

Research Article

การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ
ของวันสวรค์จากกากลูกหม่อนโดยเชื้อ *Acetobacter xylinum*

A Study on the Optimum Conditions for Producing Bacterial Cellulose and Its Antioxidant
Properties from Mulberry Pomace by *Acetobacter xylinum*

ตัทนัม สมวงศ์^{a*}, นูรามาลี ดีนามอ^b และ วรธมน วัฒนายน^a

Tasneem Somwong^{a*}, Nuramalee Deenamo^b and Wassamon Wathanayon^a

^a สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 96000

^a Department of Biology, Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas, Meang, Naradhiwas 96000, Thailand.

^b สาขาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏวราชนครินทร์ อำเภอเมือง จังหวัดนครราชสีมา 96000

^b Department of Chemistry, Faculty of Science and Technology, Princess of Naradhiwas, Meang, Naradhiwas 96000, Thailand.

ABSTRACT

Article history:

Received: 2024-02-12

Revised: 2024-10-31

Accepted: 2024-11-13

Keywords:

bacterial cellulose;

agricultural waste;

mulberry pomace;

Acetobacter xylinum

Nata de Coco or cellulose produced by bacteria that create cellulose can be applied in various food applications. The objectives of this research were to study the optimal conditions for producing cellulose from mulberry pomace leftover from agricultural processing using *Acetobacter xylinum* strain and to study the antioxidant properties, comparing with cellulose from coconut juice. The experiment results showed that the optimal conditions for producing cellulose from mulberry pomace were an inoculum amount of 10% (v/v), a pH of 4.0 and incubation at 30 degrees Celsius for 14 days, which yielded the highest cellulose production. This was compared to cellulose production using coconut juice, which yield at 19.5±0.19 and 16.7±0.95 g/100 mL, respectively. A total soluble solids content was showed at 9.20±0.17 and 5.03±0.06 °Brix, respectively. When analyzing the physical quality of cellulose from mulberry pomace and coconut juice, it was found that cellulose from mulberry pomace had a significantly higher red color value (a*) with a statistical difference level of ($p<0.05$). The gel strength of cellulose from mulberry pomace was higher than that from coconut juice, measuring 28.27±0.35 and 19.67±0.37 newtons, respectively. Additionally, cellulose from mulberry pomace contained total monomeric anthocyanin at 853.09±5.37 mg equivalent to cyanidin-3-glucoside per 100 g of dry weight, total phenolic compound content at 131.16±0.466 mg equivalent to gallic acid per 100 g of dry weight, and total flavonoids at 214.0±0.37 mg equivalent to catechin per 100 grams of dry weight, and exhibited antioxidant properties (DPPH) with an IC50 value of 3.63±0.51 mg/mL.

* Corresponding author.

E-mail address: Tasneem.s@pnu.ac.th

Cite this article as:

Somwong, T., Deenamo, N. and Wathanayon, W. 2025. A Study on the Optimum Conditions for Production and Antioxidant Properties of Bacterial Cellulose from Mulberry Pomace by *Acetobacter xylinum*. *Recent Science and Technology* 17(3): 262167.

บทคัดย่อ

วันสวร์หรือเซลลูโลสที่ผลิตโดยแบคทีเรียที่สร้างเซลลูโลส โดยสามารถประยุกต์ใช้ในอาหารได้หลากหลาย งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวันสวร์จากกากลูกหม่อนที่เหลือจากการแปรรูปทางการเกษตร ด้วยเชื้อ *Acetobacter xylinum* และศึกษาคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระซึ่งเปรียบเทียบกับวันสวร์จากน้ำมะพร้าว ผลการทดลองสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวันสวร์จากกากลูกหม่อนพบว่า ปริมาณหัวเชื้อ 10% (v/v) ความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.0 และบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ให้ปริมาณเซลลูโลสมากที่สุด เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้มะพร้าวเท่ากับ 19.5 ± 0.19 และ 16.7 ± 0.95 กรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ และปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดเท่ากับ 9.20 ± 0.17 และ 5.03 ± 0.06 องศาบริกซ์ ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของวันสวร์จากกากลูกหม่อนและน้ำมะพร้าวพบว่า วันสวร์จากกากลูกหม่อนมีค่าสีแดง a^* เพิ่มขึ้น ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) และความแข็งแรงเจล (gel strength) วันสวร์จากกากลูกหม่อนสูงกว่าวันสวร์จากน้ำมะพร้าวเท่ากับ 28.27 ± 0.35 และ 19.67 ± 0.37 นิวตัน ตามลำดับ นอกจากนี้ในวันสวร์จากกากลูกหม่อนมีปริมาณสารแอนโทไซยานินเท่ากับ 853.09 ± 5.37 มิลลิกรัมสมมูลของ cyanidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ปริมาณสารฟีนอลิกเท่ากับ 131.16 ± 0.466 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 214.0 ± 0.37 มิลลิกรัมสมมูลของ catechin ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง และมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) ได้ โดยมีค่า IC50 เท่ากับ 3.63 ± 0.51 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

คำสำคัญ: วันสวร์, วัสดุเหลือทิ้งจากการเกษตร, กากลูกหม่อน, *Acetobacter xylinum*

1. บทนำ

วันสวร์ (Nata de coco) หรือเซลลูโลส (cellulose) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักของแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* sub sp. *xylinum* เป็นสายพันธุ์ที่มีความสำคัญในการผลิตเซลลูโลส เนื่องจากมีความสามารถในการผลิตเซลลูโลสปริมาณมากและมีคุณภาพที่ดี วันสวร์หรือเส้นใยเซลลูโลสมีโครงสร้างทางเคมีที่ประกอบด้วยพอลิแซ็กคาไรด์ที่ต่อกันด้วยพันธะ β -1,4-glycosidic bond ซึ่งเส้นใยมีขนาดเล็ก มีความบริสุทธิ์สูง อิ่มน้ำได้ดีและต้านทานต่อแรงดึงสูง (Dejsungkranont, 2018) จากคุณสมบัติที่ดีข้างต้น วันสวร์จึงได้รับความนิยมนำไปประยุกต์ใช้เป็นผลิตภัณฑ์อาหารและเครื่องดื่มหลากหลายชนิด เช่น อาหารที่ให้พลังงานต่ำ อาหารคีโต และน้ำผลไม้ เพื่อเพิ่มลักษณะเนื้อสัมผัสแก่อาหารและมีประโยชน์ต่อระบบขับถ่าย เนื่องจากเอนไซม์ในระบบทางเดินอาหารของมนุษย์ไม่สามารถย่อยเส้นใยเซลลูโลสได้ ทำให้ช่วยลดความเสี่ยงการเป็นมะเร็งลำไส้ใหญ่ (Mesomya et al., 2006; Jagannath et al., 2008; Bunyakorn, 2017) ปัจจุบันมีงานวิจัยที่ศึกษาการผลิตวันสวร์จากวัตถุดิบทางการเกษตรที่เหลือทิ้งภายหลังจากการแปรรูปและมีราคาต่ำ อาทิ เช่น การผลิตวันสวร์จากน้ำคั้นเปลือกสับปะรด วันสวร์จากน้ำเปลือกมังคุด วันสวร์จากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำ วันสวร์จากน้ำมะม่วงและน้ำแก้วมังกรพันธุ์เนื้อสีแดง เป็นต้น เพื่อเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งและสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตวันสวร์ ทำให้ช่วยลดต้นทุนในกระบวนการผลิตได้ เนื่องจากมีราคาไม่แพง (Dejsakungkranont, 2018; Phromthep et al., 2018; Promwongpo et al., 2018; Jaturapiree et al., 2019; Samappito et al., 2023)

หม่อน (Mulberry) มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า *Morus alba* Linn. เป็นพืชสมุนไพรที่อยู่ในวงศ์ Moraceae นิยมปลูกในหลายประเทศรวมถึงประเทศไทย โดยต้นหม่อนปลูกไว้เพื่อใช้เลี้ยงหนอน

ไหม โบหม่อน (Bombyx Mori) ถูกใช้เป็นแหล่งอาหารและลูกหม่อน (Mulberry Fruit) เป็นผลพลอยได้จากการเลี้ยงหนอนไหม ลูกหม่อนจะมีลักษณะเป็นผลแบบรวมในพวงเดียวกัน ในลูกหม่อนสุกจะมีลักษณะอวบ น้ำ รสชาติเปรี้ยวอมหวาน และสีของลูกหม่อนอ่อนจะมีสีแดงสด ส่วนผลสุกจะมีสีแดงเข้มอมม่วง ซึ่งสีของลูกหม่อนเกิดจากรงควัตถุชนิดสารประเภทแอนโทไซยานิน (Anthocyanin) มีคุณสมบัติละลายน้ำได้ดีและมีฤทธิ์เป็นสารต้านอนุมูลอิสระ ทั้งนี้มีสารประกอบฟีนอลิกและฟลาโวนอยด์ ซึ่งเป็นสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพที่จะช่วยป้องกันการเกิดโรคเรื้อรังต่าง ๆ เช่น โรคเบาหวาน โรคมะเร็ง และโรคหัวใจ เป็นต้น นอกจากนี้ในลูกหม่อนจะอุดมไปด้วยสารอาหารอื่น ๆ ที่มีคุณค่าทางโภชนาการ อาทิเช่น คาร์โบไฮเดรต 21.35 กรัม/100 กรัม ไขมัน 43.48 มิลลิกรัม/100 กรัม วิตามิน (B1) 50.65 กรัม/100 กรัม และวิตามิน (B6) 390.10 มิลลิกรัม/100 กรัม (Ercisli and Orhan, 2007; Pawloska et al., 2008; Roskhrua and Kitchaicharoen, 2020; Leelahemarantana and Tongchitpakdee, 2021) เนื่องจากลูกหม่อนมีอายุการเก็บรักษาสั้น บอบช้ำและเน่าเสียง่าย ลูกหม่อนจึงถูกนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อาหาร ผลิตภัณฑ์บำรุงผิวและเครื่องสำอางประเภทต่าง ๆ มากมาย (Li et al., 2020) ประโยชน์ของการแปรรูปลูกหม่อนจะช่วยลดปัญหาการเน่าเสียและเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าทางการเกษตร แต่ในการแปรรูปลูกหม่อนผู้ผลิตมักจะนิยมเลือกใช้เฉพาะส่วนของน้ำเท่านั้นและส่วนของกากจะถูกทิ้ง

ดังนั้น งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อใช้ประโยชน์จากกากลูกหม่อนที่เหลือทิ้งจากการแปรรูปโดยการผลิตวันสวร์ในกระบวนการหมักจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* โดยหาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักและวิเคราะห์ปริมาณสารสำคัญที่ออกฤทธิ์ทางชีวภาพในวันสวร์จากกากลูกหม่อน เพื่อช่วยเพิ่มมูลค่าวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรและพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีคุณค่าทางโภชนาการ

2. วิธีดำเนินการวิจัย

2.1 การเตรียมวัตถุดิบ

นำกากลูกหม่อน (Mulberry pomace) สายพันธุ์ *Morus alba* Linn. ที่เหลือทิ้งหลังจากกระบวนการแปรรูปจากศูนย์วิจัยหม่อนไหมพิบูลทอง จังหวัดนครราชสีมา นำมาวางแผ่นบนตะแกรงเพื่อสะเด็ดน้ำและเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส และน้ำมะพร้าวที่ได้จากมะพร้าวแก่สำหรับคั้นกะทิ ได้รับจากตลาดสดในเทศบาลเมือง จังหวัดนครราชสีมา นำมารองสีงสปกรด้วยผ้าขาวบาง แล้วเก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.2 การเตรียมหัวเชื้อ *Acetobacter xylinum*

A. xylinum เป็นแบคทีเรียที่สำหรับกระบวนการผลิตวุ้นสวรรค์จากสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ นำน้ำมะพร้าวที่กรองสีงสปกรออกแล้วปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมน้ำตาลซูโครส 5.0 กรัม แล้วนำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที จากนั้นเติมแอมโมเนียมซัลเฟต ((NH₄)₂SO₄) 0.3 กรัม ต้มต่อไปอีก 1 นาที เมื่อครบเวลาปรับค่า pH ในน้ำมะพร้าวให้เท่ากับ 4.0 ด้วยกรดอะซิติก (acetic acid) ความเข้มข้น 1% (v/v) ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมเชื้อ *A. xylinum* 10% (v/v) ลงไปในอาหารที่เตรียมไว้ บ่มในตู้บ่มเชื้อ (INB 300 Incubator, Memmert, Germany) ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน จะเกิดแผ่นวุ้นบนผิวหน้าอาหาร สำหรับเป็นกล้าเชื้อเริ่มต้นเพื่อเตรียมใช้ในการทดลองต่อไป ส่วนของกล้าเชื้อที่เหลือจะถูกเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

2.3 การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา

ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *A. xylinum* ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) ซึ่งดัดแปลงวิธีการจาก Chemama *et al.* (2020) นำตัวอย่างเชื้อปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็ว 6,000 รอบต่อนาที จากนั้นล้างตัวอย่างเซลล์ด้วยสารละลาย 0.5 M Phosphate buffer 2 ครั้ง ครั้งละ 5 นาที นำตัวอย่างตรึงด้วยสารเคมี 2.5% (w/v) Glutaraldehyde (C₅H₈O₂) ใน 0.2 M PB เป็นเวลา 1 ชั่วโมง เมื่อครบตามเวลาให้ล้างตัวอย่างด้วย 0.1 M PB และน้ำกลั่น 3 ครั้ง จากนั้นกำจัดน้ำออกจากตัวอย่างโดยใช้ Alcohol series จากความเข้มข้นต่ำไปจนถึงความเข้มข้นสูง (เอทานอล 50-100%) ความเข้มข้นละ 30 นาที จากนั้นนำตัวอย่างไปทำให้แห้งด้วยเครื่อง Critical Point Drier และเคลือบตัวอย่างด้วยทองคำเป็นเวลา 2 นาที และศึกษาโครงสร้างทางสัณฐานวิทยาของเชื้อที่ปรากฏภายใต้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบส่องกราด

2.4 การศึกษาปัจจัยที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์จากกากลูกหม่อน

2.4.1 ความเป็นกรด-ด่าง (pH)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 2 และปรับความเป็นกรด-ด่างด้วยกรดอะซิติกที่ความเข้มข้น 1% (v/v) ให้ pH เท่ากับ 3.0, 4.0 และ 5.0 จากนั้นเติมเชื้อ *A. xylinum* 10% (v/v) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน และวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ลูโลสที่ได้

2.4.2 อุณหภูมิ (Temperature)

เติมเชื้อ *A. xylinum* 10% (v/v) ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 2 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิต่างๆ คือ 25, 30 และ 35 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน และวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ลูโลสที่ได้

2.4.3 ปริมาณเชื้อเริ่มต้น (Inoculum)

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อเช่นเดียวกับข้อ 2 และเติมหัวเชื้อ *A. xylinum* ปริมาตร 5, 10 และ 20 มิลลิลิตร ลงไปในอาหารเลี้ยงเชื้อที่เตรียมไว้ แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน และวิเคราะห์ปริมาณเซลล์ลูโลสที่ได้

2.5 การผลิตวุ้นสวรรค์จากกากลูกหม่อน

จากการทดลองเบื้องต้นพบว่า การใช้กากลูกหม่อน 100% เป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์จะให้ผลผลิตต่ำกว่าการใช้กากลูกหม่อนผสมน้ำมะพร้าว ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงใช้กากลูกหม่อนผสมกับน้ำมะพร้าวเป็นวัตถุดิบในการผลิตวุ้นสวรรค์โดยมีวิธีการเตรียมดังนี้ ชั่งกากลูกหม่อน 10 กรัม ผสมกับน้ำมะพร้าวปริมาตร 100 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำตาลซูโครส 5.0 กรัม นำไปต้มที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 20 นาที ใส่แอมโมเนียมซัลเฟต ((NH₄)₂SO₄) 0.3 กรัม ต้มต่อไปอีก 1 นาที เมื่อครบเวลาใส่กรดอะซิติกเพื่อปรับ pH ที่เหมาะสมจากข้อ 4.1 ลงในอาหารขณะที่ยังร้อนและตั้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเติมกล้าเชื้อ *A. xylinum* และนำไปบ่มในสภาวะที่อุณหภูมิเหมาะสมโดยอ้างอิงข้อมูลจากข้อ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ เป็นระยะเวลา 14 วัน เมื่อเสร็จสิ้นกระบวนการหมักนำวุ้นสวรรค์ที่ได้วัดความหนาด้วย Vernier Calipers (Plexpert, Canada) วิเคราะห์ปริมาณเซลล์ลูโลสด้วยเครื่องชั่งทศนิยม 4 ตำแหน่ง Analytical balance (Mettler-Toledo, Thailand) วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในน้ำหมักด้วย Hand refractometer (Atago, India) วัดค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (Mettler-Toledo, Thailand) วัดค่าสีของวุ้นสวรรค์ (L* a* b*) ด้วยเครื่อง Handy colorimeter (ColorFlex Ez45/0L, USA) โดยใช้ระบบ CIE Lab scale และวิเคราะห์ค่าความแข็งแรงของเจล (gel strength) ด้วยเครื่องวิเคราะห์เนื้อสัมผัส (Ametek Brookfield CTX Texture Analyzer, Germany) ใช้หัววัดขนาด 12.7 มิลลิเมตร Cylinder probe (TA18 sphere) ทำการทดลอง 3 ซ้ำแล้วหาค่าเฉลี่ย (Jaturapiree *et al.*, 2019; Samappito *et al.*, 2023)

2.6 การเก็บเกี่ยววันสวรรคตกาหลูกหม่อน

นำวันสวรรคตกาหลูกหม่อนที่ได้ล้างน้ำสะอาด 5 ครั้ง นำไปต้มในสารละลาย 0.1 M NaOH ที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 30 นาที จากนั้นล้างน้ำสะอาดและแช่ทิ้งไว้ 1 คืน นำวันสวรรคตล้างด้วยน้ำสะอาดหลายๆครั้งจนน้ำล้างมีค่า pH เท่ากับ 7 แล้วหั่นวันสวรรคตให้เป็นสี่เหลี่ยมลูกเต๋าขนาด $1.5 \times 1.5 \times 1.5$ เซนติเมตร บรรจุใส่ถุงพลาสติกชนิดโพลีเอทิลีน (PE) และเก็บตัวอย่างที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสก่อนนำตัวอย่างวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป (Bunyakorn, 2017; Dejsungkranont, 2018)

2.7 ศึกษาองค์ประกอบทางเคมีของวันสวรรคตกาหลูกหม่อน

นำตัวอย่างวันสวรรคตกาหลูกหม่อนที่ได้จากข้อ 6 ทำการสกัดสารโดยดัดแปลงจากวิธีการของ Rattana and Saengsanga (2020) ซึ่งตัวอย่าง 100 กรัม ใส่ในเอทานอล 1,000 ml แช่ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง จากนั้นกรองด้วยกระดาษ Whatman® No.4 นำตัวอย่างของเหลวที่ได้จากการกรองระเหยเอทานอลด้วยเครื่อง rotary evaporate (Heidolph, Germany) ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ระยะเวลา 3 ชั่วโมง เก็บสารสกัดที่ได้จากการระเหยที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส สำหรับใช้ในการวิเคราะห์ขั้นตอนต่อไป

2.7.1 การวิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินทั้งหมด (Total anthocyanin determination)

วิเคราะห์ปริมาณแอนโทไซยานินในตัวอย่างวันสวรรคตกาหลูกหม่อนโดยวิธี pH differential method ปรับระดับความเจือจางของตัวอย่างสารสกัดลง 10 เท่า โดยหลอดที่หนึ่งเจือจางตัวอย่าง 0.05 มิลลิลิตร ด้วยบัฟเฟอร์ pH 1.0 (Potassium chloride เข้มข้น 0.025 โมล) 1.8 มิลลิลิตร หลอดที่สองเจือจางตัวอย่าง 0.05 มิลลิลิตร ด้วยบัฟเฟอร์ pH 4.5 (Sodium acetate เข้มข้น 0.4 โมล) 1.8 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันและวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 520 และ 700 นาโนเมตร ของทั้ง 2 หลอด คำนวณหาค่าปริมาณแอนโทไซยานินโดยเทียบกับ cyanidin-3-glucoside ด้วยสูตร (AOAC, 2002; Kanklai et al., 2021)

$$\text{Total Anthocyanin} = \frac{A \times MW \times DF \times 10^3}{\epsilon \times L}$$

$$A = [(A_{520}-A_{700}) \text{ at pH } 1.0] - [(A_{520}-A_{700}) \text{ at pH } 4.5],$$

$$MW = 449.2, L = 1, DF = \text{dilution factor}, \epsilon = 26,900$$

2.7.2 วิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content)

วิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่างวันสวรรคตกาหลูกหม่อนโดยใช้วิธี total phenol assay ดัดแปลงวิธีจาก Zhang et al. (2023) เตรียมตัวอย่างสารสกัดที่จะทดสอบ

ปริมาตร 50 ไมโครลิตร ผสมกับสาร Folin-Ciocalteu's phenol reagent (Loba, India) บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเติม 20% NaCO_3 ปริมาตร 1,000 ไมโครลิตร 10 นาที ที่อุณหภูมิห้องและวัดปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 760 นาโนเมตร นำค่าที่วัดได้เทียบกับกราฟมาตรฐานโดยใช้กรดแกลกติกเป็นสารมาตรฐาน รายงานผลเป็นปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลกติกต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง)

2.7.3 วิเคราะห์ปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมด (Total flavonoid content)

นำตัวอย่างสารสกัดวันสวรรคตกาหลูกหม่อนปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมกับสาร AlCl_3 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และ CH_3COONa ปริมาตร 500 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันและนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง 15 นาที จากนั้นวัดปริมาณฟลาโวนอยด์ทั้งหมดด้วยเครื่อง spectrophotometer ที่ความยาวคลื่น 430 นาโนเมตร โดยผลการทดลองจะเทียบกับกราฟมาตรฐานของ catechin (มิลลิกรัมสมมูลของ catechin ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง) (Kim et al., 2003)

2.7.4 การวิเคราะห์คุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ (DPPH scavenging assay)

ตรวจสอบคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH โดยวิธีการดัดแปลงจาก Kanklai et al. (2021) เติมน้ำละลายความเข้มข้น 0.1 mM DPPH (2,2-diphenyl-1-picryl-hydrazyl-hydrate) (Sigma-Aldrich™) ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองที่มีตัวอย่างสารสกัดวันสวรรคตกาหลูกหม่อน เขย่าให้ผสมกันและตั้งทิ้งไว้ในที่มืดที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร โดยผลการทดลองจะนำมาเทียบกับกราฟมาตรฐานของวิตามินซี (Gallic acid) (Sigma-Aldrich™) โดยทำการทดลอง 3 ซ้ำ แล้วนำค่าที่ได้คำนวณหาค่าฤทธิ์ในการต้านอนุมูลอิสระ ค่า 50% inhibitory concentration (IC50) ใช้หน่วยมิลลิกรัมสมมูลของวิตามินซีต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง

2.8 การประเมินทางสถิติ

การวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้โปรแกรมสำเร็จทางสถิติ SPSS Version 23 โดยวางแผนการทดลองแบบ T-test และ Completely Randomized Design (CRD) ทำการทดลอง 3 ซ้ำและนำข้อมูลที่ได้ไปวิเคราะห์ความแปรปรวน Analysis of Variance (ANOVA) ที่กำหนดระดับนัยสำคัญ $\alpha=0.05$ และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยตัวอย่างด้วยวิธี Duncan's New Multiple Rang Test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95

3. ผลการวิจัยและวิจารณ์ผล

ลักษณะทางสัณฐานวิทยาของ *A. xylinum* ในรูปแบบ 3 มิติ ด้วยเครื่อง Scanning Electron Microscopy (SEM) พบว่า เซลล์มีขนาด $1.0 \times 1.5\text{--}3.0\ \mu\text{m}$ รูปร่างแท่ง (bacilli) การเรียงตัวอยู่เป็นคู่และกระจาย ไม่มีแฟลเจลลาและไม่มีสปอร์ (Figure 1)

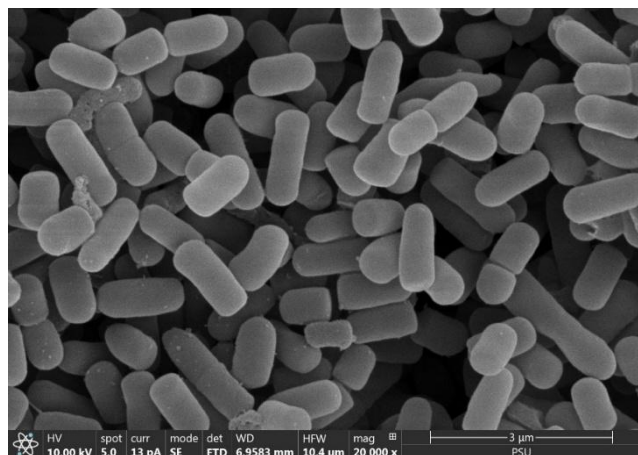


Figure 1 Morphology of *Acetobacter xylinum* by Scanning electron microscope (SEM) with the scale bar of 3 μm

3.1 ผลการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นสวรรค์

pH ที่เหมาะสมต่อการผลิตวุ้นสวรรค์พบว่า pH ที่ระดับ 4.0 มีความเหมาะสม ให้ปริมาณวุ้นสวรรค์สูงสุด โดยวิเคราะห์จากน้ำหนักแห้งของเซลล์มีค่าเท่ากับ 77.37 ± 2.09 กรัม/100 มิลลิลิตร รองลงมาคือ pH ที่ระดับ 3.0 และ 5.0 เท่ากับ 47.72 ± 2.47 กรัม/100 มิลลิลิตร และ 57.88 ± 2.15 กรัม/100 มิลลิลิตร (Figure 2a) ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของ Raghunathan (2013) พบว่า ค่า pH ที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตเซลล์จะอยู่ในช่วง pH 4.0-6.0 และหาก pH ต่ำกว่า 4.0 นั้นจะส่งผลต่อการผลิตเซลล์ลดลง เช่นเดียวกับ Promwongpo *et al.* (2018) ศึกษา pH ที่เหมาะสมในการผลิตเซลล์จากน้ำมะม่วงเป็นวัตถุดิบพบว่า น้ำมะม่วงที่ปรับ pH เท่ากับ 4.0 สามารถผลิตเซลล์ได้สูงสุดเท่ากับ 43.83 ± 0.51 กรัม/ลิตร และการศึกษาของ Samappito *et al.* (2023) พบว่า *A. xylinum* สามารถผลิตวุ้นสวรรค์ได้มากที่สุดจากข้าวหมากปลายข้าวเหนียวดำเมื่อปรับค่า pH ในอาหารเลี้ยงเชื้อเท่ากับ 4.0 เช่นกัน

จากการศึกษาผลของระดับอุณหภูมิต่างๆที่เหมาะสมต่อการผลิตเซลล์ พบว่าอุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เหมาะสมต่อ

การผลิตเซลล์มากที่สุด โดยแสดงผลของปริมาณเซลล์ต่อเท่ากับ 73.14 ± 0.35 กรัม/100 มิลลิลิตร รองลงมาคือ อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เท่ากับ 54.41 ± 2.44 กรัม/100 มิลลิลิตร และ 35 องศาเซลเซียส ไม่มีการสร้างเซลล์ เพราะอุณหภูมิสูงเกินไป ส่งผลให้เชื้อไม่สามารถเจริญเติบโตได้ (Figure 2b) สอดคล้องกับการศึกษาของ Talawar *et al.* (2015) และ Son *et al.* (2001) พบว่า แบคทีเรียที่ผลิตเซลล์จะมีช่วงอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญและสร้างเซลล์อยู่ในช่วง 25-30 องศาเซลเซียส ถ้าหากอุณหภูมิสูงหรือต่ำกว่านั้นจะไม่เหมาะสมต่อการเจริญและจะส่งผลให้ไม่มีการผลิตเซลล์ นอกจากนี้มีการรายงานการผลิตเซลล์โดยใช้แหล่งคาร์บอนเป็นกากน้ำตาลที่ได้จากหัวบีทพบว่า ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ผลิตเซลล์ได้ปริมาณสูงที่สุดเท่ากับ 0.03 และ 0.023 กรัม/ลิตร ในขณะที่ระดับอุณหภูมิ 22 องศาเซลเซียส ได้ปริมาณเซลล์เพียง 0.015 กรัม/ลิตร (Çoban and Biyik, 2011) และการศึกษาของ Pham and Tran (2023) พบว่า แบคทีเรีย *A. xylinum* สร้างผลึกเซลล์จากสารละลายกากสับปะรดได้ดีในช่วงอุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส โดยที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นั้นจะสร้างผลึกเซลล์ได้ดีที่สุด

จากการทดสอบปริมาณเชื้อเริ่มต้นพบว่า เชื้อเริ่มต้นมีผลต่อการสร้างเซลล์และมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) ซึ่งเชื้อเริ่มต้น 10% (v/v) ให้ผลผลิตวุ้นสวรรค์ได้สูงสุดเท่ากับ 75.62 ± 1.90 กรัม/100 มิลลิลิตร รองลงมาคือ ปริมาตรเชื้อเริ่มต้น 20% (v/v) เท่ากับ 53.71 ± 1.73 กรัม/100 มิลลิลิตร ส่วนปริมาตรเชื้อเริ่มต้น 5% (v/v) ให้ผลผลิตน้อยที่สุดเท่ากับ 35.62 ± 1.65 กรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ (Figure 2c) สอดคล้องกับ Khemacheewakul (2017) พบว่าในกระบวนการหมักโดยเชื้อ *A. xylinum* ปริมาตรของเชื้อเริ่มต้นควรมีความเหมาะสมต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยปกติจะนิยมใส่เชื้อเริ่มต้นอยู่ในช่วงร้อยละ 10-20 มิลลิลิตร ปริมาตรเชื้อเริ่มต้นน้อยจะทำให้เชื้อปรับตัวในช่วง Lag phase นานเกินไป ทำให้มีโอกาสเกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่ต้องการและส่งผลให้เชื้อเริ่มต้นที่มียูตายได้ หรือความเข้มข้นของอาหารที่มากเกินไปกว่าปริมาณเชื้อเริ่มต้นจะส่งผลให้สภาพของสารละลายภายนอกเซลล์มีความเข้มข้นสูงกว่าสารละลายภายในเซลล์ ทำให้สารละลายภายในเซลล์เคลื่อนที่ออกจากเซลล์และส่งผลให้เซลล์เหี่ยวตายได้ ในขณะเดียวกันหากมีปริมาณเชื้อเริ่มต้นมากเกินไป จะส่งผลให้กระบวนการสร้างวุ้นสวรรค์ลดลงเช่นกัน เพราะสารอาหารไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ (Chemama *et al.*, 2020)

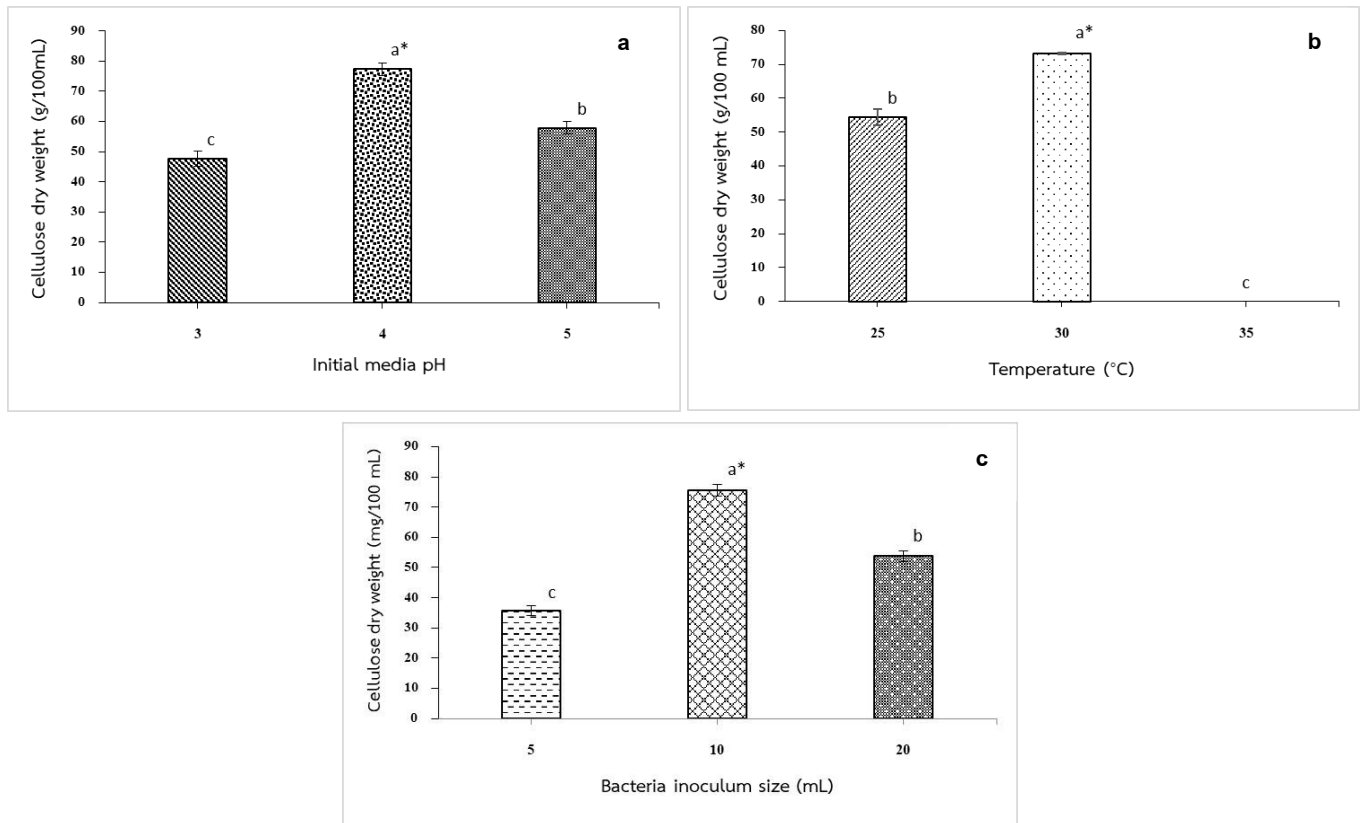


Figure 2 Effect of physical parameter on bacterial cellulose production by *Acetobacter xylinum* after cultivation in 100 ml of the modified medium after incubation at 14 days (a) initial media pH (b) temperature (c) bacteria inoculum size

abc different letters in a column are significantly different level ($p < 0.05$)

จากการศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตเซลลูโลสจากกากลูกหม่อน ด้วยเชื้อ *A. xylinum* ภายหลังจากกระบวนการหมัก 14 วัน พบว่าปริมาณเซลลูโลสที่ผลิตได้มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยปริมาณเซลลูโลสจากกากลูกหม่อนและน้ำมะพร้าวมีค่าเท่ากับ 19.5 ± 0.19 และ 16.7 ± 0.95 กรัม/100 มิลลิลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพของวันสวรค์ทั้งสองชนิด พบว่าค่า L^* a^* และ b^* เท่ากับ 41.77 ± 0.28 , 7.75 ± 0.17 และ -3.80 ± 0.12 ตามลำดับ ซึ่งค่า a^* ของวันสวรค์กากลูกหม่อนมีมากกว่าวันสวรค์จากน้ำมะพร้าว 12.5 เท่า ส่วนค่า L^* และ b^* พบว่ามีค่าน้อยกว่าประมาณ 1 เท่า ดังแสดงตารางที่ 1 และ Figure 3 ซึ่งสอดคล้องกับลักษณะปรากฏของน้ำมะพร้าวที่มีสีขาวใสและในกากลูกหม่อนมีสีแดงที่เป็นรงควัตถุของสารประกอบแอนโทไซยานิน (Roskhrua and Kitchaicharoen, 2020; Leelahemaratan and Tong chitpakdee, 2021) เมื่อทดสอบปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำหลังจากกระบวนการหมักวันสวรค์จากน้ำมะพร้าวและกากลูกหม่อนพบว่า วันสวรค์จากกากลูกหม่อนมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ทั้งหมดสูงกว่าน้ำมะพร้าว

เท่ากับ 9.20 ± 0.17 และ 5.03 ± 0.06 องศาบริกซ์ ($p < 0.05$) ตามลำดับ วันสวรค์ทั้ง 2 ชนิดมีเนื้อสัมผัสที่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p < 0.05$) โดยวันสวรค์จากกากลูกหม่อนมีค่า gel strength สูงกว่าวันสวรค์จากน้ำมะพร้าวเท่ากับ 28.27 ± 0.35 และ 19.67 ± 0.37 นิวตัน ซึ่งจากผลการทดลองดังกล่าวทำให้เห็นว่าวันสวรค์จากกากลูกหม่อนมีคุณภาพดีกว่าวันสวรค์จากน้ำมะพร้าวเพียงอย่างเดียว เนื่องจากน้ำมะพร้าวมีสารอาหารและแหล่งคาร์บอนที่จำเป็นต่อการผลิตวันสวรค์ (Lapuz *et al.*, 1967) แต่เมื่อมีการเพิ่มกากลูกหม่อนลงในน้ำมะพร้าวจะยิ่งส่งผลให้มีการสร้างเซลลูโลสได้มากขึ้น เพราะในกากลูกหม่อนนั้นมีสารประกอบแอนโทไซยานิน มีกรดอะมิโน สารประกอบอินทรีย์ รวมทั้งสารอาหารอื่นๆที่เหลืออยู่ ซึ่งมีความสำคัญและจำเป็นต่อการนำไปใช้ในการเจริญเติบโตของแบคทีเรีย *A. xylinum* (Li *et al.*, 2020) จึงเป็นไปได้ที่กรดอะมิโนในกากลูกหม่อนนั้นจะช่วยส่งเสริมให้มีการเจริญและเพิ่มผลผลิตปริมาณเซลลูโลสได้มากขึ้นกว่าเดิม (Son *et al.*, 2003)

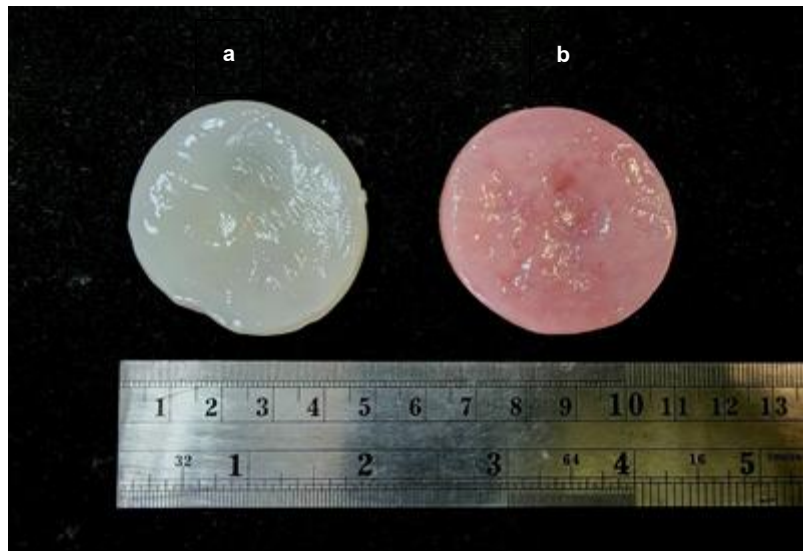


Figure 3 Bacterial cellulose produced from *Acetobacter xylinum* in coconut juice (a) and mulberry pomace (b)

Table 1 Characteristic of cellulose produced from coconut juice and mulberry pomace by *Acetobacter xylinum*

Quality	Coconut juice	Mulberry pomace
Colors		
L*	43.65 ^{ns} ±0.6	41.77 ^{ns} ±0.28
a*	-0.62 ^b ±0.1	7.75 ^a ±0.17
b*	-4.13 ^{ns} ±0.72	-3.80 ^{ns} ±0.12
Cellulose thickness (mm)	8.1 ^b ±0.75	12.2 ^a ±0.20
Cellulose weight (g/100 ml)	19.5 ^a ±0.19	16.7 ^b ±0.95
Total soluble solids (°Brix)	5.03 ^b ±0.06	9.20 ^a ±0.17
pH ^{ns}	3.52 ^{ns} ±0.04	3.25 ^{ns} ±0.03
Gel strength (N)	19.67 ^b ±0.35	28.27 ^a ±0.35

^{ns} different letters in a column are non-significantly different level ($p < 0.05$)

^{ab} different letters in a column are significantly different level ($p < 0.05$)

± average of standard deviation

L*: Lightness, axis shows L = 0 (black or total absorption) at the bottom

a*: Red/Green Value, (+) movement represents a shift toward red, (-) movement represents a shift toward green

b*: Blue/Yellow Value, (+) movement represents a shift toward yellow, (-) movement represents a shift toward blue

จากการศึกษาปริมาณสารสำคัญในวัณสวรรค์กากลูกหม่อนพบว่า ปริมาณสารแอนโทไซยานินเท่ากับ 853.09±5.37 มิลลิกรัมสมมูลของ cyanidin-3-glucoside ต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งมีปริมาณสารสูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Kanklai *et al.* (2021) ที่ได้ศึกษาปริมาณสารแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์น้ำลูกหม่อนที่มีส่วนผสมกากาผลผลิตโดยเชื้อ *Levilactobacillus brevis* F064A พบว่า มีปริมาณสารแอนโทไซยานินเท่ากับ 0.235±15.53 มิลลิกรัมสมมูลของ cyanidin-3-glucoside ต่อ ลิตร และงานวิจัยของ Du *et al.* (2021) รายงานผลของปริมาณสารแอนโทไซยานินในผลิตภัณฑ์โยเกิร์ตกากลูกหม่อนที่บ่มไว้ระยะเวลา 28 วัน พบว่า มีปริมาณสารแอนโทไซยานินเท่ากับ

0.309±0.24 มิลลิกรัมสมมูลของ cyanidin-3-glucoside ต่อ กรัม นอกจากนี้ มีรายงานผลการศึกษาลักษณะที่เหมาะสมในการสกัดสารแอนโทไซยานินในผลมัลเบอรี่ด้วยวิธีอัลตราโซนิคพบว่า ผลมัลเบอรี่มีปริมาณสารแอนโทไซยานินทั้งหมดเท่ากับ 5.212 มิลลิกรัมสมมูลของ cyanidin-3-glucoside ต่อ กรัม (Li *et al.*, 2020)

จากนั้นศึกษาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดด้วยวิธี total phenol assay ในวัณสวรรค์กากลูกหม่อนพบว่า มีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดเท่ากับ 131.16±0.46 มิลลิกรัมสมมูลของกรดแกลลิกต่อ 100 กรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งได้มีการรายงานปริมาณสารประกอบฟีนอลิกในผลไม้ตระกูลเบอรี่ พบว่ามีสารประกอบฟีนอลิกสูงกว่าผลไม้ชนิดอื่น (Asami *et al.*, 2003) นอกจากนี้

Pannongwha *et al.* (2013) รายงานผลการศึกษาปริมาณสารฟีนอลิกในลูกหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์ คือ สายพันธุ์คุณไพ สายพันธุ์เชียงใหม่ และสายพันธุ์บุรีรัมย์ พบว่าในลูกหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์มีปริมาณสารประกอบฟีนอลิกประมาณ 19.03 - 43.40 มิลลิกรัม/100 กรัม น้ำหนักเปียก

จากการวิเคราะห์หาปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดในวันสวรรคกาลูกหม่อนพบว่า มีปริมาณสารฟลาโวนอยด์เท่ากับ 214.0 ± 0.37 มิลลิกรัมสมมูลของ catechin ต่อ 100 กรัม น้ำหนักแห้ง ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Leelahemaradana and Tongchitpakdee (2021) ที่ทำการวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในกากลูกหม่อนแบบแห้งด้วยวิธีการแช่เยือกแข็งและทำแห้งด้วยลมร้อนพบว่า ในตัวอย่างกากลูกหม่อนมีปริมาณสารฟลาโวนอยด์ทั้งหมดไม่แตกต่างกัน

ในส่วนของการทดสอบฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (DPPH) โดยใช้วิตามินซีเป็นสารมาตรฐานพบว่า ผลิตภัณฑ์วันสวรรคกาลูกหม่อนมีประสิทธิภาพการต้านอนุมูลอิสระสูงคือ มีค่า IC50 เท่ากับ 3.63 ± 0.51 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ซึ่งมีค่าใกล้เคียงกับผลการศึกษาของ Ninwadee *et al.* (2022) รายงานว่า สารสกัดจากลูกหม่อนที่สกัดด้วยน้ำกลั่น แสดงค่าการยับยั้งเท่ากับ 1.40 ± 0.89 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร และมีงานวิจัยที่ศึกษากิจกรรมฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในลูกหม่อนพบว่า ลูกหม่อนทั้ง 3 สายพันธุ์มีฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระโดยแสดงผลค่า IC50 ประมาณ 5.82-5.58 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

4. สรุป

จากการทดลองการผลิตวันสวรรคกาลูกหม่อนที่เป็นวัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตรมาใช้ประโยชน์โดยแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* พบว่าเชื้อสามารถเจริญเติบโตได้ดี เมื่อเติมปริมาตรเชื้อเริ่มต้น 10% (v/v) ในอาหารเลี้ยงเชื้อที่ปรับ pH เท่ากับ 4.0 และผลิตเส้นใยเซลลูโลสได้หลังจากบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน โดยให้ผลผลิตปริมาณเซลลูโลสเท่ากับ 19.5 ± 0.19 กรัม/100 มิลลิลิตร ซึ่งมากกว่าตัวอย่างเซลลูโลสจากน้ำมะพร้าวอย่างเดี่ยว นอกจากนี้วันสวรรคคที่ได้มีสีแดง ซึ่งเกิดจากรงควัตถุของสารประกอบแอนโทไซยานินในกากลูกหม่อน ในส่วนของการทดสอบปริมาณสารสำคัญในวันสวรรคกาลูกหม่อนพบว่า มีสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและมีคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระ DPPH ได้ จากข้อมูลดังกล่าวการนำกากลูกหม่อนมาแปรรูปเป็นวันสวรรคคจึงเป็นอีกหนึ่งทางเลือกที่น่าสนใจในการผลิตวันสวรรคคในรูปแบบแปลกใหม่ และในอนาคตจะพัฒนาผลิตภัณฑ์วันสวรรคกาลูกหม่อนผสมกับโยเกิร์ต เพื่อตอบสนองความสนใจแก่ผู้บริโภคในยุคปัจจุบันที่เน้นการดูแลสุขภาพ อีกทั้งยังเป็นการสร้างมูลค่าเพิ่ม

5. กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณคณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยนราธิวาสราชนครินทร์ ที่สนับสนุนเครื่องมือวิจัยและศูนย์หม่อนไหมพิภลทองจังหวัดนราธิวาส ที่ให้ความอนุเคราะห์กากลูกหม่อนในการทำวิจัย

6. เอกสารอ้างอิง

- AOAC. 2002. **Official method of analysis of AOAC international** (17thed). Horwitz, William: Association of official analytical chemists. Inc.
- Asami, D.K., Hong, Y.J., Barrett, D.M. and Mitchell, A.E. 2003. Comparison of the total phenolic and ascorbic content of freeze-dried and air dried marionberry, strawberry and corn grown using conventional, organic and sustainable agricultural practices. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 51: 1237-1241.
- Bunyakorn, M. 2017. Production of Nata de Coco for processing of a gac drink mixed with nata de coco and dehydrated sweetened nata de coco. **KKU Science Journal** 45(3): 501-512. (in Thai)
- Chemama, T., Pumas, C., Tragoolpua, Y. and Thongwai, N. 2020. Feasibility study for D-Lactic acid production from Thai Rice by *Leuconostoc pseudomesenteroides* TC49 and D-Lactic acid purification. **Chaing Mai Journal of Science** 47(3): 403-417.
- Çoban, E.P. and Biyik, H. 2011. Effect of various carbon and nitrogen sources on cellulose synthesis by *Acetobacter iovaniensis* HBB5. **African Journal of Biotechnology** 10(27): 5346-5354.
- Dejsakungkranont, 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. (in Thai)
- Du, H., Yang, H., Wang, X., Zhu, F., Tang, D., Cheng, J. and Liu, X. 2021. Effect of mulberry pomace on physicochemical and textural properties of stirred-type flavored yogurt. **Journal of Dairy Science** 104(12): 12403-12414.
- Ercisli, S. and Orhan, E. 2007. Chemical composition of white (*Morus alba*), red (*Morus nigra*) mulberry fruit. **Food Chemistry** 103(4): 1380-1384.

- Jagannath, A., Kalaiselven, A., Manjunatha, S. S., Raju, P. S. and Bawa, A.S. 2008. The effect of pH sucrose and ammonium sulphate concentrations on the production of bacterial cellulose (Nata De Coco) by *Acetobacter xylinum*. **World Journal of Microbiology and Biotechnology** 24(11): 2593-2599.
- Jaturapiree, A., Chaichana, E., Saowapark, T., Chuenpraphai, B. and Jaturapiree, P. 2019. Production and characterization of bacterial cellulose produced by *Acetobacter xylinum* TISTR 975 from Pineapple peel juice. **RMUTP Research Journal** 13(1): 180-192. (in Thai)
- Kanklai, J., Somwong, C.T., Rungsirivanich, P. and Thongwai, N. 2021. Screening of GABA-producing lactic acid bacteria from Thai fermented foods and probiotic potential of *Levilactobacillus brevis* F064A for GABA-fermented mulberry juice production. **Microorganisms** 9(33): 1-17.
- Khemacheewakul, J. 2017. Factors affecting production of cellulose by *Acetobacter* sp. and fermentation technology. **RMUTSB Academic Journal** 5(1): 91-103. (in Thai)
- Kim, D.K., Jeong, S.W. and Lee, C.Y. 2003. Antioxidant capacity of phenolic phytochemicals from various cultivars of plums. **Food Chemistry** 81(3): 321-326.
- Lapuz, M.M., Gallardo, E.G. and Palo, M.A. 1967. The nata organism cultural requirement, characteristics and identity. **Philippine Journal of Science** 96(2): 91-108.
- Leelahemararana, S. and Tongchitpakdee, S. 2021. Chemical composition and radical scavenging activity of mulberry pomace, pp. 548-555. *In Proceedings of 49th Kasetsart University Annual Conference, Agro-Industry*. Kasetsart University, Bangkok. (in Thai)
- Li, Y., Tao, F., Cui, K., Song, Y., Nan, L., Cui, C., Li, Y., Yang, J., Wang, Y. and Jiang, L. 2020. Optimization of ultrasonic extraction of anthocyanin in mulberry residue by response surface methodology, pp. 559-569. *In The 3rd International Conference on Agricultural and Food Science*. IOP Conference series: earth and environmental science, Malaysia.
- Mesomya, W., Pakpeankitvatana, V., Komindr., P., Cuptapun, Y., Hengsawadi, D., Tammarate, P. and Tangkanakul, P. 2006. Effects of health food from cereal and Nata De Coco on serum lipids in human. **Songklanakarin Journal of Science and Technology** 28(1): 23-28.
- Ninwadee, K., Srijumpa, S., Tippayawat, P. and Kraiklang, R. 2022. Effect of crude extracts from mulberry and gac fruit aril to inhibiting of interleukin 1 β and interleukin 6 secretion. **Khong Khan University Journal for Public Health Research** 1(4): 44-55. (in Thai)
- Pannongwha, W., Jampamee, N., Sakulnamrat, K., Tumthong, P., Doangsri, K. and Mungngam, A. 2013. Comparison of important chemical composition and antioxidant activities of mulberry fruits provided from three varieties. **RMUTI Journal** 6(2): 69-82. (in Thai)
- Pawloska, A. M., Oleszek, W. and Braca, A. 2008. Qualitative analyses of flavonoids of *Morus nigra* L. and *Morus alba* L. (Moraceae) fruits. **Journal of Agricultural and Food Chemistry** 56(9): 3377-3380.
- Pham, T.T. and Tran, A.T.T. 2023. Evaluation of the crystallinity of bacterial cellulose produced from pineapple waste solution by using *Acetobacter xylinum*. **Asean Engineering Journal** 13(2): 81-91.
- Phromthep, K., Katakul, S., Tokhamolthom, J., Thaisong, N.P. and Thaweeseang, N. 2018. Production of bacterial cellulose from mangosteen pericarp juice. **RMUTP Research Journal** 9(2): 169-177. (in Thai)
- Promwongpo, C., Yokhanit, W. and Khemacheewakul, J. 2018. A study of the optimal fermentation conditions for Nata de Coco production by *Acetobacter xylinum* TISTR 975 from Mango juice. **KMUTT Research and Development Journal** 40(2): 271-282. (in Thai)
- Ranghunathan, D. 2013. Production of Microbial Cellulose from the new bacterial strain isolated from Temple wash water. **International Journal of Current Microbiology and Applied Sciences** 2(12): 275-290.
- Rattana, T. and Saengsanga, T. 2020. Antioxidant and anti-food pathogen properties in food from Mycelium culture of wild mushroom. **Thai Science and Technology Journal** 28(12): 2249-2260. (in Thai)
- Roskhrua, P. and Kitchaicharoen, M. 2020. Effect of sugar, citric acid and pectin content on quality of Mulberry fruit leather product. **RMUTT Research Journal** 14(1): 59-69. (in Thai)
- Samappito, J., Boonchalad, P. and Tabthaisong, O. 2023. The production of bacterial cellulose from sweet fermented broken black glutinous rice. **The Journal of KMUTNB** 33(2): 248-562. (in Thai)

- Son, H. J. , Heo, M. S. , Kim, Y. G. and Lee, S. J. 2001. Optimization of fermentation conditions for the production of bacterial cellulose by newly isolated *Acetobacter* sp. A9 in shaking cultures. **Biotechnology and Applied Biochemistry** 33(1): 1-5.
- Son, H.J., Kim, H.G., Kim, K.K., Kim, H.S., Kim, Y.G. and Lee, S.J. 2003. Increased production of bacterial cellulose by *Acetobacter* sp. V6 in synthetic media under shaking culture conditions. **Bioresource Technology** 86(3): 215-219.
- Talawar, S., Narayanswamy, B. and Ravindra, S.N. 2015. Optimization of fermentation conditions for Nata-de Coco production. **Journal of Pure Applied Microbiology** 9(1): 335-340.
- Zhang, L. , Zhang, C. , Wei, Z. , Huang, W. , Yan, Z. , Luo, Z. , Beta, T. and Xu, X. 2023. Effects of four drying methods on the quality, antioxidant activity and anthocyanin components of blueberry pomace. **Food Production, Processing and Nutrition** 35(5): 1-14.