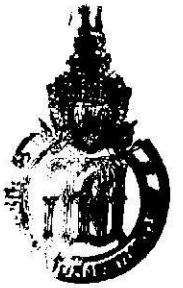
รายงานการวิจัย

เรื่อง



ทอสมุด

การปรับปรุงวิธีการใช้ประโยชน์จากเนื้อ และน้ำมะพร้าว: การคัดเลือกบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์ และการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว

Improving Technique of Utilization of Coconut Fresh and Juice Products : Isolation of "Nata" Making Bacteria and Production of "Nata" in Coconut Juice

005632

บทคัดย่อ

การคัดเลือกบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์ และการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว

น้ำมะพร้าวเป็นผลิตผลเหลือใช้ทางการเกษตร ที่ถูกทิ้งโดยสูญเปล่า จึงได้นำมาทดลองเลี้ยงบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์ ขั้นแรกเป็นการคัดเลือกบักเตรีที่เหมาะสมจากผลไม้และวัตถุดิบอื่น ๆ ปรากฏว่าบักเตรีจากตัวอย่าง ๑๑ ชนิด สามารถสร้างวุ้นได้ เมื่อเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวประกอบด้วยน้ำตาล 10% $MgSo_4.7H_2O$ 0.05% $NH_4H_2PO_4$ 0.1% และอัลกอฮอล์ ๔ % นั้น บักเตรีที่แยกจากผลฝรั่งและสับปะรดสร้างวุ้นได้หนาที่สุด คือ หนา ๑.๔ ซม. ในเวลา ๑๔ วัน แต่บักเตรีที่แยกจากผลฝรั่งสร้างแผ่นวุ้นที่มีลักษณะดีกว่าบักเตรีที่แยกจากสับปะรดแผ่นวุ้นที่ได้เนื้อแน่น มีกากน้อย และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค เมื่อทำการจำแนกชนิดของบักเตรี พบว่าคือ *Acetohacter aceti* subspecies *xylinum*

ต่อมาได้ทำการทดลองเพื่อหาสูตรอาหารน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมในการเลี้ยงบักเตรีที่แยกจากผลฝรั่ง โดยเปลี่ยนแปลง ปริมาณน้ำตาลแหล่งของไนโตรเจนและปริมาณอัลกอฮอล์ ปรากฏว่าบักเตรีที่ได้สามารถสร้างวุ้นหนา ๑.๔ ซม. เมื่อครบ ๑๔ วัน และสามารถให้วุ้นถึง ๓ แผ่น จากอาหารชุดเดียวกัน โดยสูตรอาหารน้ำมะพร้าวนั้นประกอบด้วย $NH_4H_2PO_4$ 0.05 % $MgSO_4.7H_2O$ 0.05 % และอัลกอฮอล์ 5 %

Abstract

Isolation of "Nata" Making Bacteria and Production of "Nata" from Coconut Juice

Coconut juice is agricultural waste which is useful for making "Nata". First, "Nata" making bacteria were isolated and selected from fruits and fruits products. The bacteria isolated from 11 samples can produce Nata. When the bacteria from these samples were cultured in coconut juice which is composed of sucrose 10 % $NH_4H_2PO_4$ 0.1 % $MgSO_4.7H_2O$ 0.05 % and alcohol 4 %, the bacteria isolated from guava (*Psidium guajava*) and pineapple (*Ananas comosus*) can produce Nata of 1.4 cm. thick in 14 days. But "Nata" produced by bacteria isolated from guava has better texture, less fiber and was more popular than that produced by bacteria isolated from pineapple. The bacteria were identify as *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum*

The coconut juice which is composed of $NH_4H_2PO_4$ 0.05% $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% and ethanol 5% is the best medium for production of "Nata" by the bacteria isolated from guava. The "Nata" produced from this medium is 1.5 cm. thick in 14 days and will be produced two more after the removal of the former one.

สารบัญ

	หน้า
๑. คำนำและการตรวจเอกสาร	๑
๒. วิธีการ	๓
๓. ผลการทดลองและวิจารณ์	๗
๔. ข้อเสนอแนะ	๑๑
๕. สรุปผลการทดลอง	๑๒
๖. เอกสารอ้างอิง	๒๓

สารบัญตาราง

หน้า

ตารางที่ ๑ การแยกเชื้อจุลินทรีย์จากผลไม้ชนิดต่างๆ ๑๓

ตารางที่ ๒ คุณสมบัติบางประการและการยอมรับของผู้บริโภคต่อแผ่นวุ้น ๑๔

ตารางที่ ๓ ผลของการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในอาหารน้ำมะพร้าวที่เติมน้ำตาลปริมาณต่างๆกัน ๑๕

ตารางที่ ๔ ผลของการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในน้ำมะพร้าวที่เติมสารประกอบไนโตรเจนจากแหล่งต่างๆกัน ๑๖

ตารางที่ ๕ ผลของการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในอาหารน้ำมะพร้าวที่เติม $NH_4H_2PO_4$ ปริมาณต่างๆกัน ๑๗

ตารางที่ ๖ ผลของการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในอาหารน้ำมะพร้าวที่เติม ethanol ปริมาณต่างๆกัน ๑๘

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ ๑ ลักษณะโคโลนีของบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์ ๑๙

ภาพที่ ๒ ลักษณะของแผ่นวุ้นที่สร้างโดยบักเตรีที่แยกได้ ๒๐

ภาพที่ ๓ ลักษณะของชิ้นวุ้นหลังจากต้มไล่ด่าง ๒๑

ภาพที่ ๔ ลักษณะของวุ้นสวรรค์ที่เรียบร้อย ๒๒

การคัดเลือกบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์และการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว

ตำนานและตรวจเอกสาร

วุ้นสวรรค์ภาษาฟิลิปปินส์เรียกว่า "Nata" เมื่อเติมน้ำเชื่อมแล้ว นิยมรับประทานเป็นอาหารหวาน ถ้าทำจากน้ำมะพร้าวเรียกว่า "Nata de Coco" ถ้าทำจากสับปะรดเรียกว่า"Nata de Pina" ลักษณะของวุ้นสวรรค์คล้ายๆวุ้นธรรมดา (agar) ที่ใช้ทำขนมหรือใช้เลี้ยงจุลินทรีย์ ข้อแตกต่างคือ วุ้นสวรรค์นั้น เป็นผลิตผลของบักเตรีพวกให้กรดน้ำส้มโดยเฉพาะเชื้อ *Acetobacter* และวุ้นธรรมดาเป็นผลิตผลของสาหร่ายพวก seaweeds เช่น *Gelidium* เป็นต้น นอกจากนี้องค์ประกอบทางเคมีและคุณลักษณะทางฟิสิกส์ของวุ้นทั้งสองชนิดก็แตกต่างกัน วุ้นธรรมดาประกอบด้วย galactose & 3,6-anhydrogalactose สามารถหลอมเหลวที่อุณหภูมิ ๙๕°ซ. และแข็งตัวที่อุณหภูมิ ๔๐°ซ. (๖) แต่วุ้นสวรรค์ประกอบด้วย cellulose ซึ่งมีน้ำตาล glucose ต่อกัน คุณสมบัติทาง solubility , crystallinity และองค์ประกอบอื่นๆเหมือนเซลลูโลสที่ได้จากฝ้าย (๓) เมื่อต้มที่ ๑๐๐°ซ.ก็ยังคงมีลักษณะเดิม

บักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์เป็นบักเตรีพวกให้กรดน้ำส้ม (acetic acid bacteria) พบทั่วไปในธรรมชาติ ตามผักและผลไม้ เป็นจุลินทรีย์ที่มีส่วนสำคัญในการหมักผลไม้ ทำให้ได้รสเปรี้ยว ถ้านำน้ำผลไม้ใส่ภาชนะประมาณ ๕-๗ วัน จะสังเกตเห็นแผ่นใสๆบางๆคล้ายแผ่นวุ้นอยู่ตรงผิวหน้าของผลไม้นั้นๆ ในขณะที่ทำน้ำส้มสายชูจากน้ำผลไม้ น้ำตาล น้ำมะพร้าว หรือการเลี้ยงเห็ดรัสเซีย ก็จะพบแผ่นวุ้นใสๆลอยอยู่ตรงผิวหน้าเช่นกัน เมื่อเขย่าภาชนะแผ่นวุ้นนี้จะจมลงก้นภาชนะ และมีการสร้างแผ่นวุ้นใหม่อยู่ตรงผิวหน้าอีก แผ่นใสๆบางๆเหล่านี้คือ วุ้นสวรรค์นั่นเอง ชาวบ้านเรียกว่า "แม่น้ำส้ม" (mother of vinegar) ในการทำน้ำส้มสายชูครั้งใหม่ สามารถใช้วุ้นสวรรค์นี้เป็นหัวเชื้อได้

คุณสมบัติและการจำแนกเชื้อวุ้นสวรรค์

บักเตรีที่ใช้ทำวุ้นสวรรค์อยู่ใน genus *Acetobacter* ในธรรมชาติพบตามผัก ผลไม้ น้ำผลไม้ น้ำส้มและอัลกอฮอล์ บักเตรีนี้มีเซลรูปร่างกลมรี หรือรูปท่อน ขนาดกว้าง ๐.๖-๐.๘ ไมครอน ยาว ๑.๐-๓.๐ ไมครอน มักอยู่เดี่ยวๆ เป็นคู่หรือเป็นเส้นยาว บาง species มีรูปร่างไม่แน่นอนเช่น กลม ยาว รูปถ้วย โค้งหรือแตกสาขา บางพวกเคลื่อนที่ได้ด้วย peritrichous flagella ไม่สร้าง endospore เซลที่ยังอ่อนอยู่ย้อมติดสีแกรมลบ เซลแก่ย้อมติดสีแกรมไม่แน่นอน

Acetobacter สามารถออกซิไดซ์อินทรีย์สารเป็นกรดอินทรีย์ เช่น เปลี่ยน ethanol เป็น acetic acid เปลี่ยน glucose เป็น 5-ketogluconic acid และ gluconic acid เปลี่ยน glycerol,sorbitol เป็น dihydroxyacetone ได้ นอกจากนี้สามารถเปลี่ยน acetic acid และ lactic acid เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้

ลักษณะสำคัญของ *Acetobacter* นั้น ต้องการอากาศ (strict aerobe) ในการเจริญเติบโต อุณหภูมิที่เหมาะสมเป็น ๓๐°ซ. แต่เจริญได้ในช่วงอุณหภูมิ ๕-๔๒°ซ. และต้องการอาหารที่มีกรดด่าง (pH) ระหว่าง ๕.๔-๖.๓ G+C content ของ DNA อยู่ในช่วง ๕๕-๖๔ moles% ตัวอย่าง (Type species) คือ *Acetobacter aceti* (๗)

การแยกบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์จากธรรมชาติ

การแยกบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์จากธรรมชาติ มีการทำกันในต่างประเทศ :Lapus et al (๔) ได้ทำการแยกเชื้อวุ้นสวรรค์จากผลไม้หลายชนิด พบว่า บักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์คือ *A.xylinum* ซึ่งสามารถสร้างกรดจาก glucose,alcohol และ glycerol ให้ catalase test เป็นบวก ไม่เปลี่ยนแปลงสีของ litmus milk ไม่มีการสร้าง indole ไม่รีดิวซ์ nitrate เป็น nitrite และสามารถออกซิไดซ์กรดน้ำส้มเป็นคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำ

Nakayama,et.al (๔) แยกเชื้อจากแผ่นวุ้นน้ำส้มในขบวนการผลิตน้ำส้ม พบว่า คือ *A.aceti* subspecies *xylinum* และอาหารที่เหมาะสมในการสร้างวุ้นคือ mannitol 5.0 %, K_2HPO_4 0.01% KH_2PO_4 0.09%, $MgSO_4.7H_2$ 0.025% , $FeCl_3$ 0.0005% & corn steep - liquor 0.1% โดยมี pH 7.0 เขย่าและบ่มที่ ๓๐°ซ. ๔ วัน คาร์โบไฮเดรทที่ได้เมื่อนำไปย่อยด้วยกรดจะประกอบด้วยน้ำตาลกลูโคสเท่านั้น

การทำวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว

เนื่องจากน้ำมะพร้าวมีคุณค่าทางอาหารสูง และเป็นอาหารที่ใช้เลี้ยงบักเตรีที่ผลิตวุ้นได้ดี การทดลองครั้งนี้จึงทำการคัดเลือกสายพันธุ์บักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์จากธรรมชาติ เพื่อหาเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวตามสภาพของประเทศไทยเป็นการใช้น้ำมะพร้าวให้เกิดประโยชน์และถ้ามีการส่งเสริมให้ผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าวเป็นอุตสาหกรรมได้ ก็จะเพิ่มพูนรายได้แก่เกษตรกรที่ทำสวนมะพร้าวโดยตรง

วิธีการทดลอง

๑. การเก็บตัวอย่าง

๑.๑ ตัวอย่างที่ใช้ในการแยกเชื้อบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์ คือ ผลไม้ โดยใช้ผลไม้ที่มีอยู่ทั่วไปในภาคใต้เป็นวัตถุดิบ ผลไม้ที่ใช้มี ๑๕ ชนิด คือ

กล้วย	มังคุด	ลูกตาล
ขนุน	ละมุด	
เงาะ	มะเขือเทศ	
ชมพู่	มะม่วง	
แตงกวา	มะละกอ	
น้อยหน่า	สับปะรด	
พุทรา	องุ่น	

และยังได้เก็บตัวอย่างจากน้ำตาลสด น้ำตาลเมา น้ำมะพร้าว และน้ำส้มสายชูจากน้ำตาลตะโนดมาแยกเชื้อด้วย

๑.๒ นำผลไม้ชนิดต่างๆไปบดด้วยเครื่องปั่น (blender) ทีละชนิด โดยเติมในอัตราส่วนระหว่างผลไม้ต่อน้ำต้ม เป็น 1:1 แล้วแบ่งออกเป็น ๒ ชุด ชุดหนึ่งเติมอัลกอฮอล์ (Ethyl alcohol 95%) 4%(v/w) และอีกชุดไม่เติมอัลกอฮอล์ หลังจากนั้นนำของผสม ๒๐๐ มล. บรรจุในขวดปากกว้างขนาด ๖๐ x ๑๔๔ มม. (ขวดกาแฟขนาดกลาง) ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อโดยการลวกด้วยน้ำเดือด ปิดฝาขวดด้วยกระดาษ ตั้งขวดไว้ที่อุณหภูมิห้องจนปรากฏเชื้อเจริญอยู่ตามผิว ถ้าตัวอย่างเป็นของเหลว ก็นำตัวอย่างนั้น ๒๐๐ มล. บรรจุขวดปิดฝา และตั้งไว้จนสังเกตพบเชื้อเจริญอยู่ที่ผิวเช่นกัน

๒. การแยกเชื้อ

๒.๑ เมื่อสังเกตพบเมือกบนผิวหน้าของตัวอย่าง ได้ทำการแยกเชื้อโดยวิธี streak บนอาหารเฉพาะ สำหรับบักเตรีน้ำส้ม (acetic acid bacteria) ซึ่งดัดแปลงจากสูตรอาหารของ Lapuz et al (๙) และมีองค์ประกอบดังนี้ $NH_4H_2PO_4$ 0.1 % $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% น้ำตาลทราย ๑๐.๐% วุ้น ๑.๕% โดยนำละลายในน้ำมะพร้าวแก่ (นึ่งฆ่าเชื้ออาหารที่อุณหภูมิ ๑๒๑ °ซ ๑๕ นาที)

๒.๒ ทำการแยกโคโลนีเดี่ยวๆจากข้างต้นมา streak บนอาหารชนิดเดิม จนแน่ใจว่าได้เชื้อบริสุทธิ์ จึงเก็บเชื้อไว้ในหลอดอาหารชนิดเดียวกัน

๓. การศึกษาคุณสมบัติของเชื้อบริสุทธิ์และการจำแนกเชื้อที่แยกได้

เชื้อที่แยกได้ตามวิธีการข้อ ๒ ได้นำมาทดสอบความสามารถการใช้น้ำตาลชนิดต่างๆคือ glucose,mannitol,sucrose & lactose ตามวิธีของ Frateur(๑) โดยดูการเกิด gluconate การเกิด dihydroxyacetone จาก glycero , การเกิด browning pigment, การเกิด cellulose การเกิดกรดและการเจริญบน Hoyer's medium

๔. การศึกษาความสามารถสร้างแผ่นวุ้นในน้ำมะพร้าวของเชื้อที่แยกได้

๔.๑ น้ำมะพร้าว ที่ใช้เป็นน้ำมะพร้าวแก่ ได้รับความเชื่อเชื้อจากแม่ค้าในตลาดสดเทศบาล หาดใหญ่ นำน้ำมะพร้าวมาเติมสารประกอบต่างๆตามข้อ ๒.๑ ยกเว้นวุ้น แล้วนำไปต้มจนเดือด ๕ นาที เมื่อเย็นแล้วเติมอัลกอฮอล์ ๔% ถ่ายน้ำมะพร้าว ๒๐๐ มล. ใส่ขวดปากกว้าง ซึ่งฆ่าเชื้อโดยลวกน้ำเดือด ปิดฝาด้วยกระดาษ

๔.๒ การเตรียมเชื้อ ใช้เชื้อที่แยกได้จากข้อ ๒.๒ นำมา streak บนอาหารน้ำมะพร้าว ปล่อยเชื้อให้เจริญ ๓ วัน เขี่ยเชื้อ ๑ โคโลนี ลงในขวดน้ำมะพร้าว ๑ ขวด โดยทดลองเชื้อละ ๓๐ ขวด ตั้งขวดไว้ในที่ที่เหมาะสมโดยไม่มีการเคลื่อนย้ายเป็นเวลา ๑๔ วัน

๔.๓ สังเกตวัดความหนาของแผ่นวุ้น และทดสอบคุณสมบัติของแผ่นวุ้นในด้านเนื้อสัมผัส ตลอดจนการยอมรับของผู้บริโภค คัดเฉพาะเชื้อที่สามารถสร้างวุ้นได้หนาและมีคุณสมบัติเหมาะสม เพื่อใช้ทำการทดลองขั้นต่อไป

ผลการทดลองดังแสดงตามตารางที่ ๑,๒

๕. การหาปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าว

เชื้อที่ผ่านการคัดเลือกโดยวิธีตามข้อ ๔ ได้นำมาเลี้ยงในน้ำมะพร้าวที่ประกอบด้วย $NH_4H_2PO_4$ 0.1% , $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% และใช้ ปริมาณน้ำทรายแตกต่างกันเป็น ๐% ๕% ๑๐% และ ๑๕%ตามลำดับ เมื่อครบ ๑๔ วัน ทำการวัดความหนาของแผ่นวุ้น และสังเกตการเปลี่ยนแปลงของน้ำมะพร้าววัด pH (โดยใช้ Corning-Ell model 7 pH meter)หาปริมาณกรดที่เชื้อผลิตขึ้นในรูปของกรดน้ำส้ม และหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ โดยใช้ refractometer

เมื่อนำวุ้นที่สร้างได้แผ่นแรกออก ปิดฝาขวดน้ำมะพร้าวไว้ดังเดิม ตั้งไว้ต่อไปอีกจนครบ ๒๘วัน และ ๔๒ วัน จึงวัดความหนาของวุ้นแผ่นที่ ๒ และแผ่นที่ ๓ ตามลำดับ พร้อมทั้งสังเกตการเปลี่ยนแปลงของน้ำมะพร้าวที่เกิดขึ้นเช่นเดียวกับครั้งแรก

ผลการทดลองดังแสดงตามตารางที่ ๓

๖. การหาแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าว

เมื่อทราบปริมาณน้ำตาลทรายที่เหมาะสมในการสร้างวุ้นจากข้อ ๕ แล้ว ได้ศึกษาต่อโดยใช้แหล่งของไนโตรเจนแตกต่างกัน คือ urea (H_2NCONH_2) diammonium hydrogen phosphate : ($(NH_4)_2HPO_4$) & ammonium dihydrogen phosphate แบ่งการทดลองออกเป็น ๕ การทดลอง คือ

การทดลองที่ ๑ น้ำมะพร้าว + อัลกอฮอล์ 4% (V/W)

การทดลองที่ ๒ น้ำมะพร้าว + $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + อัลกอฮอล์4% (V/W)

การทดลองที่ ๓ น้ำมะพร้าว + $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + H_2NCONH_2 0.1 % + อัลกอฮอล์ 4% (V/W)

การทดลองที่ ๔ น้ำมะพร้าว + $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + $(NH_4)_2HPO_4$ 0.1% + อัลกอฮอล์ 4% (V/W)

การทดลองที่ ๕ น้ำมะพร้าว + $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + $NH_4H_2PO_4$ 0.1% + อัลกอฮอล์ 4% (V/W)

ทำการทดลองตามวิธีการทดลองข้อ ๕ และ

ผลการทดลองดังแสดงตามตารางที่ ๔

๗. การหาปริมาณสารไนโตรเจนที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าว

เมื่อหาแหล่งของไนโตรเจนที่เหมาะสมจากข้อ ๖ แล้ว ได้ทำการทดลองต่อโดยใช้ สารไนโตรเจนที่เหมาะสมนั้นในปริมาณต่างๆกันเป็น ๐% ๐.๐๕% ๐.๑% ๐.๒% และ ๐.๕% ตามลำดับ และทำการทดลองตามวิธีการทดลองข้อ ๕

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ ๕

๘. การหาปริมาณอัลกอฮอล์ที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าว

ได้ทำการทดลองต่อไปเพื่อหาปริมาณอัลกอฮอล์ที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าวโดยใช้อัลกอฮอล์ปริมาณต่างๆกัน เป็น ๐% ๑% ๒% ๓% ๔% และ ๕% ตามลำดับ ทำการทดลองตามวิธีการทดลองข้อ ๕

ผลการทดลองดังแสดงในตารางที่ ๖

๔. กรรมวิธีการทำผลิตภัณฑ์จากแผ่นวุ้น

๔.๑ นำแผ่นวุ้นที่ได้มาล้างน้ำสะอาด และลอกแผ่นเยื่อบางๆที่อยู่ด้านล่างออก หั่นแผ่นวุ้นเป็นชิ้นๆรูปลูกบาศก์ นำไปต้มด้วยน้ำเดือด ๕ นาที แล้วได้ทำการฟอกสีเพื่อให้ชิ้นวุ้นขาวขึ้นโดยใช้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้นต่างๆกันเป็น ๑% และ ๒%

๔.๒ เมื่อได้ชิ้นวุ้นที่ขาวดีแล้ว นำไปแช่ ในน้ำเชื่อม ปริมาณต่างๆกัน เพื่อหาความหวานที่เหมาะสมต่อการทำผลิตภัณฑ์ต่อไป

ผลการทดลองและวิจารณ์

๑. การแยกเชื้อบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์

การแยกเชื้อบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์จากผลไม้ ๑๕ ชนิด คือ กล้วย ขนุน เงาะ ชมพู่ แตงกวา น้อยหน่า พุทรา สะบุด มังคุด มะเขือเทศ มะม่วง มะละกอ สับปะรด องุ่น และลูกตาล และจากน้ำตาลสด น้ำตาลเมา น้ำมะพร้าว และน้ำส้มสายชู ที่ไม่ได้ฆ่าเชื้อ ปรากฏว่า ตัวอย่างที่ไม่เติมอัลกอฮอล์มีราขึ้น ทุกตัวอย่าง ราที่พบเป็นพวก common molds มี *Mucor, Rhizopus, Aspergillus & Penicillium* สำหรับตัวอย่างที่เติมอัลกอฮอล์ ๔% ไม่พบราขึ้น แสดงว่า อัลกอฮอล์ที่เติมมีผลในทางยับยั้งการเจริญของราเหล่านี้ได้ จึงแยกเชื้อบักเตรีจากตัวอย่างที่เติมอัลกอฮอล์เท่านั้น โดยเลือกเฉพาะตัวอย่างที่มีเมือกอยู่ที่ผิว อุปสรรคที่เกิดขึ้นในขั้นนี้คือ มี film yeast เจริญอยู่ด้วย ทำให้แยกเชื้อบักเตรีได้ยาก ต้องทำการแยกเชื้อบักเตรีให้เร็วขึ้น

บักเตรีที่แยกได้นั้น เมื่อนำไปทดสอบความสามารถสร้างแผ่นวุ้นในน้ำมะพร้าวมีบักเตรีจากตัวอย่าง ๑๑ สร้างวุ้นได้ ผลดังตารางที่ ๑ น้ำมะพร้าวที่ใช้ทดสอบเป็นน้ำมะพร้าวแก่ก่อนเติมสารต่างๆ มีคุณสมบัติดังนี้ ในน้ำมะพร้าว ๑๐๐ มล. มีของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) 4.5-6.0 กรัม มีความเป็นกรดด่าง (pH) 4.6 - 5.6 และมีความถ่วงจำเพาะ ๑.๐๑๐ - ๑.๐๓๐ บักเตรีที่แยกได้จากผลฝรั่ง และสับปะรด สร้างแผ่นวุ้นได้หนาที่สุด เมื่อครบ ๑๔ วัน จะหนา ๑.๔๐ ซม. และเชื้อที่แยกได้จากน้ำมะพร้าว - สร้างแผ่นวุ้นบางมาก จากผลการทดลองแสดงว่าโดยธรรมชาติเชื้อบักเตรีที่สร้างวุ้นไม่ได้พบอยู่ตามผลไม้ ทุกชนิดและที่พบในน้ำมะพร้าวนั้นควรเป็นเชื้อที่อยู่ในบรรยายกาศที่ปะปนมาภายหลัง เพราะน้ำมะพร้าวในธรรมชาติต้องปราศจากจุลินทรีย์ต่างๆ

ต่อมาได้ทำการแยกเชื้อบักเตรีจากแผ่นวุ้นที่ได้จากตัวอย่างผลฝรั่งให้เป็นโคโลนีเดี่ยวๆ สุ่มเก็บตัวอย่างไว้ ๔ โคโลนี และให้ระหัส G_1, G_2, G_3 และ G_4 ตามลำดับ และแยกจากแผ่นวุ้นที่ได้จากตัวอย่างสับปะรดให้ระหัส P_1, P_2, P_3 และ P_4 ตามลำดับ

๒. การจำแนกเชื้อบักเตรีที่แยกได้

การศึกษาเชื้อบักเตรีที่สร้างวุ้นซึ่งแยกได้จากผลฝรั่งและสับปะรด ปรากฏว่ามีลักษณะคล้ายคลึงกันมาก เมื่อเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าวเติมวุ้น ๓ วัน โคโลนีขนาดเล็กเส้นผ่าศูนย์กลาง ๐.๒ มม. มีสีน้ำตาลอ่อน และมีเมือกใสเยิ้มๆรอบโคโลนี ดังภาพที่ ๑ นำมาย้อมสีแบบแกรมเป็นบักเตรีรูปแท่ง ติดสีแกรมลบ ไม่สร้างสปอร์ และได้จำแนกเชื้อตามวิธีของ Frateur (๑) เชื้อบักเตรีที่สร้างวุ้นที่แยกได้สามารถออกซิไดซ์

กรดน้ำส้มได้ (overoxidation) การเจริญในอาหารที่ประกอบด้วย yeast extract, glucose & $CaCO_3$ จะไม่สร้าง pigment สีน้ำตาล ซึ่งเป็นลักษณะของบักเตรีใน genus *Acetobacter* ได้ทำการทดลองต่อไป ปรากฏว่าบักเตรีที่แยกได้สามารถสร้างกรดจาก glucose เจริญได้ใน Hoyer s medium ให้ผล catalase test เป็นบวก สามารถสร้าง dihydroxyacetone จาก glycerol และสร้าง cellulose ในอาหารที่มี glucose ซึ่งเป็นลักษณะของ *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum*

เมื่อศึกษาคุณสมบัติของบักเตรีที่แยกได้แล้ว ได้นำมาเลี้ยงในอาหารน้ำมะพร้าว เพื่อเปรียบเทียบความหนาของแผ่นวุ้น ลักษณะของเนื้อสัมผัสและการยอมรับในผลิตภัณฑ์ ผลการทดลองดังตารางที่ ๒ ผลการทดลองที่ได้ แสดงว่าบักเตรี แม้ว่าจะแยกได้จากผลไม้ชนิดเดียวกัน และเป็นเชื้อ *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum* เหมือนกัน แต่ความสามารถในการสร้างวุ้นและคุณสมบัติของวุ้นที่ได้แตกต่างกัน เชื้อ G_4 ให้วุ้นที่มีความหนาที่สุด ลักษณะเนื้อสัมผัสยุ่ยและมีกากมาก เชื้อ G_3 แม้จะให้วุ้นที่บางกว่า เล็กน้อย แต่ลักษณะเนื้อสัมผัสแน่นและมีกากน้อย เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อๆไปจึงเลือกใช้ เฉพาะเชื้อ G_3 เมื่อเชื้อเจริญในน้ำมะพร้าวและสร้างวุ้น จะสังเกตเห็นวุ้นอยู่ที่ผิวอาหารลักษณะดังภาพที่ ๒

๓. ผลของการเติมน้ำตาลทรายต่อการสร้างวุ้นในอาหารน้ำมะพร้าวของเชื้อ G_3

ได้ทำการทดลองหาความเข้มข้นของน้ำตาลทรายปริมาณที่เหมาะสม สำหรับเติมในน้ำมะพร้าว เพื่อให้เชื้อ G_3 สร้างวุ้นได้หนาที่สุด ปริมาณน้ำตาลทรายที่ใช้ต่างๆกันเป็น ๐% ๕% ๑๐% และ ๑๕% สังเกตความหนาของแผ่นวุ้นที่สร้าง โดยติดตามผลถึงการสร้างวุ้นแผ่นที่สาม และแต่ละแผ่นให้มีเวลาการสร้างเป็น ๑๔ วันเท่าๆกัน ผลการทดลองดังตารางที่ ๓ ปรากฏว่าในทุกๆการทดลองให้ผลเหมือนกันคือ วุ้นแผ่นแรกหนาที่สุด และวุ้นแผ่นที่สามบางที่สุด แสดงว่าเชื้อ G_3 สามารถใช้สารอาหารต่างๆที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าว ที่เติมลงไปพอเพียงสำหรับสร้างวุ้นแผ่นที่หนึ่งและแผ่นที่สองเท่านั้น ต่อมาสารอาหารต่างๆจะลดลงทำให้ไม่สามารถสร้างวุ้นแผ่นที่สามได้

เมื่อเปรียบเทียบความหนาของแผ่นวุ้นที่ได้จากอาหารน้ำมะพร้าวที่ไม่เติมน้ำตาล และที่เติมน้ำตาลปริมาณต่างๆกันนั้น ปรากฏว่ามีความหนาโดยเฉลี่ยเกือบเท่ากัน แสดงว่าปริมาณน้ำตาลที่มีอยู่ในน้ำมะพร้าวตามธรรมชาตินำจะเพียงพอต่อการสร้างวุ้นอยู่แล้ว การเติมน้ำตาลลงไปอีกจึงไม่มีผลต่อการสร้างวุ้นให้หนาขึ้น Child (๒) รายงานว่า น้ำมะพร้าวแก่มีน้ำตาล sucrose อยู่ ๒.๐ กรัมต่อน้ำมะพร้าว ๑๐๐ มล. ดังนั้นการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในอาหารน้ำมะพร้าวจึงไม่จำเป็นต้องเติมน้ำตาลอีกสำหรับวุ้นแผ่นที่สามนั้นบางเกินไป ไม่เหมาะที่จะใช้ทำผลิตภัณฑ์ ถ้าสามารถหาวิธีที่เพิ่มความหนาของวุ้นแผ่นที่สามได้ ก็จะประหยัดเวลาและแรงงานในการผลิตวุ้นลงอีกเท่าหนึ่ง

๔. ผลของ Magnesium sulfate และแหล่งไนโตรเจนต่อการสร้างวุ้นในอาหารน้ำมะพร้าวของเชื้อ G_3

การทดลองขั้นนี้ เป็นการศึกษาความจำเป็นที่ต้องเติม magnesium sulfate และสารไนโตรเจนจากแหล่งต่างๆกัน ต่อการสร้างแผ่นวุ้นของเชื้อ G_3 สารไนโตรเจนที่ใช้มี urea, ammonium hydrogen-phosphate & ammonium dihydrogenphosphate ผลการทดลองดังตารางที่ ๔ ปรากฏว่า เชื้อ G_3 เมื่อเลี้ยงในน้ำมะพร้าวที่ไม่ได้เติมสารใดๆ หรือน้ำมะพร้าวที่เติมเฉพาะ magnesium sulfate หรือน้ำมะพร้าวที่เติม magnesium sulfate และ urea จะให้วุ้นที่หนาเฉพาะแผ่นแรกเท่านั้น วุ้นแผ่นที่สองและสามบางมากใช้ทำผลิตภัณฑ์ไม่ได้ ในขณะที่เลี้ยงเชื้อ G_3 ในน้ำมะพร้าวเติม magnesium sulfate และ ammonium hydrogenphosphate หรือเติม magnesium sulfate & ammonium dihydrogen phosphate จะให้วุ้นที่หนาใกล้เคียงกัน

จากการทดลองนี้แสดงว่า สารไนโตรเจนจำเป็นต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าวของเชื้อ G_3 สำหรับการสร้างวุ้นแผ่นแรกนั้นเชื้อ G_3 สามารถใช้แหล่งไนโตรเจนจากน้ำมะพร้าวโดยตรง แต่ในการสร้างวุ้นแผ่นที่สองนั้นเนื่องจากไนโตรเจนที่มีอยู่ถูกใช้ไปแล้ว การที่จะสร้างวุ้นให้หนาจึงจำเป็นต้องอาศัยแหล่งไนโตรเจนเพิ่มเติมจากภายนอก และแหล่งที่เหมาะสมคือ ammonium hydrogenphosphate หรือ ammonium dihydrogenpnosphate ขณะทำการทดลองปรากฏว่าการเติม ammonium hydrogenphosphate มีปัญหาด้านการละลายและการเกิดตะกอนในน้ำมะพร้าว การทดลองต่อไปจึงเลือกใช้ ammonium dihydrogen phosphate เป็นแหล่งของไนโตรเจน

๕. ผลของการเติม ammonium dihydrogenphosphate ต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าวของเชื้อ G_3

การทดลองครั้งนี้เป็นการหาความเข้มข้นของ ammonium dihydrogenphosphate ในปริมาณที่พอเหมาะ สำหรับเติมในน้ำมะพร้าวเพื่อให้เชื้อ G_3 สร้างวุ้นได้หนาที่สุด ปริมาณที่เติมคือ ๐% ๐.๐๔% ๐.๒๐% และ ๐.๔๐% ผลการทดลองดังตารางที่ ๕ การเติมสาร ammonium dihydrogenphosphate ตั้งแต่ ๐.๐๔% ขึ้นไปจะช่วยให้การสร้างวุ้นแผ่นที่สองหนาขึ้น แม้ว่าการเติม ammonium ๐.๒๐% และ๐.๔๐% จะช่วยให้วุ้นแผ่นที่สามหนาขึ้นบ้าง แต่ก็ยังไม่หนาพอที่จะใช้ทำเป็นผลิตภัณฑ์ ดังนั้นปริมาณ ammonium dihydrogenphosphate ที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นควรเป็น ๐.๐๔%

๖. ผลของการเติมอัลกอฮอล์ต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าวของเชื้อ G_3

เมื่อหาปริมาณ ammonium dihydrogenphosphate ที่เหมาะต่อการสร้างวุ้นของเชื้อ G_3 แล้ว ได้ทำการทดลองต่อไปโดยหาปริมาณอัลกอฮอล์ที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้น ปริมาณอัลกอฮอล์ที่เติมต่างกัน คือ ๐% ๑.๐% ๒.๐% ๓.๐% ๔.๐% ๕.๐% และ ๖.๐% ผลการทดลองดังตารางที่ ๖ ปรากฏว่า ปริมาณอัลกอฮอล์ ๖.๐% จะยับยั้งการเจริญของเชื้อ G_3 ทำให้สร้างวุ้นไม่ได้ ตัวอย่างที่ไม่เติมอัลกอฮอล์มีราขึ้น ซึ่งให้ผลเหมือนกับการแยกเชื้อจากผลไม้ที่ไม่เติมอัลกอฮอล์ อัลกอฮอล์แม้จะเติมเพียง ๑.๐% ก็มีฤทธิ์ยับยั้ง การเจริญของราได้ สำหรับปริมาณอัลกอฮอล์ที่เหมาะต่อการสร้างวุ้นของเชื้อ G_3 นี้ควรเป็น ๔.๐% เพราะวุ้นแผ่นที่สามยังมีความหนาพอที่จะใช้ทำผลิตภัณฑ์ได้ ปริมาณอัลกอฮอล์ ๔.๐% จะได้วุ้นเพียงสองแผ่นเท่านั้น

๗. การทำผลิตภัณฑ์จากแผ่นวุ้น

เมื่อแยกแผ่นวุ้นจากอาหารน้ำมะพร้าวแล้ว นำแผ่นวุ้นมาล้างน้ำและลอกเอาเยื่อที่อยู่ด้านล่างของแผ่นวุ้นออก ตัดวุ้นให้ได้เป็นชิ้นรูปลูกบาศก์ขนาด ๑.๕ x ๑.๕ x ๑.๕ ซม^3 ภายหลังจากต้มในน้ำเดือดแล้ว ฟอกสีชิ้นวุ้น โดยแช่น้ำด่างโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น ๑% และ ๒% ใช้อัตราส่วนวุ้นต่อน้ำด่างเป็น ๑ ต่อ ๑ ตั้งไว้ข้ามคืน จากนั้นต้มชิ้นวุ้นในน้ำด่างจนเดือดประมาณ ๑๐-๑๕ นาที รินน้ำด่างทิ้ง ต้มชิ้นวุ้นด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้งจนกระทั่งหมดด่าง พบว่า น้ำด่าง ๒% จะฟอกสีได้ดีกว่า ๑% หลังจากต้มครั้งสุดท้ายแล้ว ชิ้นวุ้นจะมีลักษณะดังภาพที่ ๓

วุ้นที่ขจัดด่างออกหมดแล้ว แช่ในน้ำเชื่อมเข้มข้น ๓๐ หรือ ๔๔ °บริกซ์ ใช้อัตราส่วนชิ้นวุ้นต่อน้ำเชื่อมเป็น ๑ ต่อ ๑ โดยน้ำหนัก แช่ชิ้นวุ้นในน้ำเชื่อมข้ามคืน เมื่อถึงจุดสมดุลย์จะได้ชิ้นวุ้นในน้ำเชื่อมที่มีความหวาน ๑๕ หรือ ๒๒ °บริกซ์ ตามลำดับ

บรรจุชิ้นวุ้นที่มีความหวานเหมาะสมแล้วลงขวดปากกว้าง ดังภาพที่ ๔ นำไปนึ่งในไอน้ำเดือด ๑๐ นาที แล้วปิดฝาขณะร้อนผลิตภัณฑ์วุ้นสวรรค์ที่ได้จะอยู่ในสภาพสูญญากาศ

ข้อเสนอแนะ

แผ่นวุ้นที่จะใช้ทำผลิตภัณฑ์ควรมีความหนาประมาณ ๑.๕ ซม. ระยะเวลาที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อให้ได้วุ้นแผ่นแรกควรอยู่ระหว่าง ๑๐-๑๒ วัน และสำหรับแผ่นที่สองหรือสาม ควรใช้เวลาประมาณ ๑๒-๑๔ วัน ในการเริ่มต้นเลี้ยงเชื้อเพื่อเอาแผ่นวุ้นควรใช้เชื้อที่มีอายุประมาณ ๔๘ ชม. ภายหลังจากตักเอาวุ้นแผ่นที่สามออกไปแล้ว สามารถใช้น้ำมะพร้าวส่วนที่เหลือเป็นเชื้อเริ่มต้นได้ โดยใช้ปริมาตร ๑ มล.ต่อน้ำมะพร้าว ๒๐๐ มล.

ชิ้นวุ้นก่อนแช่น้ำด่างควรล้างน้ำ และต้มหลายๆครั้ง เพื่อขจัดเอาสารที่ละลายน้ำได้ออกไปจากแผ่นวุ้นให้มากที่สุด แล้วจึงแช่ชิ้นวุ้นในน้ำด่างซึ่งจะช่วยขจัดกรดน้ำส้มที่หลงเหลืออยู่ และช่วยฟอกสีวุ้นให้ขาวขึ้น สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ได้ถ้ามีการย้อมสี เติมกลิ่น เติมเกลือแร่และไวตามินที่มีประโยชน์ ก็จะเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีคุณภาพดีมาก

สรุปผลการทดลอง

การทดลองผลิตวุ้นสารรสจากน้ำมะพร้าว ได้ผลดังนี้

๑. การแยกเชื้อบักเตรีจากตัวอย่างต่างๆกันนั้น บักเตรีที่แยกได้ได้จากผลฝรั่งและสับปะรด สามารถสร้างแผ่นวุ้นในน้ำมะพร้าวได้หนาที่สุด คือ หนา ๑.๕ ซม. ใช้เวลาประมาณ ๑๐-๑๔ วัน

๒. การจำแนกบักเตรีที่แยกได้นั้น เชื้อทั้งหมดคือ *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum*

๓. เมื่อทำการทดสอบการยอมรับในผลิตภัณฑ์ ปรากฏว่าบักเตรีที่แยกได้จากผลฝรั่งซึ่งให้หมายเลข G_3 เป็นเชื้อที่สร้างแผ่นวุ้นที่มีคุณภาพดีที่สุด คือ มีลักษณะดี เนื้อแน่น และเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

๔. สภาวะที่เหมาะสมต่อการสร้างวุ้นในน้ำมะพร้าวของเชื้อ G_3 นั้น ควรใช้สูตรอาหารที่มี $NH_4H_2PO_4$ ๐.๕ กรัม $MgSO_4.7H_2O$ ๐.๕ กรัม และอัลกอฮอล์ ๕๐ มล. ในน้ำมะพร้าว ๑ ลิตร จะได้วุ้นที่หนา ๑.๕ ซม. เมื่อครบ ๑๔ วัน และสามารถให้วุ้นได้ถึง ๓ แผ่น จากน้ำมะพร้าวชุดเดียวกัน

๕. กรรมวิธีการทำผลิตภัณฑ์จากแผ่นวุ้นนั้นมีดังนี้ นำแผ่นวุ้นมาล้างน้ำและต้มจนเดือด โดยเปลี่ยนน้ำหลายๆ ครั้ง ตัดแผ่นวุ้นให้เป็นรูปลูกบาศก์ ปล่อยทิ้งไว้จนสะเด็ดน้ำ แล้วแช่ด่างทับในสารละลาย NaOH 2% อัตราส่วนวุ้นต่อด่างเป็น ๑ ต่อ ๑ หลังจากนั้นต้มในน้ำด่างจนเดือด เทน้ำด่างออก แล้วเติมน้ำลงไปต้มไล่ด่างออกหลายๆครั้ง จนกระทั่งหมดด่างต่อไปแช่ชิ้นวุ้นในน้ำเชื่อม ๓๐ หรือ ๔๐ °บริกซ์ บรรจุในขวดปากกว้างนำไปนึ่ง ๑๐ นาที แล้วปิดฝาขณะร้อน จะได้ผลิตภัณฑ์ในสภาพสูญญากาศ

ตารางที่ ๑ การแยกเชื้อรุ้นสาวรรค์จากน้ำผลไม้ชนิดต่างๆ ใช้ผลไม้น้ำมาคั้นปนกับน้ำ อัตราส่วน ๑ ต่อ ๑ และเติมอัลกอฮอล์ ๔% (V/W) ปล่อยไว้ ๑๔ วัน แล้วสังเกตการเกิดรุ้น

ชนิดของผลไม้	ความหนาเฉลี่ยของรุ้นที่พบ (ซม.)
สับปะรด	1.4
ฝรั่ง	1.4
ละมุด	1.0
แตงกวา	0.21
องุ่น	0.65
มะละกอ	0.18
ชมพู่	0.33
มะม่วง	0.43
มะเขือเทศ	0.65
ลูกตาล	0.14
น้ำมะพร้าว	0.11

ตารางที่ ๒ คุณสมบัติบางประการและการยอมรับของผู้บริโภคต่อแผ่นวุ้น ภายหลังการเลี้ยงเชื้อวุ้นสวรรค์ในอาหารน้ำมะพร้าว ๑๔ วัน

เชื้อรหัส	ความหนา (ซม.)	คุณสมบัติของแผ่นวุ้น ลักษณะเนื้อสัมผัส	การยอมรับ
G_1	1.36	ยุ่ย เละ กากมาก	-
G_2	1.38	ยุ่ย เละ กากมาก	-
G_3	1.80	ยืดหยุ่น แน่น กากน้อย	+
G_4	1.90	ยุ่ย เละ กากมาก	-
P_1	1.40	ยืดหยุ่น แน่น กากน้อย	+
P_2	1.44	ยุ่ย เละ กากมาก	-
P_3	1.36	ยุ่ย เละ กากมาก	-
P_4	1.50	ยุ่ย เละ กากมาก	-

ตารางที่ ๓ ผลของการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในอาหารน้ำมะพร้าวที่มี $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% $NH_4H_2PO_4$ 0.1% ethanol 4% (V/W) และเติมน้ำตาลปริมาณต่างๆกัน

วันแผ่นที่	ปริมาณน้ำตาลที่เติม(%)	ความหนาเฉลี่ยของวุ้น (ซม.)	คุณสมบัติของน้ำมะพร้าว หลังจากเอาแผ่นวุ้นออก		
			ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (บริกซ์)	pH	acidity (% acetic acid)
1	0	1.82	5.7	3.4	1.87
	9	1.55	11.6	3.2	2.08
	10	1.45	16	3.2	1.86
	15	1.56	21.4	3.1	1.85
2	0	1.59	5.5	3.5	1.02
	5	1.6	12	2.8	1.04
	10	1.16	18.5	2.7	1.37
	15	1.71	24.1	2.6	1.61
3	0	0.44	4.9	4.0	0.53
	5	0.57	13.5	3.0	0.99
	10	0.59	20	2.8	1.26
	15	0.74	25.6	2.7	1.5

ตารางที่ ๔ ผลของการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในน้ำมะพร้าวที่เติมสารประกอบไนโตรเจนจากแหล่งต่างๆกัน คือ urea, $(NH_4)_2 HPO_4$ และ $NH_4H_2 PO_4$

วันแผ่นที่	การทดลองที่*	ความหนาเฉลี่ยของวุ้น (ซม.)	คุณสมบัติของน้ำมะพร้าวหลังจากเอาแผ่นวุ้นออก		
			pH	acidity (% acetic acid)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°บริกซ์)
	1	1.5	3.5	2.02	5.5
	2	1.63	5.5	1.73	5.6
1	3	1.56	3.5	1.80	5.4
	4	1.79	3.6	1.65	5.5
	5	1.82	3.4	1.87	5.7
	1	0.82	3.5	1.26	5.3
	2	0.99	3.6	1.23	5.1
2	3	0.91	3.7	1.33	5.4
	4	1.37	3.7	1.07	5.2
	5	1.59	3.5	1.02	5.3
	1	0.22	4.4	0.76	5.3
	2	0.35	3.8	0.63	5.1
3	3	0.52	4.3	00.66	5
	4	0.30	4	0.79	4
	5	0.44	4	0.53	4.9

*การทดลองที่ ๑ น้ำมะพร้าว + ethanol 4% (V/W)

การทดลองที่ ๒ $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + ethanol 4% (V/W)

การทดลองที่ ๓ น้ำมะพร้าว + $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + urea 0.1% + ethanol 4% (V/W)

การทดลองที่ ๔ น้ำมะพร้าว + $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + $(NH_4)_2HPO_4$ 0.1% + ethanol 4% (V/W)

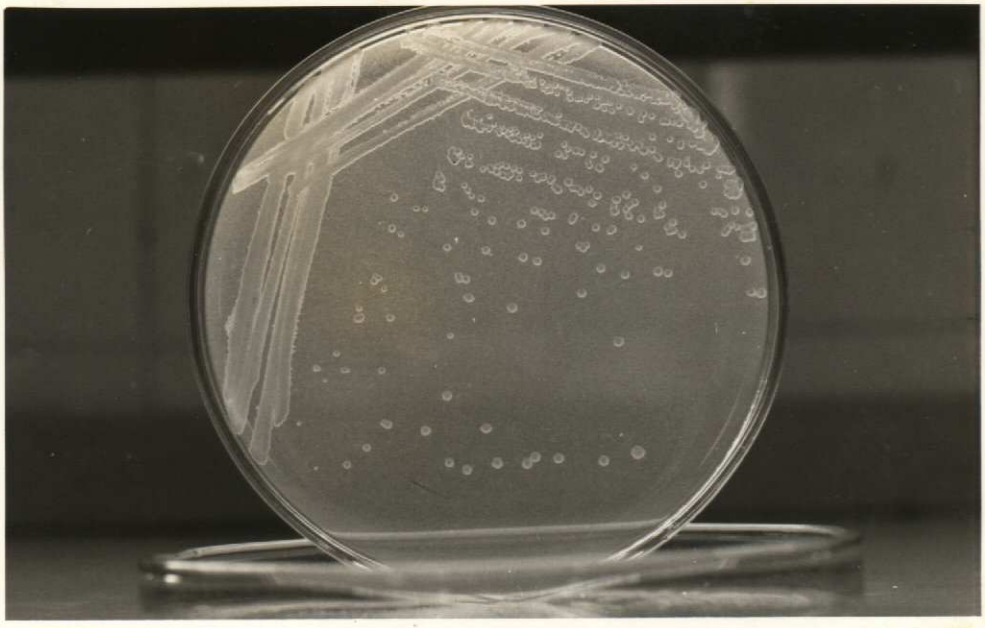
การทดลองที่ ๕ น้ำมะพร้าว + $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% + $NH_4H_2PO_4$ 0.1% + ethanol 4% (V/W)

ตารางที่ ๕ ผลของการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในอาหารน้ำมะพร้าวที่มี $MgSO_4 \cdot 7H_2O$ 0.05% ethanol 4% (V/W) และเติม $NH_4H_2PO_4$ ปริมาณต่างๆกัน

วันแผ่นที่	ปริมาณ $NH_4H_2PO_4$ ที่เติม (%)	ความหนาเฉลี่ยของวุ้น (ซม.)	คุณสมบัติของน้ำมะพร้าวหลังจากเอาแผ่นวุ้นออก		
			pH	acidity (% acetic acid)	ปริมาณของแข็งละลายได้ (°บริกซ์)
1	0	1.63	3.5	1.78	5.6
	0.05	1.56	3.6	1.72	5.5
	0.1	1.82	3.4	1.87	5.7
	0.2	1.78	3.4	1.90	5.7
	0.5	1.56	3.4	2.03	5.7
2	0	0.99	3.6	1.23	5.1
	0.05	1.62	3.6	1.01	4.9
	0.1	1.59	3.5	1.02	5.3
	0.2	1.76	3.6	1.35	5.4
	0.5	1.46	3.6	1.64	5.5
3	0	0.35	3.0	0.63	5.1
	0.05	0.57	4	0.49	4.7
	0.1	0.44	4	0.53	4.9
	0.2	1.01	3.5	0.83	4.5
	0.5	0.91	3.7	1.28	5.5

ตารางที่ ๖ ผลการเลี้ยงเชื้อ G_3 ในอาหารน้ำมะพร้าวที่มี $MgSO_4.7H_2O$ 0.05% $NH_4H_2PO_4$ 0.05% และเติม ethanol ปริมาณต่างๆกัน

วันแผ่นที่	ปริมาณ ethanol ที่เติม 1% V/V	ความหนาเฉลี่ยของวุ้น	คุณสมบัติของน้ำมะพร้าวหลังจากเอาแผ่นวุ้นออก		
			pH	acidity (% acetic acid)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°บริกซ์)
	0	ราบ	-	-	-
	1	1.51	3.9	0.48	4.4
1	2	1.75	3.75	0.90	4.4
	3	1.87	3.7	0.94	5.2
	4	1.88	3.6	1.72	5.5
	5	1.84	4.1	1.81	5.8
	1	0.94	3.3	0.41	3.2
	2	1.1	3.4	0.46	3.8
2	3	1.46	3.5	0.76	4.0
	4	1.62	3.6	0.01	4.9
	5	1.8	3.4	1.24	5.2
	1	0.18	3.7	0.19	3.2
	2	0.28	3.6	0.25	3.2
3	3	0.46	3.5	0.33	3.6
	4	0.61	3.6	0.57	4
	5	1.75	3.4	1.01	5



ภาพที่ ๑ ลักษณะโคโลนี่ของบักเตรีที่สร้างวุ้นสวรรค์

Prince of Songkla University Central Library

ภาพที่ ๒ ลักษณะของแผ่นวุ้นที่สร้างโดยบักเตรีที่แยกได้

ภาพที่ ๓ ลักษณะของชิ้นวุ้นหลังจากต้มไล่ด่าง

ภาพที่ ๔ ลักษณะของวุ้นสวรรค์ที่เรียบร้อย

เอกสารอ้างอิง

1. Buchanna,R.E., and H.B.Gibbons (ed),1974. *Bergey's Manual of Determinative Bacteriology.*, 8th ed. The Willian and Wilkins Company,Baltomore.

2. Child,R.1974. *Cocoнuts* 2nd.ed.,Longman Ltd. London.

3. Colvin,J.R. and M. Beer, 1960. The Formation of Cellulese Microfibrils in Suspensions of *Acetobacter xylinum*. *Can.J.Microbiol.*,6:631-637

4. Lapuz,R.M.,E.M. Gallardo, and M.A. Palo, 1967. The Nata Organism,Cultural Requirements,Characteristics and Identity. *The Phil.J. of Sci*, 96:91-108.

5. Nakayama,S.,T.Shirakawa, and T. Ohnish. 1979. Production and Some Properties of Slimy Polysaccharid Produced by Acetic acid Bacteria, *Hakkokogaku*, 57:31-37.

6. Whistler,R.E.(ed.) 1973. *Industrial Gums* ,2nd ed., Academic Press,London.