

# อิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสม ต่อการผลิตวันสวรรค

## Influence of Fruit Juices and Optimum of Ammonium Sulfate on the Bacterial Cellulose Production

จิรวุฒิ เพิ่มพูล<sup>1</sup> ประมวล ทราทอง<sup>2</sup> วรางคณา เรียนสุทธิ<sup>3\*</sup>

Jirawut Permpool<sup>1</sup> Pramuan Saithong<sup>2</sup> Warangkha Riansut<sup>3\*</sup>

<sup>1</sup>สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง ประเทศไทย

<sup>2</sup>ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันคั้นคว่ำและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ เขตจตุจักร กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย

<sup>3</sup>สาขาวิชาคณิตศาสตร์และสถิติ คณะวิทยาศาสตร์และนวัตกรรมดิจิทัล มหาวิทยาลัยทักษิณ อำเภอป่าพะยอม จังหวัดพัทลุง ประเทศไทย

<sup>1</sup>Department of Biology, Faculty of Science and Digital Innovation, Thaksin University, Pa Phayom, Phattalung, Thailand

<sup>2</sup>Department of Applied Microbiology, Institute of Food Research and Product Development, Kasetsart University, Chatuchak, Bangkok, Thailand

<sup>3</sup>Department of Mathematics and Statistics, Faculty of Science and Digital Innovation, Thaksin University, Pa Phayom, Phattalung, Thailand

### บทคัดย่อ

วันสวรรคเป็นผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ ผลิตได้จากแบคทีเรีย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาอิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวันสวรรคจากแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter xylinum* วางแผนการทดลองแบบ  $2 \times 3$  แฟกทอเรียลชนิดสุ่มสมบูรณ์ จำนวน 5 ซ้ำ โดยผันแปรชนิดน้ำผลไม้ 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด และสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 เก็บข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวันสวรรค ผลการศึกษพบว่า อิทธิพลหลักของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวันสวรรคแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ( $p < 0.05$ ) โดยไม่มีอิทธิพลร่วมกันระหว่างชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวันสวรรค กรรมวิธีที่ให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาสูงที่สุด คือ น้ำมะพร้าว (น้ำหนักเปียก  $37.67 \pm 1.94$  กรัม ความหนา  $2.74 \pm 0.18$  เซนติเมตร) และระดับความเข้มข้นของสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25 หรือ 0.50 (น้ำหนักเปียก  $29.68 \pm 9.46$  และ  $30.00 \pm 9.08$  กรัม ตามลำดับ ความหนา  $2.15 \pm 0.73$  และ  $2.18 \pm 0.71$  เซนติเมตร ตามลำดับ)

คำสำคัญ: วันสวรรค, อะซิโตแบคเตอร์ ไซลีนัม, น้ำมะพร้าว, น้ำสับปะรด, แอมโมเนียมซัลเฟต

### ABSTRACT

Bacterial cellulose is a product obtained from the synthesis of cellulose outside the cell, produced by bacteria. The purpose of this research is to study the influence of fruit juices and the optimum of ammonium sulfate on bacterial cellulose production from *Acetobacter xylinum*. The experiments were conducted by a  $2 \times 3$  factorial experiment using a completely randomized design with five replications. There were two types of fruit juice, including coconut water and pineapple juice. Three levels of ammonium sulfate were used at 0.25%, 0.50% and 0.75%. Wet weight and thickness of bacterial cellulose sheet were collected. The results showed that there was a significant difference ( $p < 0.05$ ) between the main effects of fruit juices and the amount of ammonium sulfate on the wet weight and thickness of bacterial cellulose. However, there was no interaction effect between them. The treatments that gave the highest average of wet weight and thickness were coconut water (wet weight  $37.67 \pm 1.94$  g., thickness  $2.74 \pm 0.18$  cm.) and the concentration levels 0.25% or 0.50% of ammonium sulfate (wet weight  $29.68 \pm 9.46$  and  $30.00 \pm 9.08$  g. respectively, thickness  $2.15 \pm 0.73$  and  $2.18 \pm 0.71$  cm. respectively)

**KEYWORDS:** bacterial cellulose, *Acetobacter xylinum*, coconut water, pineapple juice, ammonium sulfate

\*Corresponding Author: warang27@gmail.com

Received: 22/11/2021; Revised: 06/07/2023; Accepted: 09/07/2024

## 1. บทนำ

วุ้นสวรรค์ (Bacterial cellulose) เป็นผลผลิตที่ได้จากการสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ (Exopolysaccharide) ซึ่งผลิตได้จากแบคทีเรียหลายชนิด เช่น *Gluconacetobacter* (ชื่อเดิมคือ *Acetobacter*), *Agrobacterium*, *Aerobacter*, *Achromobacter*, *Azotobacter*, *Rhizobium*, *Sarcina* และ *Salmonella* (Shoda & Sugano, 2005) แบคทีเรียที่มีการศึกษามากที่สุดคือ *Acetobacter xylinum* (*A. xylinum*) โดยมีการนำไปใช้เป็นแบคทีเรียต้นแบบสำหรับการเรียนการสอนเรื่องแบคทีเรียที่มีความสามารถในการผลิตแผ่นเซลลูโลส เนื่องจาก *A. xylinum* สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบที่หลากหลาย เช่น น้ำมะพร้าว น้ำลำไย กากน้ำตาล แก้วมังกร และน้ำสับปะรด เป็นต้น (Bielecki et al., 2005) ซึ่งได้รับการรายงานการนำ *A. xylinum* มาใช้ในการผลิตแผ่นเซลลูโลสครั้งแรกโดย Brown (1886)

*A. xylinum* เป็นแบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก (Acetic acid bacteria) แกรมลบ มีทั้งรูปร่างแบบกลมและแบบแท่ง อยู่แยกเป็นเซลล์เดี่ยวหรือเรียงต่อกันเป็นสาย ต้องการอากาศในการเจริญ โดยเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส มีค่าความเป็นกรดต่าง 3 – 7 ใช้กลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญและสังเคราะห์เซลลูโลสออกมาภายนอกเซลล์ เมื่อเลี้ยงในอาหารเหลวหรือวัตถุดิบที่มีน้ำตาลจะผลิตกรดอะซิติกและชั้นวุ้นสีขาวหรือแผ่นเซลลูโลสลอยบนผิวหน้าอาหาร เรียกว่า Nata ทั้งนี้สีของแผ่นเซลลูโลสมีความแตกต่างกันไปขึ้นอยู่กับวัตถุดิบตั้งต้นที่นำมาใช้ในการหมัก หากใช้วัตถุดิบในการหมักต่างชนิดกันจะมีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่น เมื่อใช้น้ำมะพร้าว เรียกว่า Nata de coco และถ้าใช้น้ำสับปะรด เรียกว่า Nata de pina เป็นต้น (Sutanto, 2012) โครงสร้างพื้นฐานของแผ่นเซลลูโลสคือ ไมโครไฟบริล (Microfibrils) ที่เชื้อ *A. xylinum* สร้างขึ้นประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ขนาดเล็กที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกันด้วยพันธะเบต้า 1, 4 ไกลโคซิดิก ( $\beta$ -1, 4-glycosidic bond) การสังเกตด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแสดงให้เห็นว่าเซลลูโลสที่ผลิตโดย *A. xylinum* จะมองเห็นเป็นเส้นใยที่มีเส้นสายซ้อนทับกันมากมาย (Mühlethaler, 1949; Ul-Islam et al., 2012)

สารแอมโมเนียมซัลเฟต (Ammonium sulfate) มีสูตรทางเคมีคือ  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  โดยมีการศึกษาเกี่ยวกับการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตในกระบวนการผลิตวุ้นสวรรค์เพื่อให้ *A. xylinum* ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในกระบวนการผลิตเซลลูโลสได้อย่างมีประสิทธิภาพ เช่น Jagannath et al. (2008) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 ร่วมกับการเติมน้ำตาลซูโครสในช่วงร้อยละ 5 – 15 ปรับค่าความเป็นกรดต่างในช่วง 3.5 – 4.5 ผลการศึกษาพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ปริมาณน้ำตาลซูโครสร้อยละ 10 และค่าความเป็นกรดต่างที่ 4.0 ทำให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีความหนา น้ำหนักเปียกและความจุน้ำสูงที่สุด Li et al. (2013) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.00, 0.15, 0.30, 0.45, 0.60 และ 0.75 ใช้กลูโคสเชื้อ *Gluconacetobacter xylinus* Y15 ผลการศึกษาพบว่า เชื้อ *G. xylinus* Y15 เจริญได้ดีเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30 และ 0.45 และเจริญได้น้อยเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.60 และ 0.75 Margaretty et al. (2020) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30, 0.40 และ 0.50 ใช้เวลาในการหมัก 15 วัน ที่อุณหภูมิห้องและไม่ให้มีการเคลื่อนย้ายตลอดระยะเวลาของการหมัก ผลการศึกษาพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ทำให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีความหนา ปริมาณเส้นใย และร้อยละของผลผลิตสูงที่สุด และ Rojsuntornkitti et al. (2020) ได้ศึกษาการผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำสับปะรด โดยเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30, 0.40 และ 0.50 ผลการศึกษาพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ให้ความหนาและผลผลิตของวุ้นสวรรค์สูงที่สุด

ปัจจุบันวุ้นสวรรค์ได้รับความสนใจในอุตสาหกรรมอาหาร เนื่องจากข้อมูลด้านโภชนาการพบว่า เซลลูโลสที่ผลิตได้จากแบคทีเรียไม่สามารถย่อยได้ในลำไส้ของมนุษย์ ทั้งยังมีปริมาณเส้นใยอาหารสูง จึงเหมาะแก่ผู้บริโภคที่ต้องการควบคุมน้ำหนัก (Chawla et al., 2009) นอกจากนี้ยังมีการนำวุ้นสวรรค์ไปใช้ในอุตสาหกรรมยา เครื่องสำอาง สิ่งทอ และสารก่อเจล (Sutherland, 1998) การผลิตวุ้นสวรรค์นิยมผลิตจาก

วัตถุดิบน้ำมะพร้าวแก่ จึงเรียกอีกชื่อว่า วุ้นมะพร้าว (Nata de coco) มากกว่าการเรียกว่าวุ้นสวรรค์ โดยน้ำมะพร้าวที่นิยมนำมาผลิตเป็นวุ้นสวรรค์มักได้น้ำมะพร้าวแก่ที่เหลือจากการผลิตน้ำกะทิหรือการผลิตน้ำมันมะพร้าวสกัดเย็น ซึ่งส่วนใหญ่จะทิ้งเนื่องจากนำมาใช้ประโยชน์ได้ยาก การนำมาผลิตวุ้นสวรรค์จึงเป็นการเพิ่มมูลค่าน้ำมะพร้าวเหลือทิ้งได้ อย่างไรก็ตาม การผลิตวุ้นสวรรค์ยังสามารถใช้วัตถุดิบที่เป็นผลผลิตทางการเกษตรอื่น ๆ ที่ต้องการนำมาเพิ่มมูลค่าได้ เช่น สับปะรดและแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง เป็นต้น (Sutanto, 2012; Dejsungkranont, 2018; Rojsuntomkitti et al., 2020) โดยเฉพาะสับปะรด (*Ananas comosus* (L.) Merr.) นับว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญชนิดหนึ่งของประเทศไทย เนื่องจากประเทศไทยมีการส่งออกสับปะรดและผลิตภัณฑ์ที่ได้จากสับปะรดเป็นลำดับต้น ๆ ของโลก โดยในปี พ.ศ. 2562 ประเทศไทยมีมูลค่าการส่งออกสับปะรดสดหรือแช่เย็นจนแข็งสูงที่สุด มีมูลค่ามากถึง 78,509,087 บาท (Office of Agricultural Economics, 2021) แต่ยังมีสับปะรดที่ไม่ได้ขนาด ด้อยคุณภาพ เนื่องจากถูกเลืกลงไป สุกเกินไป อีกทั้งบางฤดูกาลยังมีปริมาณสับปะรดมากเกินไปจนล้นตลาด ทำให้ขายไม่ได้ราคา การนำน้ำสับปะรดมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์ ทำให้มีการใช้วัตถุดิบที่มีราคาตกต่ำหรือเหลือทิ้งมาเพิ่มมูลค่าและแก้ปัญหาน้ำมะพร้าวแก่ขาดตลาดได้อีกด้วย

จากการศึกษาที่ผ่านมาพบว่า ยังไม่เคยมีการศึกษาผลของน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด พร้อมกับการศึกษาระดับของสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมระหว่างความเข้มข้นร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 รวมถึงศึกษาอิทธิพลร่วมของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นสวรรค์ โดยศึกษาว่าปัจจัยใดที่ส่งผลให้น้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มีคุณภาพสูงที่สุด จึงเป็นที่มาของการศึกษารุ่นนี้เพื่อเป็นประโยชน์แก่ผู้ผลิตวุ้นสวรรค์สำหรับการจำหน่ายได้ทราบถึงปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์ที่มีคุณภาพต่อไป

## 2. วัสดุและวิธีการ

การศึกษาอิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นสวรรค์ ดำเนินการวิจัย ณ ฝ่ายจุลชีววิทยาประยุกต์ สถาบันคันควัวและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ระหว่างวันที่ 23 กันยายน พ.ศ. 2564 – 3 ตุลาคม พ.ศ.

2564 วางแผนการทดลองแบบ  $2 \times 3$  แฟกทอเรียลชนิดสุ่มสมบูรณ์ ( $2 \times 3$  Factorial in completely randomized design) จำนวน 5 ซ้ำ ซึ่งมีปัจจัยในการหมักเพื่อผลิตวุ้นสวรรค์ดังนี้

ปัจจัยที่ 1 ชนิดน้ำผลไม้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ 2 ชนิด คือ น้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด

ปัจจัยที่ 2 สารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3 ระดับ คือ ร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 ของปริมาณส่วนผสมระหว่างน้ำผลไม้ 135 มิลลิลิตร และกล้าเชื้อ 15 มิลลิลิตร รวม 150 มิลลิลิตร ซึ่งคิดเป็น 0.375, 0.750 และ 1.125 กรัม

### ขั้นตอนการทดลอง

1. เตรียมกล้าเชื้อ (Starter culture) สำหรับการผลิตวุ้นสวรรค์ โดยนำน้ำมะพร้าวแก่ปริมาตร 450 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลซูโครสร้อยละ 5.0 สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.5 กรดกลูเซอิกอะซีติก (Glacial acetic acid) ร้อยละ 1.0 เพื่อปรับค่าความเป็นกรดต่างให้อยู่ในช่วง 4.0 – 4.5 นำเข้าหม้อนึ่งความดันไอน้ำ (Autoclave) สำหรับฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้ระยะเวลานึ่ง 15 นาที เมื่อเสร็จแล้วนำมายางจนวนหายร้อนประมาณ 1 ชั่วโมง เติมห่วงเชื้อ *A. xylinum* ร้อยละ 10 บ่มที่อุณหภูมิห้อง 5 วัน แบ่งส่วนใส่ออกเป็นชุด ๆ ละ 15 มิลลิลิตร จำนวน 30 ชุด ใส่ในหลอดทดลองที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วเพื่อนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อในการศึกษาต่อไป

2. เตรียมขวดแก้วขนาดบรรจุ 200 มิลลิลิตร สูง 15 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางก้นขวด 4.9 เซนติเมตร เส้นผ่านศูนย์กลางปากขวด 4.6 เซนติเมตร จำนวน 30 ขวด พร้อมทั้งติดหมายเลข 1 – 30 เพื่อใช้ในการสุ่มหน่วยทดลองให้ได้รับปัจจัยในการหมักเพื่อผลิตวุ้นสวรรค์

3. เตรียมน้ำผลไม้เข้มข้น 2 ชนิด ได้แก่ น้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรด โดยปรับค่าของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ด้วยเครื่องวัดความหวาน (Refractometer) ให้มีค่า 12 องศาบริกซ์ สำหรับน้ำมะพร้าวจะปรับค่าน้ำตาลซูโครส และน้ำสับปะรดจะเจือจางด้วยน้ำสะอาด จากนั้นปรับค่าความเป็นกรดต่างให้อยู่ในช่วง 4.0 – 4.5 โดยใช้กรดกลูเซอิกอะซีติก ร้อยละ 1.0 สำหรับน้ำมะพร้าว และร้อยละ 0.2 สำหรับน้ำสับปะรด เพื่อให้ได้น้ำผลไม้ชนิดละ 2,025 มิลลิลิตร

4. แบ่งน้ำผลไม้ทั้ง 2 ชนิดลงในขวดแก้วชนิดละ 15 ขวด ปริมาตรขวดละ 135 มิลลิลิตร เพื่อเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 3 ระดับ ได้แก่ ร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 ตามลำดับการสุ่ม ดังตารางที่ 1

ปิดปากขวดด้วยผ้าขาวบางประกบกัน 2 ชั้น มัดปากขวดด้วยหนังยางและปิดปากขวดทับอีกครั้งด้วยอะลูมิเนียมฟอยล์ นำเข้าหม้อนึ่งความดันไอสําหรับฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 115 องศาเซลเซียส แรงดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้ระยะเวลาหนึ่ง 15 นาที เมื่อเสร็จแล้วนำมาวางจนหายร้อนประมาณ 1 ชั่วโมง

5. เติมหาล้าเชื้อในข้อ 1 ลงในขวดที่มีน้ำผลไม้และสารแอมโมเนียมซัลเฟตเรียบร้อยแล้ว

6. ปิดปากขวดด้วยผ้าขาวบางประกบ 2 ชั้น และมัดปากขวดด้วยหนังยาง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน โดยห้ามเคลื่อนย้ายตลอดระยะเวลาของการหมัก (Siripanporn et al., 2001)

ตารางที่ 1 ลำดับการสุ่มหน่วยทดลองที่ได้รับปัจจัยในการหมักเพื่อผลิตวุ้นสวรรค์

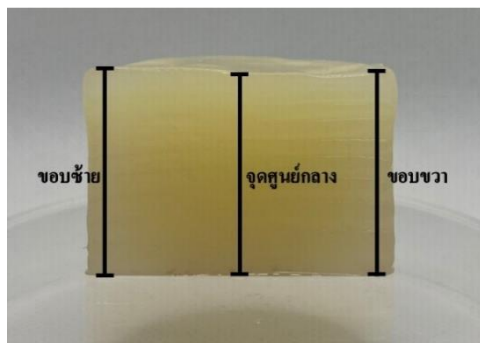
| ชนิดน้ำผลไม้ | สารแอมโมเนียมซัลเฟต |                    |                   |
|--------------|---------------------|--------------------|-------------------|
|              | ร้อยละ 0.25         | ร้อยละ 0.50        | ร้อยละ 0.75       |
| น้ำมะพร้าว   | 9, 27, 15, 12, 28   | 8, 29, 2, 19, 25   | 11, 17, 26, 3, 14 |
| น้ำสับปะรด   | 20, 5, 22, 23, 4    | 10, 18, 24, 16, 21 | 13, 6, 1, 30, 7   |

### การเก็บข้อมูล

เก็บข้อมูลวันที่ 10 ของการหมักวุ้นสวรรค์ คือวันที่ 3 ตุลาคม พ.ศ. 2564 เวลา 14.00 น. โดยเก็บข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ ดังวิธีการต่อไปนี้

1. น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์ (กรัม) เก็บข้อมูลโดยใช้ตะขอกเกี่ยวเฉพาะแผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีลักษณะทรงกลมออกจากขวด จากนั้นนำแผ่นวุ้นสวรรค์วางบนกระดาษเพื่อซับน้ำจนผิวแห้งก่อนนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่ง 2 ตำแหน่ง

2. ความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ (เซนติเมตร) เก็บข้อมูลโดยการนำแผ่นวุ้นสวรรค์มาตัดผ่ากลางจะได้รูปครึ่งทรงกลม จากนั้นใช้ไม้บรรทัดวัดความหนาทั้งหมด 3 จุด คือ จุดศูนย์กลาง ขอบซ้าย และขอบขวา ดังรูปที่ 2 แล้วหาค่าเฉลี่ย (Boonpan et al., 2013)



รูปที่ 2 วิธีการวัดความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์

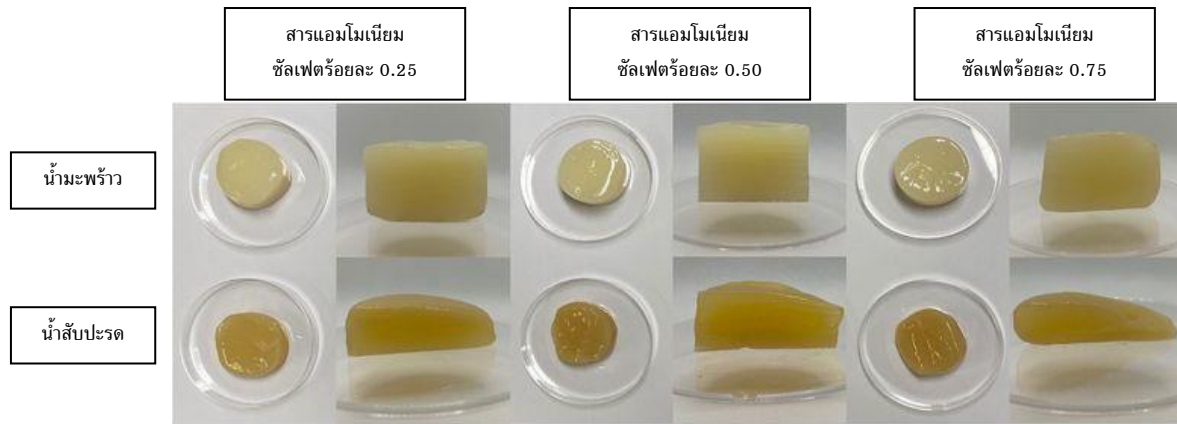
### การวิเคราะห์ข้อมูล

นำข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มาวิเคราะห์ข้อมูลที่ระดับนัยสำคัญ 0.05 โดยการวิเคราะห์ความแปรปรวน (Analysis of variance:

ANOVA) แบบแฟกทอเรียลชนิดสุ่มสมบูรณ์ที่มี 2 ปัจจัย พิจารณาการมีนัยสำคัญของปัจจัยหลักทั้ง 2 ปัจจัย คือ ชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ หากพบว่ามีความนัยสำคัญจะทำการเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบการเปรียบเทียบพหุคูณ (Multiple Comparisons Test) โดยวิธีการทดสอบของตุคีย์ (Tukey's Test) ซึ่งถ้าอิทธิพลร่วมมีความแตกต่างทางสถิติ จะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบการเปรียบเทียบพหุคูณเฉพาะอิทธิพลร่วมเท่านั้น แต่ถ้าอิทธิพลร่วมไม่มีความแตกต่างทางสถิติ จะเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยการทดสอบการเปรียบเทียบพหุคูณของปัจจัยหลักที่มีความแตกต่างทางสถิติ และนำความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนตรวจสอบข้อสมมุติ (Assumptions) ของการวิเคราะห์ความแปรปรวน ได้แก่ ตรวจสอบการแจกแจงปกติด้วยการทดสอบชาฟิโร-วิลค์ (Shapiro-Wilk test: S-W) และตรวจสอบความเท่ากันของความแปรปรวนด้วยการทดสอบของเลวินภายใต้การใช้อนุฐาน (Levene's test based on median) (Riansut, 2016)

### 3. ผลการทดลอง

การหมักแผ่นวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวและน้ำสับปะรดจากเชื้อ *A. xylinum* ที่เติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25, 0.50 และ 0.75 พบว่า การหมักด้วยน้ำมะพร้าวทำให้ลักษณะภายนอกของผิวหน้าเรียบ มีรูปทรงสวยงาม และแผ่นวุ้นสวรรค์หนากว่าการหมักด้วยน้ำสับปะรด ดังรูปที่ 3



รูปที่ 3 ลักษณะของแผ่นวุ้นสวรรค์

ผลการศึกษาอิทธิพลของชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นสวรรค์แสดงข้อมูลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ดังนี้

### 3.1 น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์

ผลการศึกษาพบว่า ชนิดน้ำผลไม้ที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวส่งผลให้น้ำหนักเปียกเฉลี่ยสูงกว่าการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำสับปะรด 17.91 กรัม ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ด้วยการทดสอบของตูกีย์ พบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 และร้อยละ 0.25 เป็นกลุ่มของกรรมวิธีที่ส่งผลให้น้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงที่สุด (30.00 และ 29.68 กรัม ตามลำดับ) ขณะที่สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 ให้น้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ต่ำที่สุด คือ 26.47 กรัม อย่างไรก็ตาม

ผลการศึกษาครั้งนี้พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อน้ำหนักเปียกเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ เมื่อนำความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนมาตรวจสอบข้อสมมุติพบว่า ความคลาดเคลื่อนของน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้น้ำผลไม้ทั้ง 2 ชนิด มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.95, p-value = 0.46, S-W statistic = 0.94, p-value = 0.33 และ Levene statistic = 0.01, p-value = 0.93) และความคลาดเคลื่อนของน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกัน 3 ระดับ มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.90, p-value = 0.22, S-W statistic = 0.92, p-value = 0.32, S-W statistic = 0.93, p-value = 0.43 และ Levene statistic = 1.59, p-value = 0.22) จากผลการตรวจสอบข้อสมมุติของการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ข้อสมมุติเป็นจริง ทำให้ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ได้ในตารางที่ 3 มีความถูกต้องน่าเชื่อถือ

ตารางที่ 2 น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์ (กรัม)

| ชนิดน้ำผลไม้         | สารแอมโมเนียมซัลเฟต               |                                   |                                   |
|----------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|-----------------------------------|
|                      | ร้อยละ 0.25                       | ร้อยละ 0.50                       | ร้อยละ 0.75                       |
| น้ำมะพร้าว           | 38.00, 39.32, 39.06, 39.94, 36.58 | 37.65, 38.02, 40.50, 39.55, 36.85 | 34.81, 36.99, 34.35, 38.66, 34.78 |
| ค่าเฉลี่ย            | 38.58                             | 38.51                             | 35.92                             |
| ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 1.319                             | 1.481                             | 1.85                              |
| น้ำสับปะรด           | 19.01, 21.08, 21.85, 21.66, 20.27 | 21.59, 20.10, 23.82, 21.20, 20.74 | 19.49, 19.41, 16.59, 12.85, 16.76 |
| ค่าเฉลี่ย            | 20.77                             | 21.49                             | 17.02                             |
| ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 1.16                              | 1.42                              | 2.71                              |

ตารางที่ 3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์และการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยการทดสอบของดุกี

| ปัจจัย              | น้ำหนักเปียก (กรัม)<br>(ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.) | F                              |
|---------------------|-----------------------------------------------|--------------------------------|
| ชนิดน้ำผลไม้        | น้ำมะพร้าว                                    | 37.67 <sup>a</sup> $\pm$ 1.94  |
|                     | น้ำสับปะรด                                    | 19.76 <sup>b</sup> $\pm$ 2.68  |
| สารแอมโมเนียมซัลเฟต | ร้อยละ 0.25                                   | 29.68 <sup>a</sup> $\pm$ 9.46  |
|                     | ร้อยละ 0.50                                   | 30.00 <sup>a</sup> $\pm$ 9.08  |
|                     | ร้อยละ 0.75                                   | 26.47 <sup>b</sup> $\pm$ 10.20 |
| อิทธิพลร่วม         |                                               | 0.74                           |

\* แทนการมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบด้วยการทดสอบของดุกี

### 3.2 ความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์

ผลการศึกษาพบว่า ชนิดน้ำผลไม้ที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวส่งผลให้ความหนาเฉลี่ยสูงกว่าการหมักวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำสับปะรด 1.35 เซนติเมตร ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกันมีอิทธิพลต่อความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์อย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ด้วยการทดสอบของดุกี พบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 และร้อยละ 0.25 เป็นกลุ่มของกรรมวิธีที่ส่งผลให้ความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงที่สุด (2.18 และ 2.15 เซนติเมตร ตามลำดับ) ขณะที่สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 ให้ความหนาเฉลี่ยของแผ่นวุ้นสวรรค์ต่ำที่สุด คือ 1.87 เซนติเมตร อย่างไรก็ตาม ผลการศึกษานี้พบว่า ไม่มีอิทธิพลร่วมระหว่างชนิดน้ำผลไม้และปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตต่อความหนาเฉลี่ยของ

แผ่นวุ้นสวรรค์ เมื่อนำความคลาดเคลื่อนที่ได้จากการวิเคราะห์ความแปรปรวนมาตรวจสอบข้อสมมุติ พบว่า ความคลาดเคลื่อนของความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้น้ำผลไม้ทั้ง 2 ชนิด มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.97, p-value = 0.83, S-W statistic = 0.95, p-value = 0.51 และ Levene statistic = 0.51, p-value = 0.48) และความคลาดเคลื่อนของความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์เมื่อใช้ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตที่แตกต่างกัน 3 ระดับ มีการแจกแจงปกติและมีความแปรปรวนเท่ากัน (S-W statistic = 0.94, p-value = 0.52, S-W statistic = 0.94, p-value = 0.50, S-W statistic = 0.86, p-value = 0.08 และ Levene statistic = 0.13, p-value = 0.88) จากผลการตรวจสอบข้อสมมุติของการวิเคราะห์ความแปรปรวนพบว่า ข้อสมมุติเป็นจริง ทำให้ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนที่ได้ในตารางที่ 5 มีความถูกต้อง น่าเชื่อถือ

ตารางที่ 4 ค่าเฉลี่ยความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์จากการวัดจุดศูนย์กลาง ขอบซ้าย และขอบขวา (เซนติเมตร)

| ชนิดน้ำผลไม้         | สารแอมโมเนียมซัลเฟต          |                              |                              |
|----------------------|------------------------------|------------------------------|------------------------------|
|                      | ร้อยละ 0.25                  | ร้อยละ 0.50                  | ร้อยละ 0.75                  |
| น้ำมะพร้าว           | 2.63, 2.93, 2.83, 2.87, 2.87 | 2.77, 3.07, 2.83, 2.90, 2.57 | 2.57, 2.77, 2.57, 2.53, 2.43 |
| ค่าเฉลี่ย            | 2.83                         | 2.83                         | 2.57                         |
| ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 0.12                         | 0.18                         | 0.12                         |
| น้ำสับปะรด           | 1.20, 1.60, 1.70, 1.53, 1.37 | 1.47, 1.37, 1.77, 1.47, 1.53 | 1.17, 1.43, 1.07, 1.03, 1.13 |
| ค่าเฉลี่ย            | 1.48                         | 1.52                         | 1.17                         |
| ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | 0.20                         | 0.15                         | 0.16                         |

ตารางที่ 5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของความหนา (เซนติเมตร) ของแผ่นวุ้นสวรรค์ และการเปรียบเทียบพหุคูณด้วยการทดสอบของดุกี

| ปัจจัย              | ความหนา (เซนติเมตร)<br>(ค่าเฉลี่ย $\pm$ S.D.) | F                            |
|---------------------|-----------------------------------------------|------------------------------|
| ชนิดน้ำผลไม้        | น้ำมะพร้าว                                    | 2.74 <sup>a</sup> $\pm$ 0.18 |
|                     | น้ำสับปะรด                                    | 1.39 <sup>b</sup> $\pm$ 0.23 |
| สารแอมโมเนียมซัลเฟต | ร้อยละ 0.25                                   | 2.15 <sup>a</sup> $\pm$ 0.73 |
|                     | ร้อยละ 0.50                                   | 2.18 <sup>a</sup> $\pm$ 0.71 |
|                     | ร้อยละ 0.75                                   | 1.87 <sup>b</sup> $\pm$ 0.75 |
| อิทธิพลร่วม         |                                               | 0.27                         |

\* แทนการมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05

ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันแสดงถึงการมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 เมื่อเปรียบเทียบด้วยการทดสอบของดุกี

#### 4. การอภิปราย

น้ำหนักเปียกและความหนาแสดงถึงคุณภาพของแผ่นเซลลูโลสหรือแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้จากการที่เชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้วัตถุดิบตั้งต้นที่นำมาหมักร่วมกับการปรับสภาวะได้อย่างมีประสิทธิภาพ หมายความว่า ค่าของน้ำหนักเปียกและความหนาที่มากแสดงถึงการหมักที่ได้ผลดี ซึ่งผลการศึกษาค้นพบว่า การใช้น้ำมะพร้าวในการผลิตวุ้นสวรรค์ทำให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้น้ำสับปะรด และยังทำให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีผิวหน้าเรียบ รูปทรงสวยงามกว่า ขณะที่การใช้น้ำสับปะรดในการผลิตวุ้นสวรรค์จะได้แผ่นวุ้นที่มีรูปทรงบิดเบี้ยว ถ้านำไปใช้จะต้องมีการตัดส่วนที่บิดเบี้ยวออกให้เป็นรูปทรงลูกบาทก่อน จึงเป็นการสิ้นเปลือง และเสียเวลา สาเหตุที่น้ำมะพร้าวมีประสิทธิภาพในการหมักดีกว่าน้ำสับปะรดอาจเนื่องมาจากแบคทีเรียใช้แหล่งคาร์บอนในการผลิตแผ่นวุ้นสวรรค์ได้แก่ น้ำตาลชนิดต่าง ๆ เช่น กลูโคส ฟรุคโตส มอลโทส ไซโลส เป็นต้น โดยน้ำมะพร้าวมีน้ำตาลกลูโคสเป็นหลัก ต่างจากน้ำสับปะรดที่มีน้ำตาลฟรุคโตสเป็นหลัก ซึ่งแผ่นวุ้นสวรรค์ประกอบด้วยสายพอลิเมอร์ขนาดเล็กที่มีหน่วยย่อยเป็นน้ำตาลกลูโคสเชื่อมต่อกัน จึงเป็นผลให้แบคทีเรียใช้แหล่งคาร์บอนในน้ำมะพร้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพมากกว่าในน้ำสับปะรด (Coban & Biyik, 2011) ส่งผลให้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่ผลิตจากน้ำมะพร้าวมีน้ำหนักเปียกและความหนาสูงกว่าการใช้น้ำสับปะรด การศึกษาค้นพบนี้ยังพบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25 และ 0.50 ส่งผลให้ค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 สาเหตุที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตในปริมาณที่มากเกินไปจะส่งผลให้เซลล์มีการนำไปใช้ในการเจริญมากกว่าการสร้างผลิตภัณฑ์หรือแผ่นวุ้นสวรรค์ การศึกษาค้นพบนี้สอดคล้องกับ Jagannath et al. (2008), Margaretty et al. (2020) และ Rojsuntornkitti et al. (2020) ที่พบว่า สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.50 ให้แผ่นวุ้นสวรรค์มีประสิทธิภาพสูงสุด และสอดคล้องกับการศึกษาของ Li et al. (2013) ที่พบว่า เชื้อ *G. xylinus* Y15 เจริญได้ดีเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.30 และ 0.45 และเจริญได้น้อยเมื่อมีการเติมสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.60 และ 0.75

#### 5. บทสรุป

ชนิดน้ำผลไม้ส่งผลให้น้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยน้ำมะพร้าวให้ผลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้ น้ำสับปะรด และยังทำให้ได้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีผิวหน้าเรียบ รวมถึงรูปทรงสวยงามกว่า ปริมาณสารแอมโมเนียมซัลเฟตส่งผลให้น้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับ 0.05 โดยการผลิตวุ้นสวรรค์ด้วยสารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.25 และ 0.50 ให้ผลน้ำหนักเปียกและความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์สูงกว่าการใช้สารแอมโมเนียมซัลเฟตร้อยละ 0.75 ดังนั้นน้ำผลไม้ที่แนะนำให้ใช้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ คือ น้ำมะพร้าว และสารแอมโมเนียมซัลเฟตระดับที่แนะนำ คือ ความเข้มข้นร้อยละ 0.25 หรือ 0.50 เพราะจะทำให้ได้วุ้นสวรรค์ที่มีค่าเฉลี่ยของน้ำหนักเปียกและความหนาสูงสุด การศึกษาค้นต่อไป ควรมีการวิเคราะห์แผ่นวุ้นด้านอื่น ๆ นอกเหนือจากน้ำหนักเปียกและความหนา เช่น องค์ประกอบทางเคมี การวัดสี การประเมินทางประสาทสัมผัส เพื่อให้ได้ข้อมูลลักษณะแผ่นวุ้นที่ครอบคลุมมากยิ่งขึ้น รวมถึงควรศึกษาเปรียบเทียบผลของการนำน้ำผลไม้ชนิดอื่น ๆ เช่น น้ำลำไย ในระดับความเข้มข้นต่าง ๆ ของสารแอมโมเนียมซัลเฟตมาผลิตวุ้นสวรรค์

#### เอกสารอ้างอิง

- Bielecki, S., Krystynowicz, A., Turkiewicz, M. & Kalinowska H. (2005). *Bacterial cellulose. Polysaccharides and polyamides in the food industry: properties, production, and patents.* pp. 31–84. Wiley-VCH Verlag GMBH & Co. Kga Publisher.
- Boonpan, A., Pongswat, S. & Khampha, C. (2013). A study on the optimum condition for nata production from molasses. *In the 48th Kasetsart University Annual Conference, 3–5 March, 2010,* (pp. 547–554). Bangkok: Faculty of Agricultural, Kasetsart University.
- Brown, A. J. (1886). An acetic ferment which forms cellulose. *Scientific American supplement*, 21(545), 8701–8702.
- Chawla, P. R., Bajaj, I. B., Survase, S. A., & Singhal, R. S. (2009). Microbial cellulose: fermentative production and applications. *Food Technology Biotechnology*, 47(2), 107–124.
- Coban, E. P., & Biyik, H. (2011). Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter lovaniensis* HBB5. *African Journal of Biotechnology*, 10(27), 5346–5354.
- Dejsungrakranton, M. (2018). 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*, 46(2), 213–226.

- Jagannath, A., Kalaiselvan, A., Manjunatha, S. S., Raju, P. S. & 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 & Biotechnology*, 24(11), 2593–2599.
- Li, L., Liu, S. & Li, C. (2013). Effect of coconut water on the growth of *Gluconacetobacter xylinus* Y15. *Advanced Materials Research*, 9(781–784), 1736–1740.
- Margarety, E., Dewi, E., Kalsum, L., Ningsih, A. S. & Amin J. M. (2020). Effect of sugar, ammonium sulfate and magnesium sulfate as supplementary nutrients in coconut water fermented by *Acetobacter xylinum* to produce biocellulose membranes. *Atlantis Highlights in Engineering*, 4(7), 89–94.
- Mühlethaler, K. (1949). The structure of bacterial cellulose. *Biochimica et Biophysica Acta*, 3(1), 527–535.
- Office of Agricultural Economics. (2021). *Export statistics of fresh or frozen pineapple from 2011 to 2021*. Retrieved October 15, 2021, from [http://impexp.oae.go.th/service/export.php?S\\_YEAR=2554&E\\_YEAR=2564&PRODUCT\\_GROUP=5252&PRODUCT\\_ID=5001&wf\\_search=&WF\\_SEARCH=Y#export](http://impexp.oae.go.th/service/export.php?S_YEAR=2554&E_YEAR=2564&PRODUCT_GROUP=5252&PRODUCT_ID=5001&wf_search=&WF_SEARCH=Y#export).
- Riansut, W. (2016). *Experimental Designs*. Songkhla: Thaksin University Book Center.
- Rojsuntornkitti, K., Jittrepotch, N., Kongbangkerd, T., Phanumong, P., Thongchuang, M. & Kraboun K. (2020). Effect of  $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$  on some qualities of Nata de pina produced by *Acetobacter xylinum*. *Food and Environment Safety Journal*, 19(1), 92–97.
- Shoda, M. & Sugano, Y. (2005). Recent advances in bacterial cellulose production. *Biotechnology and Bioprocess Engineering*, 10(1), 1–8.
- Siripanporn, J., Tammarate, P., Stonsaovapak, S., Saiyudthong, S., Vachanavinich, K., Maleehuan, S., Tammarate, S. & Dinh-Ngoc-Loan (2001). Factors effecting on bacterial cellulose production from coconut milk. *Food Journal (Thailand)*, 31(3), 166–173.
- Sutanto, A. (2012). Pineapple liquid waste as Nata de pina raw material. *MAKARA Journal of Technology*, 16(1), 63–67.
- Sutherland, I. W. (1998). Novel and established applications of microbial polysaccharides. *Trends in Biotechnology*, 16(1), 41–46.
- Ul-Islam, M., Khan, T. & Park, J. K. (2012). Water holding and release properties of bacterial cellulose obtained by in situ and ex situ modification. *Carbohydrate Polymers*, 88(2), 596–603.