สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	X3
Abstract	X4
รายละเอียดข้อเสนอโครงการวิจัย	1
การหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพด	6
การฆ่าเชื้อซังข้าวโพดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก	8
การสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพด	10
การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพดโดยอาศัย การเคลือบซังข้าวโพดก่อนใช้ด้วย Agar 0.1%	14
สรุปผลการทดลอง	16

RCH
QR
100.8
.B55
ว 325ก
เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....120217
วัน, เดือน, ปี.....10 ก.พ. 2555
b.....12337614
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ลักษณะการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomces cerevisiae* M30 ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน	7
2	ลักษณะการฆ่าเชื้อซังข้าวโพดด้วยการแช่น้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้น 1.0% – 4.0% ที่อุณหภูมิห้อง (30 -32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน	8
3	ผลของการแช่ซังข้าวโพดในน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 1.0% - 4.0% ที่อุณหภูมิห้อง (30 – 32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน	9
4	ถังหมักที่ใช้ในการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ด้วยการตรึงบนซังข้าวโพด	10
5	ลักษณะการหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ที่ตรึงบนซังข้าวโพดในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน (WK = หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK)	11
6	ลักษณะการหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในสภาพที่ไม่ใช้ซังข้าวโพดในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน (WK = หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK)	12
7	ลักษณะของซังข้าวโพดภายหลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน	12
8	ลักษณะการยึดเกาะของหัวเชื้อน้ำส้มสายชูบนซังข้าวโพดภายหลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน เมื่อถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV	13
9	ลักษณะการยึดเกาะของหัวเชื้อน้ำส้มสายชูบนซังข้าวโพดที่เคลือบด้วย วุ้น 0.1% ภายหลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน เมื่อถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV	15
10	ลักษณะการหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในสภาพที่ใช้ซังข้าวโพดเคลือบด้วยวุ้น 0.1% ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน (WK = หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK)	15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

การสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter aceti* WK โดยใช้การตรึงบนซังข้าวโพดให้ผลเชิงลบ (Negative effect) ต่อการสร้างกรดอะซิติกของหัวเชื้อน้ำส้ม WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน โดยได้ปริมาณกรดอะซิติกเพิ่มขึ้น 1.4% เมื่อสิ้นสุดการหมัก ในขณะที่การสร้างกรดอะซิติกในสภาพที่ไม่ใช้ซังข้าวโพดได้ประมาณ 1.8% ภายในระยะเวลา 22 วัน

การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างกรดอะซิติกจากฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อน้ำส้ม WK โดยอาศัยการตรึงบนซังข้าวโพดที่เคลือบด้วย Agar 0.1% สามารถสร้างกรดอะซิติกเพิ่ม 1.7% ภายใน 29 วัน ของการหมัก ซึ่งมีปริมาณมากกว่าการใช้ซังข้าวโพดที่ไม่เคลือบ Agar ทั้งนี้เมื่อพิจารณาจากภาพถ่ายอิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV พบว่า ปริมาณเซลล์ของหัวเชื้อ WK บนซังข้าวโพดที่เคลือบด้วยวุ้นมีมากกว่าบนซังข้าวโพดที่ไม่เคลือบอย่างเห็นได้ชัด

ซังข้าวโพดมีลักษณะที่ไม่เหมาะสมต่อการนำมาสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ WK เพื่อใช้ในการสร้างกรดอะซิติกในระบบหมุนวนน้ำหมัก เนื่องปริมาณกรดที่ได้ทั้งในสภาพที่ใช้ซังข้าวโพดที่เคลือบและไม่ได้เคลือบด้วยวุ้นน้อยกว่าสภาพที่ไม่ใช้ซังข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบเสนอโครงการวิจัย
ประกอบการขอทุนสนับสนุนงานวิจัยเงินรายได้ของโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
ประจำปีงบประมาณ 2551

---

1. ชื่อโครงการวิจัย

(ภาษาไทย) การสร้างฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียอะซิติกบนซังข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ

(ภาษาอังกฤษ) Biofilm formation of Acetic Acid Bacteria on Corn Cob in Laboratory Scale

2. คณะผู้ทำวิจัยและสัดส่วนการทำงานวิจัย

นายวราวุฒิ ครูส่ง
รองศาสตราจารย์ ระดับ 9 สังกัดโครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สัดส่วนการทำงานร้อยละ 50 %

นางอัสนี วิจิระกะ
นักวิทยาศาสตร์ ระดับ 5 โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สัดส่วนการทำงานร้อยละ 50%

3. ประเภทโครงการวิจัย การวิจัยประยุกต์

4. กลุ่มสาขาวิชา สาขาเกษตรศาสตร์และชีววิทยา

5. คำสำคัญ (keywords) ของโครงการวิจัย

ภาษาไทย : ฟิล์มชีวภาพ แบคทีเรียอะซิติก ซังข้าวโพด
ภาษาอังกฤษ : Biofilm, acetic acid bacteria, corn cob

6. ความสำคัญและที่มาของปัญหาที่ทำการวิจัย

แบคทีเรียอะซิติกเป็นแบคทีเรียที่ใช้ในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู แบคทีเรียอะซิติกนี้ได้มีรายงานว่าสามารถยึดติดกับวัสดุ (Supporting material) เพื่อใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู ดังที่ Okuhara (1987) ได้ใช้พลาสติกลักษณะ lipophilic fibrous material ต่อมา Krusong et al. (2007) ได้ทำการใช้ใยบวบ (Luffa sponge) ซึ่งเป็นวัสดุธรรมชาติ (Natural fibrous material) โดยพบว่าสามารถใช้ได้ดีในการหมักในระบบ Airlift fermentor อีกทั้งยังเป็นวัสดุที่เป็นมิตรกับสิ่งแวดล้อม (Environmental friendly) สามารถถูกย่อยสลายได้ภายหลังการใช้งานหรือนำไปผ่านกระบวนการทำปุ๋ยหมัก ทำให้ไม่เกิดผลกระทบต่อธรรมชาติ อย่างไรก็ตามเพื่อให้มีแนวทางเลือกในการพัฒนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำส้มสายชูจากระบบ Quick Vinegar Process ซึ่งเป็นการใช้การสร้างฟิล์มชีวภาพ (Biofilm formation) ของเชื้อ Acetic acid bacteria จึงจำเป็นต้องศึกษาการสร้างฟิล์มชีวภาพบนวัสดุธรรมชาติชนิดอื่นด้วย

ซังข้าวโพดซึ่งเป็นวัสดุธรรมชาติและมีปริมาณมากที่เหลือทิ้งในธรรมชาติ จึงมีความน่าเป็นไปได้สูงที่จะใช้ในการการสร้างฟิล์มชีวภาพของเชื้อ Acetic acid bacteria เพื่อใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูหมักต่อไป

7. วัตถุประสงค์ของการวิจัย

เพื่อศึกษาการสร้างฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียอะซิติกบนซังข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ

8. ขอบเขตของโครงงานวิจัย

เป็นการสร้างฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียอะซิติกบนซังข้าวโพดในระดับห้องปฏิบัติการ โดยทำการทดลองในฟลาสก์

9. การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง

ซังข้าวโพด (Corn cob) อยู่ที่ส่วนกลางของฝักข้าวโพด จัดเป็นวัสดุทางเกษตรที่เหลือทิ้งปีละมากๆ ดังนั้นจึงได้มีความพยายามนำซังข้าวโพดมาใช้ประโยชน์ในด้านต่างๆ ดังเช่น การนำซังข้าวโพดมาใช้เป็นแหล่งพลังงานชีวมวลโดยสามารถนำมาเผาไหม้โดยตรงในหม้อไอน้ำ และถ่ายเทความร้อนที่เกิดขึ้นให้แก่น้ำในหม้อไอน้ำจนกลายเป็นไอน้ำที่ร้อนจัดและมีความดันสูง (ปกรณ์, http://www2.dede.go.th/Wboard/ Question.asp?GID=2483.) การใช้ซังข้าวโพดทำฉนวนใยเซลลูโลสที่อัดโดยเครื่องอัดแผ่นแบบไฮดรอลิกส์ (ขวัญเรือน และคณะ, http://www.eppo.go.th/ encon/abstract/mju-2545-cellulose.html) การใช้ซังข้าวโพดบดเป็นวัสดุเพาะเห็ดเป๋าฮื้อและเห็ดนางฟ้า (พรรณี และ ศุภนิตย์, http://www.doa. go.th/ birdo/result47/pannee.htm) และเพาะเห็ดยานางิ (วิไลวรรณ และ เดือนฉาย, 2544)

นอกจากนี้แล้วยังมีการศึกษาในการนำซังข้าวโพดมาใช้ในงานวิจัยด้านเทคโนโลยีชีวภาพ ดังเช่น การใช้ประโยชน์จากเฮมิเซลลูโลสจากซังข้าวโพดเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตเอธานอลด้วยเชื้อ patented ethanologenic *Escherichia coli* B (Lawford and Rousseau, http://www.springerlink.com/content/q67838 6v680p4006/) การใช้เศษเหลือทิ้งจากซังข้าวโพดจากอุตสาหกรรมผลิตไซโลสด้วยเอนไซม์ Cellulase และ Cellobiase เพื่อใช้ในการผลิตกรดแลกติกด้วยการตรึงเซลล์ *Lactobacillus delbrueckii* ZU-S2 ด้วย Calcium alginate gel beads (Shen and Xia, http://www.springerlink.com/content/h42742n061703jrr/)

ซังข้าวโพดถูกนำมาใช้เป็นวัสดุธรรมชาติที่ใช้ในการตรึงเอนไซม์ เช่น การตรึงเอนไซม์ Benzonase เพื่อใช้ในการย่อยสลาย Nucleic acids ใน Single-cell protein concentrates (Moreno และคณะ, http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=1665680&dopt=Abstract Plus) และการตรึงจุลินทรีย์โดยอาศัยการทำให้เกิดฟิล์มชีวภาพ (Biofilm) บนซังข้าวโพดที่อยู่ในลักษณะ Corn cob

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

granules (United States Patent 5595893, 1997; http://www.patentstorm.us/ patents/5595893-description.html)

ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นที่การใช้ซังข้าวโพดเพื่อใช้เป็นวัสดุธรรมชาติที่ใช้เป็น Supporting material ในการสร้างฟิล์มชีวภาพของ Acetic acid bacteria

10. เอกสารอ้างอิงของโครงการวิจัย

- ขวัญเรือน กันทวัง พงศ์พันธ์ ตั้งไพบูลย์วรรณ และสุชาติ บุญดำรงธรรม. ฉนวนใยเซลลูโลสที่อัดโดยเครื่องอัดแผ่นแบบไฮดรอลิกส์. http://www.eppo.go.th/encon/abstract/mju-2545-cellulose.html Accessed date 25Aug07
- ปกรณ์ คูสุวรรณ. เปลือก และ ซังข้าวโพด(พลังงานทดแทน) http://www2.dede.go.th/Wboard/Question. asp?GID=2483. Accessed date 25Aug07.
- พรรณี บุตรธนู และ ศุภนิตย์ หิรัญประดิษฐ. การใช้ซังข้าวโพดบดเป็นวัสดุเพาะเห็ดสกุลนางรม. http://www.doa. go.th/ birdo/result47/pannee.htm Accessed date 25Aug07
- วิไลวรรณ แทนมี และเดือนฉาย บุญธรรม. 2544. การศึกษาผลกระทบของการใช้ซังข้าวโพดทดแทนขี้เลื่อยไม้ยางพาราที่มีต่อการใช้ผลผลิตของเห็ดยานางิ (*Agrocybe cylindracea*). ปัญหาพิเศษ ภาควิชาเทคโนโลยีการเกษตร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยธรรมศาสตร์ กรุงเทพฯ. 18 หน้า
- Krusong, W., A.Vichitraka and S. Pornpakdeewattana. 2007. Luffa Sponge as Supporting Material of *Acetobacter aceti* WK for Corn Vinegar Production in Semi – continuous Process. KMITL Sci. J. 7: 63 - 68.
- Lawford, H.G. and J.D. Rousseau. Fuel ethanol from corn residue prehydrolysate by a patented ethanologenic *Escherichia coli* B. J. Biotechnology letters http://www.springerlink.com/content/q678386v680p4006/. Accessed date 25Aug07.
- Moreno, J.M., J.M. Sanchez-Montero, A. Ballesteros and J.V. Sinisterra. 1991. Hydrolysis of nucleic acids in single-cell protein concentrates using immobilized benzonase. Appl Biochem Biotechnol. Oct; 31(1):43-51. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/sites/entrez?cmd=Retrieve&db=PubMed&list_uids=1665680&dopt=AbstractPlus. Accessed date 25Aug07.
- Okuhara, A. 1987 Production of Vinegar with Bacteria on Support. United States Patent 4,661,356.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- Shen, X. and L. Xia. Lactic acid production from cellulosic waste by immobilized cells of *Lactobacillus delbrueckii*. World J. Microbiol. Biotech. http://www. springerlink.com/ content/h42742n061703jrr/. Accessed date 25Aug07
- United States Patent 4898817. 1990. Microorganism immobilization. http://www.patentstorm.us/ patents/4898817-description.html. US Patent Issued on February 6, 1990. Accessed date 25Aug07.
- United States Patent 5595893. 1997. Immobilization of microorganisms on a support made of synthetic polymer and plant material. http://www.patentstorm.us/patents/5595893-description.html. US Patent Issued on January 21, 1997. Accessed date 25Aug07.

11. ระเบียบวิธีวิจัย

11.1 หัวเชื้อ Acetic acid bacteria

หัวเชื้อที่ใช้ คือ *Acetobacter aceti* WK ที่คัดเลือกและปรับปรุงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2543 – ปัจจุบัน ที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯลาดกระบัง

11.2 การหมักไวน์จากน้ำต้มข้าวโพด

ทำการหมักไวน์จากน้ำต้มข้าวโพดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK

11.3 การฆ่าเชื้อซังข้าวโพดด้วยน้ำส้มสายชู

11.4 การสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพดโดยอาศัยการติดตามจำนวนรอบของการใช้ซังข้าวโพดที่เคลือบฟิล์มชีวภาพในการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มข้าวโพด

11.5 การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพด โดยอาศัยการเคลือบซังข้าวโพดก่อนใช้ด้วย agar 0.1%

11.6 สรุปและรายงานผล

12. สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูล

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร ตึกเจ้าคุณทหารสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

13. แผนการดำเนินงานวิจัย

การดำเนินการ	เดือน											
	1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12
การหมักไวน์ข้าวโพด												

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การฆ่าเชื้อซังข้าวโพดด้วยน้ำส้มสายชู											
การสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพด											
การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพด											
สรุปและรายงานผล											

14. ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ความรู้พื้นฐานในการเตรียมซังข้าวโพดเพื่อใช้ในการสร้างฟิล์มชีวภาพของ Acetic acid bacteria ซึ่งสามารถประยุกต์ใช้ในการพัฒนากระบวนการผลิต Quick Vinegar Process

15. งบประมาณของโครงการวิจัย

15.1 ค่าวัสดุ

- ค่าวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักไวน์ข้าวโพด	2,500	บาท
- Sterile air filter	5,000	บาท
- ค่าสารเคมี อาหารเลี้ยงเชื้อและวัสดุอื่นๆ	27,500	บาท
15.2 ค่าใช้สอย	-	
รวม	35,000	บาท

หมายเหตุ : ค่าวัสดุสามารถโอนย้ายในกลุ่มค่าวัสดุได้

16. โครงการวิจัยนี้อยู่ระหว่างเสนอของบประมาณจากแหล่งเงินทุนอื่น หรือเป็นการวิจัยต่อยอดจาก โครงการวิจัยอื่น (ถ้ามี)

ไม่ได้ของบประมาณจากแหล่งทุนอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพด

เนื่องจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจำเป็นต้องมีวัตถุดิบหลักคือ ไวน์หรือแอลกอฮอล์ที่เชื้อยีสต์สร้างขึ้น ดังนั้นทำการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดเพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการศึกษาการสร้างฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียอะซิติก *Acetobacter aceti* WK บนซังข้าวโพดเพื่อใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูในระดับห้องปฏิบัติการ

การเตรียมหัวเชื้อยีสต์

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักไวน์ คือ เชื้อยีสต์ *Saccharomyce cerevisiae* M30 ซึ่งต่อไปในรายงานจะเรียกว่า " **เชื้อยีสต์** M30 " เป็นเชื้อยีสต์ในกลุ่มเชื้อยีสต์ตกตะกอน (Flocculate yeast) ซึ่งได้รับอนุเคราะห์จาก ดร.จรูญ คำนวนตา อดีตผู้อำนวยการ สกว. ฝ่าย 5 และ รศ.ดร. สาวิตรี ลิ่มทอง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ทำโดยการถ่ายเชื้อยีสต์ M30 ที่เลี้ยงในอาหาร MY agar slant นาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ลงในอาหารเหลว MY 100 มล. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm นาน 24 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักไวน์ต่อไป

การหมักไวน์จากน้ำต้มข้าวโพดด้วยเชื้อยีสต์ M30

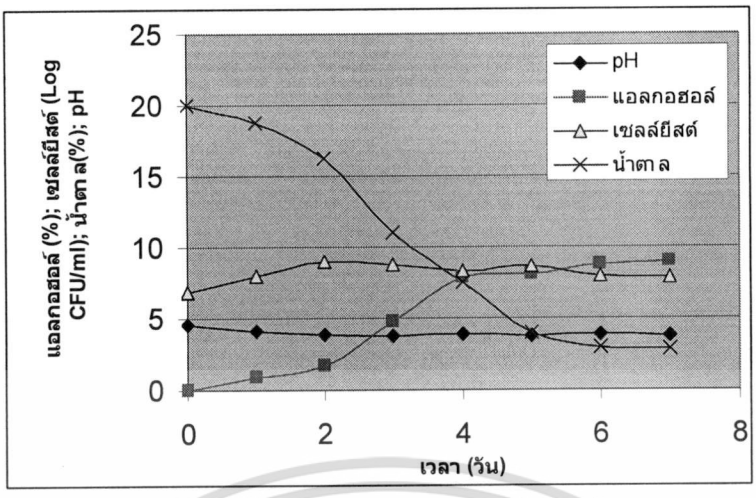
นำน้ำต้มข้าวโพดที่ได้จากกระบวนการผลิตข้าวโพดบรรจุกระป๋อง มาทำการปรับความหวานในน้ำหมักเท่ากับ 20% ปรับค่า pH เท่ากับ 4.5 เติมแอมโมเนียนซัลเฟต 0.05% ไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05% และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.2% (ดัดแปลงจาก Kumnuanta and Vongsuvanlert, 1982) แล้วจึงถ่ายเชื้อยีสต์ M30 ที่เตรียมขึ้นในปริมาณ 5% ทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 32 องศาเซลเซียส) ทำการติดตามสภาพการหมักโดยการวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebulliometer ปริมาณน้ำตาล Invert sugarโดย Lane and Enon (AOAC, 1995) ปริมาณเชื้อยีสต์ด้วย Haemacytometer ค่า pH ด้วยเครื่อง pH meter (Jenway 3510; UK) ค่าความเป็นกรด (Acidity) โดยการไตเตรทตามวิธีการของ AOAC (1995)

เมื่อการหมักสิ้นสุดให้นำน้ำไวน์ที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการพาสเจอไรส์ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการศึกษาการสร้างฟิล์มชีวภาพของแบคทีเรียอะซิติก *A. aceti* WK บนซังข้าวโพดเพื่อใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูในระดับห้องปฏิบัติการต่อไป

ผลการทดลอง

ในการหมักไวน์จากน้ำต้มข้าวโพดในถังหมักขนาด 100 ลิตร ที่อุณหภูมิห้อง (32 องศาเซลเซียส) ผลของการหมักแสดงอยู่ในภาพที่ 1 พบว่า เชื้อยีสต์ M30 เริ่มต้น 6.8 Log CFU/ml จากนั้นเชื้อยีสต์สามารถเพิ่มจำนวนอยู่ในระดับ 8 – 9 Log CFU/ml ในระหว่างวันที่ 2 – 6 และเริ่มลดลงเพียงเล็กน้อยในวันที่ 7 ของการหมัก สำหรับการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลจะลดลงตลอดการหมักจนกระทั่งเหลือ 2.8% เมื่อสิ้นสุดการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 ลักษณะการหมักไวน์น้ำต้มข้าวโพดด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomces cerevisiae* M30 ที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน

สำหรับปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้เพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 2 – 4 หลังจากนั้นปริมาณแอลกอฮอล์จะค่อนข้างคงที่โดยปริมาณแอลกอฮอล์เมื่อสิ้นสุดเท่ากับ 9%

ผลของการเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างกระบวนการหมักนั้นเปลี่ยนแปลงจากเมื่อเริ่มต้นหมัก (pH = 4.5) เพียงเล็กน้อย แสดงให้เห็นว่าในการหมักที่เกิดขึ้นไม่เกิดการปนเปื้อนของแบคทีเรีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
120217

การฆ่าเชื้อซังข้าวโพดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก

เนื่องจากการทดลองได้เลือกใช้ซังข้าวโพดเพื่อใช้ในการสร้างฟิล์มชีวภาพของเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* WK โดยซังข้าวโพดได้ขอจากโรงงานแปรรูปข้าวโพดบรรจุขวดสเตอริไลส์

อย่างไรก็ตามซังข้าวโพดเป็นเศษวัสดุที่เสื่อมเสียง่ายด้วยจุลินทรีย์ โดยเฉพาะเชื้อราในกลุ่ม *Fusarium* spp. ดังนั้นจึงจำเป็นต้องทำการฆ่าเชื้อซังข้าวโพดก่อนนำไปใช้งาน

การเตรียมซังข้าวโพด

นำซังข้าวโพดแห้งที่ได้รับจากโรงงานมาหั่นให้เป็นชิ้นขนาดประมาณ 0.5 – 1 นิ้ว

การฆ่าเชื้อซังข้าวโพดด้วยน้ำส้มสายชูหมัก

นำซังข้าวโพดที่ผ่านการเตรียมมาแช่ในน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้น 1% 1.5% 2.0% 2.5% 3.0% 3.5% และ 4.0% ที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 – 32 องศาเซลเซียส) นาน 14 วัน

สังเกตการเสื่อมเสียของซังข้าวโพด และทำการเลือกความเข้มข้นของน้ำส้มสายชูที่สามารถป้องกันการเสื่อมเสียของซังข้าวโพดได้

ผลการทดลอง

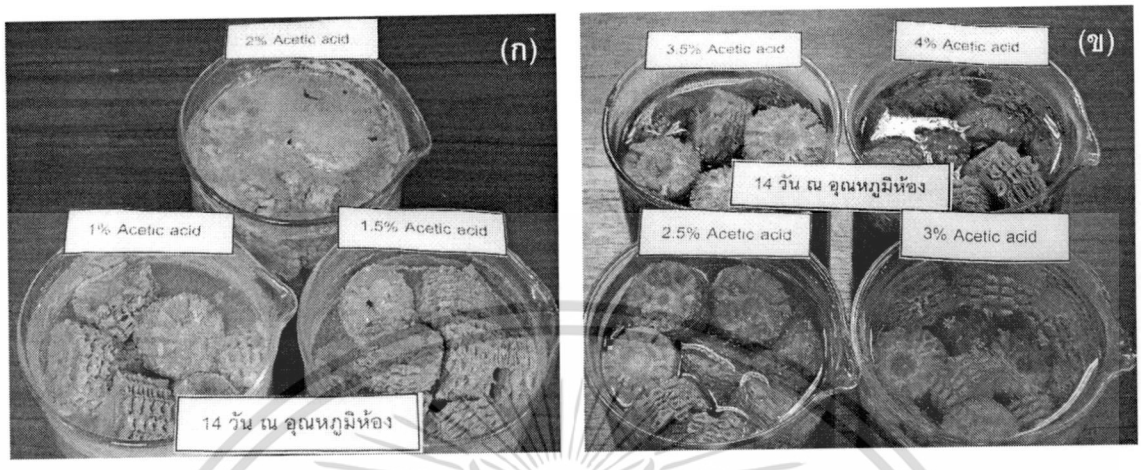
เนื่องจากการศึกษานี้จะใช้ซังข้าวโพดในการตรึงเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* WK ในลักษณะฟิล์มชีวภาพ ในขณะที่แบคทีเรีย *A. aceti* WK เป็นแบคทีเรียที่มีความสามารถในการสร้างกรดอะซิติกหรือน้ำส้มสายชู ดังนั้นในการฆ่าเชื้อจึงเลือกการแช่ในน้ำส้มสายชู เนื่องจากน้ำส้มสายชูสมบัติในการฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ (Anti – microbial Agent) ด้วย

สำหรับลักษณะการแช่ซังข้าวโพดในน้ำส้มสายชูแสดงอยู่ในภาพที่ 2

ภาพที่ 2 ลักษณะการฆ่าเชื้อซังข้าวโพดด้วยการแช่น้ำส้มสายชูที่ความเข้มข้น 1.0% – 4.0% ที่อุณหภูมิห้อง (30 -32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการแช่ซังข้าวโพดในน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 14 วัน เนื่องจากต้องการให้เกิดการเสื่อมเสียอย่างชัดเจน ในซังข้าวโพดที่แช่ในน้ำส้มสายชูในระดับความเข้มข้นที่ไม่เพียงพอ สำหรับผลการทดลองที่ได้แสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ผลของการแช่ซังข้าวโพดในน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 1.0% - 4.0% ที่อุณหภูมิห้อง (30 – 32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 14 วัน

จากภาพที่ 3ก พบว่า ซังข้าวโพดที่แช่ในน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 1.0% 1.5% และ 2.0% เกิดการเสื่อมเสียอย่างชัดเจน ในขณะที่ซังข้าวโพดที่แช่ในน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 2.5% 3.0% 3.5% และ 4.0% ไม่เกิดการเสื่อมเสียดังแสดงในภาพที่ 3ข

จากผลการทดลองที่ได้จึงควรเลือกใช้น้ำส้มสายชูในความเข้มข้นตั้งแต่ 3% ขึ้นไป ทั้งนี้เพื่อให้มี Safety factor ที่มั่นใจว่าซังข้าวโพดจะไม่เกิดการเสื่อมเสียแน่นอน

เมื่อทราบความเข้มข้นที่เหมาะสมแล้ว จึงทำการศึกษาถึงระยะเวลาในการแช่ซังข้าวโพดในน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 3.0% เป็นเวลา 1 – 5 วัน ทั้งนี้ผลการทดลองที่ได้พบว่า ซังข้าวโพดไม่มีการเสื่องเสียเลย **ดังนั้นจึงเลือกใช้การฆ่าเชื้อซังข้าวโพดโดยอาศัยการแช่ในน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้น 3% เป็นเวลา 1 วัน**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพด

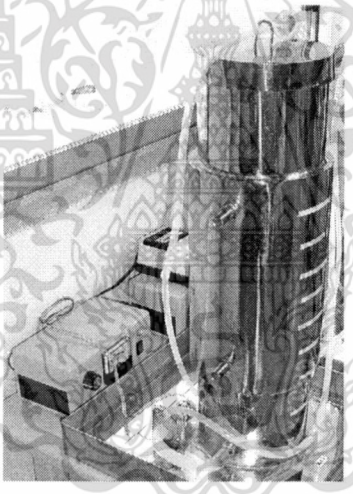
หัวเชื้อน้ำส้มสายชู

หัวเชื้อน้ำส้มสายชูที่ใช้ คือ หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล. หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK (ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า "หัวเชื้อน้ำส้ม WK") เป็นหัวเชื้อที่ผู้วิจัยได้คัดเลือกและผ่านขั้นตอนการปรับสภาพของหัวเชื้อมาเป็นเวลามากกว่า 4 ปี เพื่อใช้ในการผลิตกรดอะซิติกหรือน้ำส้มสายชู

การเตรียมการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อน้ำส้ม *A. aceti* WK บนซังข้าวโพด

ซังข้าวโพดที่ใช้จะต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้น 3% เป็นเวลา 1 วัน

นำซังข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแช่ในน้ำต้มเดือดที่ทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อล้างกรดออกจากซังข้าวโพด โดยทำการแช่ซังข้าวโพดในน้ำ 3 ครั้งๆละ 30 นาที จากนั้นจึงนำซังข้าวโพดบรรจุเข้าในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมัก ซึ่งทำจากสแตนเลส 304 ขนาดถัง 10 ลิตร ความจุของน้ำหมักในการศึกษาเท่ากับ 5 ลิตร สำหรับภาพที่ 4 เป็นลักษณะของถังหมักที่ใช้ในการทดลอง



ภาพที่ 4 ถังหมักที่ใช้ในการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ด้วยการตรึงบนซังข้าวโพด

ทำการเตรียมน้ำหมักซึ่งประกอบด้วย ไวน์น้ำต้มข้าวโพดที่ปรับความเข้มข้นทั้งหมด (ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และกรดอะซิติก) เท่ากับ 5% พร้อมทั้งเติมยีสต์สกัด 1% $(NH_4)_2 SO_4$ 0.05% และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.02%

เติมน้ำหมักลงในถังหมักในท่วมซังข้าวโพด โดยใช้น้ำหมักปริมาตร 5 ลิตร จากนั้นจึงถ่ายหัวเชื้อน้ำส้ม WK ลงไปในปริมาณ 5% ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการติดตามหัวเชื้อน้ำส้ม WK ในน้ำหมักตลอดช่วงของการหมักด้วยวิธีการ Spread Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE (ประกอบด้วย กลูโคส 100 กรัม ยีสต์สกัด 10 กรัม วุ้น 15 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร)

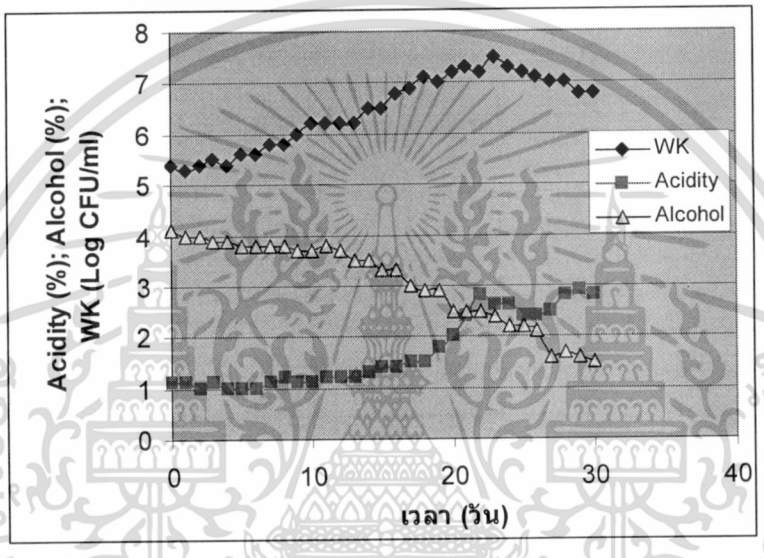
ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด ปริมาณแอลกอฮอล์และค่า pH พร้อมทั้งลักษณะของซังข้าวโพด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการติดตามการสร้างฟิล์มชีวภาพที่ซังข้าวโพด โดยการนำซังข้าวโพดที่ผ่านการหมักไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการทดลอง

จากการติดตามการหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อน้ำส้ม WK ดังแสดงในภาพที่ 5 พบว่า หัวเชื้อน้ำส้ม WK มีการเพิ่มจำนวนขึ้น แต่ใช้เวลาค่อนข้างนาน ดังจะสังเกตพบว่าการเพิ่มจำนวนเพิ่มขึ้นประมาณ 2 Log cycle ใช้เวลานานประมาณ 24 วัน อย่างไรก็ตามปริมาณหัวเชื้อน้ำส้ม WK นี้เป็นหัวเชื้อที่พบในน้ำหมักเท่านั้น



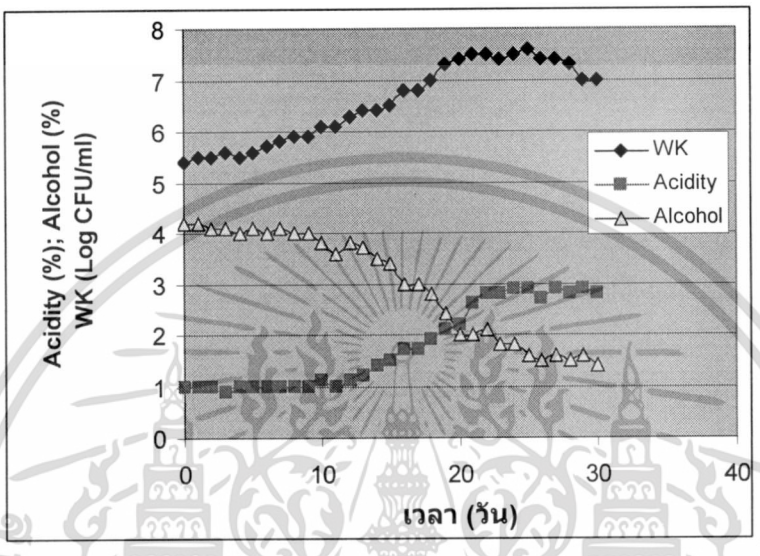
ภาพที่ 5 ลักษณะการหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ที่ตรึงบนซังข้าวโพดในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน (WK = หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK)

สำหรับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดอะซิติกที่หัวเชื้อน้ำส้ม WK สร้างขึ้นมา และการลดลงของปริมาณแอลกอฮอล์ให้ผลที่สอดคล้องกับการเพิ่มจำนวนอย่างช้าๆของหัวเชื้อน้ำส้ม WK แสดงให้เห็นว่าการเกิดฟิล์มของหัวเชื้อน้ำส้ม WK เกิดผลในการส่งเสริมการสร้างกรดอะซิติกที่ไม่มากนัก ทั้งนี้สังเกตได้จากการที่ปริมาณแอลกอฮอล์ยังคงเหลืออยู่ในน้ำหมักสูงถึง 1.5% เมื่อการหมักผ่านไปนานถึง 30 วันแล้ว ผลที่ได้นี้อาจเกิดเนื่องมาจากชิ้นของซังข้าวโพดที่บรรจุในถังหมักในระบบหมุนวนน้ำหมักนี้ก่อให้เกิดปัญหาของการกระจายยอากาศในระบบ จึงทำให้ปริมาณอากาศมีไม่เพียงพอที่จะก่อให้เกิดการออกซิไดส์แอลกอฮอล์ได้อย่างมีประสิทธิภาพและทำให้ปริมาณกรดอะซิติกถูกสร้างเพิ่มขึ้นได้เพียง 1.4% (เนื่องจากเติมกรดอะซิติกในน้ำหมักความเข้มข้น 1% เมื่อเริ่มต้นการหมัก) ภายในระยะเวลาการหมัก 30 วัน

จากผลการทดลองที่พบว่า ปริมาณกรดที่เกิดขึ้นในสภาพที่อาศัยการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ WK บนซังข้าวโพดแล้วทำให้เกิดผลเชิงลบต่อการสร้างกรดอะซิติก ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาการสร้างกรดอะซิติกในสภาพที่ไม่ใช้ซังข้าวโพด ผลการทดลองที่ได้แสดงในภาพที่ 6 ซึ่ง พบว่า การเจริญเติบโตของหัวเชื้อ WK ในถังหมักที่ไม่ใช้ซังข้าวโพดมีปริมาณที่ไม่แตกต่างกันนักกับที่พบในภาพที่ 5 (ซึ่งใช้ซังข้าวโพดในการตรึงเซลล์ของหัว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อ WK) นอกจากนี้ยังพบการสร้างกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นได้ประมาณ 1.8% ภายในระยะเวลา 22 วัน ซึ่งสอดคล้องกับการลดลงของปริมาณแอลกอฮอล์โดยเหลือแอลกอฮอล์น้ำหมักเมื่อสิ้นสุดการหมักประมาณ 1.4% จากผลการทดลองที่ได้นี้จึงยืนยันได้ถึงผลเชิงลบ (Negative effect) ต่อการสร้างกรดอะซิติกในสภาพตรึงเซลล์ไว้บนซังข้าวโพดในลักษณะของฟิล์มชีวภาพ ทั้งนี้ลักษณะของซังข้าวโพดภายหลังจากการหมักแสดงอยู่ในภาพที่ 7

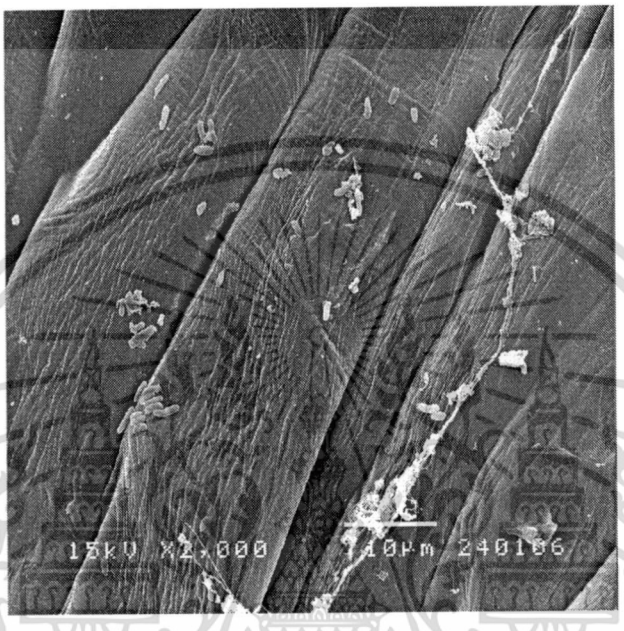


ภาพที่ 6 ลักษณะการหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในสภาพที่ไม่ใช้ซังข้าวโพดในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน
(WK = หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK)

ภาพที่ 7 ลักษณะของซังข้าวโพดภายหลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากผลเชิงลบที่พบในการทดลองนี้สามารถยืนยันได้เมื่อนำซังข้าวโพดภายหลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน มาถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV ดังแสดงในภาพที่ 8 ซึ่งพบว่า มีเซลล์ของหัวเชื้อน้ำส้ม WK เพียงเล็กน้อยที่สามารถเกาะที่ผิวของซังข้าวโพด จึงแสดงว่าหัวเชื้อ WK เป็นสาเหตุหลักในการหมักเพื่อผลิตกรดอะซิติก



ภาพที่ 8 ลักษณะการยึดเกาะของหัวเชื้อน้ำส้มสายชูบนซังข้าวโพดภายหลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน เมื่อถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV

อนึ่งสำหรับเหตุผลในการใช้ระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง เนื่องจากเป็นอัตราการหมุนวนสูงสุดที่ปั๊ม (Pump) ที่ใช้สามารถทำได้ซึ่งเป็นข้อจำกัดของปั๊มที่ใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพดโดยอาศัยการเคลือบซังข้าวโพดก่อนใช้ด้วยวุ้น (Agar) 0.1%

เนื่องจากการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อน้ำส้ม WK ก่อให้เกิดผลเชิงลบต่อการสร้างกรดอะซิติก ดังนั้นจึงทำการศึกษาเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพของการหมักโดยอาศัยการเคลือบซังข้าวโพดด้วยวุ้น 0.1% ก่อนที่นำไปใช้ในการทดลอง

การเตรียมการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อน้ำส้ม *A. aceti* WK บนซังข้าวโพด

ซังข้าวโพดที่ใช้จะต้องผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการแช่ในน้ำส้มสายชูหมักความเข้มข้น 3% เป็นเวลา 1 วัน จากนั้นจึงนำซังข้าวโพดที่ผ่านการฆ่าเชื้อมาแช่ในน้ำต้มเดือดที่ทิ้งไว้ให้เย็นเพื่อล้างกรดออกจากซังข้าวโพด โดยทำการแช่ซังข้าวโพดในน้ำ 3 ครั้งๆละ 30 นาที จากนั้นจึงนำซังข้าวโพดมาเคลือบด้วยการจุ่มลงในวุ้น 1% (ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที) ที่บรรจุอยู่ในบีกเกอร์ขนาด 1 ลิตร ก่อนที่ปล่อยให้แห้งในบีกเกอร์ (ที่สะอาดและฆ่าเชื้อแล้ว) เป็นเวลา 15 นาที

นำซังข้าวโพดเคลือบวุ้นบรรจุเข้าในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักซึ่งทำจากสแตนเลส 304 ขนาดถัง 10 ลิตร ความจุของน้ำหมักในการศึกษาเท่ากับ 5 ลิตร เช่นเดียวกับการศึกษาที่ผ่านมา

ทำการเตรียมน้ำหมักซึ่งประกอบด้วย ไวน์น้ำต้มข้าวโพดที่ปรับความเข้มข้นทั้งหมด (ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์และกรดอะซิติก) เท่ากับ 5% พร้อมทั้งเติมยีสต์สกัด 1% $(NH_4)_2 SO_4$ 0.05% และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.02%

เติมน้ำหมักลงในถังหมักในท่วมซังข้าวโพด โดยใช้น้ำหมักปริมาตร 5 ลิตร จากนั้นจึงถ่ายหัวเชื้อน้ำส้ม WK ลงไปในปริมาณ 5% ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการติดตามหัวเชื้อน้ำส้ม WK ในน้ำหมักตลอดช่วงของการหมักด้วยวิธีการ Spread Plate บนอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE (ประกอบด้วย กลูโคส 100 กรัม ยีสต์สกัด 10 กรัม วุ้น 15 กรัม และน้ำกลั่น 1 ลิตร)

ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด ปริมาณแอลกอฮอล์และค่า pH พร้อมทั้งลักษณะของซังข้าวโพด

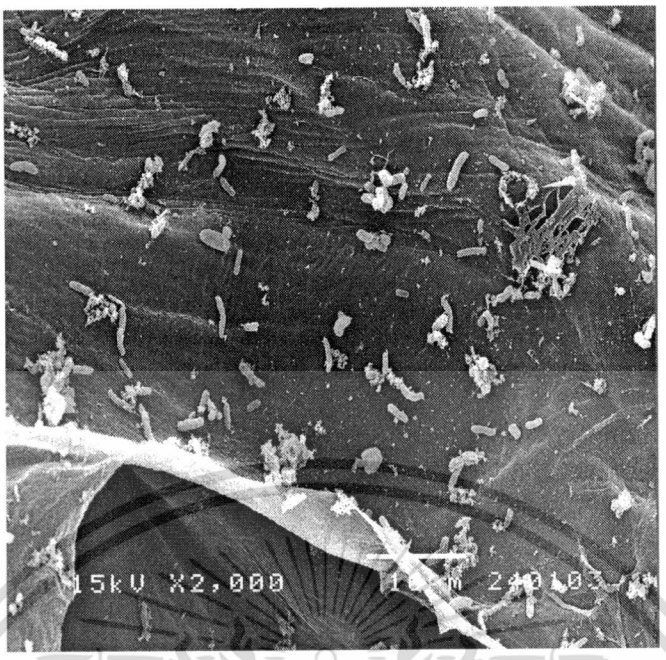
ทำการติดตามการสร้างฟิล์มชีวภาพที่ซังข้าวโพด โดยการนำซังข้าวโพดที่ผ่านการหมักไปส่องด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV ที่ศูนย์เครื่องมือวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ผลการทดลอง

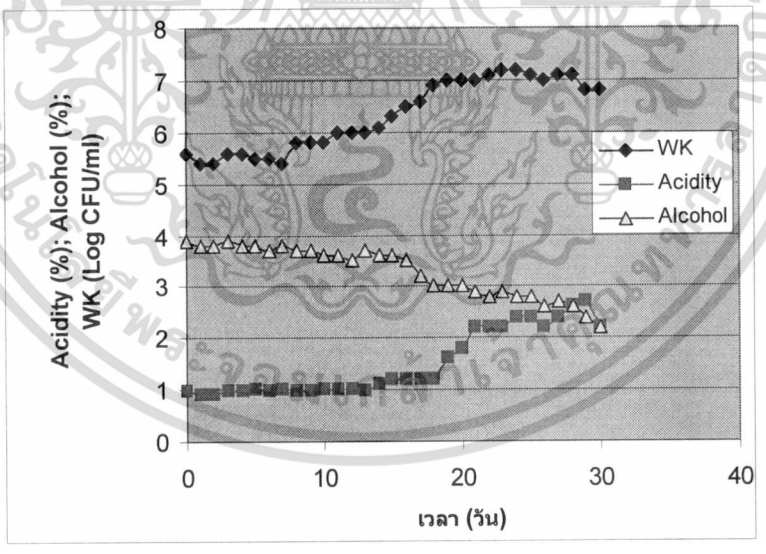
ลักษณะของการสร้างฟิล์มชีวภาพของหัวเชื้อ *A. aceti* WK บนซังข้าวโพดที่เคลือบวุ้น 0.1% สามารถทำให้เกิดการตรึงของหัวเชื้อน้ำส้ม WK (ภาพที่ 9) ได้มากกว่าที่พบในสภาพซังข้าวโพดที่ไม่เคลือบวุ้น (ภาพที่ 8) ทั้งนี้เนื่องจากวุ้นสามารถยึดเซลล์ได้ดีขึ้น

จากผลการตรึงเซลล์หัวเชื้อน้ำส้ม WK ได้มากขึ้น จึงทำให้ผลของการหมักเพื่อผลิตกรดอะซิติกเพิ่มขึ้น 1.7% ภายใน 29 วันของการหมัก (ดังแสดงในภาพที่ 10) ซึ่งมีประสิทธิภาพที่ดีกว่าในสภาพที่ใช้ซังข้าวโพดที่ไม่เคลือบวุ้น (ภาพที่ 6) แต่ให้ผลที่ใกล้เคียงกับกรณีที่ไม่ใช้ซังข้าวโพด (ภาพที่ 7)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 9 ลักษณะการยึดเกาะของหัวเชื้อน้ำส้มสายชูบนซังข้าวโพดที่เคลือบด้วยวุ้น 0.1% ภายหลังจากการหมักด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน เมื่อถ่ายด้วยกล้องจุลทรรศน์อิเล็คตรอน JEOL รุ่น JSM – 5410LV



ภาพที่ 10 ลักษณะการหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK ในสภาพที่ใช้ซังข้าวโพดเคลือบด้วยวุ้น 0.1% ในถังหมักระบบหมุนวนน้ำหมักที่อัตรา 100 ลิตร / ชั่วโมง ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 วัน

(WK = หัวเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้