# บทที่ 3

# วัสดุ อุปกรณ์ สารเคมี และวิธีการทดลอง

## 3.1 วัสดุและอุปกรณ์

### 3.1.1 วัตถุดิบ และกล้าเชื้อที่ใช้

1. น้ำเวย์จากกระบวนการทำเนยแข็ง Mozzarella และ Cheddar จากบริษัทแดซีโซ่จำกัด จังหวัดเชียงใหม่
2. เชื้อ *Xanthomonas campestris* TISTR 840 จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย ในรูป แอมพูล (Ampoule)

### 3.1.2 วัสดุอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลองทั่วไป

1. กระดาษกรอง เบอร์ 4 เส้นผ่านศูนย์กลาง 110 มิลลิเมตร (Whatman, England)
2. กระดาษกรอง Glass Filer Cellulose (GFC) เส้นผ่าศูนย์กลาง 47 มิลลิเมตร (Whatman, England)
3. ถังพลาสติก (Polypropylene, PP) ขนาด 10 ลิตร
4. กระบอกตวง ปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร และ 100 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
5. ถุงร้อน (Polypropylene, PP) ขนาด 6X9 นิ้ว, 8X12 นิ้ว และ 12X24 นิ้ว
6. ถุงเย็น (Polyethylene, PE) ขนาด 5X11 นิ้ว และ 6X9 นิ้ว
7. กระดาษฟอยล์
8. กรวยกรองสุญญากาศ (Ezec-OR, Japan)
9. ขวดรูปชมพู่ ปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตร และ 500 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
10. ห้องเย็นอุณหภูมิ -20 และ 4-8 องศาเซลเซียส
11. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 3 ตำแหน่ง (Precisa XT 320M, France)
12. บีกเกอร์ ปริมาตรขนาด 50 มิลลิลิตร, 80 มิลลิลิตร, 500 มิลลิลิตร และ 1000 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
13. ขวดปรับปริมาตรขนาด 250 , 500 และ 1,000 มิลลิลิตร

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

14. แท่งแก้วคน

15. กระบอกตวงสแตนเลส ขนาด 2,000 มิลลิลิตร

### 3.1.3 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา

1. Adjustable air-displacement pipette (Gilson, France)
2. Pipet-tip (Scientific plastic, USA)
3. จานเพาะเชื้อ (Pyrex, USA)
4. หลอดแก้วทดลอง (Pyrex, USA)
5. หม้อนึ่งความดัน (Autoclave MT sterilizer 100, Thailand)
6. ตู้เขี่ยเชื้อ (Model CF43, Australia)
7. ตู้อบฆ่าเชื้อแบบลมร้อน (Memmert Um 100-UN 800, Germamy)
8. เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง (Consort Model C 830, Belgium)
9. เครื่องเขย่า (Gallenkamp, England)
10. ขวดดูแรน ขนาด 100, 250, 500 และ 1,000 มิลลิลิตร (Schott Duran, Germany)
11. ตู้บ่มเพาะเชื้อ อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (Termaks, England)
12. อ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิ (Gallenkamp, England)
13. เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Chiltern Scientific ZC 301)
14. เครื่องเขย่าผสม (Vortex Genie 2 model G-560b, USA)
15. เครื่องหมุนเหวี่ยง (Hettich Rotina 46K, Germany)
16. เครื่องวัดความหนืด (Brookfield-Programmable DV-II+, USA

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

### 3.1.4 อุปกรณ์สำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. Kjeldahl digestion set (Tecator, USA)
2. ถ้วยอลูมิเนียมหาความชื้น (moisture can)
3. โถดูดความชื้น (desicator) ที่มีสารดูดความชื้น
4. เครื่องชั่งไฟฟ้า ทศนิยม 4 ตำแหน่ง (Sartorius Model A Germany)

5. เครื่องชั่งไฟฟ้าทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Precisa BJ 610C, Switzerland)
6. ตู้อบไฟฟ้าควบคุมอุณหภูมิ (Termaks, England)
7. บิวเรตขนาด 25 และ 50 มิลลิลิตร (Witeg, Germany)
8. ขวดรูปชมพู 250 และ 500 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
9. เตาไฟฟ้า (Heidolph MR 3001, Germany)
10. กระบอกตวง 50, 25, 100 และ 500 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
11. บีกเกอร์ ขนาด 25, 600, 1,000 และ 2,000 มิลลิลิตร (Pyrex, USA)
12. ตู้ดูดควัน (Toplab, Thailand)
13. เครื่องกวนแท่งแม่เหล็ก (Velp, USA)

## 3.2 สารเคมี

### 3.2.1 สารเคมีสำหรับวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี

1. Copper sulphate (Merck, Germany)
2. Sodium hydroxide (Merck, Germany)
3. Sodium potassium tartrate (Merck, Germany)
4. Methylene blue (Merck, Germany)
5. Hydrochloric acid (Merck, Germany)
6. Sulfuric acid (Merck, Germany)
7. Diethyl ether (Merck, Germany)
8. Zincacetate dihydrate (Merck, Germany)
9. Potassium ferrocyanide (Merck, Germany)
10. Potassium sulphate (Merck, Germany)
11. Methyl red (Merck, Germany)
12. Bromocresol green (Merck, Germany)

### 3.2.2 สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Bacto peptone (Difco, USA)
2. Malt extract (Merck, Germany)
3. Yeast extract (Merck, Germany)
4. Glucose (Fisher chemical, UK)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

5. Agar (Merck, Germany)
6. Ammonium sulphate ($(NH_4)_2SO_4$) (Ajax Finechem, Australia)
7. Zinc oxide ( ZnO ) (Ajax Finechem, Australia)
8. Ammonium sulphate ($(NH4)_2SO_4$) (Ajax Finechem, Australia)
9. Potassium dihydrogen orthophosphate ($KH_2PO_4$) (Ajax Finechem, Australia)
10. Citric acid monohydrate (Fisher chemical, UK)
11. Magnesium sulphate ($MgSO_4.7H_2O$) (Ajax Finechem, Australia)
12. Absolute ethanol (Merck, Germany)
13. Ferrous (III) chloride anhydrous ($FeCl_4$) (Ajax Finechem, Australia)
14. Sodium chloride (NaCl) (Merck, Germany)
15. Sodium hydroxide (NaOH) (Merck, Germany)
16. Calcium carbonate ($CaCO_3$) (Merck, Germany)
17. Potassium chloride (KCl) (Merck, Germany)
18. Boric acid ($H_3BO_3$) (Ajax Finechem, Australia)
19. Xanthan gum food grade (KELTROL, USA)
20. เอ็นไซม์ β- galactosidase 14.6 μ/mg from *Aspergillus oryzae* (Fulka , USA)

**3.3 วิธีการทดลอง**

**3.3.1 ศึกษาคุณภาพทางเคมีของน้ำเวย์จากกระบวนการผลิตเนยแข็ง Mozzarella และ Cheddar**

น้ำเวย์จากกระบวนการผลิตเนยแข็ง Mozzarella และ Cheddar จากบริษัทแดซีโซ่จำกัด การเตรียมน้ำเวย์ ทำได้โดย แยกโปรตีนเวย์ออกจากน้ำเวย์ (พูนสุข, 2542 และ ศศิธร, 2548) นำน้ำเวย์ใส่ในถุง Polypropylene 2.0 ลิตร (ปรับ pH 7.0±0.2โดยใช้ สารละลาย NaOH 0.1 นอร์มัล หรือ สารละลาย HCl 0.1 นอร์มัล) และให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง กรองแยกส่วนใสด้วยสำลีและกระดาษกรองเบอร์ 4 (2 ชั้น) เพื่อแยกตะกอนโปรตีน (ศศิธร, 2548)

วิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ โดยใช้วิธี Lane and Eynon (AOAC, 2000) ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl Method (AOAC, 2000) ปริมาณไขมัน โดยวิธีซอล์กเลต (AOAC, 2000) ปริมาณของแข็งทั้งหมด (AOAC, 2000) และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง ก่อนและหลังการแยกโปรตีน วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design มี 4 ตัวอย่าง คือ น้ำเวย์ 2 ชนิด ตกตะกอนที่ 121 องศาเซลเซียส 10 นาที แล้วกรองกับไม่กรองตะกอนออก และเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**3.3.2 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อ *Xanthomonas campestris* TISTR 840 ในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร YM**

ถ่ายเชื้อ *Xanthomonas campestris* TISTR 840 ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อผิวหน้าเอียงสูตร YM ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นถ่ายเชื้อ 1 ห่วง ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อสูตร YM ปริมาณ 5 มิลลิลิตรในหลอดทดลอง ทำการเลี้ยงโดยการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงถ่ายเชื้อ 1 มิลลิลิตรลงในอาหารเหลวสูตร YM ปริมาตร 9 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 50 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงโดยการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง ถ่ายเชื้อปริมาณ 6 มิลลิลิตรลงในอาหารเหลว 54 มิลลิลิตร ทำการเลี้ยงโดยการบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 24 ชั่วโมง จากนั้นจึงถ่ายเชื้อ 40 มิลลิลิตรลงในอาหารสูตรเหลว YM ปริมาตร 360 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร เพาะเลี้ยงเชื้อโดยใช้อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลานาน 144 ชั่วโมง (ดัดแปลงจาก Lopez and Ramos, 1997) เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อในการผลิตแซนแทนกัม

ตรวจการเจริญของเชื้อ และตรวจวัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยตรวจวัดที่ 0, 24, 48, 72, 96, 120 และ 144 ชั่วโมงของการหมัก

**3.3.3 ศึกษาระยะเวลาที่เหมาะสมในการเจริญเติบโต คุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และ การผลิตแซนแทนกัมของ *Xanthomonas campestris* TISTR 840 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Roseiro**

เตรียมสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Roseiro (ภาคผนวก ก ข้อ 3) โดย ปรับค่าความเป็นกรด ด่าง ให้ได้ 7.0±0.2 โดยใช้ สารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 นอร์มัล หรือ สารละลาย HCl 0.1 นอร์มัล แบ่งอาหารเพาะเลี้ยง ลงในฟลาสก์รูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จำนวน 270 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมหัวเชื้อจากข้อ 3.2 จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ โดยใช้อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง (ธันยาภรณ์ 2542)

ตรวจการเจริญของเชื้อ โดยเพาะเลี้ยงเชื้อบนอาหารแข็ง YM วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยมีความถี่ในการตรวจวัดทุก 24 ชั่วโมง วิเคราะห์หาปริมาณตะกอนสารแซนแทนกัม (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวก ข ข้อ 8) ตรวจวัดที่ 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงของการหมัก ตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือในน้ำหมักด้วยวิธีของ Lane&Eynon (AOAC, 2000) และ วัดค่าความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด เมื่อเสร็จสิ้นสุดกระบวนการหมัก

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright © by Chiang Mai University
All rights reserved

**3.3.4 ศึกษาวิธีการสกัดแซนแทนกัมที่เหมาะสม และ ระยะเวลาที่เหมาะสมในการผลิตแซนแทนกัม ของเชื้อ *Xanthomonas campestris* TISTR 840 ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Roseiro**

โดยนำน้ำหมักที่ได้จากข้อ3.3.3 มาเปรียบเทียบวิธีการแยกแซนแทนกัม โดยทำการแยกเซลล์จุลินทรีย์ ออกจากน้ำหมัก ที่ได้จากอาหารเหลวสูตรของ Roseiro ก่อนโดยการเจือจางด้วยน้ำกลั่น 1 ถึง 6 เท่าเพื่อลดความหนืด จากนั้นทำการปั่นเหวี่ยงเพื่อเอาเซลล์ออกที่ความเร็วรอบ 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที (Papagianni *et al.*, 2001) แล้วนำส่วนใสที่ได้ไปตกตะกอนแซนแทนกัม ด้วยเอธิลแอลกอฮอล์ ความเข้มข้น 95 เปอร์เซ็นต์ ที่ระดับ 1 2 และ 3 เท่า ต่อปริมาตรของน้ำหมักที่ผ่านการเจือจางและแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกแล้ว ร่วมกับเกลือ โพแทสเซียมคลอไรด์ 3 เปอร์เซ็นต์ ของน้ำหมักที่ผ่านการเจือจางและแยกเซลล์จุลินทรีย์ออกแล้ว (Gonzales *et al.*, 1989)

วิเคราะห์หาปริมาณตะกอนสารแซนแทนกัม โดยการชั่งน้ำหนัก (วิธีวิเคราะห์แสดงในภาคผนวกที่ ข)

นำอัตราส่วนที่เหมาะสมในการแยกแซนแทนกัมที่ได้ ไปใช้ในการคัดเลือกหาระยะเวลาของการหมักที่เหมาะสมเพื่อให้ได้แซนแทนกัมปริมาณสูงที่สุด โดยสกัดแซนแทนกัม ที่ระยะเวลา 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงของการหมัก

**3.3.5 ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ *Xanthomonas campestris* TISTR 840 ที่เหมาะสม ที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำเวย์ที่เตรียมขึ้นจากวิธีต่างๆ**

**3.3.5.1 เปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในน้ำเวย์ที่ผ่านกระบวนการย่อย 2 วิธี**

นำน้ำเวย์ที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนแล้ว ไปผ่านกระบวนการย่อย 2 วิธี ดังนี้

- ย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น 0.2% (w/w), (น้ำหนัก/น้ำหนักน้ำเวย์ดั้งเดิม) ที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียสเป็นระยะเวลา 2 ชั่วโมง (Douglas *et. al.*, 1997) ในหม้อนึ่งไอน้ำ

- ย่อยด้วยเอ็นไซม์ β- galactosidase ปริมาณ 2000 หน่วย/กิโลกรัมน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีนแล้ว ซึ่งเอ็นไซม์ β- galactosidase ที่คำนวณได้ จะนำไปละลายในน้ำเวย์ที่ผ่านการแยกตะกอนโปรตีน ที่อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 7 ชั่วโมง โดยมีการเขย่าทุกๆ 30 นาที จากนั้นยับยั้งกิจกรรมของเอ็นไซม์โดยการต้มใน เดือด 100 องศาเซลเซียสในอ่างน้ำอุ่นควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 10นาที (http:www.lsbu.ac.uk., 2004)

วิเคราะห์และเปรียบเทียบน้ำตาลรีดิวส์ ของน้ำเวย์ที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนแล้วที่ย่อยด้วยกรดซัลฟูริกเข้มข้น และ น้ำเวย์ที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนแล้วที่ย่อยด้วยเอ็นไซม์ β- galactosidase โดยวิธีของ Lane&Eynon (AOAC, 2000)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**3.3.5.2 เปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และจุลินทรีย์ ของการเพาะเลี้ยงเชื้อ *Xanthomonas campestris* TISTR 840 ในสูตรอาหาร Roseiro เดิม และ สูตรอาหาร Roseiro ที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำเวย์ที่เตรียมขึ้นจากวิธีต่างๆ**

นำน้ำเวย์ที่ผ่านการตกตะกอนโปรตีนแล้ว และน้ำเวย์ที่ผ่านกระบวนการย่อย 2 วิธี ที่เตรียมได้จากข้อ 3.3.5.1 ไปทดแทนน้ำตาลกลูโคส ในสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ Roseiro ที่แสดงในภาคผนวก ก ข้อ 3 ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1,000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปรับค่าความเป็นกรด-ด่าง ให้ได้ 7.0±0.2 โดยใช้สารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 นอร์มัล หรือ สารละลาย HCl เข้มข้น 0.1 นอร์มัล แบ่งอาหารเพาะเลี้ยงลงในฟลาสก์รูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จำนวน 270 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมหัวเชื้อจากข้อ 3.2 จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตรของอาหารเลี้ยงเชื้อ เพาะเลี้ยงโดยใช้อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

ตรวจวัดการเจริญของเชื้อ โดยตรวจวัดที่ 0, 24, 48, 72, 96 และ 120 ชั่วโมงของการหมักโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM และ วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยมีความถี่ในการตรวจวัดทุก 24 ชั่วโมง ตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือในน้ำหมักด้วยวิธีของ Lane&Eynon วิเคราะห์หาปริมาณตะกอนสารแซนแทนกัม และวัดค่าความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด เมื่อเสร็จสิ้นสุดกระบวนการหมัก วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design และเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

**3.3.6 ศึกษาสูตรอาหารเลี้ยงเชื้อจากแหล่งคาร์บอนที่เหมาะสมต่อการผลิตแซนแทนกัม ที่ได้จากการศึกษาจากตอนที่ 3.3.5 โดยการปรับ ปริมาณ แอมโมเนียมซัลเฟต ปริมาณกรดซิตริก และปริมาณแมกนีเซียมซัลเฟต**

ทำการผลิตแซนแทนกัมโดยเลี้ยง *Xanthomonas campestris* TISTR 840 ในอาหารสูตร Roseiro ซึ่งใช้แหล่งคาร์บอนที่คัดเลือกได้จากตอนที่ 3.5 โดยปรับปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต ที่ระดับ 5.33 3.33 และ 1.33 กรัมต่อลิตร เพื่อใช้เป็นแหล่งไนโตรเจน ปรับปริมาณกรดซิตริก ที่ระดับ 4 2 และ 1 กรัมต่อลิตร และแมกนีเซียมซัลเฟต ที่ระดับ 0.48 0.24 และ 0.12 กรัมต่อลิตร (แสดงในตารางที่ 3.1) ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ปรับค่าความเป็นกรด ด่าง ให้ได้ 7.0±0.2 โดยใช้สารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 นอร์มัล หรือ สารละลาย HCl เข้มข้น0.1 นอร์มัล แบ่งอาหารเพาะเลี้ยง ลงในฟลาสก์รูปชมพู่ขนาด 500 มิลลิลิตร จำนวน 270 มิลลิลิตร ให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง เติมหัวเชื้อจากข้อ 3.2 จำนวน 10 เปอร์เซ็นต์ต่อปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ เพาะเลี้ยงโดยใช้อัตราการเขย่า 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 120 ชั่วโมง

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ตรวจวัดการเจริญของเชื้อ โดยตรวจวัดที่ 0, 48, 96 และ 120 ชั่วโมงของการหมักโดยเพาะเลี้ยงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ YM และ ค่าความเป็นกรด-ด่าง โดยมีความถี่ในการตรวจวัดทุก 48 ชั่วโมง ตรวจวัดปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ที่เหลือในน้ำหมักด้วยวิธีของ Lane&Eynon (AOAC, 2000) วิเคราะห์หาปริมาณตะกอนสารแซนแทนกัม และวัดค่าความหนืดด้วยเครื่องวัดความหนืด เมื่อเสร็จสิ้นสุดกระบวนการหมัก วางแผนการทดลองแบบ Factorial in Completely Randomized Design และเปรียบเทียบ ค่าเฉลี่ยโดยวิธี Duncan's Multiple Range Test

**ตารางที่ 3.1 แสดงการปรับปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต กรดซิตริก และแมกนีเซียมซัลเฟต ในสูตรอาหาร Roseiro เดิม ที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำเวย์ที่ย่อยด้วยกรด**

| สูตรอาหาร | แอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) | กรดซิตริก (กรัมต่อลิตร) | แมกนีเซียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|---|
| 1 | 5.33 | 4.00 | 0.48 |
| 2 | 5.33 | 4.00 | 0.24 |
| 3 | 5.33 | 4.00 | 0.12 |
| 4 | 5.33 | 2.00 | 0.48 |
| 5 | 5.33 | 2.00 | 0.24 |
| 6 | 5.33 | 2.00 | 0.12 |
| 7 | 5.33 | 1.00 | 0.48 |
| 8 | 5.33 | 1.00 | 0.24 |
| 9 | 5.33 | 1.00 | 0.12 |
| 10 | 3.33 | 4.00 | 0.48 |
| 11 | 3.33 | 4.00 | 0.24 |
| 12 | 3.33 | 4.00 | 0.12 |
| 13 | 3.33 | 2.00 | 0.48 |
| 14 | 3.33 | 2.00 | 0.24 |
| 15 | 3.33 | 2.00 | 0.12 |
| 16 | 3.33 | 1.00 | 0.48 |
| 17 | 3.33 | 1.00 | 0.24 |
| 18 | 3.33 | 1.00 | 0.12 |
| 19 | 1.33 | 4.00 | 0.48 |
| 20 | 1.33 | 4.00 | 0.24 |

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**ตารางที่ 3.1 แสดงการปรับปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต กรดซิตริก และแมกนีเซียมซัลเฟต ในสูตรอาหาร Roseiro ที่ใช้แหล่งคาร์บอนจากน้ำเวย์ที่ย่อยด้วยกรด (ต่อ)**

| สูตรอาหาร | แอมโมเนียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) | กรดซิตริก (กรัมต่อลิตร) | แมกนีเซียมซัลเฟต (กรัมต่อลิตร) |
|---|---|---|---|
| 21 | 1.33 | 4.00 | 0.12 |
| 22 | 1.33 | 2.00 | 0.48 |
| 23 | 1.33 | 2.00 | 0.24 |
| 24 | 1.33 | 2.00 | 0.12 |
| 25 | 1.33 | 1.00 | 0.48 |
| 26 | 1.33 | 1.00 | 0.24 |
| 27 | 1.33 | 1.00 | 0.12 |

**3.7 เปรียบเทียบคุณสมบัติทางกายภาพของแซนแทนกัมที่ผลิตได้จากสูตรอาหาร Roseiro สูตรอาหารปรับปรุง (ตอนที่ 3.6) กับ แซนแทนกัม เกรดอาหาร (Food grade)**

นำแซนแทนกัมที่ผลิตได้จากสูตรอาหาร Roseiro สูตรอาหารปรับปรุง (ตอนที่ 3.6) และ แซนแทนกัมทางการค้า (Food grade) ที่มีจำหน่ายในท้องตลาด ตรวจหาค่าความชื้น ปริมาณเถ้า (ตามวิธีของ AOAC 2000) และค่าสี นำแซนแทนกัมทั้ง 3 ชนิด มาละลายในน้ำกลั่นที่อุ่นอุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส ที่ความเข้มข้น 0.2 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ทำการกวนผสมด้วยเครื่องกวนแท่งแม่เหล็กเพื่อให้ตะกอนสารแซนแทนกัมละลายเป็นเนื้อเดียวกับน้ำกลั่น วัดค่าความเป็นกรด-ด่าง วัดค่าความหนืดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส วัดค่าความหนืดเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิ ที่ 15 25 และ 85 องศาเซลเซียส ที่ค่าความเป็นกรด-ด่าง 7.00 และวัดค่าความหนืดเมื่อมีการเปลี่ยนแปลงค่าความเป็นกรด- ด่าง ที่ 4.5 6.5 และ 8.5 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส (ธันยาภรณ์, 2542)

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved