

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา
การผลิตวันมะพร้าว
(NATA DE COCO PRODUCTION)



รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของวิชา สหกิจศึกษา (305497)
สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร
สำนักวิชาเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี
วันที่ 5 พฤษภาคม 2543

รายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา
การผลิตวันมะพร้าว
(NATA DE COCO PRODUCTION)



ปฏิบัติงาน ณ
บริษัท ฟู้ดแอนด์ดริงจำกัด (มหาชน)
695/1 ถ. บ้านบึง-บ้านค่าย ต. คลองก๊ว
อ. บ้านบึง จ.ชลบุรี 20220



ส่วนที่ 1

บริษัท ฟู้ดแอนด์ดริงส์ จำกัด (มหาชน)

(Food and Drinks Public Company limited)

ที่ตั้ง

สำนักงานใหญ่ 22 ซ. สุขุมวิท 35 ถ.สุขุมวิท เขตคลองเตย กรุงเทพมหานคร 10110

โรงงาน 695/1 ถ.บ้านบึง-บ้านค่าย ต.คลองแก้ว อ.บ้านบึง จ.ชลบุรี 20220

โทรศัพท์ (038)201021, 201219 โทรสาร (038) 201020

ก่อตั้ง 11 เมษายน 2528 ณ อำเภอบ้านบึง จังหวัดชลบุรี บนเนื้อที่ 94 ไร่

เป็นบริษัทร่วมลงทุนระหว่างไทย-ไต้หวัน-ญี่ปุ่น

ปี 2536 ได้จดทะเบียนเป็น บริษัทมหาชน โดยมีทุนจดทะเบียน 125 ล้านบาท
ในนาม “F & D”

ตลาด

ตลาดญี่ปุ่น สหรัฐอเมริกา แคนาดา ตลาดร่วมยุโรป เยอรมัน ฝรั่งเศส อังกฤษ
นิวซีแลนด์ ประเทศในแถบเอเชีย ออสเตรเลีย สิงคโปร์

สินค้าหลัก

ข้าวโพดฝักอ่อน หน่อไม้ วุ้นหน่อกะหล่ำเห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด
ผัก-ผลไม้แช่แข็ง เครื่องเทศเนื้อปรุงรสบรรจุกระป๋อง และผลิตภัณฑ์อื่นๆ จะผลิต
ตามฤดูกาลของวัตถุดิบ และตามความต้องการของตลาดต่างประเทศ

ปัจจุบันสายการผลิตมี 4 สาย

1.ผักและผลไม้-เครื่องเทศบรรจุกระป๋องและขวด

หน่อไม้-ข้าวโพดฝักอ่อน-วุ้นหน่อกะหล่ำเห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด เห็ด
รวม-เครื่องเทศและอื่นๆ

2.น้ำพืชผักและผลไม้

น้ำมะพร้าว-มะเขือเทศ-น้ำแครอท-น้ำผลไม้รวม-น้ำกะทิพร้อมดื่ม-น้ำวุ้นหน่อกะ
หล่ำเห็ด- Passion fruit-น้ำมะม่วงหิมพานต์-ผลิตภัณฑ์เวชภัณฑ์-ผลิตภัณฑ์ Zimmer

3. เนื้อปรุงรส

เนื้อปรุงรสและซอสเนื้อ

4.การผลิตอาหารแช่แข็ง

ขนมปัง-กระเจียบฝักเขียว-มะเขือม่วง-ข้าวโพดฝักอ่อน-แครอท-กะนํ้าญี่ปุ่น-เตงโม
มะม่วง-เงาะ-ลิ้นจี่-เห็ดและอื่นๆ

บริษัทฟู๊ดเอนด์ดริ้งส์จำกัด (มหาชน) ได้มีการนำระบบ HACCP (Hazard Analysis Critical Control Point) มาใช้ เพื่อเป็นการป้องกันอันตรายที่จะเกิดขึ้นกับผู้บริโภคอาหาร ทั้งจากสารเคมีที่ใช้ในการผลิตอาหารและเศษวัสดุต่างๆ รวมทั้งป้องกันเชื้อจุลินทรีย์ที่อาจก่อให้เกิดอันตรายในการบริโภคอีกด้วย นอกจากนี้ยังได้นำระบบ ISO 9000 มาใช้ เพื่อเป็นการเตรียมการเข้าสู่มาตรฐานสากล

แรงงาน ประมาณ 900 คน เป็นหญิง 80 % เป็นชาย 20 % เป็นคนพื้นที่ประมาณ 50 % อายุ โดยเฉลี่ย 25-40 ปี ค่าแรงขึ้นต่ำตามกฎหมาย

บุคลากรของบริษัท

ผู้อำนวยการ: นายเกษม ดีโมตรี

ผู้จัดการโรงงาน: ดร. นคร มหาคุณ

รองผู้จัดการโรงงาน: มร. หลิน อู๋จิ๋ว

หัวหน้าแผนกผลิตผักและผลไม้: คุณวิกรม อารักษ์

หัวหน้าแผนกอาหารแช่เยือกแข็ง: คุณ ศิริชัย วงศ์สังข์ทอง

หัวหน้าแผนกผลิตภัณฑ์เนื้อ: คุณกิตติพร เหลียงพานิช

หัวหน้าแผนกผลิตภัณฑ์บดละเอียด: คุณประจักษ์ บัวซ้อน

หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ: คุณสมจิต ประภาเลิศศรีศรี

หัวหน้าแผนกวิจัยและพัฒนา: คุณกัลยา ผัดดี

หัวหน้าแผนกจุลชีววิทยา: คุณหทัยรัตน์ อภัยวาทีน

หัวหน้าแผนกบุคคล: คุณอมรรัตน์ ตั้งใจ

หัวหน้าแผนกการเงิน: คุณสุนิษฐ์รัตน์ เลี้ยวรักษ์โอฬาร

หัวหน้าแผนกจัดซื้อ/ธุรการ: คุณลำพรรณ เจริญยิ่ง

หัวหน้าแผนกซ่อมบำรุง: คุณมานะ เนียมจันทร์

หัวหน้าแผนกไฟฟ้า-ประปา: คุณโชคชัย จานุกิจ

หัวหน้าแผนกวัตถุดิบ: คุณอุบลทิพย์ แซ่จู้

หัวหน้าแผนกคลังสินค้า: คุณชุติมา จานุกิจ

ตำแหน่งและลักษณะงานในความรับผิดชอบ (Job description): ผู้ช่วยนักวิชาการอาหาร

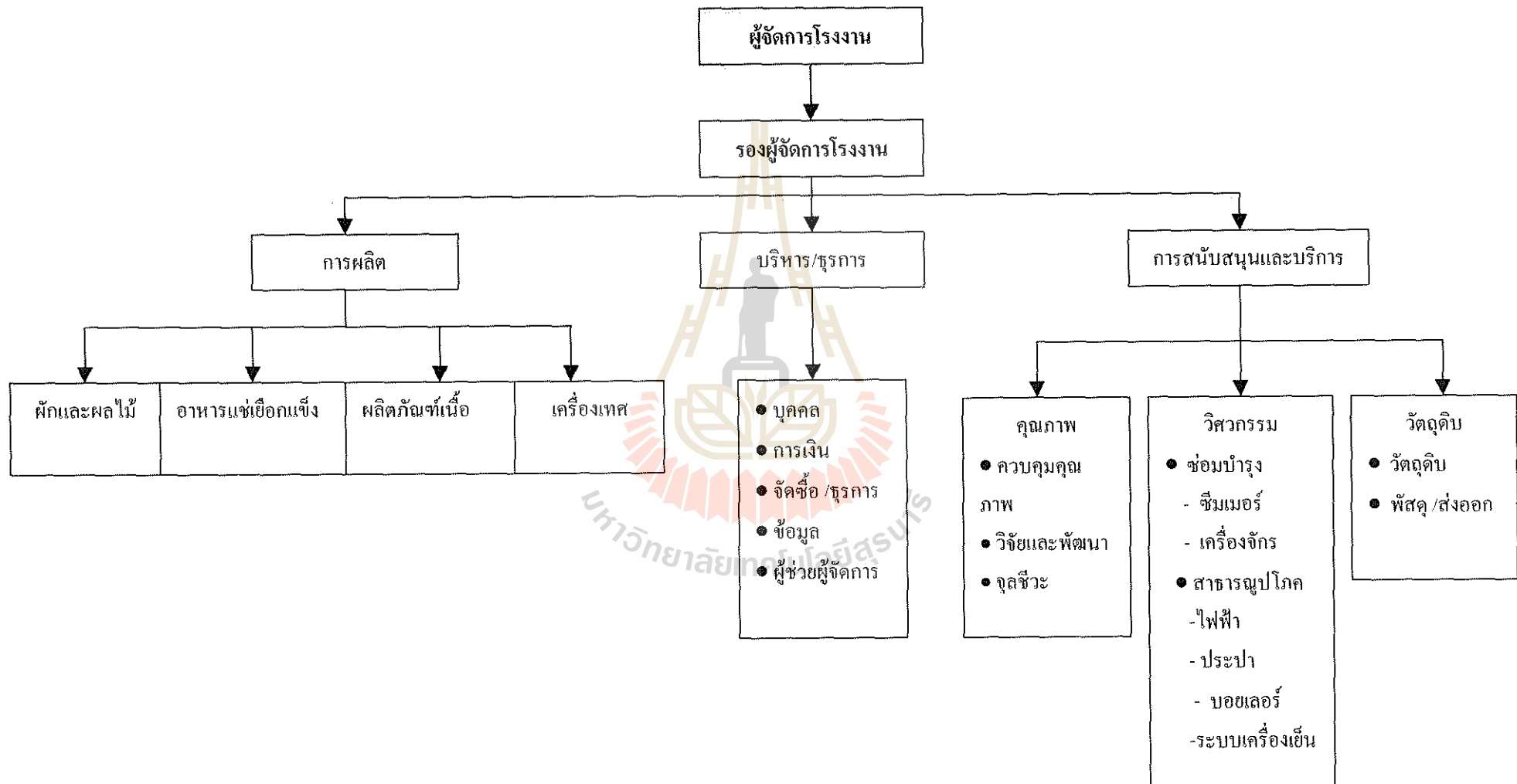
แผนกที่ปฏิบัติงาน: แผนกผลิตผักและผลไม้ (Production)

Co-op Supervisor: คุณวิกรม อารักษ์า **ตำแหน่ง:** หัวหน้าแผนกผลิตผักและผลไม้

ระยะเวลาในการปฏิบัติงาน: ตั้งแต่วันที่ 11 มกราคม 2543 ถึงวันที่ 5 พฤษภาคม 2543



การจัดองค์กรและการบริหารงาน (Organization Chart)



วันที่ 5 พฤษภาคม 2543

เรื่อง ขอส่งรายงานการปฏิบัติงานสหกิจศึกษา

เรียน อาจารย์ที่ปรึกษาสหกิจศึกษา สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร (ดร. ปิยะวรรณ กาสลัก)

ตามที่ข้าพเจ้า นางสาว อัมรา เรียบร้อย นักศึกษาสาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร สำนักวิชา
เทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ได้ไปปฏิบัติงานสหกิจศึกษา (305497)
ระหว่างวันที่ 11 มกราคม 2543 ถึงวันที่ 5 พฤษภาคม 2543 ในตำแหน่งผู้ช่วยนักวิชาการอาหาร ณ
บริษัท ฟู้ดแอนด์ดริงส์จำกัด (มหาชน) และได้รับมอบหมายจาก Job supervisor ให้ทำรายงานเรื่อง
การผลิตวุ้นมะพร้าว (NATA DE COCO PRODUCTION)

บัดนี้การปฏิบัติงานสหกิจศึกษาได้เสร็จสิ้นลงแล้ว ข้าพเจ้าขอส่งรายงานดังกล่าวมาพร้อมนี้
จำนวน 1 เล่ม เพื่อขอรับคำปรึกษาต่อไป

จึงเรียนมาเพื่อโปรดพิจารณา

ขอแสดงความนับถือ


.....

(นางสาว อัมรา เรียบร้อย)

มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี

บทคัดย่อ

การศึกษาการผลิตวุ้นมะพร้าว ได้ทำการทดลองหาเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมสำหรับการผลิตวุ้นมะพร้าว โดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* พบว่า เชื้อ *Acetobacter xylinum* subspecies AGR60 เป็นเชื้อที่มีอัตราการเจริญสูง สามารถสร้างแผ่นวุ้นที่มีความหนาและน้ำหนักมากที่สุดเมื่อทำการฟอกจะได้วุ้นที่มีความใส การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะวุ้นมะพร้าว พบว่า Glucose syrup สามารถทำให้เชื้อ *Acetobacter xylinum* subspecies AGR60 เจริญและสร้างวุ้นที่มีความหนาใกล้เคียงกับวุ้นมะพร้าวที่ใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอน ส่วนวัตถุดิบที่ใช้พบว่าสามารถใช้น้ำมะพร้าวที่เริ่มเสีย มาทำการเพาะวุ้นมะพร้าวได้ โดยสูตรอาหารที่ใช้ คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 % น้ำตาล 5 % กรดอะซิติก 0.3% จะได้แผ่นวุ้นที่มีลักษณะอยู่ในเกณฑ์ดี



กิตติกรรมประกาศ

การที่ข้าพเจ้าได้มาปฏิบัติงานสหกิจศึกษา ณ บริษัท ฟู้ดเอนด์ดริงส์จำกัด (มหาชน) ตั้งแต่วันที่ 11 มกราคม 2543 ถึงวันที่ 5 พฤษภาคม 2543 ส่งผลให้ข้าพเจ้าได้รับความรู้และประสบการณ์ต่างๆที่มีค่ามากมาย สำหรับรายงานวิชาการสหกิจศึกษาฉบับนี้ สำเร็จลงได้เนื่องจากความร่วมมือและสนับสนุนจากหลายฝ่าย ดังนี้

- 1.ดร . นคร มหาคุณ ผู้จัดการโรงงาน บริษัท ฟู้ดเอนด์ดริงส์จำกัด (มหาชน) ที่เห็นความสำคัญของระบบการศึกษาแบบสหกิจศึกษา และให้โอกาสที่มีคุณค่าต่อข้าพเจ้า
 - 2.คุณ วิกรม อาจารย์ฯ หัวหน้าแผนกผลิตผักและผลไม้บรรจุกระป๋อง ซึ่งเป็น Co-op Supervisor ที่ให้คำแนะนำและสนับสนุนตั้งแต่การวางแผนการทดลองตลอดจนเสร็จสิ้นการทดลอง
 - 3.คุณ สมจิต ประภาเลิศศรีศรี หัวหน้าแผนกควบคุมคุณภาพ ซึ่งเป็นผู้ประสานการกับ โครงการสหกิจศึกษา และคอยให้คำแนะนำและกำลังใจในการทำการทดลอง
 - 4.คุณ หทัยรัตน์ อภัยวาทิน หัวหน้าแผนกจุลชีววิทยา ที่ได้เอื้อเฟื้อแหล่งข้อมูลและสายพันธุ์เชื้อจุลินทรีย์ในการเพาะ菌มะพร้าว
 5. คุณ กัลยา ผดดี หัวหน้าแผนกวิจัยและพัฒนา ที่ได้เอื้อเฟื้อสถานที่และอุปกรณ์ในการเตรียมหัวเชื้อ
 6. นางสาว สฐิตา สิงคารวนิช และนางสาว สิริรัตน์ สอาดรัตน์ นักศึกษาฝึกงานจากมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ที่ช่วยเหลือในการทำการทดลอง
- ข้าพเจ้าขอกราบขอบพระคุณผู้มีส่วนเกี่ยวข้องทุกท่าน ที่มีส่วนสนับสนุนให้รายงานวิชาการฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปด้วยดี

.....

(นางสาว อัมรา เรียบร้อย)

ผู้จัดทำรายงาน

5 พฤษภาคม 2543

สารบัญเรื่อง

	หน้า
จดหมายนำส่ง	ก
บทคัดย่อ	ข
กิตติกรรมประกาศ	ค
สารบัญ	ง
สารบัญตาราง	จ
บทนำ	1
เชื้อที่ใช้ในการหมักวุ้นมะพร้าว	1
องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ	1
กระบวนการผลิตวุ้นมะพร้าว	3
ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ	3
ขั้นตอนการเพาะเชื้อ	4
ขั้นตอนการเกี่ยวข้องวุ้นมะพร้าว	6
การฟอกวุ้นมะพร้าว	6
การวัดความแน่นเนื้อ	7
วิธีการศึกษา	7
ผลการศึกษา	9
วิจารณ์ผล	11
สรุปผลการศึกษา	11
ข้อเสนอแนะ	12
เอกสารอ้างอิง	13
ภาคผนวก	

สารบัญตาราง

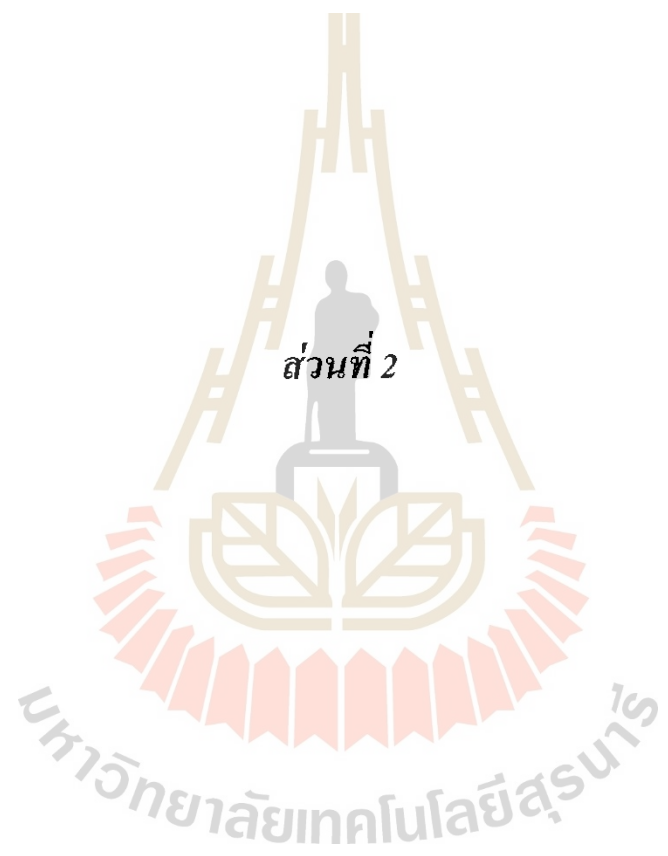
ตารางที่ 1 องค์ประกอบของน้ำมะพร้าว

หน้า

2



ส่วนที่ 2



บทนำ

วุ้นมะพร้าว หรือ วุ้นสวรรค์ หรือเห็ดรัสเซีย หากทำจากน้ำมะพร้าวภาษาฟิลิปปินส์ เรียกว่า "Nata de Coco" เป็นอาหารพื้นเมืองของชาวฟิลิปปินส์ เป็นผลิตภัณฑ์อาหารซึ่งรับประทานเป็นของหวานโดยเชื่อมในน้ำเชื่อมหรือน้ำผลไม้คำว่า "Nata" เป็นภาษาท้องถิ่นหมายถึง วุ้นซึ่งแบคทีเรียที่ผลิตกรดน้ำส้มพวก *Acetobacter* สร้างขึ้นจากการหมักน้ำมะพร้าวหรือน้ำผลไม้ (ทิพรัตน์, 2536) วุ้นมะพร้าวจัดเป็นแผ่นวุ้นชนิด gelatinous bacterial cellulose ที่สร้างขึ้นโดยแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* Subspecies *xylinum* หรือ *acetobacter xylinum* (ปราโมทย์, 2541) วุ้นมะพร้าวเป็นผลิตภัณฑ์เกษตรที่น่าสนใจ เพราะสามารถผลิตได้ง่าย ต้นทุนที่ใช้ในการผลิตต่ำเพราะใช้น้ำมะพร้าวแก่ที่เหลือทิ้งในครัวเรือน น้ำมะพร้าวมีคุณค่าทางอาหารสูง ดังสมศรีอ้างถึง Dolendo และ maniquis ว่าส่วนประกอบของน้ำมะพร้าวมีโปรตีน 0.23% คาร์โบไฮเดรต 3.68% ไขมัน 3.5% แคลเซียม 0.03% ฟอสฟอรัส 0.01% และวิตามินต่างๆ ดังนั้นจึงได้เกิดแรงจูงใจในการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว โดยมีวัตถุประสงค์เพื่อหาแนวทางการผลิตวุ้นมะพร้าวเพื่อให้ได้ผลผลิตสูงและใช้ต้นทุนต่ำ

เชื้อที่ใช้ในการหมักวุ้นมะพร้าว

เชื้อที่ใช้ในการหมักวุ้นมะพร้าวเป็นเชื้อแบคทีเรียที่พบในน้ำส้มสายชูตามธรรมชาติทั่วไป มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Acetobacter aceti* subspecies *xylinum* หรือ *A. xylinum* เชื้อมีลักษณะเป็นท่อนขนาด 2×0.6 ถึง 0.8 ไมครอน โคโลนีกลมมน ทึบแสง สีน้ำตาลอ่อน ผิวเรียบมันขนาด 1-2 มม. จะสามารถสร้างวุ้นได้ดีที่อุณหภูมิ $28-32^{\circ}\text{C}$ ในอาหารที่มีความเป็นกรดต่างระหว่าง 4-5 ปริมาณเชื้อที่ใช้ในการผลิตวุ้นมะพร้าว (inoculum) จะต้องใช้ในปริมาณที่เพียงพอ เพื่อให้สร้างวุ้นในช่วงแรกได้ทันกับเชื้อที่อาจติดมากับน้ำมะพร้าวหรือเชื้อที่ปนเปื้อนลงไปในช่วงการหมัก โดยพบว่า ปริมาณ inoculum ที่เหมาะสมที่สุดควรอยู่ในช่วง 10-20 % (สมคิด, 2531) จะทำให้ได้ผลผลิตวุ้นมากที่สุด ถ้าใช้ปริมาณ inoculum มากขึ้นกลับปรากฏว่าได้ผลผลิตต่ำลง

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะของอาหารเลี้ยงเชื้อที่ดีโดยทั่วไปต้องประกอบด้วย

1. มีความเข้มข้นของธาตุอาหารแต่ละชนิดที่เหมาะสม
2. มีความเป็นกรด-ด่างที่เหมาะสม
3. ต้องปราศจากสารที่เป็นพิษ

สำหรับเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter xylinum* ก็มีความต้องการองค์ประกอบของอาหาร

หลักๆ เช่นเดียวกับเชื้อจุลินทรีย์ทั่วไป คือ

1. แหล่งคาร์บอน มีความสำคัญทั้งในด้านการเจริญเติบโต และการสร้างตัวของเชื้อ *Acetobacter xylinum* โดยเป็นแหล่งให้พลังงานแก่เชื้อ และองค์ประกอบหลักของวุ้นมะพร้าว เชื้อ *A. xylinum* สามารถใช้วัตถุดิบได้หลายชนิด ทั้งในกลุ่มน้ำตาลโมเลกุลคู่ คือ ซูโครส มอลโตส และแลคโตส และในกลุ่มน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว คือ กลูโคส กาแลคโตส และฟรุคโตส นอกจากน้ำตาลชนิดต่างๆ ที่กล่าวมาแล้ว เชื้อ *A. xylinum* ยังสามารถใช้แอลกอฮอล์ได้อีกด้วย เช่น เอทิลแอลกอฮอล์ กิลีเซอรอล และไกลคอล ซึ่งจากการศึกษาพบว่า การเลี้ยงเชื้อในอาหารเลี้ยงเชื้อ กลูโคส ซูโครส และกาแลคโตส จะให้ผลผลิตคือขึ้นวุ้นที่หนามากกว่าการใช้แหล่งคาร์บอนชนิดอื่น สำหรับความเข้มข้นของซูโครสที่เหมาะสม คือ 6-10 %

2. แหล่งไนโตรเจน มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซลล์ แหล่งไนโตรเจนที่ใช้ในการผลิตวุ้นมะพร้าวได้แก่ เปปโตน (peptone) ยีสต์สกัด (yeast extract) เคซีน แอมโมเนียมซัลเฟต แอมโมเนียมไฮโดรเจนซัลเฟต เป็นต้น ส่วนโปรแตสเซียม และโซเดียมไนเตรท เชื้อ *A. xylinum* ไม่สามารถนำมาใช้ได้และยังอาจเป็นพิษต่อเซลล์อีกด้วย

น้ำมะพร้าว เป็นวัสดุที่เหลือทิ้งจากอุตสาหกรรมต่างๆ ทำให้น้ำมะพร้าวมีมูลค่าต่ำ ซึ่งเหมาะแก่การนำมาเป็นวัตถุดิบ น้ำมะพร้าวที่ใช้ต้องเป็นน้ำมะพร้าวแก่ เพราะมีคุณค่าทางอาหารเหมาะสมกับการเจริญของเชื้อโดยเลือกน้ำมะพร้าวที่ใหม่สด มีไขมันน้อย ไม่มีการปนเปื้อนของน้ำมะพร้าวเสียมาก่อน องค์ประกอบของน้ำมะพร้าวที่ทำให้น้ำไปเป็นอาหารเลี้ยงเชื้อแสดงดังตาราง

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของน้ำมะพร้าว

สารอาหาร	น้ำ (กรัม)	โปรตีน (กรัม)	คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	วิตามินซี (มิลลิกรัม)	แคลเซียม (มิลลิกรัม)	ฟอสฟอรัส (มิลลิกรัม)	เหล็ก (มิลลิกรัม)
ปริมาณ	94.6	0.4	2.1	1.4	20.7	25.4	0.4

ที่มา: ภาควิชา

กระบวนการผลิตวุ้นมะพร้าว

ขั้นตอนต่างๆ ที่เกี่ยวข้องในการผลิตวุ้นมะพร้าวจากเชื้อ *Acetobacter xylinum* พอจะแบ่งออกได้ดังนี้

1. ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ *A. xylinum*
2. ขั้นตอนการหมักเพื่อผลิตวุ้นมะพร้าว
3. ขั้นตอนการเก็บเกี่ยววุ้นมะพร้าว

ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ *A. xylinum*

ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ จัดได้ว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญที่สุดในการผลิตแผ่นวุ้นจากเชื้อ *A. xylinum* เพราะถ้าเกิดข้อผิดพลาดใดๆ ในระหว่างขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อจนทำให้เกิดการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นหรือการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. xylinum* ไม่ดีพอ จะส่งผลกระทบต่อแผ่นวุ้นที่สร้างขึ้น เช่นแผ่นวุ้นมีความหนาน้อยมากจนถึงไม่มีการสร้างแผ่นวุ้นขึ้นมาตามปกติเชื้อ *A. xylinum* จะถูกเก็บรักษาไว้เป็นอย่างดีเพื่อให้เป็น Stock culture เพื่อเก็บไว้ใช้ได้นานๆ วิธีการเก็บรักษาพอจะกล่าวได้ 3 วิธี ดังนี้

1. Lyophilized culture เป็นเชื้อ *A. xylinum* ถูกเก็บไว้ในรูปผงโดยอาศัยเทคนิคการทำแห้งแบบแช่แข็งภายใต้สภาพสุญญากาศ การเก็บรักษาเช่นนี้สามารถเก็บรักษาเชื้อได้นานกว่า 2 ปี ขึ้นไป ขั้นตอนในการนำเชื้อจากสภาพผงให้กลับมาใช้ใหม่ ต้องใช้เทคนิคการปลอดเชื้อ (aseptic technique) การเพาะเชื้อจากหลอด Reviving lyophilized cultures มีวิธีการดังนี้
 1. ใช้ตะไบสำหรับเลื่อยแก้วเลื่อยหลอดแก้วตรงตำแหน่งกึ่งกลางลำลำ
 2. ใช้ลำลิขุ่มแอลกอฮอล์ 70 % เช็ดบริเวณรอบๆ หลอด
 3. ใช้แท่งแก้วเผาไฟให้ร้อนแดงตรงปลาย กดลงไปตรงรอยตะไบเพื่อทำให้หลอดแก้วแตก ร้าวตรงรอยที่เลื่อยไว้
 4. ดึงปลายหลอดแก้วออกทิ้งในขวดน้ำยาฆ่าเชื้อ ดึงลำลิขุ่ม ใช้ฟาสเจอร์ปีเปิดดูอาหารเหลวที่เหมาะสมกับการเจริญของจุลินทรีย์ (ประมาณ 0.3-0.4 มิลลิลิตร) หยดลงไปหลอดแก้วเพื่อละลายสารผสมเซลล์จุลินทรีย์ในหลอด
 5. ใช้ฟาสเจอร์ปีเปิดดูสารละลายแล้วหยดลงบนจานอาหารแข็งที่มีสูตรเดียวกันกับอาหารเหลว 1 หยด ใช้เข็มเขี่ยเชื้อจากหยดสารละลายนั้นเพื่อกระจายให้จุลินทรีย์เจริญที่จานอาหารก่อนนำไปบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม
6. นำสารละลายส่วนที่เหลือจากข้อ 5 ใส่ลงในอาหารเหลว (ประมาณ 6 มิลลิลิตร) ซึ่งบรรจุอยู่ในหลอดแก้วเลี้ยงเชื้อนำไปบ่มที่อุณหภูมิเหมาะสม

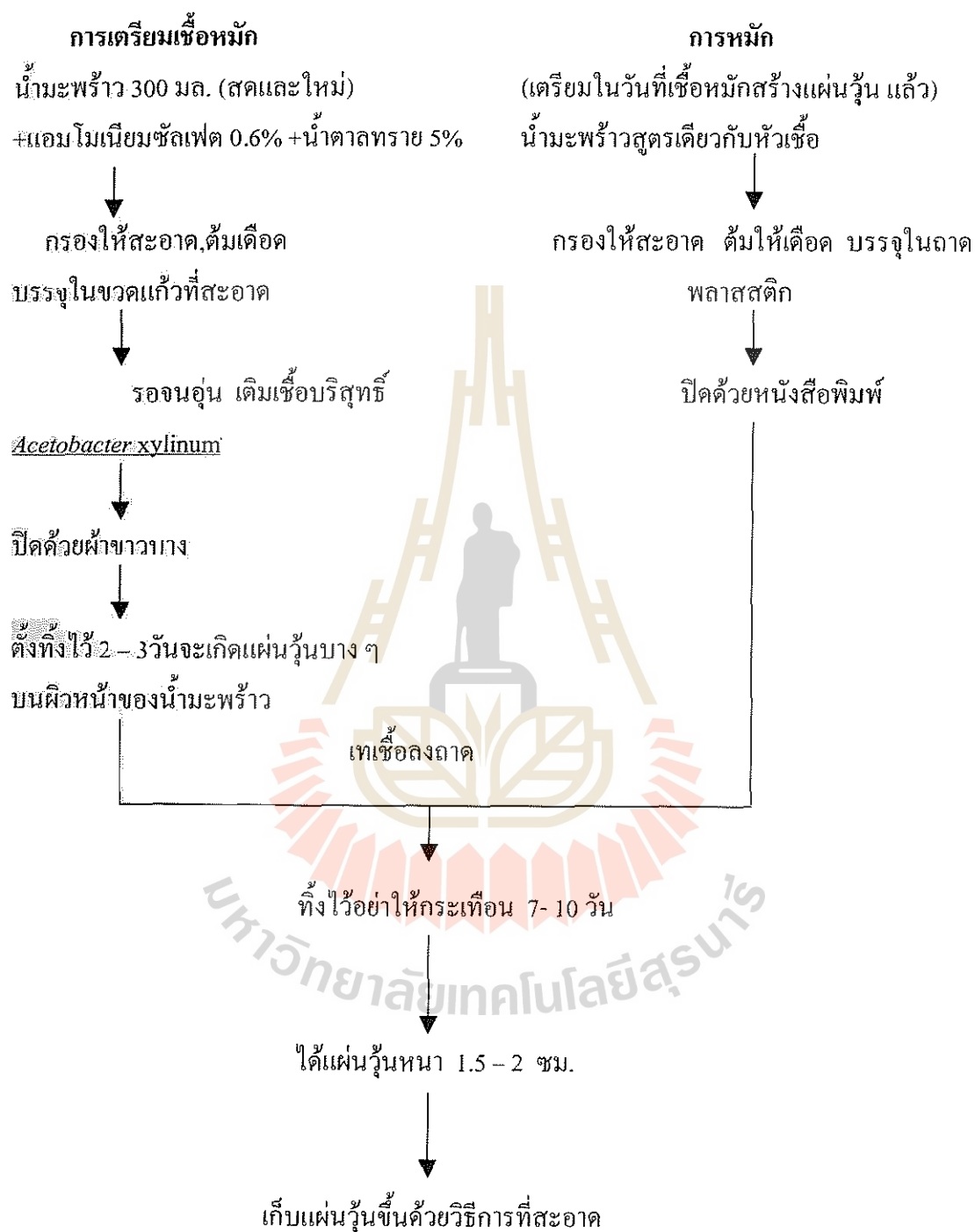
2. Solid Culture เป็นการเก็บรักษาเชื้อ *A. xylinum* บนผิวหน้าของอาหารแข็งในหลอดทดสอบ (agar slant) เทคนิคนี้สามารถเก็บเชื้อ *A. xylinum* ไว้ได้นาน ประมาณ 6-12 เดือนที่อุณหภูมิ 4 °C

3. Liquid Culture เป็นการเก็บรักษาเชื้อ *A. xylinum* ไว้ในอาหารเหลวโดยทฤษฎีสามารถเก็บเชื้อ *A. xylinum* โดยวิธีนี้ได้ไม่ต่ำกว่า 6 เดือนที่อุณหภูมิ 4 °C

ขั้นตอนการเพาะเชื้อ

- **เตรียมหัวเชื้อ** ใช้ด้ามจับของปากกิบีเช็ดด้วย alcohol 70 % เผาไฟ แล้วกดลงไปตรงปลายหลอด lyophilized ก่อนที่จะถึงปลายแหลม กดให้รอบ แล้วกดให้แตก ใช้ middle เผาไฟ เช็กลำกล้องออกมา แล้วใช้ dropper หยดอาหารเหลวลงไป 4 ml. ใช้ loop เชี่ยเชื้อที่อยู่ด้านข้าง ให้ลงไปละลายในอาหารเหลว หรือเขย่าให้ละลาย แล้วใช้ foil ปิดปากหลอดเก็บไว้ นำหลอด slant มาเขียน label ข้างหลอด ชื่อเชื้อ วันที่ เชื้อละ 11 หลอด เพื่อเก็บไว้ แล้วใช้ loop เผาไฟ เชี่ยเชื้อที่อยู่ในหลอด ก่อนเปิดหลอดต้องสนไฟ ที่ปากหลอดก่อน แล้วจึงใช้ loop เชี่ยเชื้อ ก่อนจะนำไป streak ต้องสนไฟบริเวณปาก tube ก่อน หลังจาก streak แล้วก็ต้องสนไฟก่อนปิดหลอด โดยใช้ฝาเกลียว เก็บใน test tube rack โดยแยกแต่ละเชื้อ ห้ามวางผสมกัน หลังจากนั้นจึงนำเชื้อที่อยู่ใน rack ไปเก็บที่ อุณหภูมิ ประมาณ 23 °C เพาะไว้ 1 สัปดาห์
- **สูตรอาหาร** เตรียมจากน้ำมะพร้าวแก่ 1 ลิตร เติมน้ำเกลือ 0.6% เติมน้ำตาลให้ได้ 11 °Brix ปรับกรดด้วย Acetic Acid ให้ได้ pH 4.5 ต้มให้เดือด 10 นาที จากนั้น บรรจุใส่ขวดแก้ว ขนาด 500 มล. ปริมาตร 300 มล. ใช้ผ้าขาวบางปิด รัดด้วยหนังยาง แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ อุณหภูมิ 121 °C 15 นาที ปล่อยให้เย็น จากนั้นทำการถ่ายเชื้อ *A. xylinum* โดยวิธีการปลอดเชื้อ เก็บไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วันจะมีชั้นของวุ้นเกิดบนผิวหน้า ทำการคัดเลือกหัวเชื้อที่ผิวหน้าเรียบ ไม่มีราขึ้น
- **สูตรการทำ Slant** เตรียมจากน้ำมะพร้าวแก่ ต้มให้ความร้อน ปรับ Brix ให้เป็น 11 °Brix ปรับกรดด้วย Acetic Acid ให้ pH 4.5 เติมน้ำผึ้งที่ใช้ทำขนม (วุ้นผงธรรมชาติ 2 %) น้ำมะพร้าว 300 ml. ใช้ 6 g ละลายในน้ำมะพร้าว เทใส่ tube หลอดละ 10 ml. นำไปฆ่าเชื้อ อุณหภูมิ 121 °C 15 นาที จากนั้นนำ tube มาวางใน แนวนอน เพื่อให้อาหารวุ้นแข็งตัว เมื่อวุ้นแข็งตัวจึงนำมาใช้

แผนผังแสดงการผลิตวันน้ำมะพร้าว

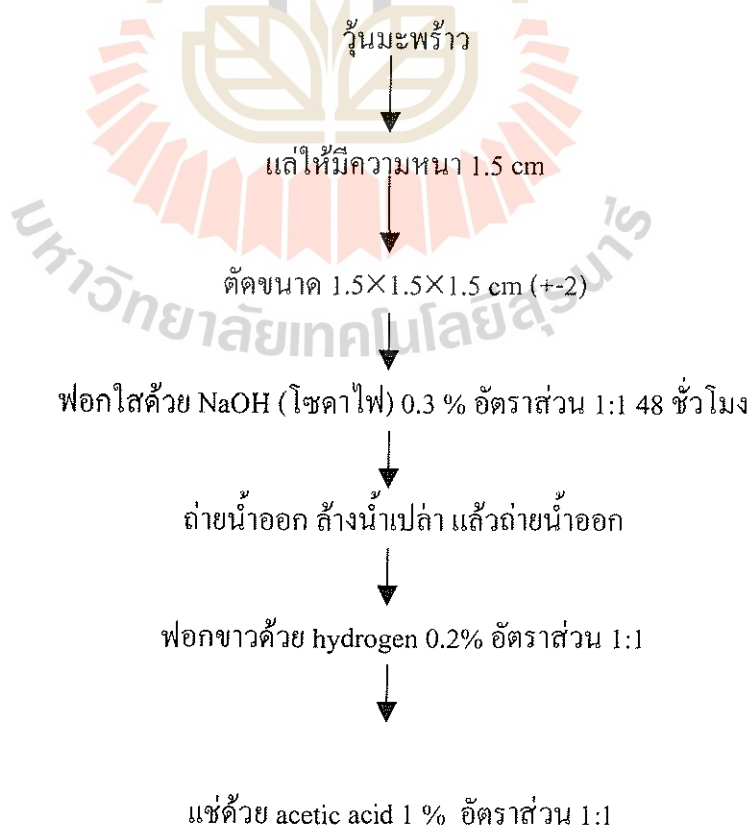


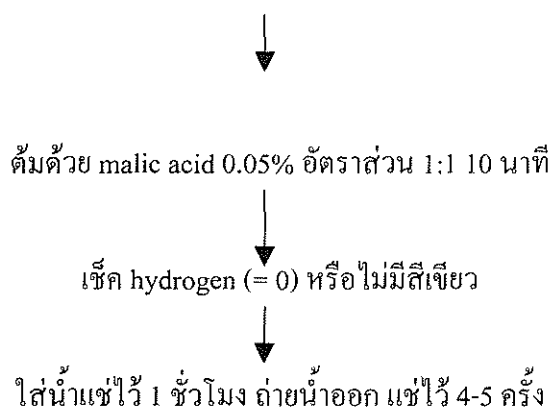
ขั้นตอนการเก็บเกี่ยวแผ่นวุ้น

การเก็บเกี่ยวแผ่นวุ้นเมื่อครบอายุ ถ้าไม่มีการนำไปทำขั้นตอนในการผลิตต่อไป ควรแช่ไว้ในน้ำที่เติมกรดอะซิติก 1 มล.ต่อลิตร ไม่ควรนำไปล้างหรือเก็บแต่แผ่นวุ้นไว้โดยไม่แช่ จะทำให้โครงสร้างของวุ้นเสียสภาพ เมื่อนำไปใช้ในการผลิตจะไม่ได้ตามความต้องการ อันเนื่องจากการสูญเสียสภาพและอาจเกิดการทำลายเนื่องจากจุลินทรีย์

การฟอกวุ้นมะพร้าว

นำวุ้นมะพร้าวที่ได้มาทำการลอกเยื่อต่างๆที่ผิวออก จากนั้นนำไปแช่ความหนา 1.5 ซม. โดยเครื่องแล้วทำการหั่นขนาด $1.5 \times 1.5 \times 1.5$ ซม. โดยเครื่องหั่นขนาด นำวุ้นมะพร้าวที่หั่นแล้วมาแช่โซดาไฟ (NaOH) 0.3% เพื่อทำการฟอกสี เป็นเวลา 48 ชั่วโมง หรือจนกระทั่งใส ในถังสแตนเลส ใช้พลาสติกปิดให้มิดชิด แล้วทำการฟอกขาวด้วยไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ 0.2% 24 ชั่วโมง เมื่อครบกำหนดถ่ายน้ำสารออก ล้างน้ำเปล่า ทำการแช่กรดอะซิติก 1 % เป็นเวลา 8 ชั่วโมง แล้วล้างน้ำออกกำจัด (H_2O_2) โดยการต้มด้วยกรดมาลิก 0.05% 10 นาที แล้วทำการเปิดน้ำให้ไหลผ่านตลอด (overflow) ทำการเช็ค H_2O_2 ด้วย strip tag ถ้าพบว่ามี H_2O_2 อยู่ให้ทำการ flow น้ำต่อไปจนกว่าจะไม่พบ H_2O_2 จึงนำวุ้นมะพร้าวไปทำการแปรรูปต่อไป ขั้นตอนการฟอกวุ้นมะพร้าวแสดงได้ดังนี้





การวัดความแน่นเนื้อ

1. นำวุ้นมะพร้าวที่หั่นเรียบร้อยแล้วมาวัดความแน่นเนื้อด้วยอุปกรณ์วัดความแน่นเนื้อที่บริษัทออกแบบเอง (ประกอบด้วยถาดพลาสติกเจาะรู 4 รู และแท่งเหล็กสำหรับแทงวุ้นมะพร้าว)
2. นำวุ้นมะพร้าววางบนถาดพลาสติกตรงกึ่งกลางรู แล้วใช้เหล็กแทงวุ้นมะพร้าวให้ทะลุ
3. อ่านค่าน้ำหนักที่แท่งเหล็กทะลุผ่านวุ้นมะพร้าว ขึ้นวุ้นที่ดี ต้องมีความแน่นเนื้อมากกว่า 600 กรัม

วิธีการศึกษา

การศึกษการเพาะวุ้นมะพร้าวในครั้งนี้เป็นการศึกษาต่อจากการศึกษาการปรับปรุงกระบวนการผลิตวุ้นมะพร้าวของคุณ อุไรรัตน์ ใจตรงและ คุณ มลิดา ศรียะไชย์ ที่ได้ศึกษาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องในการผลิตวุ้นมะพร้าวจากเชื้อ *A. xylinum* ซึ่งพบว่าเชื้อที่เหมาะสมในการเพาะวุ้นมะพร้าวคือ *A. xylinum* สายพันธุ์ AGR60 น้ำมะพร้าวประกอบด้วยแอมโมเนียมซัลเฟต 0.6% กรดอะซิติก 0.8% น้ำตาล 5% หัวเชื้อ 13 % ซึ่งในการศึกษครั้งนี้ได้มีการส่งเชื้อจุลินทรีย์ *A. xylinum* สายพันธุ์ TIRTR 996, 1011 และ 1014 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีในสภาพ lyophilized ส่วนขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อ และขั้นตอนการหมักจะใช้วิธีการเดียวกับของคุณอุไรรัตน์และมลิดา

การทดลองที่ 1 การศึกษาเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการเจริญ

ทำการเตรียมหัวเชื้อได้แก่ *A. xylinum* สายพันธุ์ AGR60, TIRTR 996, 1011 และ 1014 และเตรียมน้ำมะพร้าวที่จะทดลอง เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.6% น้ำตาล 5% กรดอะซิติก 0.3% ต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที จึงนำไปเทลงถาดที่ผ่านการตากฆ่าเชื้อและเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ปิดด้วยหนังสือพิมพ์ ทิ้งให้เย็น จึงทำการถ่ายหัวเชื้อลงไป โดยหัวเชื้อ 1 ขวดต่อน้ำมะพร้าว 1 ถาด บ่มไว้ที่

อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนดจึงทำการเก็บวุ้นด้วยวิธีการที่สะอาด โดยวัดความหนา น้ำหนักวุ้น และลักษณะของวุ้น

การทดลองที่ 2 การศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *A. xylinum*

นำน้ำมะพร้าวมาทำการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต , น้ำตาล , Glacial acetic acid

โดยแบ่งเป็น 4 ชุด ดังนี้

ชุดที่ 1	น้ำตาล 5 %	แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 %	Glacial acetic acid 0.3
ชุดที่ 2	“ 5 %	“ 0.8 %	“
ชุดที่ 3	“ 7 %	“ 0.6 %	“
ชุดที่ 4	“ 7 %	“ 0.8 %	“

ทำการต้มน้ำมะพร้าวให้เดือด บรรจุขณะร้อนลงในขวดแก้ว ปริมาตร 300 มิลลิลิตร ปิดด้วยผ้าขาวบาง รัดด้วยหนังยาง ทำการฆ่าเชื้ออุณหภูมิ 121°C 15 นาที ทิ้งไว้ให้น้ำมะพร้าวมีอุณหภูมิ 30–40°C จึงทำการถ่ายเชื้อ (inoculum) *A. xylinum* ได้แก่ AGR60, TISTR 996, 1011 และ 1014 ลงไป โดยหัวเชื้อ 1 ขวด ต่อน้ำมะพร้าว 4 ขวด บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง อย่าให้กระทบกระเทือน เป็นเวลา 10 วันและวัดความหนาของแผ่นวุ้นทุกๆ 2 วัน (0, 2, 4, 6, 8, 10 วัน) เมื่อครบกำหนดจึงทำการเก็บวุ้นด้วยวิธีการที่สะอาด

การทดลองที่ 3 การศึกษาวัตถุดิบที่ใช้ในการเพาะวุ้นมะพร้าว เพื่อลดต้นทุนการผลิต

วัตถุดิบที่ใช้คือ น้ำมะพร้าวใหม่ , น้ำมะพร้าวที่เริ่มเสียแล้ว , น้ำมะพร้าวที่เสียแล้ว , น้ำมะพร้าวใหม่ผสมน้ำมะพร้าวที่เพาะแล้วเสีย 10 % , น้ำมะพร้าวใหม่ผสมน้ำมะพร้าวที่เพาะไม่ขึ้น 50% เชื้อที่ใช้ AGR60

1. นำน้ำมะพร้าวมาตรวจวัด Brix , pH เริ่มต้น เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 % น้ำตาล 5 % Glacial acetic acid ต้มให้เดือด จับเวลา 10 นาที ตรวจวัด Brix , pH ของน้ำมะพร้าว
2. นำน้ำมะพร้าวเทใส่ถาดพลาสติกขนาด 33.5 x 50.5 x 7.5 cm. ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ด้วยน้ำร้อน และเช็ดด้วยแอลกอฮอล์ 70 % ก่อนเทน้ำมะพร้าว) ถาดละ 3 kg ปิดทับด้วยหนังสือพิมพ์ (ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว)
3. เมื่อน้ำมะพร้าวในถาดเย็นแล้ว ทำการถ่ายหัวเชื้อ (starter) *A. xylinum* AGR60 โดยน้ำมะพร้าว 1 ถาด : Starter 1 ขวด

4. บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนด ทำการเก็บแผ่นวุ้นด้วยวิธีการที่สะอาด วัดความหนา น้ำหนัก ตรวจสอบลักษณะวุ้น นำมาทำการฟอก แล้ววัดความแน่นเนื้อ

การทดลองที่ 4 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมักวุ้นมะพร้าว

แหล่งคาร์บอนที่ใช้ คือ น้ำตาลทราย , กลูโคสไซรัป , Saccharin ใช้หัวเชื้อ *A. xylinum* AGR60: สูตรอาหาร แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 % แหล่งคาร์บอน 5 % Acetic acid 0.3 %

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยนำน้ำมะพร้าว คั้นให้เดือด เติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.6% กรดอะซิติก 0.3% แล้วแบ่งเป็น 3 treatment ดังนี้ treatment ที่ 1 เติมน้ำตาล 5% treatment ที่ 2 เติม saccharin (สารละลาย saccharin เข้มข้น 11.35 % 10 มิลลิลิตรต่อน้ำมะพร้าว 25 ลิตร) เตรียมน้ำมะพร้าวสำหรับลงภาควัสดุเดียวกันกับอาหารเลี้ยงเชื้อ จากนั้นเทอาหารเลี้ยงเชื้อ ที่มี C – source ต่างๆ ลงไปในภาควัสดุละ 3-kg ปิดทับด้วยกระดาษหนังสือพิมพ์ เมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีอุณหภูมิได้ 30-40 °C จึงทำการ inoculum หัวเชื้อ *A. xylinum* AGR60 ลงไปในภาควัสดุอัตราส่วน หัวเชื้อ : น้ำมะพร้าว 1 ภาควัสดุเท่ากับ 1:1 บ่มที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน เมื่อครบกำหนด ทำการเก็บแผ่นวุ้นด้วยวิธีการที่สะอาด วัดความหนา น้ำหนัก ตรวจสอบลักษณะวุ้น จากนั้นนำแผ่นวุ้นไปทำการฟอก แล้ววัดความแน่นเนื้อ

การทดลองที่ 5 การศึกษาปริมาณ Glacial acetic acid ที่เหมาะสมต่ออายุการเก็บน้ำมะพร้าว

ทำการเติม Glacial acetic acid ปริมาตร 50,100,150 และ 300 มิลลิลิตร ลงในถังสีเทาที่ใช้ใส่น้ำมะพร้าว ก่อนทำการเติมน้ำมะพร้าวลงไป วัด pH ,Brix ,% acidity , กลิ่น ,รส เริ่มต้นเก็บน้ำมะพร้าวไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 2 วัน ทำการตรวจลักษณะ น้ำมะพร้าว pH ,%acidity ,Brix ทุก 2 ชั่วโมง

ผลการศึกษา

การทดลองการผลิตวุ้นมะพร้าว ได้เลือกใช้ความหนา น้ำหนักของแผ่นวุ้น ความใส ความแน่นเนื้อของวุ้นมะพร้าว เป็นเกณฑ์ในการตัดสินใจ จากการทดลองได้ผลดังนี้

1. ผลการศึกษาการคัดเลือกเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมในการเพาะวุ้นมะพร้าว

เชื้อ *A. xylinum* ที่เหมาะสมในการเพาะวุ้นมะพร้าวจะต้องสามารถเจริญได้เร็วกว่าเชื้อตัวอื่นได้แผ่นวุ้นที่มีความหนา เนื้อแน่น จากผลการทดลองพบว่า เชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ AGR60 สามารถเจริญได้เร็ว และได้แผ่นวุ้นที่มีความหนา เนื้อแน่นกว่า เชื้อ *A. xylinum* สายพันธุ์ 996,1011,1014 เมื่อ

หมักในน้ำมะพร้าว ที่ประกอบด้วย แอมโมเนียม 0. % น้ำตาล 5% Glacial acetic acid 0.3% ซึ่งมีความหวานเท่ากับ 11 ° Brix pH เท่ากับ 3.79 โดยวุ้นที่ได้ มีความหนา 1.4 cm. น้ำหนัก 2.2 g คิดเป็น % Yield 73 % วุ้นมีลักษณะผิวหน้าเรียบ เนื้อแน่น สีขาวนวล ไม่มีการปนเปื้อน ของเชื้อรา ดังนั้นจึงเลือกใช้ AGR60 มาใช้ในการหมักวุ้นมะพร้าวต่อไป ผลการทดลอง แสดงในภาคผนวก

2. ผลการศึกษาอัตราการเจริญของเชื้อ *A.xylinum*

จากการศึกษาโดยใช้เชื้อ *A.xylinum* สายพันธุ์ AGR60 , 996,1011,1014 ที่สูตรอาหารต่างๆ ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 2 ซึ่งจะพบว่า เชื้อ AGR60 สูตร A1 สามารถเจริญได้เร็วกว่า *A.xylinum* สายพันธุ์อื่นๆ ลักษณะแผ่นวุ้นที่ได้มีความหนา 1.72 cm. น.น.78.25 g (เฉพาะในขวดแก้ว) วุ้นสีขาวนวล เนื้อแน่น ผิวหน้าเรียบ ไม่มีการเจริญของเชื้อรา

3. ผลการศึกษาวัตถุดิบที่ใช้ในการเพาะวุ้นมะพร้าว

วัตถุดิบที่ใช้ในการเพาะวุ้นมะพร้าว ได้แก่ น้ำมะพร้าวใหม่ น้ำมะพร้าวเริ่มเสีย น้ำมะพร้าวเสียแล้ว น้ำมะพร้าวใหม่ผสมกับน้ำมะพร้าวที่เพาะไม่ขึ้น 10 % น้ำมะพร้าวใหม่กับน้ำมะพร้าวที่เพาะไม่ขึ้น 50 % โดยใช้เชื้อ *A.xylinum* AGR60 เป็นหัวเชื้อในการหมักวุ้นมะพร้าว พบว่า น้ำมะพร้าวใหม่ จะให้วุ้นมะพร้าวที่มีความหนาสูงสุด 1.4 cm. รองลงมาได้แก่ น้ำมะพร้าวเริ่มเสีย ความหนา 1.2 cm. และน้ำใหม่ผสมน้ำมะพร้าวที่เพาะไม่ขึ้นอัตราส่วน 10 % พบว่า ได้วุ้นที่มีความหนา 1.1 cm ส่วนวุ้นน้ำมะพร้าวใหม่ผสมกับหัวเชื้อที่เพาะไม่ขึ้น 50 % พบว่า ไม่มีการสร้างแผ่นวุ้น ลักษณะวุ้นมะพร้าวที่ได้จากทั้ง 4 treatment พบว่า วุ้นมะพร้าวที่ได้จากน้ำมะพร้าวใหม่จะมีลักษณะผิวหน้าเรียบ เนื้อแน่น ไม่มีการทำลายของเชื้อรา ส่วนวุ้นมะพร้าวที่ได้จากน้ำมะพร้าวใหม่ผสมกับหัวเชื้อที่เพาะไม่ขึ้น 10 % จะมีลักษณะนี้ ผิวไม่ค่อยเรียบ

4. ผลการศึกษาแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะวุ้นมะพร้าว

การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะวุ้นมะพร้าว ได้แก่ น้ำตาลทราย กลูโคส โซรัป และ saccharine พบว่า วุ้นมะพร้าวที่ได้จากการใช้น้ำตาลทรายเป็นแหล่งคาร์บอนมีความหนาสูงสุดคือ 1.4 cm รองลงมาได้แก่ วุ้นที่ได้จากการใช้กลูโคส โซรัป มีความหนา 1.2 cm ส่วนวุ้นที่ได้จากการใช้ saccharine มีความหนา 1.0 cm ลักษณะวุ้นที่ได้ มีผิวหน้าเรียบ ไม่มีการทำลายของเชื้อรา วุ้นมีสีขาวนวล เนื้อแน่น เมื่อทำการฟอกแล้ววุ้นที่ได้ใส

5. ผลการศึกษาปริมาณกรดอะซิติกที่มีต่ออายุการเก็บน้ำมะพร้าว

จากการศึกษาปริมาณกรดอะซิติกที่ใส่ในถังน้ำมะพร้าวเพื่อยืดเวลาการเน่าเสีย ปริมาณกรดอะซิติกที่ใช้ได้แก่ 50,100,150,200 มล. พบว่า น้ำมะพร้าวที่เติมกรดอะซิติกปริมาณ 50 และ 100 มล. เริ่มมีกลิ่นบูดที่ ชั่วโมงที่ 21 โดยพบว่า ค่า pH ของน้ำมะพร้าวลดลงอย่างรวดเร็ว และเน่าเสียในชั่วโมงที่ 25 ซึ่งจะสังเกตเห็นว่าน้ำมะพร้าวมีตะกอน และน้ำขุ่น มีกลิ่นบูด ส่วนน้ำมะพร้าวที่เติมกรดอะซิติก

ซดิก 150 และ 200 มล. จะเริ่มเสียที่ชั่วโมงที่ 23 แสดงว่าปริมาณกรดอะซดิกที่เติมลงไปมีผลต่อการเน่าเสียของน้ำมะพร้าวอย่างมากหรือไม่มีผลเลย เนื่องจากการเน่าเสียต่างกันเพียง 2 ชั่วโมง ดังนั้นจึงน่าจะใช้กรดอะซดิกในปริมาณ 100 มล. เท่ากับที่ทางบริษัทได้กำหนดไว้

วิจารณ์ผลการทดลอง

1. แผ่นวุ้นที่ได้จากการทดลองมีความหนา 1.4 cm. ซึ่งไม่เป็นไปตามที่ต้องการของบริษัท คือ 1.5cm. ซึ่งอาจเกิดจากหัวเชื้อที่ใช้มีการใช้ต่อเนื่องกันเกิน 3 ครั้ง ซึ่งมีผลทำให้เชื้ออ่อนแอลง ทำให้แผ่นวุ้นไม่ได้ความหนาที่ต้องการและอาจเกิดจากหัวเชื้อที่ใช้เก็บไว้นานเกิน 3 วัน หัวเชื้อมีความหนามากคือเชื้อแก่เกินไป ซึ่งจะเข้าสู่ขั้น Stationary phase เมื่อนำไปถ่ายเชื้อ เชื้อจึงเจริญช้า
2. ภาชนะที่ใช้ในการหมัก ต้องสะอาด ปราศจากการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่น
3. ห้องที่ทำการบ่มยังไม่ค่อยสะอาดเท่าที่ควร เนื่องจากเป็นสถานที่ที่คนพลุกพล่าน ห้องไม่มีมิดชิด จึงทำให้เกิดการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่นได้ง่าย
4. ในการวัดความแน่นเนื้อ ค่าที่วัดได้ยังมีความคลาดเคลื่อนอยู่มากซึ่งขึ้นอยู่กับแรงที่ใช้กดวุ้นมะพร้าว ถ้าใช้แรงกดมากจะทำให้ค่าความแน่นเนื้อต่ำแต่ถ้าใช้แรงกดน้อยจะทำให้ได้ค่าความแน่นเนื้อสูง
5. อุณหภูมิในการเพาะไม่ค่อยแน่นอนเนื่องจากในระหว่างที่ทำการเพาะมีฝนตกบ่อยจึงทำให้มีความชื้นสูงซึ่งจะทำให้วุ้นมะพร้าวเจริญได้ช้าและอาจเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่นได้

สรุปผลการทดลอง

การศึกษการผลิตวุ้นมะพร้าวจากเชื้อจุลินทรีย์ *Acetobacter Xylinum* พบว่าเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter Xylinum* ที่สามารถเจริญได้เร็ว ได้วุ้นที่มีความหนาสูงสุดคือเชื้อ *Acetobacter Xylinum* Subspicies AGR60 ส่วนแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการหมักคือน้ำตาลทราย กลูโคสไซรัป และ Saccharine สามารถผลิตวุ้นที่มีความหนาและน้ำหนักในระดับที่ยอมรับได้ วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักที่ให้วุ้นที่มีลักษณะใกล้เคียงกับน้ำมะพร้าวใหม่คือน้ำมะพร้าวเริ่มเสีย และปริมาณกรดอะซดิก 100 ml สามารถยืดอายุการเน่าเสียได้นาน 23 ชั่วโมง สภาวะที่เหมาะสมในการผลิตวุ้นมะพร้าวคือ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6% น้ำตาล 5% กรดอะซดิก 0.3% จะได้วุ้นมะพร้าวที่มีลักษณะดี

ข้อเสนอแนะ

1. น้ำมะพร้าวที่ใช้ในการเพาะงุ่นมะพร้าวต้องสะอาดและต้องทำการต้มทันทีที่รับน้ำมะพร้าวเข้ามาแล้ว และหากจะยืดอกอาหารน้ำเสียไว้ในกรณีที่ยังไม่ต้มน้ำมะพร้าวทันทีที่ต้องมีการใส่กรดอะซิติกลงไปด้วย
2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการเพาะงุ่นมะพร้าว เช่น ขวดแก้ว ผ้าขาวบาง ภาชนะพลาสติก ต้องสะอาดปราศจากเชื้อจุลินทรีย์ปนเปื้อน และต้องทำการล้างฆ่าเชื้อก่อนนำมาใช้ทุกครั้ง
3. สถานที่ที่ใช้เพาะงุ่นมะพร้าวต้องสะอาดและมีดัดเพื่อป้องกันการปนเปื้อนจากเชื้อจุลินทรีย์อื่น และต้องมีการทำความสะอาดด้วยคลอรีนทุกครั้งที่มีการเก็บงุ่นมะพร้าวและเริ่มทำการเพาะครั้งต่อไป
4. ในระหว่างที่หมักงุ่นมะพร้าว ระวังอย่าให้กระทบกระเทือนเพราะจะทำให้แผ่นงุ่นจมและจะมีการสร้างแผ่นงุ่นขึ้นมาใหม่ ทำให้แผ่นงุ่นมีความหนาแน่นน้อยลงและแผ่นงุ่นมีหลายชั้น
5. ความเป็นกรด-ด่างของอาหารเลี้ยงเชื้อ มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการเพาะงุ่นมะพร้าว อาหารเลี้ยงเชื้อมี pH ระหว่าง 3.8-4.0 หากสูงเกินไปจะทำให้เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย ทำให้เกิดการนำเสีย

เอกสารอ้างอิง

กรวิภา สุขศรีวงษ์. วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตวุ้นสวรรค์ และสภาวะการผลิต.

วราวุฒิ ครูส่ง และคณะ. 2535. การผลิตวุ้นสวรรค์จากน้ำมะพร้าว. ว.เกษตรพระจอมเกล้า.
ฉบับที่ 4. 10:46-60

สมคิด ธรรมรัตน์. 2531. การผลิตวุ้นน้ำมะพร้าวและการแปรรูป. อาหาร. 18(4): 254-262

อุไรรัตน์ ใจตรงและ มลิกา ศรียะไชย์. 2542. การปรับปรุงกระบวนการผลิตวุ้นน้ำมะพร้าว.
รายงานสหกิจศึกษา.





ภาคผนวก

ผลการทดลองที่ 1 การหาเชื้อจุลินทรีย์ที่เหมาะสมต่อการเพาะวันมะพร้าว
 วัสดุคือ น้ำมะพร้าว เติมน้ำตาล 5 % แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6% กรดอะซิติก 0.3%
 ° Brix 11 pH 3.79

พรีคเมนต์	ความหนา (cm)	น้ำหนัก (kg)	นน.น้ำที่เหลือ (kg)	% กรด	% Yield	ลักษณะวัน
เชื้อ 996	0.4	1.8	0.7	0.33	60	ผิวไม่เรียบ เกิด วันเต็มแผ่น เนื้อ แน่น ไม่ใส สีขาว นวล
เชื้อ 1011	0.7	0.9	0.6	0.28	30	ผิวไม่เรียบ เนื้อ นุ่ม มีสีขาวนวล ไม่ใส
เชื้อ 1014	1.2	1.8	0.6	0.29	60	ผิวไม่เรียบ เนื้อ แน่น สีขาวนวล ไม่ใส
เชื้อ AGR 60	1.4	2.2	0.1	0.42	73	ผิวเรียบเนียน เนื้อแน่น สีขาว นวล

ผลการทดลองที่ 2 อัตราการเจริญ (Growth rate)

วัตถุดิบ คือ น้ำมะพร้าว pH 4.16 Brix 4.0

พรีติเม้นต์	ความหนา/ระยะเวลา (วัน)										น.ล. (Kg)
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	
เชื้อ 996 (A1)	0.0	0.3	0.4	0.5	0.8	0.8	0.8	0.8	0.87	1.0	35.25
(A2)	0.0	0.27	0.35	0.45	0.5	0.7	0.75	0.8	1.0	1.0	36.5
(A3)	0.0	0.3	0.3	0.4	0.43	0.73	0.73	0.75	0.92	0.95	33.75
(A4)	0.0	0.25	0.25	0.3	0.4	0.5	0.7	0.8	0.8	0.83	33.75
เชื้อ 1011 (A1)	0.0	0.25	0.25	0.3	0.4	0.5	0.65	0.77	0.97	1.0	53
(A2)	0.0	0.23	0.25	0.27	0.35	0.73	0.73	0.73	1.0	1.0	14.08
(A3)	0.0	0.27	0.3	0.33	0.43	0.5	0.53	0.78	1.02	1.02	53.5
(A4)	0.0	0.32	0.35	0.4	0.47	0.55	0.72	0.77	0.97	1.07	53.5
เชื้อ 1014 (A1)	0.0	0.3	0.4	0.5	0.53	1.17	1.23	1.42	1.3	1.4	71
(A2)	0.0	0.27	0.3	0.4	0.47	0.87	1.0	1.12	1.22	1.3	65
(A3)	0.0	0.2	0.3	0.35	0.45	0.85	0.97	1.1	1.15	1.25	66
(A4)	0.0	0.2	0.3	0.4	0.8	0.92	1.05	1.1	1.1	1.1	60.25
เชื้อ AGR60 (A1)	0.0	0.22	0.32	0.42	0.42	0.92	0.92	1.32	1.45	1.72	78.25
(A2)	0.0	0.2	0.3	0.4	0.7	0.87	1.1	1.27	1.47	1.47	90
(A3)	0.0	0.17	0.27	0.3	0.4	0.7	0.98	1.2	1.26	1.36	89
(A4)	0.0	0.25	0.35	0.45	0.47	1.05	1.35	1.3	1.4	1.4	75

หมายเหตุ

สูตรอาหาร A1 คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 % น้ำตาล 5 % กรดอะซิติก 0.3 % pH 3.94 °Brix 10

A2 คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.8 % น้ำตาล 5 % กรดอะซิติก 0.3 % pH 3.81 °Brix 9.8

A3 คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.6 % น้ำตาล 7 % กรดอะซิติก 0.3 % pH 3.91 °Brix 11

A4 คือ แอมโมเนียมซัลเฟต 0.8 % น้ำตาล 7 % กรดอะซิติก 0.3 % pH 3.90 °Brix 11.2

ผลการทดลองที่ 3 การศึกษาวัตถุดิบที่ใช้ในการเพาะ菌มะพร้าว

การทดลองในครั้งนี้จะใช้หัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* subspecies AGR60

พารามิเตอร์	น้ำมะพร้าว ใหม่	น้ำมะพร้าว เริ่มเสีย	น้ำมะพร้าว เสียแล้ว	น้ำเก่า 10 %	น้ำเก่า 50 %
ความหนา (cm)	1.4	1.2	1.05	1.1	-
นน. ฐาน (kg)	2.6	2.6	2.2	2.1	-
% yield	78.8	78.8	67.4	63.6	-
°Brix	3.89	3.9	3.48	3.87	3.38
pH	9.2	9	9.4	10.4	11.4
% acidity	0.57	0.56	0.98	0.43	0.79
ความแน่นเนื้อ (g)	756	662	650	635	-
ลักษณะฐาน	ผิวเรียบเนียน สีขาวนวล เนื้อแน่น	ผิวเรียบเนียน สีขาวนวล เนื้อแน่น	ผิวเรียบเนียน สีขาวนวล เนื้อแน่น	ผิวไม่เรียบ สีขาวนวล เนื้อแน่น	เชื้อไม่ขึ้น

หมายเหตุ น้ำเก่า 10 % หมายถึง น้ำมะพร้าวใหม่ผสมกับน้ำมะพร้าวที่เพาะไม่ขึ้น 10 %

น้ำเก่า 50 % หมายถึง น้ำมะพร้าวใหม่ผสมกับน้ำมะพร้าวที่เพาะไม่ขึ้น 50 %

ผลการทดลองที่ 4 การศึกษาแหล่งคาร์บอนที่ใช้ในการเพาะ菌มะพร้าว

การทดลองนี้จะใช้หัวเชื้อ *Acetobacter xylinum* subspecies AGR60

พารามิเตอร์	น้ำตาลทราย	Saccharine	Glucose syrup
ความหนา (cm)	1.4	1.0	1.2
นน. ฐาน (kg)	2.6	2.2	2.3
% yield	78.8	66.7	69.7
ความแน่นเนื้อ	684	620	626
ลักษณะ	เนื้อแน่น ผิวเรียบ สี ขาวนวล	เนื้อแน่น ผิวเรียบ สี ขาวนวล	เนื้อแน่น ผิวเรียบ สี ขาวนวล

หมายเหตุ น้ำมะพร้าวที่ใช้ saccharine จะมีความหวานโดยเฉลี่ย 5-6 ° Brix

ผลการทดลองที่ 5 ผลของปริมาณกรดอะซิติก ที่มีต่ออายุการเก็บน้ำมะพร้าว

เริ่มผ่านมะพร้าว 11.00-12.30 น. ใช้เวลาขนส่งจากศรีราชาถึงโรงงาน 1 ชั่วโมง

ระยะเวลาการเก็บ ตั้งแต่เริ่มผ่า (ชม.)	Acetic 50 ml/1 ถัง		Acetic 100 ml/ 1 ถัง		Acetic 150 ml/ 1 ถัง		Acetic 200 ml/ 1 ถัง	
	PH	Acidity	PH	Acidity	PH	Acidity	PH	Acidity
4	4.31	0.28	4.0	0.42	3.77	0.63	3.76	0.7
6	4.3	0.32	4.0	0.37	3.8	0.63	3.78	0.6
21	4.41	0.25	4.13	0.43	3.92	0.65	3.91	0.7
23	4.45	0.4	4.13	0.42	3.92	0.7	3.93	0.67
25	4.51	0.17	4.16	0.39	3.95	0.62	3.95	0.64
27	4.26	0.22	4.14	0.38	3.94	0.63	3.93	0.66
29	4.08	0.28	4.13	0.37	3.96	0.70	3.93	0.60
45	3.67	0.49	3.80	0.50	3.80	4.59	3.87	0.60
47	3.67	0.60	3.76	0.49	3.75	0.67	3.88	0.59
49	3.63	0.56	3.74	0.64	3.69	0.70	3.86	0.56
51	3.60	0.57	3.69	0.55	3.60	0.80	3.81	0.66
53	3.60	0.55	3.66	0.60	3.53	0.77	3.76	0.70
ลักษณะน้ำ มะพร้าว	ชม.ที่21 น้ำมะพร้าว เริ่มมีฟอง แต่น้ำยัง ใส ชม.ที่25 น้ำขุ่น มี กลิ่นบูด		ชม.ที่23 มีฝ้าที่ผิวแต่ ไม่มีกลิ่นบูด ชม.ที่23 มีฟอง อากาศ ชม.ที่45 น้ำขุ่นมีไขที่ ผิวหน้า		ชม.ที่23 มีฝ้าที่ผิวแต่ ไม่มีกลิ่นบูด ชม.ที่25 มีไขที่ผิว หน้ามีกลิ่นบูด		ชม.ที่23 มีฝ้าที่ผิว หน้าแต่ไม่มีฟอง ชม.ที่25 มีกลิ่นบูด	

หมายเหตุ เริ่มวันใหม่ชั่วโมงที่ 21 และ 45