

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนอง

A study on the optimum condition for bacterial cellulose production from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) using response surface methodology

มณชัย เดชสังกรานนท์^{1*}

Monchai Dejsungkranont^{1*}

บทคัดย่อ: งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) ด้วยวิธีพื้นผิวตอบสนองที่มีการวางแผนการทดลองแบบแฟกทอเรียล เพื่อศึกษาผลของปัจจัย 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกร ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส จากการทดลองพบว่า ปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย มีผลต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส ข้อมูลจากการทดลองที่ได้มีความเหมาะสมกับสมการควอดราติก เนื่องจากให้ค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจสูง ($R^2 = 0.8629$) เมื่อนำสมการทางคณิตศาสตร์ที่ได้มาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนองสามมิติของอัตราการผลิตเซลลูโลสและกราฟโครงร่าง เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์ พบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกรเท่ากับ 66.57% ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.73% และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ โดยสภาวะดังกล่าวให้อัตราการผลิตเซลลูโลสเท่ากับ 56.46 กรัม/ลิตร/วัน

คำสำคัญ: วุ้นสวรรค์, แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง, อะซิโตแบคเตอร์ ไชลินัม

ABSTRACT: The objective of this study was to determine the optimum conditions for bacterial cellulose production from red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) using Response Surface Methodology (RSM). Factorial experimental design was applied to optimize the concentration of dragon fruit juice, the concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and total soluble solids. The results showed that these three factors affected the productivity of cellulose. The experimental data obtained were fitted to quadratic equation because it showed high coefficient of determination ($R^2 = 0.8629$). The 3-D response surface plot and the contour plot derived from the mathematical models were applied to determine the optimal conditions. The optimum production conditions were as follows: 66.57% of dragon fruit juice, 0.73% of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and 10 °Brix of initial total soluble solids. Under the optimal condition, the productivity of cellulose was 56.46 g/L/d.

Keywords: bacterial cellulose, red dragon fruit, *Acetobacter xylinum*

¹ สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยสวนดุสิต กรุงเทพฯ

Biology program, Faculty of Science and Technology, Suan Dusit University, Bangkok

* Corresponding author: monchaibiot@hotmail.com

บทนำ

แก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) เป็นพืชในวงศ์ Cactaceae จัดเป็นผลไม้เพื่อสุขภาพและความงาม (นฤมล, 2547) เพราะประกอบด้วยโอลิโกแซ็กคาไรด์ (oligosaccharide) ที่มีคุณสมบัติเป็นสารพรีไบโอติก (prebiotic) ช่วยปรับสมดุลของแบคทีเรียในลำไส้ (รุสมัน, 2557; Wichienchot et al., 2010) และมีสารพอลิแซ็กคาไรด์เชิงซ้อน (complex polysaccharide) ช่วยดูดซับไขมันประเภทไตรกลีเซอไรด์ จึงช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด นอกจากนี้แก้วมังกรยังอุดมด้วยวิตามิน แร่ธาตุ เส้นใย (dietary fiber) และมีน้ำตาล แคลอรี และไขมันต่ำจึงไม่ทำให้อ้วน (พงษ์ศักดิ์, 2542; สุรพงษ์, 2545) ส่วนที่เป็นเนื้อสีแดงประกอบด้วยรงควัตถุบีตาเลน (betalain) ประเภทบีตาไซยานิน (betacyanin) ที่ให้สีแดงอมม่วง (Cai et al., 2005) ซึ่งมีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดี (Huang and Elbe, 1987) และมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (กมลลักษณ์ และ วรพจน์, 2557; ภิขมณ, 2556; Rebecca et al., 2010; Wu et al., 2006) ส่วนเปลือกและเนื้อประกอบด้วยสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่สำคัญหลายชนิด อาทิ สารต้านอนุมูลอิสระ สารประกอบฟีนอลิก และสารฟลาโวนอยด์ เป็นต้น (กมลลักษณ์ และ วรพจน์, 2557; กรรณิการ์ และ ปราณี, 2552; Wu et al., 2006) โดยปัญหาสำคัญของเกษตรกรผู้ปลูกแก้วมังกรคือผลผลิตล้นตลาดในช่วงฤดูกาล ส่งผลให้ราคาตกต่ำลง และหากมีการเก็บรักษาที่ไม่ดีพอจะส่งผลให้ผลผลิตเน่าเสียง่าย จึงทำให้ต้องมีการแปรรูปเพื่อลดการสูญเสียหลังการเก็บเกี่ยว (บุศรากรณ์, 2551; สุรพงษ์, 2545)

วุ้นสวรรค์หรือเซลลูโลสจากแบคทีเรีย (bacterial cellulose; BC) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักของแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* จัดเป็นวัสดุชีวภาพที่มีคุณสมบัติที่ดีหลายประการ อาทิ มีความบริสุทธิ์สูง ด้านทานแรงดึง มีโครงสร้างระดับนาโน มีประสิทธิภาพในการจูนสูง มีความเข้ากันได้ทางชีวภาพ และสามารถย่อยสลายได้ทางชีวภาพ (Vela'squez-Rian˜o and Bojaca', 2017) สามารถประยุกต์ใช้ในงานด้านต่าง ๆ ได้หลากหลาย อาทิ ด้านอาหาร ใช้เป็นอาหารควบคุมน้ำหนัก (Mesomya et al., 2006; Ross et al., 1991) อีก

ทั้งยังช่วยป้องกันมะเร็งลำไส้ใหญ่, หัวใจวาย และเพิ่มความดันโลหิต (Jagannath et al., 2008) นอกจากนี้ยังใช้เป็นสารเพิ่มความหนืดและความคงตัวในผลิตภัณฑ์อาหาร (Coeffy and Bell, 1995; Shi et al., 2014) และใช้ผลิตบรรจุภัณฑ์อาหาร (Sonia and Dasan, 2013; Xiao et al., 2012) ด้านความงามใช้ผลิตมาสก์ (bacterial cellulose mask) (Almeida et al., 2014; Amnuait et al., 2011) และสครับขัดหน้า (facial scrub) (Hasan et al., 2012; Lin et al., 2015) ด้านการแพทย์ใช้ผลิตหนังเทียม (artificial skin) ผ้าพันแผล และอวัยวะเทียมต่าง ๆ เช่น หลอดเลือดเทียม (artificial arteries) และเยื่อเลือกผ่าน (dialysis membrane) เป็นต้น (Czaja et al., 2006; Klemm et al., 2001; Klemm et al., 2006; Wu et al., 2014; Yang et al., 2012) ด้านสิ่งแวดล้อม ใช้ผลิตพลาสติกชีวภาพ (bioplastic) (Awadhiya et al., 2017) นอกจากนี้สามารถใช้ผลิตกระดาษลำไผ่คุณภาพสูงได้ด้วย (Jonas and Farahh, 1998) การผลิตวุ้นสวรรค์สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด อาทิ น้ำมะพร้าว น้ำสับปะรด น้ำส้ม น้ำลูกแพร์ญี่ปุ่น กากน้ำตาลทราย กากน้ำตาลจากหัวบีท เปลือกสับปะรด หางนม น้ำทิ้งจากโรงงานอุตสาหกรรม เป็นต้น โดยผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีลักษณะคล้ายคลึงกัน แต่มีกลิ่นแตกต่างกันขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ (สุเมธ และ วราวุฒิ, 2537; Keshk and Sameshima 2006)

วิธีพื้นผิวตอบสนอง (response surface methodology, RSM) เป็นวิธีการทางคณิตศาสตร์และสถิติที่เป็นประโยชน์ในการสร้างแบบจำลองและวิเคราะห์ปัญหา ซึ่งแสดงผลตอบสนองต่อผลจากตัวแปรต่าง ๆ โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาจุดที่เหมาะสมต่อผลนั้น (Montgomery, 2001) RSM เป็นการออกแบบทางสถิติวิธีหนึ่งที่มีข้อดีคือ สามารถลดจำนวนการทดลองได้และสามารถหาจุดที่เหมาะสมได้ จึงง่ายในการจัดการและการอธิบายผล เมื่อเปรียบเทียบกับวิธีการอื่น (Box and Behnken, 1960; Gan and Latiff, 2011) งานวิจัยนี้มีแนวคิดที่นำแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์ โดยเฉพาะแก้วมังกรตากเกรดซึ่งเป็นทางเลือกหนึ่งในการแก้ปัญหาแก้วมังกรราคาตกต่ำและผลผลิตเน่าเสีย โดยศึกษาความสัมพันธ์ของความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกร ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและ

ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตต่อการผลิตวุ้นสวรรค์ รวมทั้งการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์ และแบบจำลองทางคณิตศาสตร์ที่เหมาะสม เพื่อใช้ในการทำนายผลผลิตของวุ้นสวรรค์โดยใช้เทคนิคพื้นผิวตอบสนอง

วิธีการศึกษา

วัตถุดิบ

งานวิจัยนี้ใช้ผลสุกของแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงจากสวนเกษตรในจังหวัดสมุทรสาคร และน้ำมะพร้าวแก่จากอำเภอสวี จังหวัดชุมพร เป็นวัตถุดิบหลักในการทดลอง

การเตรียมวัตถุดิบ

การเตรียมน้ำแก้วมังกรโดยนำแก้วมังกรมาล้างน้ำให้สะอาดและล้างให้แห้ง จากนั้นปอกเปลือกแยกส่วนเนื้อออกจากส่วนเปลือก นำเนื้อแก้วมังกรที่ได้ไปคั้นน้ำด้วยเครื่องคั้นแยกกาก จากนั้นกรองแยกกากที่เหลือด้วยผ้าขาวบางและนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที รอให้เย็นเพื่อนำไปใช้ทดลองต่อไป การเตรียมน้ำมะพร้าวโดยนำน้ำมะพร้าวมากรองผ่านผ้าขาวบางและนำไปต้มเดือดนาน 10 นาที เพื่อละลายไขมันและฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย จากนั้นรอให้เย็นก่อนนำไปใช้ในการทดลองต่อไป นำน้ำมะพร้าวและน้ำแก้วมังกรที่เตรียมได้ส่วนหนึ่งไปวัดค่าสีโดยระบบ CIE Lab scale ด้วยเครื่อง Handy colorimeter, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วย Hand refractometer และค่าพีเอชด้วย pH meter

การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum*

ถ่ายเชื้อแบคทีเรีย *A. acetii* subsp. *xylinum* TISTR 975 จากจานอาหารแข็งน้ำมะพร้าวลงในหลอดทดสอบที่มีอาหารเหลวน้ำมะพร้าว (อาหารเหลวประกอบด้วยน้ำมะพร้าว 1 ลิตร, แอมโมเนียมซัลเฟต $[(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4]$ 5 กรัม และน้ำตาลทราย 50 กรัม) (บุญฤทธิ, 2546; สมคิด, 2531) ปริมาตร 5 มิลลิลิตร บรรจุอยู่ นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน จากนั้นถ่ายเชื้อ

จากหลอดทดสอบโดยใช้ปริมาณเชื้อเริ่มต้น 10% ลงในอาหารเหลวน้ำมะพร้าวที่ผ่านการนึ่งฆ่าเชื้อแล้ว 50 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 3 วัน เพื่อใช้ในการทดลองขั้นต่อไป

ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง

จากการทดลองเบื้องต้น พบว่าการใช้น้ำแก้วมังกรหรือน้ำมะพร้าว 100% เป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์จะให้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้น้ำแก้วมังกรผสมน้ำมะพร้าว ดังนั้นงานวิจัยนี้จึงใช้น้ำแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงผสมกับน้ำมะพร้าวเป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์ Table 1 แสดงค่าสูงสุด (maximum level) และต่ำสุด (minimum level) ของปัจจัยที่ใช้ในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์แบบสภาวะนิ่ง (static culture) โดยแปรผันความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกร 3 ระดับ (50, 70 และ 90% (ปริมาตร/ปริมาตร)) (ใช้น้ำมะพร้าวเป็นตัวปรับปริมาตร) ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 2 ระดับ (8 และ 10 องศาบริกซ์) และความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 3 ระดับ (0, 0.5 และ 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร)) โดยจัดชุดการทดลองแบบ $3 \times 2 \times 3$ Factorial design in Completely Randomized Design (Table 2) และทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แต่ละซ้ำเก็บข้อมูล 2 ครั้ง การเตรียมอาหารเหลวสำหรับผลิตวุ้นสวรรค์แยกเตรียมที่ละสูตร โดยใช้น้ำตาลทรายปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและวัดค่าด้วย Hand refractometer จากนั้นนำไปพาสเจอร์ไรส์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นแล้วปรับค่าพีเอชให้เป็น 4.5 ด้วยกรดอะซิติกเข้มข้น 99.8% จากนั้นเติมหัวเชื้อแบคทีเรีย *A. acetii* subsp. *xylinum* TISTR 975 ปริมาตร 10% (ปริมาตร/ปริมาตร) แล้วบรรจุอาหารเหลวที่ได้ปริมาตร 150 มิลลิลิตร ลงในขวดแก้วใสขนาด 5×13 เซนติเมตร ที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นปิดฝาขวดด้วยผ้าขาวบางที่นึ่งฆ่าเชื้อแล้ว แล้วนำไปบ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส นาน 7 วัน

Table 1 Factors used in determining the level of factors affecting bacterial cellulose production

Factor	Minimum level	Maximum level
Concentration of dragon fruit juice (% , v/v)	50	90
Concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% , w/v)	0	1
Total soluble solids ($^{\circ}\text{Brix}$)	8	10

Table 2 Treatment combination from factorial $3 \times 2 \times 3$ in Completely Randomized Design

Treatment	Factor		
	Concentration of dragon fruit juice (%)	Total soluble solids ($^{\circ}\text{Brix}$)	Concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% , w/v)
1	50	8	0
2	50	8	0.5
3	50	8	1.0
4	50	10	0
5	50	10	0.5
6	50	10	1.0
7	70	8	0
8	70	8	0.5
9	70	8	1.0
10	70	10	0
11	70	10	0.5
12	70	10	1.0
13	90	8	0
14	90	8	0.5
15	90	8	1.0
16	90	10	0
17	90	10	0.5
18	90	10	1.0

การวิเคราะห์

1. ความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์ค โดยนำแผ่นวุ้นสวอร์คมาวัดความหนาด้วยไม้วัด 3 จุด แล้วหาค่าเฉลี่ย
2. น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวอร์ค โดยนำแผ่นวุ้นสวอร์คที่ได้มาวางบนแผ่นกระดาษเพื่อซับน้ำออกจนพื้นผิวด้านนอกแห้ง จากนั้นนำไปชั่งน้ำหนักด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง (นิษฐกานต์, 2558)

3. วัดค่าสีโดยระบบ CIE Lab scale ด้วยเครื่อง Handy colorimeter

4. วิเคราะห์ปริมาณเซลลูโลส (cellulose content) ตามวิธีของ Watanabe and Yamanaka (1995) โดยนำแผ่นวุ้นสวอร์คมาล้างน้ำให้สะอาดและแช่น้ำทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นผึ่งให้แห้งนาน 1 ชั่วโมง แล้วนำไปต้มในสารละลายไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 4% (น้ำหนัก/ปริมาตร) นาน 20 นาที แล้วล้างน้ำให้สะอาดและแช่ทิ้งไว้ 1 คืน

นำแผ่นวุ้นสวอร์คที่ได้ไปแช่ในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5% (ปริมาตร/ปริมาตร) นาน 20 นาที แล้วล้างน้ำให้สะอาดและแช่ทิ้งไว้ 1 คืน นำแผ่นวุ้นสวอร์คที่ได้ไปแช่ในสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.5% (ปริมาตร/ปริมาตร) นาน 1 ชั่วโมง แล้วล้างด้วยน้ำสะอาดหลาย ๆ ครั้งจนน้ำล้างมีค่าพีเอชเท่ากับ 7 แล้วนำไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส จนน้ำหนักคงที่ รายงานผลเป็นปริมาณเซลลูโลส (กรัม/ลิตร)

5. อัตราการผลิตเซลลูโลส (cellulose productivity) คำนวณหาอัตราการผลิตเซลลูโลส จากสมการที่ 1 ดังนี้

$$\text{อัตราการผลิตเซลลูโลส (กรัม/ลิตร/วัน)} = \frac{\text{ปริมาณเซลลูโลส (กรัม/ลิตร)}}{\text{ระยะเวลาในการหมัก (วัน)}} \quad (1)$$

การวิเคราะห์ผลทางสถิติ

การทำนายสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวอร์คจากแก๊วมังกรพันธุ์เชื้อสีแสดด้วยวิธีพินผิวตอบสนอง ได้กำหนดค่าสูงสุด (maximum level) และต่ำสุด (minimum level) ของทั้ง 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นของน้ำแก๊วมังกร ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต เพื่อใช้ในการหาค่าที่เหมาะสมที่สุดของทั้ง 3 ปัจจัย ที่ให้อัตราการผลิตเซลลูโลสสูงสุด ดังแสดงใน Table 1

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์ค่าคุณภาพของแผ่นวุ้นสวอร์คมาวิเคราะห์ความแปรปรวน (analysis of variance; ANOVA) และเปรียบเทียบความแตกต่างค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's new multiple range test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม Minitab version 17 และสร้างแบบจำลองทางคณิตศาสตร์เพื่อหาความสัมพันธ์ของปัจจัยโดยใช้แบบจำลองทางคณิตศาสตร์อันดับสอง (second order model) เพื่ออธิบายการเปลี่ยนแปลงของปัจจัยคุณภาพ วิเคราะห์หาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวอร์คจากแก๊วมังกรพันธุ์เชื้อสีแสด ด้วยวิธีพินผิวตอบสนอง (response surface methodology, RSM) โดยใช้ Desirability function นำข้อมูลที่ได้พร้อมแบบจำลองมาสร้างกราฟโครงร่าง (contour plot) เพื่อตรวจสอบ

ความสัมพันธ์ของตัวแปรและสภาวะที่เหมาะสม จากนั้นทำการทวนสอบ (verification experiment) เพื่อยืนยันผลที่ได้ โดยทดลองผลิตวุ้นสวอร์คจากแก๊วมังกรพันธุ์เชื้อสีแสดตามสภาวะที่เหมาะสมที่ได้จากการประมวลผลของโปรแกรม และเปรียบเทียบอัตราการผลิตเซลลูโลสของชุดการทดลองยืนยันกับค่าที่ได้จากการประมวลผลด้วยโปรแกรม

ผลการศึกษาและวิจารณ์

จากการวัดค่าสี L, a และ b ของน้ำมะพร้าวและน้ำแก๊วมังกรพันธุ์เชื้อสีแสด (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britt. & Rose) (Table 3) โดยที่ค่า L บ่งบอกความสว่าง คือ 0-100 (ดำ-สว่าง) ค่า a เป็นบวก (+) หมายถึงมีสีแดง แต่ถ้าเป็นลบ (-) มีสีเขียว ในขณะที่ค่า b เป็นบวก (+) หมายถึงมีสีเหลือง แต่ถ้าเป็นลบ (-) มีสีน้ำเงิน ผลการทดลองพบว่าน้ำมะพร้าวมีค่าสี L, a และ b เท่ากับ 45.04, 5.15 และ 3.86 ตามลำดับ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดและค่าพีเอชเท่ากับ 5.0 องศาบริกซ์ และ 4.87 ตามลำดับ (Table 3) ในขณะที่น้ำแก๊วมังกรมีค่าสี a และ b มากกว่าน้ำมะพร้าวประมาณ 14.6 และ 2.0 เท่า ตามลำดับ ส่วนค่าสี L พบว่ามีค่าน้อยกว่าน้ำมะพร้าวประมาณ 5 เท่า (Table 3) สอดคล้องกับลักษณะปรากฏของน้ำมะพร้าวที่มีลักษณะเป็นของเหลวใสและน้ำแก๊วมังกรที่มีลักษณะเป็นของเหลวสีแสดอมม่วง ซึ่งเกิดจากสารปีตาไซยานินที่มีอยู่ในแก๊วมังกร (Cai et al., 2005) และพบว่าน้ำแก๊วมังกรมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในปริมาณสูงเท่ากับ 14.60 องศาบริกซ์ และมีค่าพีเอชเท่ากับ 5.30 โดยของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดในน้ำแก๊วมังกรประกอบด้วย น้ำตาล, กรดอินทรีย์ และแร่ธาตุต่าง ๆ (Morton, 1987; Ortiz and Takahashi, 2015) ที่มีความจำเป็นต่อการเจริญและการสร้างเซลลูโลสของแบคทีเรีย *A. acetii* subsp. *xylinum* TISTR 975 จึงมีความเป็นไปได้ที่จะนำน้ำแก๊วมังกรมาเป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการผลิตวุ้นสวอร์ค

Table 3 Colors, total soluble solids and pH of red dragon fruit juice and coconut water

Quality	Coconut water	Red dragon fruit juice
Colors		
L	45.04 ± 0.35	9.01 ± 0.55
a	5.15 ± 0.45	75.03 ± 0.40
b	3.86 ± 0.50	7.75 ± 0.35
Total soluble solids (°Brix)	5.00 ± 0.10	14.6 ± 0.20
pH	4.87 ± 0.10	5.30 ± 0.02

ผลการทดลองการผลิตวุ้นสวอร์คจากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงโดยแบคทีเรีย *A. acetii* subsp. *xylinum* TISTR 975 แสดงดัง **Figure 1** และ **Table 4** โดยพบว่าวุ้นสวอร์คที่ผลิตได้มีลักษณะเป็นแผ่นกลมลอยอยู่บริเวณผิวหน้าของอาหารเหลวและมีสีแดงอมม่วง (**Figure 1**) ของปีตาไชยานิน (Cai et al., 2005) แผ่นวุ้นสวอร์คมีลักษณะเหนียว ผิวด้านบนมีลักษณะเรียบและมันวาว เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีออกซิเจนเพียงพอต่อการสร้างเซลล์ulos จึงทำให้เส้นใยเซลล์ulos ติดตัวกันแน่น ในขณะที่ผิวด้านที่สัมผัสกับอาหารเหลวมีลักษณะไม่เรียบ เนื่องจากเป็นบริเวณที่มีปริมาณออกซิเจนจำกัดต่อการสร้างเซลล์ulos (Borzani and Souza, 1995; Budhiono et al., 1999)

จาก **Table 4** พบว่า ความหนา, น้ำหนักเปียก, ค่าสี (L, a และ b), ปริมาณเซลล์ulos และอัตราการผลิตเซลล์ulos มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($P < 0.05$) โดยพบว่าความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกรและแอมโมเนียมซัลเฟตมีอิทธิพลต่อความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์คอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) และพบอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกรกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกร ความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์คจะลดลง ในขณะที่การปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจาก 8 ไปเป็น 10 องศาบริกซ์ จะทำให้ความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์คเพิ่มขึ้น (**Table 4**) โดยชุดทดลองที่ 9 (ความเข้มข้นของน้ำ

แก้วมังกร 70%, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 8 องศาบริกซ์, ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร)) ให้แผ่นวุ้นสวอร์คที่มีความหนามากที่สุด (1.71 เซนติเมตร) (**Table 4**) ในขณะที่ชุดทดลองที่ 12 ซึ่งปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ ให้ความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์ค (1.63 เซนติเมตร) ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับชุดทดลองที่ 9 (**Table 4**) โดยความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์คจะขึ้นอยู่กับปริมาณน้ำที่เก็บสะสมไว้ภายในแผ่นวุ้น ซึ่งจะส่งผลโดยตรงต่อความนุ่มและความสามารถในการอุ้มน้ำ (water holding capacity) ของผลิตภัณฑ์สุดท้าย และพบว่าวุ้นสวอร์คจะมีเซลล์ulos เป็นองค์ประกอบประมาณ 1% โดยส่วนที่เหลือคือน้ำ (Yamanaka et al., 1989) เมื่อเปรียบเทียบกับการผลิตวุ้นสวอร์คจากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีขาว (เกรียงไกร และคณะ, 2558) พบว่าการทดลองนี้ให้ความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์คมากกว่า 1.7 เท่า อย่างไรก็ตามความหนาของแผ่นวุ้นสวอร์คที่แตกต่างกันอาจเป็นผลเนื่องมาจากสายพันธุ์ของแบคทีเรีย สภาวะในการหมัก และชนิดของวัตถุดิบที่ใช้มีความแตกต่างกัน อย่างไรก็ตาม การทดลองนี้ใช้ปริมาณน้ำแก้วมังกรในการเตรียมอาหารเหลวสำหรับผลิตวุ้นสวอร์คมากกว่า 2.1 เท่า ดังนั้นการผลิตวุ้นสวอร์คของการทดลองนี้จึงส่งเสริมให้มีการใช้ประโยชน์จากแก้วมังกรมากกว่า

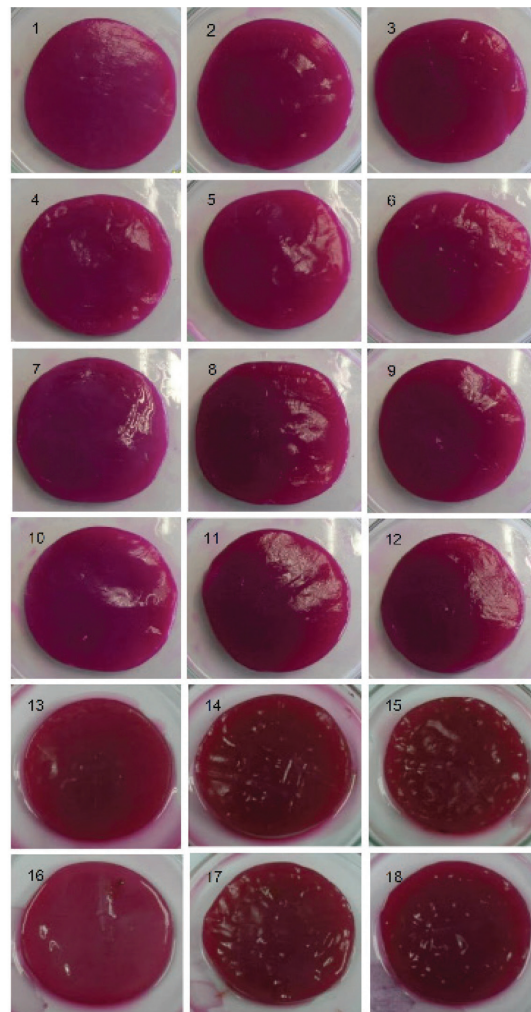


Figure 1 Bacterial cellulose produced from *A. aceti* subsp. *xylinum* TISTR 975 at various the concentration of dragon fruit juice, total soluble solids and the concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ of the treatments 1-18

เมื่อพิจารณาน้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์ (Table 4) พบว่าให้ผลการทดลองคล้ายกับความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์ เมื่อความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรเพิ่มขึ้น แผ่นวุ้นสวรรค์จะมีน้ำหนักเปียกลดลง ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตจะทำให้ น้ำหนักเปียกของแผ่นวุ้นสวรรค์เพิ่มขึ้น โดยแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ผลิตได้มีน้ำหนักเปียกอยู่ในช่วง 28.86-49.87 กรัม (Table 4) โดยชุดทดลองที่ใช้ความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรเท่ากับ 70% และแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.5 และ 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร) (ชุดทดลองที่ 8, 9, 11 และ 12) ให้แผ่นวุ้นสวรรค์ที่มีน้ำหนักเปียกสูงสุดและมีค่าใกล้เคียงกัน (Table 4)

ผลการวิเคราะห์ค่าสี L, a และ b พบว่าความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้

ทั้งหมดมีอิทธิพลร่วมต่อค่าสี L ชุดทดลองที่ไม่เติมแอมโมเนียมซัลเฟตและปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเท่ากับ 8 และ 10 องศาบริกซ์ (ชุดทดลอง 1, 4, 7, 10, 13 และ 16) ให้ผลการทดลองในทิศทางเดียวกัน (Table 4) กล่าวคือหากเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรมากขึ้น แผ่นวุ้นสวรรค์จะมีค่าสี L เพิ่มขึ้น และค่าสี L จะลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต ผลการวิเคราะห์ค่าสี a พบว่าความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรมีอิทธิพลต่อค่าสี a อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 4) และพบอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรจาก 50 (ชุดทดลองที่ 1-6) เป็น 70% (ชุดทดลองที่ 7-12) ค่าสี a ซึ่งบ่งบอกความเป็นสีแดง (ค่า a เป็นบวก)

มีแนวโน้มลดลง (Table 4) โดยแผ่นวุ้นสวรรค์ที่ได้มีลักษณะปรากฏเป็นสีม่วงแดงอมดำ ซึ่งเป็นผลมาจากแผ่นวุ้นสวรรค์มีการสะสมรงควัตถุปีตาไซยานินไว้ภายในแผ่นวุ้นมากขึ้น (Figure 1) ดังนั้นเมื่อทำการวัดค่าสี ค่าสี a จึงมีแนวโน้มเข้าสู่แกนกลาง สอดคล้องกับค่า b ที่บ่งบอกความเป็นสีน้ำเงิน (ค่า b เป็นลบ) ที่มีแนวโน้มเข้าสู่แกนกลางและมีค่าลดลงเช่นกัน (Table 4) ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตมีแนวโน้มที่จะทำให้ค่าสี a เพิ่มขึ้น โดยชุดทดลองที่ 8, 9, 11 และ 12 ให้ค่าสี a สูงสุดอยู่ในช่วง 44.83-46.97 ซึ่งชุดทดลองเหล่านี้ใช้ความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรเท่ากับ 70% ในการเตรียมอาหารเหลว เมื่อพิจารณาค่าสี b พบว่าความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรและความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตมีอิทธิพลต่อค่าสี b อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 4) และพบอิทธิพลร่วมระหว่างความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรกับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด การเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตส่งผลให้ค่าสี b ซึ่งบ่งบอกความเป็นสีน้ำเงิน (ค่า b เป็นลบ) มีแนวโน้มลดลง โดยชุดทดลองที่ใช้ความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรเท่ากับ 90% (ชุดทดลองที่ 13-18) ให้ค่าสี b ต่ำสุดอยู่ในช่วง (-5.44)-(-10.59)

เมื่อพิจารณาปริมาณเซลลูโลสและอัตราการผลิตเซลลูโลส (Table 4) พบว่าให้ผลในทิศทางเดียวกัน โดยพบว่าความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรและแอมโมเนียมซัลเฟตมีอิทธิพลต่อปริมาณเซลลูโลสและอัตราการผลิตเซลลูโลสอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P < 0.05$) (Table 4) และพบอิทธิพลร่วมของทั้งสองปัจจัย เมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรจาก 50 เป็น 70% ปริมาณเซลลูโลสและอัตราการผลิตเซลลูโลสจะเพิ่มขึ้น และมีแนวโน้มลดลงเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของน้ำแกว้งกรเป็น 90% (Table 4) โดยชุดทดลองที่ 12 (ความเข้มข้นของน้ำแกว้งกร 70%, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 10 องศาบริกซ์, ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต 1.0% (น้ำหนัก/ปริมาตร)) ให้ปริมาณเซลลูโลสและอัตราการผลิตเซลลูโลสสูงสุดเท่ากับ 419 กรัม/ลิตร และ 59.91 กรัม/ลิตร/วัน ตามลำดับ (Table 4) ในขณะที่ชุดทดลองที่ 13 (ความเข้มข้นของน้ำแกว้งกร 90%, ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 8 องศาบริกซ์, ความเข้มข้น

ของแอมโมเนียมซัลเฟต 0% (น้ำหนัก/ปริมาตร)) ให้ปริมาณเซลลูโลสและอัตราการผลิตเซลลูโลสต่ำสุดเท่ากับ 142.51 กรัม/ลิตร และ 20.36 กรัม/ลิตร/วัน ตามลำดับ (Table 4)

เนื่องจากน้ำมะพร้าวประกอบด้วยสารอาหารและแหล่งคาร์บอนที่จำเป็นต่อการผลิตวุ้นสวรรค์ (Lapuz and Gallardo, 1967) ดังนั้นการเพิ่มปริมาณน้ำแกว้งกรมากจนเกินไปจะทำให้สารอาหารต่าง ๆ จากน้ำมะพร้าวลดลงและส่งผลให้ผลผลิตวุ้นสวรรค์ลดลง ในขณะที่การเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตจะทำให้ความหนาของแผ่นวุ้นสวรรค์เพิ่มขึ้น เนื่องจากการเติมแหล่งไนโตรเจนในรูปแอมโมเนียมซัลเฟตจะช่วยเร่งการเจริญและการสร้างแผ่นวุ้นสวรรค์ของแบคทีเรีย *A. acetii* subsp. *xylinum* TISTR 975 ซึ่งแหล่งไนโตรเจนดังกล่าวเกี่ยวข้องกับยีน *acsAB acsB acsD* ที่ทำหน้าที่ควบคุมการสังเคราะห์เซลลูโลส (Valla, 1995) ผลการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการผลิตวุ้นสวรรค์จากกากน้ำตาลที่รายงานว่าผลผลิตวุ้นสวรรค์จะเพิ่มขึ้นเมื่อเพิ่มความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (อนันต์ และคณะ, 2553) มีรายงานว่า การเติมสารเคมีบางชนิดลงในอาหารเหลว อาทิ แอลกอฮอล์ กลีเซอรอล กรดอินทรีย์ พอลิแซ็กคาไรด์ และสารที่ทำให้เกิดเจล (gelling agent) สามารถช่วยเพิ่มผลผลิตของวุ้นสวรรค์ได้ (Hutchens et al., 2007; Lin et al., 2013)

เมื่อนำผลการทดลองที่ได้มาวิเคราะห์ RSM เพื่อหาความสัมพันธ์ระหว่างอิทธิพลของปัจจัยต่อค่าตอบสนอง (อัตราการผลิตเซลลูโลส) จากการวิเคราะห์สัมประสิทธิ์ของสมการถดถอยของอัตราการผลิตเซลลูโลสพบว่าค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ (R^2) ซึ่งเป็นค่าที่ใช้บอกร้อยละการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตามที่สามารถอธิบายได้ด้วยตัวแปรอิสระในสมการถดถอย (ประไพศรี, 2551) มีค่าเท่ากับ 0.8629 (Table 5) ซึ่งหมายความว่า ตัวแปรอิสระ (ความเข้มข้นของน้ำแกว้งกร ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต) สามารถอธิบายความผันแปรหรือการเปลี่ยนแปลงของตัวแปรตาม (อัตราการผลิตเซลลูโลส) ได้ร้อยละ 86.29 แสดงว่าแบบจำลองสามารถนำไปสร้างสมการทำนายเพื่อหาค่าผลตอบสนองได้อย่างถูกต้องและเหมาะสม

Table 4 Effect of the concentration of dragon fruit juice, total soluble solids and the concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ on the thickness, weight, colors, cellulose content and cellulose productivity of the bacterial cellulose produced from *A. acetii* subsp. *xylinum* TISTR 975

Treatment ^{1/}	Thickness (cm)	Weight (g)	Colors			Cellulose content (g/L)	Productivity of cellulose (g/L/d)
			L	a	b		
1	0.93cde ± 0.26	39.95bcdef ± 1.40	20.1cde ± 2.36	32.17c ± 7.92	-15.87ghi ± 2.83	237.30gh ± 56.46	33.90gh ± 8.07
2	1.33b ± 0.28	42.96abcd ± 1.63	15.76fg ± 0.95	44.18ab ± 1.51	-14.07fg ± 1.24	346.62bcd ± 12.21	49.52bcd ± 1.74
3	1.54ab ± 0.11	40.39bcde ± 6.39	13.70ghi ± 4.16	39.21b ± 2.14	-14.51fgh ± 1.60	287.84ef ± 14.96	41.12ef ± 2.13
4	1.10c ± 0.23	35.65defgh ± 5.96	20.13cde ± 1.03	25.20def ± 5.00	-16.42hi ± 0.73	190.85hi ± 32.42	27.26hi ± 4.63
5	1.65a ± 0.07	37.00cdefg ± 5.91	15.3fgh ± 1.48	41.89ab ± 1.33	-17.60i ± 1.25	330.309cde ± 11.56	47.19cde ± 1.65
6	1.53ab ± 0.06	34.74efgh ± 3.25	15.20fgh ± 0.96	41.62ab ± 1.11	-14.88fgh ± 0.48	307.30def ± 17.05	43.90def ± 2.44
7	0.82def ± 0.03	37.19cdefg ± 4.26	25.27b ± 2.73	22.47def ± 5.26	-17.70i ± 1.83	170.21ij ± 45.75	24.32ij ± 6.54
8	1.62a ± 0.01	44.68abc ± 2.70	12.49ghi ± 0.40	46.51a ± 0.26	-13.99fg ± 0.39	352.77bcd ± 19.05	50.40bcd ± 2.72
9	1.71a ± 0.11	39.48bcdefg ± 8.67	13.43ghi ± 1.61	46.97a ± 1.15	-13.97fg ± 0.14	323.72bc ± 27.19	52.44bc ± 3.88
10	0.73def ± 0.16	40.73bcde ± 2.80	20.73cde ± 1.64	24.38def ± 4.33	-17.58i ± 1.29	164.03j ± 20.91	23.43j ± 2.99
11	1.56a ± 0.03	47.17ab ± 2.53	12.14hi ± 0.48	45.56ab ± 1.37	-12.60ef ± 0.51	388.86ab ± 38.72	55.55ab ± 5.53
12	1.63a ± 0.11	49.87a ± 3.20	10.43i ± 1.37	44.83ab ± 0.15	-12.67ef ± 2.13	419.39a ± 21.31	55.91a ± 3.04
13	0.44g ± 0.02	32.31fgh ± 2.85	32.82a ± 1.49	14.22g ± 0.87	-10.59de ± 0.29	142.51i ± 8.83	20.36i ± 1.26
14	0.97cd ± 0.05	32.04fgh ± 2.51	21.50cde ± 0.68	28.50cd ± 0.71	-8.08bc ± 1.28	296.19ef ± 14.72	42.3hi ± 2.10
15	0.72ef ± 0.08	31.66gh ± 2.99	22.62bc ± 2.72	21.76ef ± 1.86	-9.15cd ± 0.74	230.59gh ± 13.85	32.94gh ± 1.98
16	0.62fg ± 0.01	32.31fgh ± 3.87	21.89cd ± 1.79	19.17fg ± 1.35	-9.11cd ± 0.91	195.72hi ± 17.46	27.96hi ± 2.49
17	0.89cde ± 0.07	28.86h ± 3.39	19.12de ± 1.29	23.92def ± 7.40	-6.78b ± 1.10	269.14fg ± 27.16	38.45fg ± 3.88
18	0.91cde ± 0.05	33.61efgh ± 2.59	18.36ef ± 1.93	26.20cde ± 1.74	-5.44a ± 0.77	264.45fg ± 17.14	37.78 fg ± 2.45

^{1/} See Table 2 for an explanation of the treatments 1-18; Each value represents the mean of three replicates, the values followed by the same letter in the same column which are not significantly different at $P < 0.05$

Table 5 ANOVA analysis of the design to optimize bacterial cellulose production from red dragon fruit

Regression	Degree of freedom	Sum of squares	Mean square	F Value	Prob > F
Model	8	1912.90	239.11	7.08	0.004
Linear	3	1112.01	370.67	10.98	0.002
Quadratic	2	772.32	386.16	11.43	0.003
Cross-product	3	28.57	9.52	0.28	0.837
Error	9	303.95	33.72		

Coefficient of determination, $R^2 = 0.8629$, Adj $R^2 = 0.7410$

จากผลการทดลองสามารถสร้างความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของน้ำแกว้งกร (X_1) ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) ต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส (Y_1) ได้ดังสมการที่ 2 สำหรับการศึกษากวาระที่เหมาะสมสามารถสร้างสมการทำนายสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตวันสวรค์จากแกว้งกรพันธุ์เนื้อสีแดงจากอัตราการผลิตเซลลูโลสได้ดังนี้

$$Y_1 = 51.76 - 3.59X_1 + 8.90X_2 + 0.56X_3 - 6.78X_1^2 - 12.13X_2^2 - 0.18X_1X_2 + 1.23X_1X_3 + 0.92X_2X_3 \quad (2)$$

จากค่าสัมประสิทธิ์ของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2) (8.90) แสดงให้เห็นว่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นปัจจัยที่ส่งผลต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส (Y_1) มากที่สุด ในขณะที่ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) จะส่งผลต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส (Y_1) น้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับค่าสัมประสิทธิ์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) (0.56) และเช่นเดียวกันเมื่อเกิดการเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตจะส่งผลต่ออัตราการผลิตเซลลูโลสมากที่สุดเช่นกัน สอดคล้องกับค่าสัมประสิทธิ์ของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2^2) (12.13)

จากค่าสัมประสิทธิ์ของค่าความเข้มข้นของน้ำแกว้งกร (X_1) กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) เท่ากับ 1.23 แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ของค่าความเข้มข้นของน้ำแกว้งกร (X_1) กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) มีผลต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส (Y_1) และค่าสัมประสิทธิ์ของค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2) กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) เท่ากับ 0.92 แสดงให้เห็นว่าความสัมพันธ์ของค่าความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2) กับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) ส่งผลต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส (Y_1) เช่นกัน สอดคล้องกับค่านัยสำคัญทางสถิติของสมการ Quadratic = 0.003 ($P < 0.05$) (Table 5) จึงส่งผลอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติต่ออัตราการผลิตเซลลูโลส (Y_1) แสดงให้เห็นได้จากค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแกว้งกร (X_1^2) (-6.78) และค่าสัมประสิทธิ์การเปลี่ยนแปลงความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2^2) (-12.13) มีค่าสูงกว่าค่าสัมประสิทธิ์ความเข้มข้นของน้ำแกว้งกร (X_1) (-3.59) ค่าสัมประสิทธิ์ของความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2) (8.90) และค่าสัมประสิทธิ์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) (0.56) ซึ่งมีความสัมพันธ์แบบ Linear และมีค่านัยสำคัญทางสถิติ = 0.002 ($P < 0.05$) (Table 5)

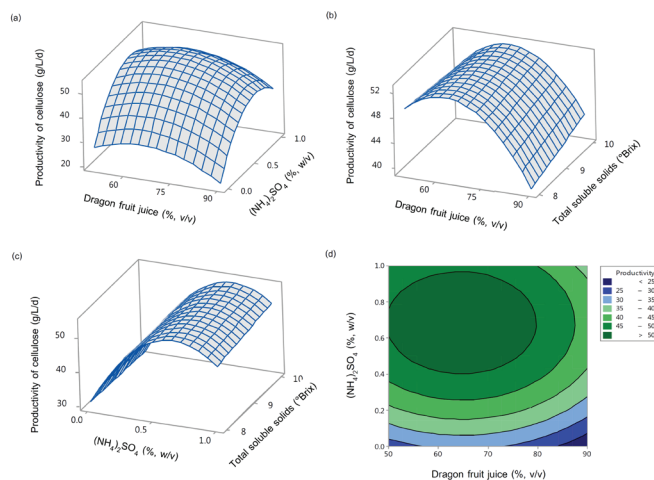


Figure 2 Response surface plots of the productivity of cellulose (g/L/d) as a function of: (a) concentration of dragon fruit juice and concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (b) concentration of dragon fruit juice and total soluble solids, (c) concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ and total soluble solids and contour plot of (d) the productivity of cellulose (g/L/d) as a function of concentration of dragon fruit juice and concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ at total soluble solids of 10

เมื่อได้สมการสำหรับทำนายอัตราการผลิตเซลลูโลสจากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดงแล้ว จึงนำมาสร้างกราฟพื้นผิวตอบสนอง (response surface plots) ของอัตราการผลิตเซลลูโลสและกราฟโครงร่าง (contour plot) แสดงดัง **Figure 2** โดยพบว่า Response optimizer ของสมการในการผลิตวัฒนธรรมที่ทำให้ได้อัตราการผลิตเซลลูโลสสูงสุด 55.52 กรัม/ลิตร/วัน คือการใช้แก้วมังกรที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 66.57% ความเข้มข้นของแอมโมเนียม

ซัลเฟตเท่ากับ 0.73% และปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้เริ่มต้นเท่ากับ 10 องศาบริกซ์ ($R^2 = 0.8629$) เมื่อนำสมการที่เหมาะสมที่ได้จากการประมวลผลของโปรแกรมมาทำการทวนสอบ เพื่อยืนยันผลที่ได้ 3 ซ้ำ พบว่า ได้อัตราการผลิตเซลลูโลสเฉลี่ยเท่ากับ 56.46 กรัม/ลิตร/วัน ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการประมวลผลด้วยโปรแกรม (55.52 กรัม/ลิตร/วัน) ดังแสดงใน **Table 6**

Table 6 The productivity of cellulose under optimal conditions for bacterial cellulose production from red dragon fruit

Concentration of dragon fruit juice (%)	Concentration of $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ (% w/v)	Total soluble solids (°Brix)	Productivity of cellulose (g/L/d)
66.57	0.73	10	56.05
66.57	0.73	10	57.55
66.57	0.73	10	55.80
Average			56.46

จากการทวนสอบเพื่อยืนยันการวิเคราะห์ข้อมูลด้วยวิธีพื้นที่ผิวตอบสนอง แสดงให้เห็นว่าการหาสมการที่เหมาะสมในการผลิตวัฒนธรรมจากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง โดยการประยุกต์ใช้วิธีพื้นผิวตอบสนอง (RSM) ร่วมกับการจัดชุดการทดลองแบบ Factorial design in

Completely Randomized Design พบว่าให้ค่าอัตราการผลิตเซลลูโลสเฉลี่ยจากการทวนสอบ (56.46 กรัม/ลิตร/วัน) ใกล้เคียงกับค่าที่ได้จากการประมวลผลด้วยโปรแกรม (55.52 กรัม/ลิตร/วัน)

สรุป

จากการประยุกต์ใช้การออกแบบการทดลองด้วยวิธีพินผิวดตอบสนองเพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) พบว่า ปัจจัยทั้ง 3 ปัจจัย คือ ความเข้มข้นของน้ำแก้วมังกร (X_1), ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟต (X_2) และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (X_3) มีผลต่ออัตราการผลิตเซลล์เกี่ยวเนื่องซึ่งกันและกัน ซึ่งสามารถแสดงในรูปของสมการทำนายอัตราการผลิตเซลล์เท่ากับ $Y_1 = 51.76 - 3.59X_1 + 8.90X_2 + 0.56X_3 - 6.78X_1^2 - 12.13X_2^2 - 0.18X_1X_2 + 1.23X_1X_3 + 0.92X_2X_3$ โดยมีค่าสัมประสิทธิ์ของการตัดสินใจ เท่ากับ 0.8629 เมื่อนำมาหาค่าปัจจัยที่เหมาะสมที่สุด โดยใช้ฟังก์ชัน Response optimizer พบว่าสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตวุ้นสวรรค์จากแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose) คือ การใช้น้ำแก้วมังกรที่มีความเข้มข้นเท่ากับ 66.57% ความเข้มข้นของแอมโมเนียมซัลเฟตเท่ากับ 0.73% และปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้เริ่มต้นเท่ากับ 10 องศาบริกซ์

คำขอบคุณ

ขอขอบคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยสวนดุสิต ที่สนับสนุนเงินทุนวิจัยในครั้งนี้

เอกสารอ้างอิง

- กมลลักษณ์ มาสาโรง, และวราภรณ์ สุนทรสุข. 2557. ความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระและต้านแบคทีเรียของสารสกัดเปลือกแก้วมังกร. วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 45(พิเศษ): 269-272.
- กรรณิการ์ สอนโยธา และปาริณี อำนเปื้อง. 2552. สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและความคงตัวของเบต้าไซยานินจากเปลือกและเนื้อแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง (*Hylocereus polyrhizus* (Weber) Britton & Rose). วารสารวิทยาศาสตร์เกษตร. 40(พิเศษ): 15-18.
- เกรียงไกร พัทธการ, อรัญญา พรหมกุล, และวรรณทิศา เสวตบวร. 2558. คุณลักษณะของแบคทีเรียวุ้นสวรรค์ที่ผลิตได้จากแก้วมังกร. แก่นเกษตร. 43: 917-921.

- นฤมล มานีพพาน. 2547. แก้วมังกร. เพชรกะรัต, กรุงเทพฯ.
- นิษฐกานต์ ประดิษฐ์ศรีกุล. 2558. คุณภาพของแผ่นวุ้นเซลล์จากเนื้อแก้วมังกรที่เพาะเลี้ยงด้วยสารอาหารเสริมที่แตกต่างกันในน้ำสกัดเศษข้าวโพด. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์ สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเทคโนโลยีการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลสุวรรณภูมิ.
- บุญฤทธิ์ ฤทัยคงถาวร. 2546. การผลิตเซลล์จาก *Acetobacter* sp. TISTR 975 โดยใช้ถังหมักทรงกระบอกแบบหมุน. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.
- บุศราภรณ์ มหาโยธี, พิสุทธิ บุตรสุวรรณ, และภัทรพร ดาวแจ้ง. 2551. การลดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในน้ำแก้วมังกรบรรจุกระป๋อง. กรุงเทพฯ: สำนักงานกองทุนสนับสนุนงานวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม.
- ประไพศรี สุทัศน์ ณ อยุธยา และพงศ์ชนัน เหลืองโพนุลย์. 2551. การออกแบบและการวิเคราะห์การทดลอง. สำนักพิมพ์ท็อป, กรุงเทพฯ.
- พงษ์ศักดิ์ รัตนกุลชัยนันท์. 2542. แก้วมังกร คุณค่า คู่ความงาม. ผาสุก. 22: 24-27.
- ภขมน พิษญาจิตติพงษ์. 2556. การผลิตและสมบัติทางชีวภาพของสเต็มอาหารจากเปลือกแก้วมังกรพันธุ์เนื้อผลสีแดง (*Hylocereus polyrhizus*). วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี, นครราชสีมา.
- รุสมัน ดะแซสาเมาะ. 2557. การสกัดและการทำบริสุทธิ์โพลิไกลิโคไซด์จากเนื้อแก้วมังกรและการประเมินคุณสมบัติการเป็นสารฟิโอบีโอติก. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์, สงขลา.
- สมคิด ธรรมรัตน์. 2531. การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวและการแปรรูป. อาหาร. 18: 250-262.
- สุเมธ ต้นตระกูล และวราวุฒิ ครูสง. 2537. วุ้นมะพร้าว. วารสารวิทยาศาสตร์. 48: 360-366.
- สุรพงษ์ โกสิยะจินดา. 2545. แก้วมังกร พืชเศรษฐกิจ ผลไม้สุขภาพ. หจก. ฟันนี้พับลิชชิ่ง, กรุงเทพฯ.
- อนันต์ บุญปาน, สิริแซ พงษ์สวัสดิ์ และจิรพรณ คำผา. 2553. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากกากน้ำตาล. น. 547-554. ใน: การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 48 สาขาอุตสาหกรรมเกษตร. 3 ก.พ.-5 ก.พ. 2553. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

- Almeida, I. F., T. Pereira, N. H. Silva, F. P. Gomes, A. J. Silvestre, C. S. Freire, J. M. Sousa Lobo, and P. C. Costa. 2014. Bacterial cellulose emembranes as drug delivery systems: an in vivo skin compatibility study. *Eur. J. Pharm Biopharm.* 86: 332-336.
- Amnuait, T., T. Chusuit, P. Raknam, and P. Boonme. 2011. Effects of a cellulose mask synthesized by a bacterium on facial skin characteristics and user satisfaction. *Med. Devices.* 4: 77-81.
- Awadhiya, A., D. Kumar, R. Bushara, and V. Verma. 2016. Synthesis and characterization of agarose–bacterial cellulose biodegradable composites. *Polym. Bull.* 74: 2887-2903.
- Box, G. E. P., and D. W. Behnken. 1960. Some new three level designs for the study of quatitative variables. *Technometrics.* 2: 455-475.
- Borzani, W., and S. J. Souza. 1995. Mechanism of the film thickness increasing during the bacterial production of cellulose on non-agitated liquid media. *Biotechnol lett.* 17: 1271-1272.
- Budhiono, A., B. Rosidi, H. Taher, and M. Iguchi. 1999. Kinetic aspects of bacterial cellulose formation in nata-de-coco culture system. *Carbohydr. Polym.* 40: 137-143.
- Cai, Y. Z., M. Sun, and H. Corke. 2005. Characterization and application of betalain pigments from plants of the Amaranthaceae. *Trends. Food Sci. Technol.* 16: 370-376.
- Coeffy, D. G., and D. A. Bell. 1995. Cellulose and cellulose derivative. P. 147-179. In: A. M. Stephen. *Food polysaccharide and their application.* Dekker, NY.
- Czaja, W., A. Krystynowicz, S. Bielecki, and R. M. Brown. 2006. Microbial cellulose-the natural power to heal wounds. *Biomaterials.* 27: 45-151.
- Gan, C. Y., and A. A. Latiff. 2011. Extraction of antioxidant pectic-polysaccharide from mangosteen (*Garcinia mangostana*) rind: optimization using response surface methodology. *Carbohydr. Polym.* 83: 600-607.
- Hasan, N., D. R. A. Biak, and S. Kamarudin. 2012. Application of bacterial cellulose (BC) in natural facial scrub. *Int. J. Adv. Sci. Eng. Inf. Technol.* 2: 1-4.
- Huang, A. S., and J. H. Von Elbe. 1987. Effect of pH on the degradation and regeneration of betanine. *J. Food Sci.* 52: 1689-1693.
- Hutchens, S. A., R. V. Leon, H. M. O'Neill, and B. R. Evans. 2007. Statistical analysis of optimal culture conditions for *Gluconacetobacter hansenii* cellulose production. *Lett. Appl. Microbiol.* 44: 175-180.
- Jagannath, A., A. Kalaiselvan, S. S. Manjunatha, P. S. Raju, and A. S. Bawa. 2008. The effect of pH, sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (Nata-de-coco) by *Acetobacter xylinum*. *World J. Microbiol. Biotechnol.* 24: 2593-2599.
- Jonas, R., and L. F. Farahh. 1998. Production and application of microbial cellulose. *Polym. Degrad. Stab.* 59: 101-106.
- Keshk, S., and K. Sameshima. 2006. The utilization of sugar cane molasses with/without the presence of lignosulfonate for the production of bacterial cellulose. *Appl Microbiol. Biotechnol.* 72: 291-296.
- Klemm, D., D. Schumann, U. Udhardt, and S. Marsch. 2001. Bacterial synthesized cellulose-artificial blood vessels for microsurgery. *Prog. Polym. Sci.* 26: 1561-1603.
- Klemm, D., D. Schumann, F. Kramer, N. Heßler, M. Hornung, H. P. Schmauder, and S. Marsch. 2006. Nanocelluloses as innovative polymers in research and application. *Adv. Polym. Sci.* 205: 49-96.
- Lapuz, M. M., E. G. Gallardo, and M. A. Palo. 1967. The nata organism cultural requirements, characteristics and identity. *Philipp. J. Sci.* 96: 91-108.
- Lin, S. P., I. L. Calvar, J. M. Catchmark, J. R. Liu, A. Demirci, and K. C. Cheng. 2013. Biosynthesis, production and applications of bacterial cellulose. *Cellulose.* 20: 2191-2219.
- Lin, Y. C., Y. C. Wey, M. L. Lee, P. C. Lin. 2015. Cosmetic composition containing fragments of bacterial cellulose film and method for manufacturing thereof. US patent, US 20150216784 A1.

- Mesomya, W., V. Pakpeankitvatana, S. Komindr, P. Leelahakul, Y. Cuptapun, D. Hengsawadi, P. Tammarate, and P. Tangkanakul. 2006. Effects of health food from cereal and Nata De Coco on serum lipids in Human. Songklanakarin. J. Sci. Technol. 28: 23-28.
- Montgomery, D. C. 2011. Design and analysis of experiments. John Willey & Sons Inc, NY.
- Morton, J. F. 1987. Fruits of warm climates. Strawberry Pear. Florida Flair Books, Miami.
- Ortiz, T. A., and L. S. A. Takahashi. 2015. Physical and chemical characteristics of pitaya fruits at physiological maturity. Genet. Mol. Res. 14: 14422-14439.
- Rebecca, O. P. S., A. N. Boyce, and S. Chandran. 2010. Pigment identification and antioxidant properties of red dragon fruit (*Hylocereus polyrhizus*). Afr. J. Biotechnol. 9: 1450-1454.
- Ross, P., M. Raphae, and B. Moshe. 1991. Cellulose biosynthesis and function in bacteria. Microbiol. Rev. 55: 35-58.
- Shi Z, Y. Zhang, G. O. Phillips, and G. Yang. 2014. Utilization of bacterial cellulose in food. Food Hydrocoll. 35: 539-545.
- Sonia, A., and K. P. Dasan. 2013. Celluloses microfibers (CMF)/poly (ethylene-co-vinyl acetate) (EVA) composites for food packaging applications : A study based on barrier and biodegradation behavior. J. Food Eng. 118: 78-89.
- Valla, S. 1995. Food Biotechnology : Microorganism for cellulose production. VCH Publisher Inc, NY.
- Velásquez-RiañoEmail, M., and V. Bojacá. 2017. Production of bacterial cellulose from alternative low-cost substrates. Cellulose. 24: 2677-2698.
- Watanabe, K., and S. Yamanaka. 1995. Effect of oxygen tension in the gaseous phase on production and physiological properties of bacterial cellulose formed under static culture conditions. Biosci. Biotechnol. Biochem. 59: 65-68.
- Wichienchot, S., M. Jatupornpipat, and R. A. Rastall. 2010. Oligosaccharides of pitaya (dragon fruit) flesh and their prebiotic properties. Food Chem. 120: 850-857.
- Wu, J., Y. Zheng, W. Song, J. Luan, X. Wen, Z. Wu, X. Chen. Q. Wang, and S. Guo. 2014. In situ synthesis of silver-nanoparticles/bacterial cellulose composites for slow-released antimicrobial wound dressing. Carbohydr. Polym. 102: 762-771.
- Wu, L. C., H. W. Hsu, Y. C. Chen, C. C. Chiu, Y. I. Lin, and J. A. Annie Ho. 2006. Antioxidant and antiproliferative activities of red pitaya. Food Chem. 95: 315-327.
- Xiao, L., Y. Mai, F. He, L. Yu, L. Zhang, H. Tang, and G. Yang. 2012. Bio-based green composites with highperformance from poly (lactic acid) and surface modified microcrystalline cellulose. J. Mater. Chem. 22: 15732-15739.
- Yamanaka, S., K. Watanabe, and N. Kitamura. 1989. The structure and mechanical properties of sheets prepared from bacterial cellulose. J. Mater. Sci. 24: 3141-3145.
- Yang, G. J. Xie, F. Hong, Z. Cao, and X. Yang. 2012. Antimicrobial activity of silver nanoparticle impregnated bacterial cellulose membrane: Effect of fermentation carbon sources of bacterial cellulose Carbohydr. Polym. 87: 839-845.