ ทำการหมักทิ้งไว้ 4 วัน เมล็ดข้าวจะมีลักษณะนิ่มและสังเกตเห็นน้ำจากการหมักซึมออกมา [2]

2.4 การเตรียมอาหารสำหรับกระบวนการหมักวุ้นสวรรค์

โดยนำข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำมาเติมน้ำกลั่น

ลงไปในอัตราส่วนข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำต่อน้ำกลั่นเท่ากับ 1 : 2, 1 : 3 และ 1 : 4 แล้วนำมาปั่นบดให้ละเอียดด้วยเครื่องปั่น (Bear, LLJ–A12G1, China) สารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (สารละลายข้าวหมาก (Khao-Mak Solution; KM)) ที่ได้จะนำไปใช้ศึกษาการหมักเพื่อผลิตวุ้นสวรรค์ด้วย *A. xylinum* ในสภาวะต่างๆ ต่อไป

2.5 การวิเคราะห์วัตถุดิบ

สารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำและน้ำมะพร้าวที่เตรียมได้ส่วนหนึ่งจะถูกนำมาวิเคราะห์ความเป็นกรดด่างด้วยเครื่อง pH meter (Sartorius, Docu-pH, Germany) วิเคราะห์หาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยเครื่อง Pocket Refractometer PAL-1 (ATAGO, Japan) วิเคราะห์ความเข้มข้นน้ำตาลทั้งหมดด้วยวิธีฟีนอลซัลฟิวริก (Phenol-Sulfuric Acid Method) [14] โดยนำตัวอย่างปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร มาทำปฏิกิริยาสารละลายฟีนอลความเข้มข้น ร้อยละ 5 ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร และกรดซัลฟิวริกเข้มข้นปริมาตร 5.0 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้เป็นเวลา10 นาที แล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 490 นาโนเมตร โดยใช้สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0–80 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร เป็นสารละลายมาตรฐาน และวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนและโปรตีนหยาบตามวิธีการของ AOAC (2000) [15] โดยทำการย่อยตัวอย่าง (Digestion) ด้วยกรดซัลฟิวริกเข้มข้น ภายใต้สภาวะอุณหภูมิสูงโดยใช้โพแทสเซียมซัลเฟตและคอปเปอร์ซัลเฟตเป็นสารเร่งปฏิกิริยา จากนั้นทำการกลั่นแอมโมเนีย (Distillation) ด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้นร้อยละ 40 และใช้สารละลายกรดบอริกความเข้มข้นร้อยละ 4 เป็นตัวช่วยจับก๊าซแอมโมเนีย และทำการไทเทรตเพื่อหาปริมาณไนโตรเจน (Titration) ด้วยสารละลายมาตรฐานกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 0.1 โมลาร์ แล้วทำการคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนและปริมาณโปรตีนหยาบ

2.6 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ

2.6.1 การศึกษาอัตราส่วนของข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำกับน้ำกลั่นที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์

นำสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำที่อัตราส่วนข้าว : น้ำกลั่น (1 : 2, 1 : 3, 1 : 4) มาต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ใส่ในโหลแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึง ระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ทำการหมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา

2.6.2 การศึกษาปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Total Soluble Solid; TSS)

นำสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำอัตราส่วนที่ให้น้ำหนัก และความหนาสูงสุดจากการทดลองที่ 2.6.1 มาปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้โดยการเติมน้ำตาลซูโครสให้มีค่าเท่ากับ 8, 10, 12 และ 14 °Brix แล้วจึงปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 4.0±0.05 ด้วยกรดแอซีติก แล้วนำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาที แล้วจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ใส่ในโหลแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 (โดยปริมาตรต่อปริมาตร) ทำการหมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา [12]

2.6.3 การศึกษาความเป็นกรด-ด่าง (pH)

นำสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำที่อัตราส่วนและปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่ให้น้ำหนักและความหนาสูงสุดจากการทดลองที่ 2.6.2 มาปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) เท่ากับ 3.0, 3.5, 4.0 และ 4.5 ด้วยกรดแอซีติก แล้วนำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาที เติมแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วใส่ในโหลแก้วขนาด 500 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) หมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็น

เวลา 10 วัน เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา [12]

2.6.4 การศึกษาปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟต

นำสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำที่อัตราส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และค่าความเป็นกรด-ด่างที่ให้น้ำหนักและความหนาสูงสุดจากการทดลองที่ 2.6.3 แล้วนำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติมแอมโมเนียมซัลเฟตในแต่ละชุดทดลองที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.0, 0.3, 0.5 และ 0.7 (โดยน้ำหนักต่อปริมาตร) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เติมปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) หมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา [12]

2.6.5 การศึกษาปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum*

นำสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำที่อัตราส่วนปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ค่าความเป็นกรด-ด่าง และปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตที่ให้น้ำหนักและความหนาสูงสุดจากการทดลองที่ 2.6.4 แล้วนำไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 5 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นลงจนถึงระดับอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จากนั้นเติมปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* ลงไปในโหลแก้วของแต่ละชุดทดลองให้ได้ระดับความเข้มข้นร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 (ปริมาตรต่อปริมาตร) หมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน เมื่อครบกำหนดจึงเก็บแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้จากการหมักแต่ละสภาวะไปวิเคราะห์น้ำหนักและความหนา [12]

2.7 การเตรียมตัวอย่างแบคทีเรียเซลลูโลสสำหรับวิเคราะห์

นำวุ้นสวรรค์ที่ให้น้ำหนักและความหนาสูงสุดจากการทดลองที่ 2.6.5 มาแช่น้ำกลั่นเป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อกำจัดกลิ่นและรสเปรี้ยวของกรดแอซีติก จากนั้นนำไปต้มในน้ำเดือดเพื่อไล่กรดแอซีติกอีก 3 รอบๆ 10 นาที แล้วจึงนำไปต้มในน้ำเชื่อมความเข้มข้น 15 °Brix เป็นเวลา 30 นาที แล้วแช่ทิ้งไว้ในน้ำเชื่อมเป็นเวลา 24 ชั่วโมง ก่อนนำไปทดลอง

2.8 การศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียเซลลูโลส

2.8.1 วิเคราะห์ความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์

นำแผ่นวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำมาหั่นเป็นชิ้น จากนั้นนำไปวัดความหนาโดยใช้เวอร์เนียร์คาร์ลิเปอร์ (Vernier Calipers) วัดความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ 3 จุด แล้วนำไปหาค่าเฉลี่ย

2.8.2 วิเคราะห์น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์

การศึกษาน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ โดยนำแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้มาวางบนแผ่นกระดาษ เพื่อซับน้ำออกจนพื้นผิวด้านนอกให้แห้ง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง แล้วบันทึกผลการทดลอง [16]

2.8.3 การวิเคราะห์ค่าสี

การวิเคราะห์ค่าสี L*, a* และ b* ด้วยระบบ CIE Lab Scale ด้วยเครื่องวัดค่าสี Colorimeter (ColorFlex Ez 45/0 L, USA) นำวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำมาหั่นเป็นชิ้น แล้วใส่ในตลับแก้วสำหรับวัดค่าสี นำไปใส่ช่องตัวอย่างของเครื่องวัดค่าสี จากนั้นอ่านค่าสีของตัวอย่าง แล้วบันทึกผล

2.8.4 การวิเคราะห์เนื้อสัมผัส

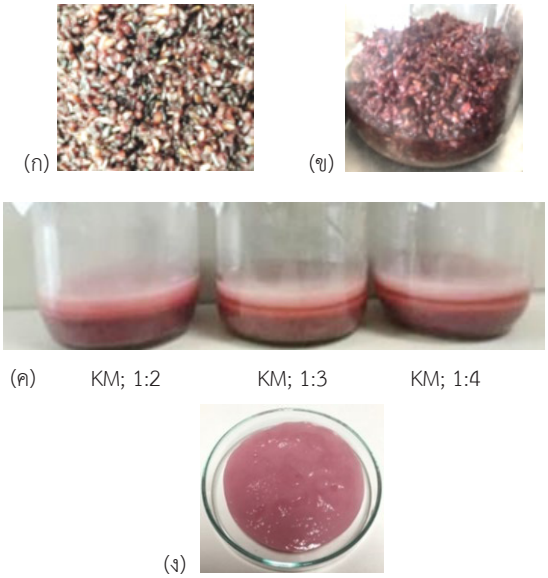
วิเคราะห์โดยใช้เครื่องวัดลักษณะเนื้อสัมผัสของอาหาร (Texture Analyser) โดยใช้หัววัดขนาด TA39 Cylinder 20 mm D. 20 mm L. ความเร็วก่อนกด 1.0 มิลลิเมตรต่อวินาที ทำการทดลอง 3 จุด แล้วหาค่าเฉลี่ย [17]

2.8.5 การตรวจสอบคุณสมบัติทางประสาทสัมผัส

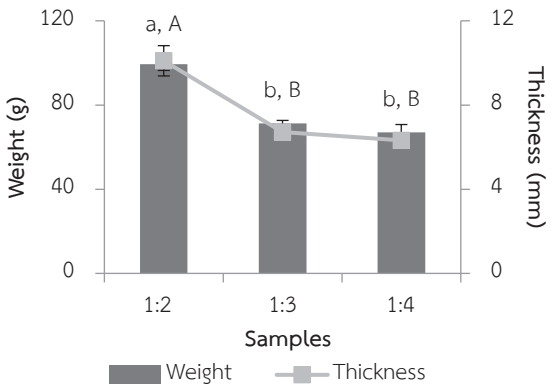
ทำการประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสด้านความชอบของวุ้นสวรรค์โดยใช้วิธีการประเมินแบบ 9-point Hedonic Scale โดยใช้ผู้ทดสอบที่ไม่ได้ผ่านการฝึกฝนทั้งหมด 30 คน ซึ่งแบ่งคุณลักษณะที่ใช้ประเมินวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำในน้ำเชื่อมออกเป็น 6 คุณลักษณะ ได้แก่ ลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม

2.9 การวางแผนการทดลอง และการวิเคราะห์ผลทางสถิติ

สำหรับการทดสอบคุณภาพทางกายภาพ และเคมี



รูปที่ 1 ปลายข้าวเหนียวดำ (ก), ข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (KM) (ข) และวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (ค), (ง)



รูปที่ 2 ค่าความหนา (Weight) และน้ำหนัก (Thickness) ของวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากเชื้อ *A. xylinum* ในสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำที่อัตราส่วนต่างๆ a-b, A-B ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละกราฟแท่งและกราฟเส้นที่มีอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($p \leq 0.05$)

วางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design; CRD) ส่วนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสวางแผนการทดสอบแบบสุ่มบล็อกสมบูรณ์ (Randomized Complete Block Design; RCBD) ผลการวิเคราะห์แสดงในรูปของค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (mean±SD) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยที่ได้จากแต่ละการศึกษาด้วย One-way ANOVA และ Duncan's New Multiple Range Test ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยใช้โปรแกรมสำเร็จรูป SPSS ข้อมูลที่ได้มาจากการทดลอง 3 ซ้ำ ค่าความต่างทางสถิติจะถูกพิจารณาเมื่อ $p \leq 0.05$

3. ผลการทดลอง

3.1 การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ

ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์ โดยนำปลายข้าวเหนียวดำมาหมักให้เป็นข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ แล้วจึงนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยเชื้อ *A. xylinum* ต่อไป (รูปที่ 1) โดยเริ่มจากการศึกษาอัตราส่วนของการเตรียมสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (Khao-Mak ; KM solution) ด้วยการผสมข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำกับน้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1 : 2, 1 : 3 และ 1 : 4 เพื่อคัดเลือกอัตราส่วนการเตรียมสารละลายข้าวหมากที่สามารถหมักวุ้นได้ในปริมาณสูงที่สุดเพื่อนำไปใช้ในการทดลองต่อไป ผลการทดลองพบว่า อัตราส่วนในการเตรียมสารละลายข้าวหมากมีผลต่อน้ำหนัก และความหนาของวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) (รูปที่ 2) โดยการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยสารละลาย KM; 1 : 2 ได้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีน้ำหนักและความสูงมากที่สุดเท่ากับ 99.38 กรัม และ 10.10 มิลลิเมตร ตามลำดับ ในขณะที่การหมักวุ้นสวรรค์ด้วยสารละลายข้าวหมากที่อัตราส่วน 1 : 3 และ 1 : 4 ได้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีน้ำหนักและความหนารองลงมา คือมีค่าเท่ากับ 71.24 กรัม 6.71 มิลลิเมตร และ 67.06 กรัม 6.32 มิลลิเมตร ตามลำดับ

จากผลการวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาของวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากสารละลายข้าวหมากที่อัตราส่วนต่างๆ พบว่า การผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยสารละลาย KM; 1 : 2 สามารถ

เกิดการหมักและได้แผ่นวุ้นที่มีค่าน้ำหนักและความหนามากที่สุด จากนั้นจึงได้ศึกษาคุณสมบัติทางเคมีของสารละลาย KM; 1 : 2 พบว่า มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.97 ซึ่งอยู่ในช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *A. xylinum* (pH 4–6) [17] นอกจากนี้ยังพบว่า สารละลาย KM; 1 : 2 มีปริมาณของไนโตรเจน ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณน้ำตาลทั้งหมดในปริมาณที่สูงเมื่อเทียบกับน้ำมะพร้าว ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่นิยมใช้ในกระบวนการผลิตวุ้นสวรรค์ (ตารางที่ 1) สำหรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็นผลรวมของของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่างๆ กรดอินทรีย์ และแร่ธาตุต่างๆ [19] โดยสารละลาย KM; 1 : 2 มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 9.56 °Brix ซึ่งมีค่าที่สูงแสดงให้เห็นว่าในสารละลาย KM; 1 : 2 มีปริมาณของสารอาหารกลุ่มน้ำตาล แร่ธาตุ และกรดอินทรีย์ที่ส่งเสริมการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมักจึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำข้าวหมากมาเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตวุ้นสวรรค์ จากเหตุผลข้างต้นการเลือกใช้วัตถุดิบสำหรับการผลิตวุ้นสวรรค์ที่มีแหล่งสารอาหารที่สำคัญคือแหล่งของไนโตรเจนและคาร์บอนจะเป็นปัจจัยที่สำคัญที่ช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต และเพิ่มประสิทธิภาพการหมักวุ้นสวรรค์ ด้วยเหตุที่ว่าเชื้อแบคทีเรีย *A. xylinum* จำเป็นต้องใช้แหล่งของไนโตรเจนและคาร์บอนสำหรับการเจริญเติบโต [20]

ตารางที่ 1 คุณสมบัติทางเคมีของน้ำมะพร้าวและสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำที่อัตราส่วน ข้าวหมาก : น้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 2 (Khao-Mak Solution; 1 : 2)

Samples	Coconut Water	Khao-Mak Solution; 1 : 2
pH	5.73 ± 0.01	3.97 ± 0.01
Nitrogen Content (%)	0.01 ± 0.01	0.21 ± 0.01
Crude Protein (%)	0.07 ± 0.01	1.30 ± 0.06
Total Soluble Solis (°Brix)	7.48 ± 0.35	9.56 ± 0.78
Total Sugar Content (mg/ml)	22.83 ± 0.96	133.93 ± 11.93

3.1.1 การศึกษาระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้

จากการศึกษาระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากจากปลายข้าวเหนียวดำโดยปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ด้วยการเจือจางข้าวหมากด้วยน้ำกลั่นหรือเติมน้ำตาลซูโครสให้อยู่ในระดับต่างๆ ได้แก่ 8, 10, 12 และ 14 °Brix ซึ่งคำนวณโดยใช้วิธีเพียร์สัน สแควร์ (Pearson's Square Method) จากนั้นนำไปผ่านกระบวนการหมักด้วยแบคทีเรียสายพันธุ์ *A. xylinum* ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน พบว่า วุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากสารละลายข้าวหมากที่มีการปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 10 และ 12 °Brix วิเคราะห์น้ำหนักของวุ้นได้สูงสุดเท่ากับ 81.47 กรัม และ 83.21 กรัม ตามลำดับ แต่ที่ระดับ 12 °Brix วิเคราะห์ความหนาของวุ้นได้สูงสุดเท่ากับ 8.54 มิลลิเมตร ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับที่ระดับ 8 และ 14 °Brix [รูปที่ 3 (ก)] นอกจากนี้ยังพบว่า น้ำหนักและระดับความหนาของวุ้นลดลงเมื่อสารละลายมีค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในปริมาณสูง โดยสารละลายข้าวหมากที่มีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 14 °Brix วิเคราะห์น้ำหนักและระดับความหนาของวุ้นได้ค่อนข้างต่ำ (59.13 กรัม และ 5.60 มิลลิเมตร ตามลำดับ) ซึ่งสอดคล้องกับผลการศึกษาของ Promwongpo และคณะ [12] ที่ใช้น้ำมะม่วงพันธุ์น้ำดอกไม้มาปรับระดับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่ระดับ 8, 10, 12 และ 14 °Brix ผลการทดลองพบว่า ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ที่ระดับความเข้มข้นสูงขึ้น พบว่า ปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง ซึ่งอาจจะเป็นผลของการเพิ่มขึ้นของกรดกลูโคนิกและกรดแอซีติก จึงทำให้ค่า pH ของอาหารลดลง และทำให้การผลิตเซลลูโลสลดลงไปด้วย [21], [22]

3.1.2 การศึกษาระดับความเป็นกรด-ด่าง (pH)

จากการศึกษาค่า pH ที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมาก โดยเปรียบเทียบค่า pH ซึ่งปรับด้วยกรดแอซีติกให้อยู่ในระดับต่างๆ ได้แก่ 3.0, 3.5, 4.0 และ 4.5 ภายหลังการหมักด้วย *A. xylinum* ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน พบว่า *A. xylinum* สามารถผลิตวุ้นได้มากที่สุดในสารละลายข้าวหมากที่มีค่า pH เท่ากับ 4.0 โดยวิเคราะห์

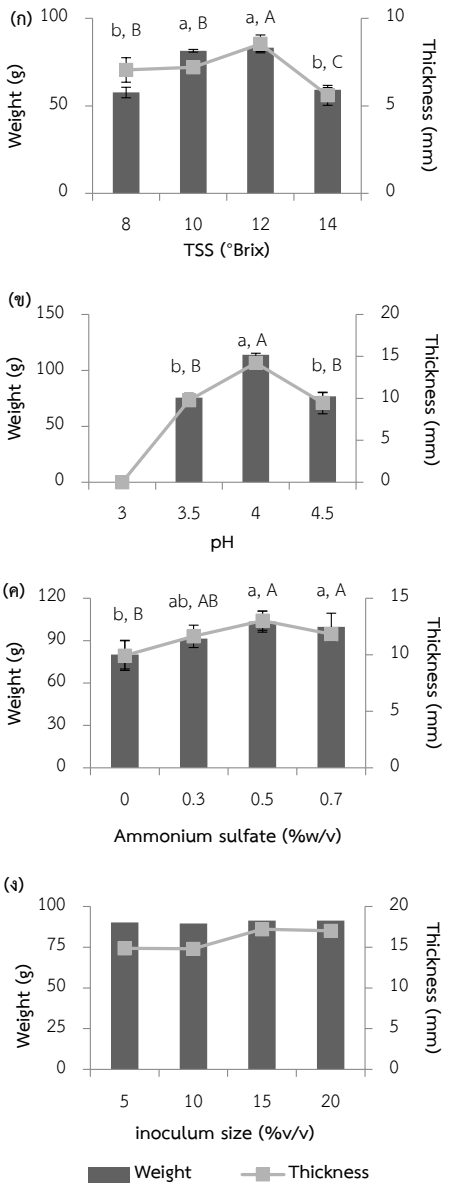
น้ำหนัก และความหนาของวุ้นได้เท่ากับ 113.90 กรัม และ 14.22 มิลลิเมตร ตามลำดับ [รูปที่ 3 (ข)] โดยน้ำหนักวุ้นที่ได้แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับการหมักในสารละลายข้าวหมากที่ค่า pH เท่ากับ 3.0, 3.5 และ 4.5 สอดคล้องกับผลการทดลองของ Jagannath และคณะ [23] ที่เปรียบเทียบสภาวะที่ใช้ในการผลิตวุ้นในน้ำมะพร้าว โดยผลการทดลองพบว่า การปรับค่า pH ของน้ำมะพร้าวด้วยกรดแอซีติกเท่ากับ 4.5 จะได้วุ้นที่มีความหนาเท่ากับ 5.10 มิลลิเมตร ซึ่งค่าที่ได้สูงกว่าวุ้นที่ได้จากการหมักในน้ำมะพร้าวที่ปรับค่า pH เท่ากับ 3.5 เนื่องจากค่า pH ของกระบวนการหมักถือเป็นปัจจัยสำคัญที่ส่งผลต่อการผลิตวุ้น ปริมาณกรดเพิ่มมากขึ้น และค่า pH ที่ลดลงและส่งผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ผลิตเซลลูโลส [24] โดย Raghunathan [25] กล่าวว่าค่า pH ที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมักเพื่อผลิตเซลลูโลสอยู่ในช่วง 4–6 ซึ่งเป็นช่วงที่เหมาะสมต่อการเจริญของ *A. xylinum* และเป็นที่น่าสังเกตในสายละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (1 : 2) จะมีค่า pH เท่ากับ 3.97 (ตารางที่ 1) ซึ่งใกล้เคียงกับค่า pH ที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมัก และในระหว่างกระบวนการหมักค่า pH อาจจะลดลงเนื่องจากการผลิตกรดกลูโคนิก กรดแอซีติก และกรดแลคติก จะส่งผลให้ปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง

3.1.3 การศึกษาระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต

การเปรียบเทียบปริมาณของแอมโมเนียมซัลเฟตในสารละลายข้าวหมากที่ระดับความเข้มข้นต่างๆ คือ ร้อยละ 0 (ชุดควบคุม), 0.3, 0.5, และ 0.7 (มวลต่อปริมาตร) ผลการศึกษาพบว่า กระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* ในสารละลายข้าวหมากที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (มวลต่อปริมาตร) ผลิตวุ้นได้สูงสุดโดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาของวุ้นได้เท่ากับ 103.46 กรัม และ 13.02 มิลลิเมตร ตามลำดับ [รูปที่ 3 (ค)] แต่มีค่าไม่แตกต่างกับอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) กับวุ้นที่ได้จากการหมักในสารละลายข้าวหมากที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตที่ระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.3 (มวลต่อปริมาตร) ที่มีค่าน้ำหนักและความหนาของวุ้นได้เท่ากับ 91.45 กรัม 11.63 มิลลิเมตร ตามลำดับ Panesar และคณะ [26] รายงานว่าการเติมสารประกอบไนโตรเจนในการหมักช่วยเร่งการผลิตวุ้นให้หนาในระยะเวลาสั้น โดยทั่วไปแหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้คือแอมโมเนียมซัลเฟตในช่วงระดับความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 0.5–0.6 ทั้งนี้ผลการทดลองที่ได้ใกล้เคียงกับผลของ Promwongpo และคณะ [12] ที่พบว่า สารละลายน้ำมะม่วงที่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตระดับความเข้มข้นร้อยละ 0.5 (มวลต่อปริมาตร) สามารถผลิตวุ้นด้วยเชื้อ *A. xylinum* TISTR 975 ที่มีน้ำหนักและความหนาสูงที่สุด สำหรับกรณีที่มีปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตสูงในกระบวนการหมัก ปริมาณไนโตรเจนบางส่วนถูกนำไปใช้สำหรับการเพิ่มจำนวนเซลล์ของจุลินทรีย์ส่งผลให้การใช้ไนโตรเจนเพื่อผลิตเซลลูโลสลดลง [22] และในสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (1 : 2) มีปริมาณไนโตรเจนที่สูงกว่าน้ำมะพร้าว (ตารางที่ 1) จึงเป็นข้อดีที่ไม่ต้องเติมแหล่งไนโตรเจนมากในขั้นตอนการผลิตวุ้นสวรรค์ โดยสารประกอบไนโตรเจนที่นิยมใช้คือ แอมโมเนียมซัลเฟต หรือแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต เป็นต้น ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่าสามารถลดการเติมสารประกอบไนโตรเจนในการหมักได้นำไปสู่การลดต้นทุนในขั้นตอนการผลิตวุ้นสวรรค์ได้

3.1.4 การศึกษาปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum*

จากการศึกษาผลของปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากสายละลายข้าวหมากในระดับต่างๆ ได้แก่ ร้อยละ 5, 10, 15 และ 20 (ปริมาตรต่อปริมาตร) โดยปรับปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เท่ากับ 10 °Brix และปรับค่า pH เท่ากับ 4.0 แล้วจึงเติมแอมโมเนียมซัลเฟตให้มีระดับความเข้มร้อยละ 0.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) ผลการทดลองภายหลังการหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน พบว่าปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* เริ่มต้นไม่มีผลต่อการสร้างแผ่นวุ้นจากสารละลายข้าวหมาก ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยน้ำหนักและความหนาของแผ่นวุ้นมีค่าเฉลี่ยอยู่ในช่วง 89.52–91.37 กรัม และ 14.81–17.21 มิลลิเมตร ตามลำดับ [รูปที่ 3 (ง)] ดังนั้นสามารถใช้ระดับความเข้มข้นหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) ก็เพียงพอต่อการผลิตวุ้นจากสารละลายข้าวหมากได้ จึงช่วยลดต้นทุนในการผลิตลงได้อีกทางหนึ่งด้วย ผลการทดลอง



รูปที่ 3 ผลของปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (ก) ความเป็นกรด-ด่าง (ข) ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (ค) และปริมาณหัวเชื้อ *A. xylinum* (ง) ต่อการผลิตวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ เมื่อทำการบ่มเป็นเวลา 10 วัน, a-b, A-C ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละกราฟแท่งและกราฟเส้นที่มีอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($p \leq 0.05$)

ที่ได้แตกต่างกับ Zahan และคณะ [27] และ Promwongpo และคณะ [12] ที่รายงานว่าระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลลูโลสจากสารละลายมะม่วงน้ำดอกไม้สุกด้วยแบคทีเรีย *A. xylinum* คือ ร้อยละ 10 (ปริมาตรต่อปริมาตร) สำหรับระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อที่ต่ำกว่าร้อยละ 3 (ปริมาตรต่อปริมาตร) หรือที่ระดับความเข้มข้นสูงมากกว่าร้อยละ 20 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จะส่งผลให้ปริมาณการผลิตเซลลูโลสลดลง

โดยสรุปสภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการหมักวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำคือ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 10 °Brix ค่า pH เท่ากับ 4.0 ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.3 (มวลต่อปริมาตร) และความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) สามารถผลิตวุ้นสวรรค์ได้ปริมาณสูงสุด ซึ่งมีน้ำหนักและความหนาเท่ากับ 90.15 ± 1.17 กรัม และ 14.87 ± 2.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ (ตารางที่ 2)

ตารางที่ 2 สรุปสภาวะที่เหมาะสมของการผลิตวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum*

Parameters	Values
Total Soluble Solid	10 °Brix
pH	4.0
Ammonium sulfate	0.3 % (w/v)
Starter culture	5.0 % (v/v)
Weight	90.15 g
Thickness	14.87 mm

3.2 การศึกษาคุณลักษณะของแบคทีเรียเซลลูโลส

จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ สภาวะการหมักที่เหมาะสมที่สุดคือ ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดด้วยน้ำตาลซูโครสให้เท่ากับ 10 °Brix และค่า pH เท่ากับ 4.0 ปรับระดับความเข้มข้นแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับร้อยละ 0.3 (น้ำหนักต่อปริมาตร) และระดับความเข้มข้นของเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) จากนั้นนำวุ้นที่ผลิตได้มา

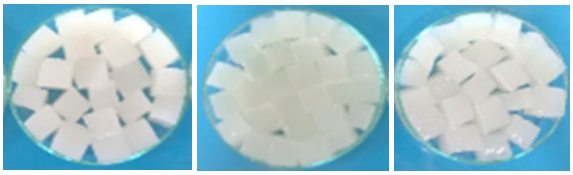
แปรรูปให้อยู่ในรูปวุ้นสวรรค์ในน้ำเชื่อมเพื่อทำการทดสอบคุณสมบัติต่างๆ เทียบกับวุ้นสวรรค์ที่ทำมาจากน้ำมะพร้าว ดังต่อไปนี้

3.2.1 คุณภาพด้านสีของของผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์

จากการเปรียบเทียบค่าสีของผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ประกอบด้วยวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าว (Bacterial Cellulose from Coconut Water; BCC) วุ้นสวรรค์ทางการค้า (Commercial Bacterial Cellulose from Coconut Water; Commercial-BCC) และวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (Bacterial Cellulose from Sweet Fermented Broken Black Glutinous Rice; BCS) พบว่า ค่าความสว่าง (L*) ของผลิตภัณฑ์มีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) [รูปที่ 4 และ รูปที่ 5 (ก)] โดยผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวมีค่า L* มากที่สุดเท่ากับ 41.49 สำหรับค่าความเป็นสีแดง (a*) ค่าความเป็นสีเหลือง (b*) และค่าเฉดสี (Hue) ของผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ทั้ง 3 ประเภท มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) จากการทดลองของ Sheu และคณะ [28] ได้อธิบายถึงความเป็นไปได้ที่จะเกิดการสร้างพันธะของกลุ่มไฮดรอกซิลอิสระของเซลลูโลสกับรงควัตถุที่ละลายน้ำได้ของสารตั้งต้นที่ใช้ผลิตวุ้นสวรรค์จึงทำให้เส้นใยเซลลูโลสที่ผลิตได้มีสีเปลี่ยนแปลงตามรงควัตถุของสารตั้งต้นนั้น ซึ่งในการวิจัยนี้สารตั้นต้นของการหมักวุ้นคือสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำที่เป็นแหล่งของสารแอนโทไซยานินที่เป็นรงควัตถุที่มีเฉดสีน้ำเงินจนถึงม่วงแดง [2] จึงเป็นเหตุผลให้ค่าสี L* มีค่าต่ำกว่าวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าวแต่มีค่าไม่แตกต่างจากวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวทางการค้า

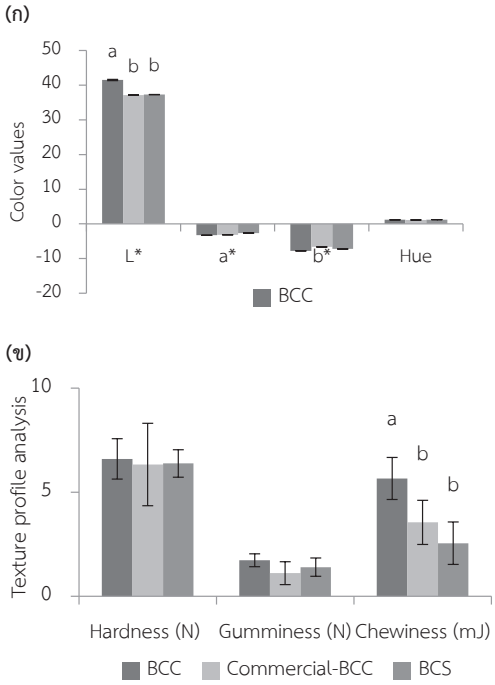
3.2.2 คุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์

จากการเปรียบเทียบลักษณะเนื้อสัมผัสของผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ พบว่า ค่าความแข็ง (Hardness) และค่าความเหนียวเป็นยาง (Gumminess) ของผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ทั้ง 3 ประเภท มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) [รูปที่ 5 (ข)] ส่วนค่าการทนต่อการเคี้ยว (Chewiness) พบว่า วุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวมีค่าสูงที่สุด ส่วนวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากสารละลายข้าวหมากและวุ้นสวรรค์



(ก) BCC (ข) Commercial-BCC (ค) BCS

รูปที่ 4 วุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าว (ก) วุ้นสวรรค์ทางการค้า (ข) และวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ (ค)



รูปที่ 5 ค่าสี (ก) และคุณสมบัติด้านเนื้อสัมผัส (ข) ของวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าวและสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ a-b ค่าเฉลี่ยของข้อมูลในแต่ละกราฟแท่งที่มีอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($p \leq 0.05$)

ทางการค้ามีค่า Chewiness รองลงมาและมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) โดยวุ้นสวรรค์เป็น Gelatinous Bacterial Cellulose ประกอบด้วยเส้นใยละเอียดของเซลลูโลสที่อยู่ในรูปของเจลที่เรียกว่า Cellulose Microfiber ลักษณะของวุ้นที่ได้เป็นเยื่อเหนียวทำให้มี

ความแข็งเกิดขึ้น [17], [29] ผลการทดลองนี้จึงแสดงให้เห็นประสิทธิภาพของสารละลายข้าวหมากที่สามารถนำมาใช้เป็นสารตั้งต้นในการหมักกับแบคทีเรีย *A. xylinum* ให้ได้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสที่ดีไม่แตกต่างจากวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าว

3.2.3 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

จากการนำผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์มาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค แสดงผลในรูปของคะแนนความชอบเฉลี่ยด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม (ตารางที่ 3) พบว่า คะแนนความชอบด้านลักษณะปรากฏ สี และกลิ่นของวุ้นสวรรค์ทั้ง 3 ประเภท ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) ด้านกลิ่นรส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมของผลิตภัณฑ์ พบว่า วุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากมีค่าคะแนนความชอบมากที่สุด และไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p > 0.05$) เมื่อเทียบกับวุ้นสวรรค์ทางการค้า ซึ่งมีค่าคะแนนความชอบอยู่ในระดับปานกลาง

ตารางที่ 3 การประเมินคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าวและสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ

Parameters	BCC	Commercial-BCC	BCS
Appearance^{ns}	7.30 ± 1.47	7.50 ± 1.07	7.03 ± 1.35
Color^{ns}	7.50 ± 1.38	7.47 ± 1.31	7.23 ± 1.22
Odor^{ns}	6.63 ± 1.65	7.13 ± 1.46	6.67 ± 1.52
Flavor	6.13 ± 1.59^{b}	7.73 ± 1.44^{a}	6.67 ± 1.77^{a}
Texture	5.97 ± 1.87^{b}	7.47 ± 1.28^{a}	6.83 ± 1.66^{a}
Overall liking	6.57 ± 1.45^{b}	7.67 ± 1.40^{a}	6.90 ± 1.63^{ab}

$^{a–c}$ ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแนวนอนที่มีอักษรต่างกันแสดงความแตกต่างกัน อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($p \leq 0.05$)

^{ns} ค่าเฉลี่ยของข้อมูลที่อยู่ในแนวนอน แสดงความไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ ($p > 0.05$)

4. สรุป

การผลิตวุ้นสวรรค์จากกระบวนการหมักด้วย *A. xylinum* ในสารละลายข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ พบว่า สภาวะที่เหมาะสมของสารละลายข้าวหมากที่เตรียมจากการผสมข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ : น้ำกลั่นที่อัตราส่วน 1 : 2 ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้เท่ากับ 10 °Brix ค่า pH เท่ากับ 4.0 ระดับความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต ร้อยละ 0.3 (มวลต่อปริมาตร) และระดับความเข้มข้นของหัวเชื้อเริ่มต้นเท่ากับร้อยละ 5 (ปริมาตรต่อปริมาตร) สามารถผลิตวุ้นสวรรค์ได้ปริมาณสูงสุดเมื่อเปรียบเทียบกับสภาวะการหมักอื่นๆ โดยวิเคราะห์น้ำหนักและความหนาได้เท่ากับ 90.15 ± 1.17 กรัม และ 14.87 ± 2.26 มิลลิเมตร ตามลำดับ การประเมินคุณภาพด้านเนื้อสัมผัสของวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากมีค่าการทนต่อการเคี้ยวน้อยกว่าวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว และการประเมินคุณสมบัติด้านสีและการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของวุ้นสวรรค์จากสารละลายข้าวหมากมีค่า ไม่แตกต่างกับวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวทางการค้า โดยผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบโดยรวมเฉลี่ยเท่ากับ 6.90 ± 1.63 ผลการวิจัยแสดงให้เห็นว่าข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำสามารถใช้เป็นวัตถุดิบตั้งต้นที่ใช้สำหรับการหมักวุ้นสวรรค์ได้ และในส่วนของวุ้นสวรรค์ที่ผลิตได้ควรมีการศึกษาคุณลักษณะด้านต่างๆ ของแบคทีเรียเซลลูโลส เช่น การวิเคราะห์หมู่ฟังก์ชัน การเลี้ยวเบนรังสีเอกซ์ และการเปลี่ยนแปลงทางความร้อนของสาร รวมถึงการประเมินคุณค่าทางโภชนาการ เพื่อเป็นข้อมูลพื้นฐานในการประยุกต์ใช้วุ้นสวรรค์ในผลิตภัณฑ์อาหารอื่นๆ ต่อไป

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณสาขาวิชานวัตกรรมอาหารและแปรรูป คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏบุรีรัมย์ ที่ให้ความอนุเคราะห์สถานที่และอุปกรณ์ในการทำวิจัยครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

[1] N. Mongkontanawat and W. Lertnimitmongkol, “Product development of sweet fermented rice (Khao-Mak) from germinated native black glutinous rice,” *Journal of Agricultural Technology*, vol. 11, no. 2, pp. 501–515, 2015.

[2] J. Samappito, J. Kubola, P. Supakot, K. Sitthitrai, A. Naranram, and S. Somgaw, "Study on production of sweet fermented rice (Khao-Mak) from black glutinous rice using look pang varieties in Buri Ram," *Rajabhat Agriculture Journal*, vol. 18, no. 1, pp. 47–55, 2019 (in Thai).

[3] N. M. Esa, T. B. Ling, and L. S. Peng, "By-products of rice processing: An overview of health benefits and applications," *Rice Research*, vol. 1, pp. 1–11, 2013.

[4] A. R. Bodie, A. C. Micciche, G. G. Atungulu, M. J. Rothrock Jr, and S. C. Ricke, "Current trends of rice milling byproducts for agricultural applications and alternative food production systems," *Frontiers in Sustainable Food Systems*, vol. 3, no. 47, pp. 1–13, 2019.

[5] A. Manosroi, W. Ruksiriwanich, B. Kietthanakorn, W. Manosroi, and J. Manosroi, "Relationship between biological activities and bioactive compounds in the fermented rice sap," *Food Research International*, vol. 44, pp. 2757–2765, 2011.

[6] A. Chanchaichaovivat and A. Utiansut, "Inhibitory Efficacies of lactic acid bacteria isolated from LoogPang KaoMark against enteropathogenic bacteria," *Journal of Research Unit on Science, Technology and Environment for Learning*, vol. 4, no. 20, pp. 125–131, 2013 (in Thai).

[7] R. Sharma, P. Garg, P. Kumar, S. K. Bhatia, and S. Kulshrestha, "Microbial fermentation and its role in quality improvement of fermented foods," *Fermentation*, vol. 6, pp. 1–20, 2020.

[8] V. Photphisutthiphong and S.Vatanyoopaisarn, "The production of bacterial cellulose from organic low-grade rice," *Current Research in Nutrition and Food Science*, vol. 8, no. 1, pp. 206-216, 2020.

[9] A. Jaturapiree. E. Chaichana, T. Saowapark, B. Chuenpraphai, and P. Jaturapiree, "Production and characterization of bacterial cellulose produced by *Acetrobacter xylinum* TISTR 975 from pineapple peel juice," *RMUTP Research Journal*, vol. 13, no. 1, pp. 180–192, 2019 (in Thai).

[10] S. M. Keshk, "Bacterial cellulose production and its industrial applications," *Journal of Bioprocessing & Biotechniques*, vol. 4, no. 2, pp. 1–10, 2014.

[11] C. Moukamnerd, K. Ounmuang, N. Konboa, and C. Insomphun, "Bacterial cellulose production by Komagataeibacter nataicola TISTR 2661 by agro-waste as a carbon source," *Chiang Mai Journal of Science*, vol. 47, no. 1, pp. 16–27, 2020 (in Thai).

[12] C. Promwongpo, W. Yokhanit, and J. Khemacheewakul, "A study of the optimal fermentation conditions for Nata de Coco production by *Acetobacter xylinum* TISTR 975 from mango juice," *KMUTT Research and Development Journal*, vol. 40, no. 2, pp. 271–282, 2017 (in Thai).

[13] K. Phromthep, S. Katakul, J. Tokamolthom, P. Na Thaisong, and N. Thaweeseang, "Production of bacterial cellulose from mangosteen pericarp juice," *RMUTSV Research Journal*, vol. 9, no. 2, pp. 169-177, 2017 (in Thai).

[14] M. Dubois, K. Gilles, J. Hamilton, P. Rebers, and F. Smith, "Colorimetric method for determination of sugars and related substances," *Analytical Chemistry*, vol. 28, no. 3, pp. 350–356,

1956.

[15] *Official methods of analysis*, AOAC USA, Methods 960.52, 2000.

[16] M. Dejsungkranont, "A study on the optimum condition for bacterial cellulose production from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) using response surface methodology," *Khon Kaen Agriculture Journal*, vol. 46, no. 2, pp. 213-226, 2018.

[17] K. Phattayakorn, A. Prommakool, and W. Saveboworn, "Characterization of bacterial cellulose (nata de coco) from pitaya," *Khon Kaen Agriculture Journal*, vol. 43, no. 1, pp. 917–921, 2015 (in Thai).

[18] S. Tantratian, P. Tammarate, W. Krusong, P. Bhattarakosol, and A. Phunsri, "Effect of dissolved oxygen on cellulose production by *Acetobacter* sp.," *Journal of Scientific Research, Chulalongkorn University*, vol. 30, no. 2, pp. 179-186, 2005.

[19] P. Munoz–Robredo, P. Robledo, D. Manriquez, R. Molina, and B. G. Defilippi, "Characterization of sugars and organic acids in commercial varieties of table grapes," *Chilean Journal of Agricultural Research*, vol. 71, no. 3, pp. 452–458, 2011.

[20] J. Khemacheewakul, "Factors affecting production of cellulose by *Acetobacter* sp. and fermentation technology," *RMUTSB Academic Journal*, vol. 5, no. 1, pp. 91-103, 2017 (in Thai).

[21] N. D. Hameed, M. H. Al-Jailawi, and H. M. Jasim, "Enhancement and optimization of cellulose production by *Gluconacetobacter* xylinus N2," *Scientifc Journal of King Faisal University (Basic and Applied Sciences)*, vol. 13, no. 2, pp. 77–89, 2012.

[22] P. R. Chawla, B. B. Ishwar, S. A. Survase, and R. S. Singhal, "Microbial cellulose: Fermentative production and applications," *Food Technology and Biotechnology*, vol. 47, no. 2, pp. 107–124, 2009.

[23] A. Jagannath, A. Kalaiselvan, S. S. Manjunatha, P. S. Raju, and A. S. Bawa, "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*, vol. 24, pp. 2593–2599, 2008.

[24] P. Lestari, N. Elfrida, A. Suryani, and Y. Suryadi, "Study on the production of bacterial cellulose from *Acetobacter xylinum* using agro-waste," *Jordan Journal of Biological Sciences*, vol. 7, no. 1, pp. 75–80, 2014.

[25] D. Raghunathan, "Production of microbial cellulose from the new bacterial strain isolated from temple wash waters," *International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences*, vol. 2, no. 12, pp. 275- 290, 2013.

[26] P. S. Panesar, Y. V. Chavan, M. B. Bera, O. Chand, and H. Kumar, "Evaluation of *Acetobacter* strain for the production of microbial cellulose," *Asian Journal of Chemistry*, vol. 21, no. 10, pp. 99–102, 2009.

[27] K. A. Zahan, N. Pae, and I. I. Muhamad, "Process parameters for fermentation in a rotary disc reactor for optimum microbial cellulose production using response surface methodology," *Bio Resources*, vol. 9, no. 2, pp. 1858–1872, 2014.

[28] F. Sheu, C. L. Wang, and Y. T. Shyu,

"Fermentation of monascus purpureus on bacterial cellulose-nata and the color stability of monascus-nata complex," *Journal of Food Science*, vol. 65, no. 2, pp. 342–345, 2000.

[29] K. Sanoppa, T. Poonyavanit, and P. Pisuttipong, "Substitution of sodium nitrite in sausages by pigment powders from Monascus purpures fermented with nata de coco," *The Journal of KMUTNB*, vol. 31, no. 2, pp. 288– 299, 2021 (in Thai).