รายงานการวิจัย

การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำต้มแห้วที่เป็นผลพลอยได้

Development of Vinegar Production Process from By-product Water of Boiled Chinese Water Chestnut (CWC)

ชื่อผู้วิจัย : นายวราวุฒิ ครูส่ง

ได้รับทุนสนับสนุนงานวิจัยจากเงินรายได้ ประจำปีงบประมาณ 2554

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

กิตติกรรมประกาศ

ผู้วิจัยขอขอบคุณคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ได้อนุมัติทุนวิจัยจากเงินรายได้ของคณะฯ พร้อมกันนี้ผู้วิจัยขอขอบคุณ น.ส.จันทร์จิรา วิริยะทรัพย์ไพศาล น.ส.จิรนันท์ ศรีสุธรรม น.ส.สุรารักษ์ คำเอี่ยม และ น.ส.เอมมิกา ปานอุทัย ที่ช่วยเหลือในการวิเคราะห์ในห้องปฏิบัติการจนงานสำเร็จลุล่วง

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

RCH
TP
429
ว325ก
ฉ.1

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....120342
วัน, เดือน, ปี.....15 ก.พ. 2555

b.12340629
i.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

ส่วนที่ 1 รายละเอียดเกี่ยวกับโครงการ

ชื่อโครงการ (ภาษาไทย) การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำต้มแห้วที่เป็นผลพลอยได้

(ภาษาอังกฤษ) Development of Vinegar Production Process from By-product Water of Boiled Chinese Water Chestnut (CWC)

ได้รับทุนอุดหนุนการวิจัยจากเงินรายได้ คณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล.
ประจำปี 2554 จำนวนเงิน 30,000 บาท
ระยะเวลาทำการวิจัย 1 ปี ตั้งแต่ เดือนตุลาคม พ.ศ. 2553 ถึง เดือนกันยายน พ.ศ. 2554

หน่วยงานและผู้ดำเนินการวิจัยพร้อมหน่วยงานที่สังกัดและเลขหมายโทรศัพท์

หัวหน้าโครงการวิจัย

ชื่อ-สกุล (ภาษาไทย) นายวราวุฒิ ครูส่ง

ชื่อ-สกุล (ภาษาอังกฤษ) MR.WARAWUT KRUSONG

ตำแหน่งทางวิชาการ รองศาสตราจารย์ สัดส่วนการวิจัย 100%

สาขาวิชา เทคโนโลยีการหมัก

คณะ อุตสาหกรรมเกษตร

โทรศัพท์ 02-329-8000 ต่อ 7278 โทรสาร 02-329-8527

E-mail kkwaranu@kmitl.ac.th

ส่วนที่ 2 บทคัดย่อ

น้ำต้มแห้วสามารถนำมาใช้ในการหมักไวน์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้ แต่ต้องเติมสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการหมักของยีสต์ด้วย ในการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้ว (Chinese water chestnut wine) โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30 โดยปรับสภาพน้ำแห้วที่จะใช้ในการหมักไวน์ให้มีค่าพีเอช 5.5 และปรับปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น 20°Brix แมกนีเซียมซัลเฟต 0.02% ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) 0.5% และ ยีสต์สกัด 0.1% ถ่ายปริมาณเชื้อยีสต์เริ่มต้น 5% ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง ได้แอลกอฮอล์ประมาณ 10-12% ภายใน 7 วัน

การปรับสภาพ**"หัวเชื้อน้ำส้ม *Acetobacter aceti* FT"** ในระยะเวลา 3 เดือน สามารถทำให้ **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้ว โดยอาศัยการปรับสภาพ **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ในสารอาหารที่มีปริมาณกรด 4.5% และปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% หรือที่เรียกว่าปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด (Total concentration; TC) เท่ากับ 8 ทำการปรับสภาพ **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** จำนวน 20 รอบ (เป็นเวลา 82 วัน)

การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้วด้วย **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ในถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร ปริมาตรน้ำหมัก 14 ลิตร ใช้การให้อากาศด้วยการเขย่าถังช่วงเช้า-เย็น ทำการหมักโดยอาศัยระบบการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ระยะเวลาในการหมักแต่ละรอบอยู่ระหว่าง 20-25 วัน การหมักในระบบนี้จัดทำเพื่อผู้ประกอบการระดับ OTOP เพื่อใช้ค่าใช้จ่ายในการผลิตที่ไม่สูงนัก

การศึกษาเปรียบเทียบด้านกลิ่นและรสชาติของ "Water Chestnut Vinegar" กับน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตในประเทศ Water Chestnut Vinegar ให้กลิ่นที่ดีใกล้เคียงกันกับ Pineapple Vinegar แต่ด้อยกว่า Corn Cider Vinegar อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ Rice Vinegar ให้ผลด้านกลิ่นต่ำที่สุด ส่วนในกรณีของรสชาติ พบว่า Rice

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Vinegar ให้รสชาติภายในลำคอที่นุ่มและดีที่สุด ในขณะที่ Corn Cider Vinegar รองลงมา ส่วน Pineapple Vinegar และ Water Chest Vinegar ให้รสชาติที่เป็นกรดที่ค่อนข้างแรง

Chinese water chestnut boiled water (CWC-BW) can be used as substrate for wine making. The nutrients containing 20°Brix sugar, 0.02% MgSO , 0.5% di-ammonium hydrogen phosphate and 0.1% yeast extract were added into CWC-BW with pH 5.5 adjustment. After fermentation by *Saccharomyces cerevisiae* M30 at room temperature for 7 d, the 10-12%v/v alcohol content in CWC-BW wine was obtained.

After adaptation of *Acetobacter aceti* FT, an vinegar producing bacteria, for 82 d with 20 cycles of adaptation, the FT was suitable for vinegar production by using CWC-BW wine containing 4.5% acidity and 3.5% alcohol (called TC =8) as substrate.

The FT culture was used for CWC-BW vinegar production in 20L plastic tank. The fermentation conditions were 14L fermenting mash, aeration by shaking the tank twice a day, semi-continuous at room temperature. The 20-25 d of fermentation time was taken place in each cycle. It was the longer process, but it is suitable for small scale producer due to the low production cost.

Comparison of flavor and taste of vinegar among CWC-BW vinegar, corn cider vinegar, rice vinegar and pineapple vinegar was conducted. Flavor of CWC-BW vinegar was acceptable as same as pineapple vinegar, but were lower than corn cider vinegar ($p \leq 0.05$). While rice vinegar provided the lowest acceptance in flavor. In case of vinegar taste, the rice vinegar showed the highest acceptance ($p \leq 0.05$). Both pineapple vinegar and CWC-BW vinegar showed the strong acid taste while corn cider vinegar provided the more smooth taste than both.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญเรื่อง

	หน้า
บทคัดย่อ	3
บทนำ	8
วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย	8
ขอบเขตของโครงการวิจัย	8
การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง	9
วิธีการทดลอง	11
ผลการทดลอง	13
คุณภาพของน้ำต้มแห้ว	13
การหมักไวน์น้ำต้มแห้ว	13
การปรับสภาพ “หัวเชื้อน้ำส้ม FT” ให้เหมาะสมกับการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว	16
การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้วในถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร	17
สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ	23
บรรณานุกรม	24
ภาคผนวก	25

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	สมบัติของน้ำต้มแห้วที่ผ่านการต้มโดยที่ระยะเวลาต่างกัน	13
2	สรุปสูตรในการผลิตไวน์น้ำต้มแห้ว	15
3	สภาพการหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วจาก "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร	20
4	เปรียบเทียบด้านกลิ่นและรสชาติของ "Water Chestnut Vinegar" กับน้ำส้มสายชูหมักในประเทศ	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	ผลของน้ำตาลต่อประสิทธิภาพการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้วที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน: (ก) *S. cerevisiae* M30; (ข) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์; (ค)ปริมาณกรด และ (ง) แอลกอฮอล์	14
2	เปรียบเทียบประสิทธิภาพการหมักไวน์น้ำต้มแห้วที่อุณหภูมิห้อง (32-34°ซ) และอุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 7 วัน: (ก) ปริมาณเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30; (ข) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์; (ค)ปริมาณกรด และ (ง) แอลกอฮอล์	14
3	ลักษณะของแห้ว (ก) และน้ำไวน์ที่ได้จากการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว (ข) และถังหมักที่ใช้ในการหมักน้ำต้มแห้วเพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก (ค)	15
4	ลักษณะของขั้นตอนการปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ให้เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้ว	16
5	ประสิทธิภาพการสร้างกรดของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" เมื่อทำการปรับสภาพจำนวน 20 รอบการหมัก เป็นเวลา 84 วัน โดยใช้ความเข้มข้นทั้งหมด (Total concentration) เท่ากับ 8	16
6	ลักษณะของถังหมักพลาสติกขนาด 20 ลิตร ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้ว	17
7	ผลของการสร้างกรดอะซิติกของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร (ปริมาตร 10 ลิตร) ในสภาพที่มีการให้อากาศด้วยการเขย่าเช้าและเย็น (aeration) และสภาพที่ไม่มีการให้อากาศด้วยการวางตั้งนิ่งๆ (no aeration)	18
8	ผลของการสร้างกรดอะซิติกของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร (ปริมาตร 10 ลิตร) ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) และที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องด้วยการแช่ถังหมักในน้ำ (controlled temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น	19
9	ผลของปริมาตรน้ำหมักต่อการสร้างกรดอะซิติกของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น	19
10	การสร้างกรดอะซิติกของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น จำนวน 5 รอบ ของการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง	20
11	การติดตามปริมาณเซลล์ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" และค่า DO ในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น จำนวน 5 รอบ ของการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง	21
12	ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วโดยเรียกชื่อว่า ""Water Chestnut Vinegar"	21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทนำ

สืบเนื่องจากคณะอุตสาหกรรมเกษตร สจล. ได้ทำความร่วมมือกับจังหวัดสุพรรณบุรีในการช่วยเหลือด้านวิชาการสำหรับพัฒนาหรือปรับปรุงผลิตภัณฑ์อาหารของกลุ่มเกษตรกร / กลุ่มแม่บ้าน โดยในช่วงเริ่มต้นของความช่วยเหลือดังกล่าวทางคณะฯได้เลือกวัตถุดิบ ๒ ประเภท ประกอบด้วย แห้ว และปลาสลิด สำหรับงานวิจัยที่นำเสนอได้มุ่งเน้นการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่จากแห้ว

จากที่หัวหน้าโครงการวิจัยได้ทำการศึกษาเกี่ยวกับการพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักอย่างต่อเนื่องตั้งแต่ปี พ.ศ. 2544 เป็นต้นมา และได้ทำการศึกษาพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจนสามารถยื่นจดสิทธิบัตรสิ่งประดิษฐ์ เรื่อง "กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ" ในนามของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อวันที่ 13 ตุลาคม พ.ศ. 2551 (วราวุฒิ ครูส่ง และคณะ, 2553) นอกจากนี้ยังพัฒนาความหลากหลายของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมัก เช่น น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพด (Corn vinegar) มะม่วง (Mango vinegar) สับปะรด (Pineapple vinegar) มะขาม (Tamarind vinegar) ข้าวเกษตรอินทรีย์ (Organic rice vinegar) แอปเปิ้ล (Apple cider vinegar) และกากแครอท (Carrot pomace vinegar) เป็นต้น ดังนั้นเพื่อให้เกิดการพัฒนาผลิตภัณฑ์ใหม่จากแห้วตามวัตถุประสงค์ของความช่วยเหลือดังกล่าว หัวหน้าผู้วิจัยจึงให้ความสนใจในการพัฒนาน้ำส้มสายชูหมักจากแห้ว

อย่างไรก็ตามในกระบวนการผลิตแห้วแปรรูป จำเป็นต้องนำแห้วไปผ่านขั้นตอนการต้มก่อน โดยต้องทำการปอกเปลือกแห้วก่อนเสมอซึ่งจะช่วยลดปัญหาการตกค้างของยาฆ่าแมลงในน้ำต้มแห้วได้ ดังนั้นวัตถุดิบที่เหมาะสมที่จะนำมาใช้น่าจะเป็นน้ำที่เหลือจากการต้มแห้ว (ที่ผ่านการปอกเปลือกก่อนต้ม) ซึ่งจัดเป็นผลพลอยได้ (By-product) ทั้งนี้ตามปกติแล้วจะเป็นน้ำเสีย ที่ต้องนำไปผ่านการบำบัด นอกจากนี้แล้วจากที่หัวหน้าโครงการวิจัยมีประสบการณ์ในการพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อนซึ่งเป็นผลพลอยได้จากกระบวนการผลิตข้าวโพดฝักอ่อนบรรจุในภาชนะปิดสนิทจนกระทั่งสามารถจำหน่ายได้ จึงทำให้เกิดความมั่นใจต่อการพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำต้มแห้วดังกล่าว

อนึ่งกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูที่หัวหน้าโครงการวิจัยได้ประดิษฐ์ขึ้นนั้นต้องใช้ถังหมักที่ออกแบบโดยเฉพาะ (ตามสิทธิบัตรที่กล่าวถึงข้างต้น) แต่มีค่าใช้จ่ายในลงทุนสูง ดังนั้นในโครงการนี้จึงมุ่งเน้นที่จะพัฒนาระบบการผลิตที่ให้การลงทุนต่ำที่เหมาะสมกับกลุ่มเกษตรกร / กลุ่มแม่บ้าน ส่วนสภาพการหมักยังคงเลือกใช้การหมักในสภาพกึ่งอัตโนมัติ (Semi-continuous process fermentation) ซึ่งสามารถหมักได้กรดร้อยละ 5-6 ภายในระยะเวลา 14-21 วัน

วัตถุประสงค์ของโครงการวิจัย

ประกอบด้วย

1. พัฒนากระบวนการผลิตไวน์น้ำต้มแห้ว (ที่ผ่านการปอกเปลือกก่อนต้ม)
2. พัฒนาหัวเชื้อที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้ว
3. พัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้ว

ขอบเขตของโครงการวิจัย

มุ่งเน้นการวิจัยถึงศักยภาพในการนำน้ำต้มแห้ว (ที่ผ่านการปอกเปลือกก่อนต้มจากกระบวนการแปรรูปแห้ว) มาใช้ในการผลิตไวน์ จากนั้นจึงนำไวน์น้ำต้มแห้วมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูหมักในสภาพการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous fermentation) เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์ใหม่จากแห้วของจังหวัดสุพรรณบุรีที่มีรสชาติเป็นเอกลักษณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การทบทวนวรรณกรรมที่เกี่ยวข้อง (Literature review)

กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจำเป็นต้องอาศัยปฏิกิริยาออกซิเดชันเพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์หรือไวน์ให้เป็นน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิติค (Acetic acid) โดยเชื้อแบคทีเรียอะซิติกสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* ในสภาพที่มีอากาศ ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำส้มสายชู (มอก. 83-2527) ได้แบ่งชนิดของน้ำส้มสายชูออกเป็น 4 ประเภท ประกอบด้วย น้ำส้มสายชูหมัก น้ำส้มสายชูกลั่น น้ำส้มสายชูเทียม และน้ำส้มสายชูปลอม (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2527) โดยที่น้ำส้มสายชูหมักเป็นน้ำส้มสายชูที่เกิดจากกระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน คือ ขั้นตอนการหมักไวน์ (ด้วยเชื้อยีสต์ในสภาพไม่มีอากาศ) และขั้นตอนการหมักน้ำส้มสายชู (ด้วยแบคทีเรียอะซิติกในสภาพที่มีอากาศ) (วราวุฒิ ครูส่ง และคณะ, 2553) ตามปกติแล้วกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูในประเทศทั้งน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นในระดับอุตสาหกรรมนิยมใช้เทคโนโลยีต่างชาติโดยเฉพาะถังหมัก "Acetator" ซึ่งเป็น Know-how ที่ต้องนำเข้าและยังจำเป็นต้องซื้อสารอาหารที่ใช้ในการหมักจากต่างประเทศเป็นประจำ

การค้นคว้าวิจัยและพัฒนาเกี่ยวกับวัตถุดิบที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์เพื่อใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูหมัก ทำให้สามารถผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้หลากหลายชนิด เช่น Cider (Softly และ Huang, 1987; US Patent 4701336) ข้าว (Kubota และคณะ, 1990) ข้าวเกษตรอินทรีย์ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2551ข) กล้วยสุก (Surash and Ethiraj, 1991) มะม่วง (Gard และคณะ, 1995; วราวุฒิ ครูส่ง, 2550) น้ำมะพร้าวแก่ (Krishnankutty, 1995) น้ำหางนม (Tuckett และคณะ,1996) หัวหอมสายพันธุ์ญี่ปุ่น (Horiuchi และคณะ,1999) อ้อย (วราวุฒิ ครูส่ง, 2545) รวมถึงผลพลอยได้จากกระบวนการแปรรูป เช่น เศษเหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปมะม่วง (Ethiraj และ Surash, 1992) และน้ำลวกข้าวโพดฝักอ่อน (วราวุฒิ ครูส่ง, 2547; 2551ก; 2552; วราวุฒิ ครูส่ง และคณะ, 2550)

ยีสต์ที่ใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ได้ผ่านการคัดเลือกขึ้นมานับตั้งแต่ บุญเทียม พันธุ์เพ็ง (2523) จรูญ คำนวนตา (2523 และ 2524) เป็นต้นมา เป็นที่สังเกตว่าเชื้อยีสต์ที่ผ่านการคัดเลือกได้มีการพัฒนาอย่างต่อเนื่องจนถึงการคัดเลือกยีสต์ที่ตกตะกอนง่ายซึ่งพบว่า เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* M30 เป็นเชื้อยีสต์ตกตะกอนที่เหมาะสมสายพันธุ์หนึ่งซึ่งสามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส (Kumnuanta และ Vongsuvanlert, 1982) และมีความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์ได้ดีเท่าเทียมกับยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 ซึ่งเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ตกตะกอนและเป็นที่นิยมใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมส่วนมาก (จรูญ คำนวนตา, 2523 และ 2524) สำหรับแหล่งที่มาของ *S. cerevisiae* M30 คือ Mutant ที่ได้จาก spontaneous mutation ของยีสต์ *S. cerevisiae* SC90 ในโรงงานสุราอยุธยา (จรูญ คำนวนตา, 2523 และ 2524; นงพงา คุณจักร, 2530)

แห้วหรือแห้วจีน (Chinese water chestnut; CWC) เป็นพืชดั้งเดิมของแถบร้อน สามารถขึ้นเองตามธรรมชาติ มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *Eleocharisdulcis* Trin. หรือเรียกชื่ออื่นว่า *E. tuberosa* Schult. หรือ *Scirpus tuberosus* Roxb. อยู่ในตระกูล Cyperaceae เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยวและจัดเป็นกกชนิดหนึ่งคล้ายกับหญ้าทรงกระเทียม แต่เป็นคนละชนิด (specie) กัน แห้วเป็นพืชปีเดียว ลำต้นแข็ง อวบ ลำต้นกลวง ตั้งตรง มีความสูง 1-1.5 เมตร ดอกเกิดที่ยอดของลำต้นดอกตัวเมียเกิดเมื่อต้นสูง 15 เซนติเมตร เหนือน้ำ แล้วจึงเกิดดอกตัวผู้ตามมา เมล็ดมีขนาดเล็ก รากหรือหัวเป็นพวกไรโซม หรือ คอร์ม (rhizomes or corms) มี 2 ประเภท หัวประเภทแรกเกิดเมื่อต้นแห้วอายุ 6-8 สัปดาห์ ทำให้เกิดต้นแห้วขยายเพิ่มขึ้น หัวประเภทที่สองเกิดหลังจากแห้วออกดอกเล็กน้อยโดยทำมุม 45 องศากับระดับดิน และลึกประมาณ 12 เซนติเมตรจากระดับดิน หัวแห้วระยะเริ่มแรกเป็นสีขาว ต่อมาเกิดเป็นเกล็ดหุ้มสีน้ำตาลไหม้จนกระทั่งแก่ หัวมีขนาดแตกต่างกัน ขนาดที่ส่งตลาด 2-3.5 ซม. ต้นหนึ่งๆ แตกหน่อออกไปมากและได้หัวประมาณ 7-10 หัว การปลูกแห้วเป็นการค้าในประเทศไทยไม่ปรากฏแน่ชัด แต่มีผู้นำแห้วมาปลูกที่จังหวัดเชียงรายนานมาแล้วและได้นำมาปลูกได้ผลดีในเขตอำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี เมื่อปี พ.ศ. 2493 ต่อมามีการขยายเนื้อที่ปลูกแห้วเพิ่มขึ้นทำให้ราคาลดลงเรื่อยๆ จนปัจจุบันมีการขยายเนื้อที่ปลูกไม่กว้างขวางมากนักโดยมีการปลูกมากมากแถวสองฝั่งของแม่น้ำท่าจีน เขตอำเภอเมือง อำเภอศรีประจันต์ อำเภอสามชุก จังหวัดสุพรรณบุรี เนื้อที่ปลูกประมาณ 500-1000 ไร่ (สำนักงานเกษตรอำเภอศรีประจันต์. มปป.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.35 แป้ง 7.34 เส้นใย 0.94 เถ้า 1.19 สำหรับวิตามินและแร่ธาตุประกอบด้วย (มิลลิกรัม) กรดแอสคอบิค 9.2 ไนอาซิน 0.007 ไรโบฟลาวิน 0.007 ไทอามีน 0.24 ฟอสฟอรัส 52.2-65 เหล็ก 0.43-0.6 ส่วนแคลเซียมพบว่ามี 2-10 มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม ส่วนที่บริโภคได้ (สำนักงานเกษตรอำเภอศรีประจันต์. มปป.)

ในงานวิจัยนี้จึงเป็นงานวิจัยที่มุ่งเน้นการวิจัยตั้งแต่กระบวนการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้ว (ที่ผ่านการปอกเปลือกแล้ว) ด้วยเชื้อยีสต์ตกตะกอน *S. cerevisiae* M30 เพื่อนำไวน์ที่ผลิตได้ไปหมักน้ำส้มสายชูด้วยหัวเชื้อแบคทีเรียอะซิติก *Acetobacter aceti* WK ในถังแกลลอนขนาด 20 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วิธีการทดลอง

เชื้อจุลินทรีย์

เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30

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

ในการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ทำโดยการเขี่ย **"เชื้อยีสต์ M30"** ที่เลี้ยงในอาหารเลี้ยงเชื้อ MY agar slant (ภาคผนวก) นาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ลงในอาหารเหลว MY 100 มล. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm นาน 24 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักไวน์ต่อไป

แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* FT

หัวเชื้อที่ใช้ คือ *A. aceti* FT (ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"**) เป็นหัวเชื้อน้ำส้มสายชูที่คัดเลือกและปรับปรุง ตั้งแต่ปี พ.ศ. 2548 - ปัจจุบัน ที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

"หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ต้องได้รับการปรับสภาพให้เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้วที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูก่อน

การผลิตไวน์น้ำต้มแห้ว

นำน้ำต้มแห้วมาปรับสภาพความหวานในน้ำหมักเท่ากับ 18 องศาบริกซ์ ปรับค่า pH เท่ากับ 5.5 และเติมสารอาหาร(ร้อยละ) แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05 และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.02 (ดัดแปลงจาก Kumnuanta และ Vongsuvanlert, 1982) จากนั้นนำไปผ่านการต้มฆ่าเชื้อจนเดือด เป็นเวลา 30 นาที ทิ้งไว้ให้เย็นก่อนที่จะถ่าย **"เชื้อยีสต์ M30"** ปริมาตรร้อยละ 5 หมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส

ทำการติดตามสภาพการหมักด้วยการเก็บตัวอย่างทุกวันเพื่อตรวจวิเคราะห์แอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebulliometer ค่าความหวานด้วยการวัดค่าบริกซ์ด้วยเครื่อง Refractometer ค่า pH ด้วยเครื่องวัดค่า pH และค่าความเป็นกรด-ด่างด้วยการไตไตรชั่น

ปัจจัยที่ทำการศึกษาในการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว

- **ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้ว** : ปรับความหวานด้วยน้ำตาลทรายเท่ากับ (°Brix) 15 18 และ 20
- **อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว** : อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักไวน์น้ำต้มแห้วที่ 30°ซ และอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 32-34°ซ)

เมื่อการหมักสิ้นสุดให้นำน้ำไวน์ที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการพาสเจอไรส์ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมัก น้ำส้มสายชูต่อไป

การปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ให้เหมาะสมกับการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว

นำสารละลายไวน์น้ำต้มแห้วที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% มาปรับสภาพด้วยการเติมน้ำส้มสายชูในปริมาณกรดอะซิติก 4.5% ก่อนที่นำไปเลี้ยง **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ที่อุณหภูมิห้อง (30-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7-15 วัน เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมักลดลงต่ำกว่าหรือเท่ากับ 0.5% จะทำการดึงน้ำหมักออก 40% และเติมสารละลายไวน์น้ำต้มแห้วใหม่เข้าไป 40% เช่นกัน ดำเนินการเช่นเดียวกันนี้อย่างต่อเนื่องเป็นเวลาประมาณ 3 เดือน จึงนำ**"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ไปใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วต่อไป

การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้ว

ทำการปรับสภาพไวน์ให้มีปริมาณกรดในน้ำส้มสายชูเท่ากับร้อยละ 1 ปริมาณแอลกอฮอล์ ร้อยละ 8 และเติมแอมโมเนียมไดไฮโดเจนฟอสเฟตร้อยละ 1 (วราวุฒิ, Unpublished data) ก่อนที่จะถ่าย **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ทำการหมักปริมาตร 13 ลิตร ในถังพลาสติก (Food grade) ขนาด 20 ลิตร โดยติดตามการเปลี่ยนแปลงของ pH ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดในระหว่างการหมักเพื่อนำมาวิเคราะห์หาช่วงเวลาที่เหมาะสมในการหมักแบบ Semi-continuous โดยใช้อัตราการดึงผลิตภัณฑ์ออกร้อยละ 40 ก่อนที่จะเติมสารอาหารใหม่เข้าไปในปริมาตรเท่าเดิม

การเปรียบเทียบกลิ่นของน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำต้มแห้วกับน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตในประเทศ

นำน้ำส้มสายชูที่ได้ไปผ่านการกรองและทำการเปรียบเทียบกลิ่นและรสของน้ำส้มสายชูที่ได้โดยอาศัยการทดสอบทางประสาทสัมผัส ทั้งนี้ทำการเปรียบเทียบกับกลิ่นของน้ำส้มสายชูหมักชนิดต่างๆ ในประเทศไทย โดยอาศัย 5-point Hedonic scale

การวิเคราะห์ทางสถิติ

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) โดยวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for Social Science)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

คุณภาพของน้ำต้มแห้ว

ก่อนที่จะทำการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้ว ควรที่จะทราบถึงสมบัติเบื้องต้นของน้ำต้มแห้วก่อน ดังนั้นจึงได้นำน้ำต้มแห้วที่เตรียมจากการต้มแห้วในปริมาณ 10 กิโลกรัม ด้วยน้ำ 20 ลิตร ใช้เวลาในการต้ม 60 90 120 และ 180 นาที สมบัติของน้ำต้มแห้วที่ได้แสดงในตารางที่ 1 พบว่า ค่า pH ของน้ำต้มแห้วไม่แตกต่างกันเมื่อระยะเวลาการต้มนานขึ้น แต่ปริมาณของของแข็งที่ละลายได้และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีปริมาณสูงขึ้นแต่ไม่มากนัก แสดงให้เห็นว่าน้ำต้มแห้วต้องผ่านการปรับสูตรก่อนที่จะหมักด้วยเชื้อยีสต์เพื่อผลิตไวน์จากน้ำต้มแห้วต่อไป

ตารางที่ 1 สมบัติของน้ำต้มแห้วที่ผ่านการต้มโดยที่ระยะเวลาต่างกัน

เวลา(นาที)	pH	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (°Brix)	น้ำตาลรีดิวซ์ (%)
60	6.78	1.4	0.27
90	6.78	2.2	0.38
120	6.77	2.8	0.45
180	6.66	3.4	0.66

การหมักไวน์จากน้ำต้มแห้ว

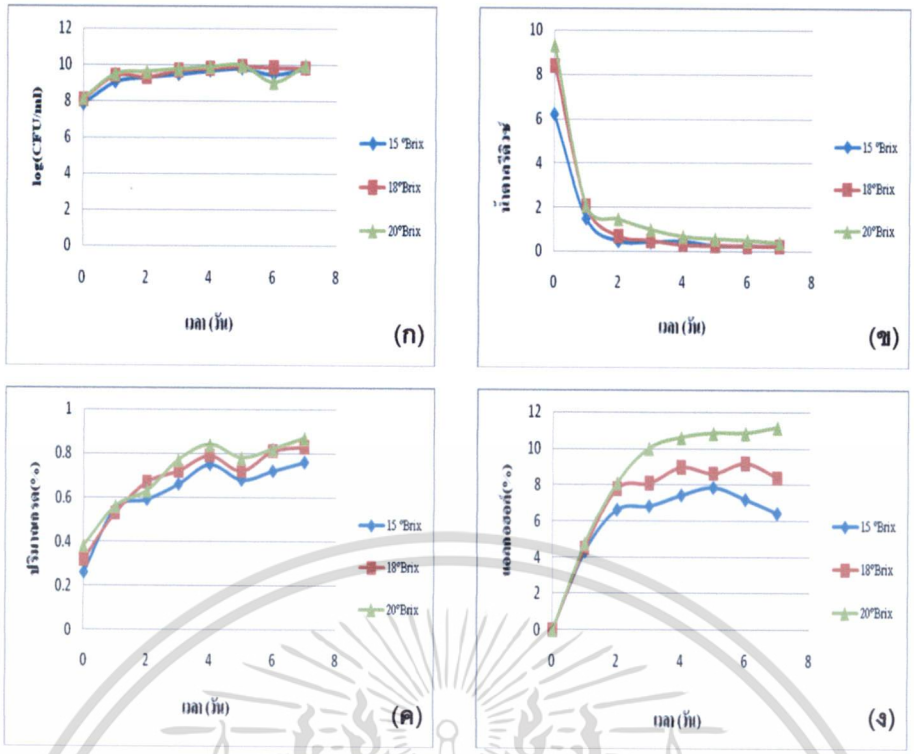
ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้ว

น้ำต้มแห้วที่ใช้ในการหมักไวน์จะต้องเติมสารอาหารที่ประกอบด้วย ยีสต์สกัด 0.5% แมกนีเซียมซัลเฟต 0.02% และไดแอมโมเนียมไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05% จากนั้นจึงนำมาปรับความหวานด้วยน้ำตาลทรายเท่ากับ (°Brix) 15 18 และ 20 ทำการฆ่าเชื้อโดยการต้มเป็นเวลาประมาณ 15 นาที จึงทำการถ่าย **"เชื้อยีสต์ M30"** ในปริมาณ 5% เมื่อส่วนผสมเย็น ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง (32-34°ซ) เป็นเวลา 7 วัน ผลการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 1ก-1ง พบว่า ปริมาณเซลล์ยีสต์ที่เจริญในระหว่างกระบวนการหมักไม่มีความแตกต่างกัน (ภาพที่ 1ก) ขณะที่ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ลดลงเรื่อยๆ (ภาพที่ 1ข) ซึ่งแสดงว่ายีสต์สามารถดำเนินการหมักได้ดี ส่วนปริมาณกรดก็จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตามระยะเวลาการหมักดังแสดงในภาพที่ 1ค ซึ่งเป็นสภาพที่เกิดขึ้นโดยธรรมชาติของ **"เชื้อยีสต์ M30"** ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มมากขึ้นเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการหมักที่เพิ่มขึ้น ทั้งนี้จากผลการทดลองที่ได้จึงสรุปที่การปรับความหวานที่ 20°Brix ด้วยน้ำตาลทราย เนื่องจากเป็นสภาพที่สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงที่สุด ดังแสดงในภาพที่ 1ง

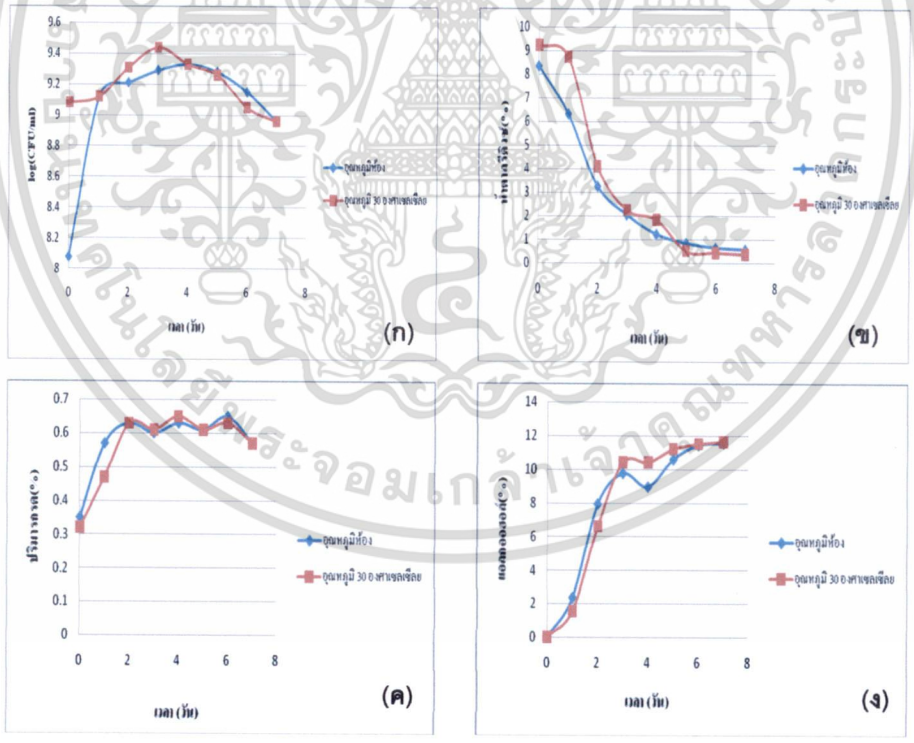
อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว

ทำการศึกษาเปรียบเทียบอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักไวน์น้ำต้มแห้วที่ 30°ซ และอุณหภูมิห้อง (ประมาณ 32-34°ซ) จากผลการศึกษา พบว่าทั้งปริมาณเซลล์**"เชื้อยีสต์ M30"** ที่เจริญ อัตราการใช้น้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรดและปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักใกล้เคียงในทั้งสองระดับอุณหภูมิดังแสดงในภาพที่ 2ก-2ง นอกจากนี้แล้วปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักอยู่ระหว่าง 10-12% ดังนั้นจึงเลือกใช้การหมักไวน์น้ำต้มแห้วที่อุณหภูมิห้องต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 ผลของน้ำตาลต่อประสิทธิภาพการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้วที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน: (ก) ปริมาณเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30; (ข) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์; (ค)ปริมาณกรด และ (ง) แอลกอฮอล์



ภาพที่ 2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพการหมักไวน์น้ำต้มแห้วที่อุณหภูมิห้อง (32-34°ซ) และอุณหภูมิ 30°ซ เป็นเวลา 7 วัน: (ก) ปริมาณเซลล์ยีสต์ *S. cerevisiae* M30; (ข) ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์; (ค)ปริมาณกรด และ (ง) แอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำหรับลักษณะของแห้วและไวน์น้ำต้มแห้วที่ได้แสดงในภาพที่ 3ก และ 3ข ตามลำดับ ส่วนภาพที่ 3ค แสดงลักษณะของถังหมักที่ใช้ในการหมักไวน์น้ำต้มแห้วเพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักต่อไป ถังหมักดังกล่าวทาด้วยพลาสติก Food grade ขนาด 100 ลิตร ในเบื้องต้นไวน์น้ำต้มแห้วที่ได้จะนำไปใช้ในการปรับสภาพหัวเชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter aceti* FT หรือที่เรียกว่า **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ก่อนที่จะนำไปใช้ในการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำต้มแห้ว อนึ่งสูตรที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์น้ำต้มแห้วสามารถสรุปได้ดังแสดงในตารางที่ 2

ภาพที่ 3 ลักษณะของแห้ว (ก) น้ำไวน์ที่ได้จากการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว (ข) และถังหมักที่ใช้ในการหมักไวน์น้ำต้มแห้วเพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก (ค)

ตารางที่ 2 สรุปสูตรในการผลิตไวน์น้ำต้มแห้ว

ส่วนประกอบ	ปริมาณ (%)
ยีสต์สกัด	0.5
แมกนีเซียมซัลเฟต	0.02
ไดไฮโดรเจนแอมโมเนียมฟอสเฟต	0.05
น้ำต้มแห้ว*	ปรับส่วนผสมเป็น 100
ปรับ pH	5.5

* น้ำต้มแห้ว ในกรณีที่เตรียมขึ้นเองให้ใช้แห้วในปริมาณ 10 กิโลกรัม ด้วยน้ำ 20 ลิตร และผ่านการต้มแห้วประมาณ 120-180 นาที

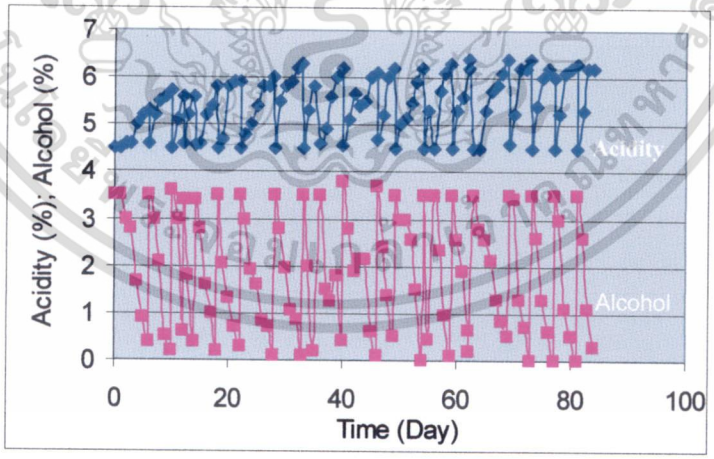
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ให้เหมาะสมกับการหมักไวน์น้ำต้มแห้ว

ถึงแม้ว่า **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** จะผ่านการปรับสภาพมาเป็นเวลา 6 ปี แล้วก็ตาม (วราวุฒิ ครูส่ง, unpublished data) แต่เมื่อมีการเปลี่ยนวัตถุดิบหรือไวน์เป็นไวน์ชนิดอื่น (ซึ่งในการศึกษานี้ คือ ไวน์น้ำต้มแห้ว) ก็ยังจำเป็นที่จะต้องปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ให้เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้ว

ในการปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ให้เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้วโดยอาศัยการนำไวน์น้ำต้มแห้วมาปรับปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และปรับปริมาณกรดเริ่มต้น 4.5% **ซึ่งเรียกว่า "การปรับความเข้มข้นทั้งหมด (Total concentration; TC) เท่ากับ 8"** จากนั้นจึงทำการถ่าย "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ซึ่งเก็บรักษาอยู่ใน Stock culture ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด (Acidity) และปริมาณแอลกอฮอล์ทุกวัน เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักลดลงเหลือเท่ากับหรือต่ำกว่า 0.5% จึงทำการเพิ่มปรับสภาพน้ำหมักให้กลับมามีค่า TC เท่ากับ 8 ดำเนินการปรับสภาพติดต่อกันประมาณ 3 เดือน ก่อนที่จะเก็บเชื้อไปใช้ในการปรับสภาพมาทำการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วต่อไป ลักษณะของขั้นตอนการปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" นี้แสดงในภาพที่ 4 ขณะที่ผลของการปรับสภาพในช่วงเวลา 84 วัน แสดงในภาพที่ 5

ภาพที่ 4 ลักษณะของขั้นตอนการปรับสภาพ **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ให้เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้ว



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพการสร้างกรดของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" เมื่อทำการปรับสภาพจำนวน 20 รอบการหมัก เป็นเวลา 84 วัน โดยใช้ความเข้มข้นทั้งหมด (Total concentration) เท่ากับ 8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ผลของการปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ให้เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้ว แสดงอยู่ในภาพที่ 5 พบว่า ในช่วงเริ่มต้น (รอบการหมักที่ 1; Cycle 1) "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ต้องใช้เวลาในการปรับสภาพเพียง 8 วัน ซึ่งแสดงว่า "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" สามารถปรับตัวให้เข้ากับไวน์น้ำต้มแห้วได้ นอกจากนี้แล้วในการปรับ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ใน ระหว่างรอบการหมักที่ 2-20 ใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด เท่ากับ 3 วัน นานที่สุดอยู่ที่ 5 วัน โดยที่ปริมาณกรดที่ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" สร้างขึ้นอยู่ระหว่าง 5.6-6.4% "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" จากรอบการหมักที่ 20 นำไปใช้ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วต่อไป

การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้วในถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร

ถึงแม้ว่าหัวหน้าคณะผู้วิจัยได้พัฒนาและยื่นจดสิทธิบัตรในนามของ "สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง" เกี่ยว กับถังหมัก"ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ" เมื่อวันที่ 13 ตุลาคม 2551 แต่ในงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อพัฒนากระบวนการผลิตให้กลุ่มเกษตรกร จังหวัดสุพรรณบุรี ตามโครงการความร่วมมือระหว่างคณะอุตสาหกรรมเกษตรกับหน่วยงานราชการทางด้านการพัฒนาการเกษตรของจังหวัดสุพรรณบุรี ดังนั้นจึงวางแผนที่จะใช้ถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร เพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูทั้งนี้ดังแสดงในภาพที่ 6 ซึ่งเป็นหนึ่งในถังหมักต้นแบบที่ผู้วิจัยได้พัฒนาและยื่นจดสิทธิบัตรในนามของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

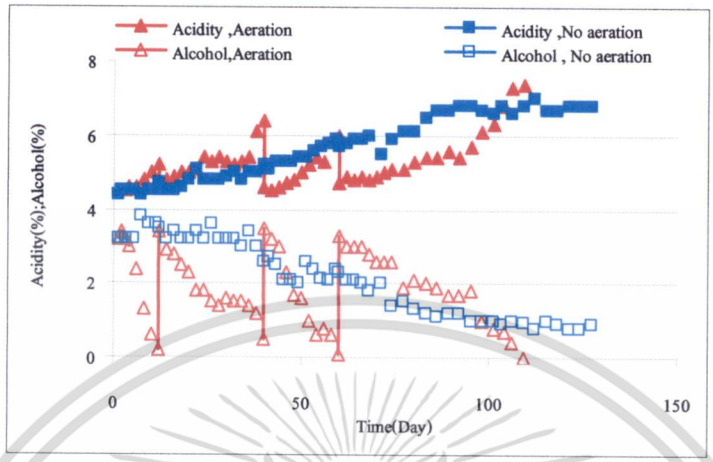
ภาพที่ 6 ลักษณะของถังหมักพลาสติกขนาด 20 ลิตร ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้ว

ในการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้วในถังหมักพลาสติกขนาด 20 ลิตร ต้องทำการเตรียมการหมัก 13 ลิตร ประกอบด้วย ไวน์น้ำต้มแห้วที่ปรับแอลกอฮอล์เท่ากับ 3.5% ปริมาณกรด 4.5% เติมยีสต์สกัด 0.5% แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05% และ $MgSO_4.7H_2O$ 0.02% จากนั้นทำการถ่าย "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" เท่ากับ 5% ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30-34 องศาเซลเซียส) ทำการหมักในลักษณะ **Semi-continuous Fermentation** โดย Cycle แรกเริ่มต้นจากขั้นตอนการถ่าย "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ลงในน้ำหมักจากไวน์น้ำต้มแห้ว เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักลดลงถึงประมาณ 0.5% ให้ดึงน้ำหมักออกมา 40% (ตามวิธีการของ Krusong *et al.*, 2007; 2010) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมัก จากนั้นจึงเติมน้ำไวน์น้ำต้มแห้ว (ที่ปรับสารอาหาร) ใหม่และปรับสภาพ TC ที่กำหนดแล้วเข้าไปในปริมาณเท่ากัน อย่างไรก็ตามเนื่องจากสภาพการหมักทำในถังหมักแบบถังพลาสติกดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาถึงปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการสร้างปริมาณกรดของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในไวน์น้ำต้มแห้ว ดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
120342

ผลของการให้อากาศต่อการผลิตกรด

เนื่องจากการสร้างกรดอะซิติกหรือน้ำส้มสายชูเกิดจากการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติดในสภาพที่มีการให้อากาศ โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่มแบคทีเรียอะซิติก (Acetic acid bacteria) ดังนั้นจึงได้ทำการทดลองโดยมีการให้อากาศ (Aeration) ด้วยการเขย่าถังในช่วงเช้าและช่วงเย็นและการไม่ให้อากาศ (No aeration) โดยการวางตั้งไว้นิ่งๆ โดยใช้น้ำหมักที่ปริมาตร 10 ลิตร



ภาพที่ 7 ผลของการสร้างกรดอะซิติกของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร (ปริมาตร 10 ลิตร) ในสภาพที่มีการให้อากาศด้วยการเขย่าเช้าและเย็น (aeration) และสภาพที่ไม่มีการให้อากาศด้วยการวางตั้งนิ่งๆ (no aeration)

จากการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 7 พบว่า การให้อากาศแก่น้ำหมักด้วยการเขย่าเช้า-เย็นช่วยทำให้"หัวเชื้อน้ำส้ม FT" สามารถผลิตกรดได้มากกว่าสภาพที่ไม่เขย่า ทั้งนี้ในสภาพที่มีการให้อากาศด้วยการเขย่าก่อให้เกิดการหมักได้ประมาณ 3 รอบ ภายใน 100 วัน โดยสามารถผลิตกรดได้ในความเข้มข้น 6.4-7.2% ในขณะที่สภาพวางนิ่ง (ไม่มีการเขย่า) "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" จะทำการหมักไวน์น้ำต้มแห้วเพื่อผลิตกรดอะซิติกอย่างช้าๆ โดยสังเกตได้ว่าปริมาณกรดจะค่อยๆสูงขึ้นเรื่อยๆ แต่มีรอบการผลิตเพียงรอบเดียว ดังนั้น **จึงเลือกใช้สภาพที่มีการให้อากาศด้วยการเขย่า**ในการศึกษาต่อไป

อย่างไรก็ตามการหมักในลักษณะที่ทำการศึกษานี้เป็นสภาพที่ประยุกต์ใช้กับเกษตรกร โดยมีเป้าหมายที่ต้นทุนในการลงทุนที่ต่ำ ดังนั้นจึงทำให้ประสิทธิภาพการหมักที่ช้า แต่ปริมาณกรดที่ผลิตได้จะสูง

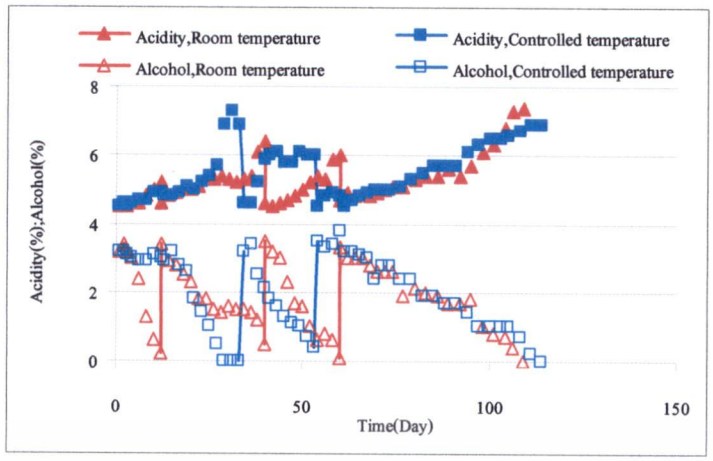
ผลของการควบคุมอุณหภูมิต่อการผลิตกรด

ตามปกติแล้วการหมักน้ำส้มสายชูในระดับอุตสาหกรรมจะควบคุมอุณหภูมิการหมักที่ 30°ซ จึงจำเป็นต้องมีระบบการหล่อเย็นเพื่อช่วยรักษาระดับของอุณหภูมิ แต่ระบบหล่อเย็นเป็นระบบที่ต้องลงทุนสูง ดังนั้นในการศึกษานี้จึงมุ่งเน้นที่จะศึกษาผลของการหมักไวน์น้ำต้มแห้วด้วย "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" (ในถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร ปริมาตรน้ำหมักที่ใช้ 10 ลิตร) ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องโดยอาศัยการแช่น้ำ ทั้งนี้ทั้งสองสภาพการศึกษาใช้การเขย่าถังหมักเช้า-เย็นเพื่อเป็นการให้อากาศ

จากผลการศึกษาดังแสดงในภาพที่ 8 พบว่า "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" สามารถให้ประสิทธิภาพการหมักที่ใกล้เคียงทั้งในถังหมักที่มีการเขย่าเช้า-เย็นและบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องโดยอาศัยการแช่น้ำ ทั้งนี้เนื่องจากสภาพการหมักในถังพลาสติกเป็นสภาพที่มีการสร้างกรดอย่างช้าๆ จึงทำให้เกิดการสะสมความร้อนไม่สูงนักจึงไม่มีผลกระทบต่อ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ดังนั้นในการศึกษาต่อไปจึง**เลือกใช้การหมักในสภาพเขย่าถังเช้า-เย็นที่อุณหภูมิห้อง**

อนึ่งอุณหภูมิของน้ำหมักเมื่อหมักไว้ที่อุณหภูมิห้องเฉลี่ย 37.6°ซ ขณะที่อุณหภูมิของน้ำหมักในถังที่แช่ในน้ำโดยเฉลี่ย 35.8°ซ ส่วนอุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการแช่ถังพลาสติกเฉลี่ย 28.9°ซ แสดงให้เห็นว่า "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" เป็นเชื้อแบคทีเรียอะซิติกที่ทนความร้อนในการหมักได้ดี

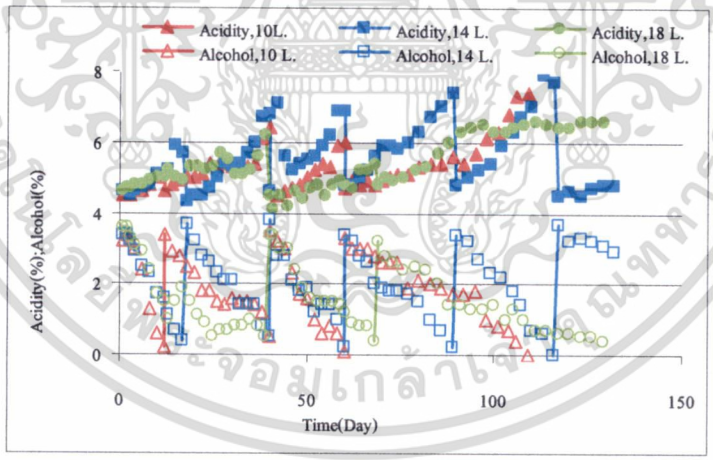
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 8 ผลของการสร้างกรดอะซิติกของ “หัวเชื้อน้ำส้ม FT” ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร (ปริมาตร 10 ลิตร) ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) และที่อุณหภูมิต่ำกว่าอุณหภูมิห้องด้วยการแช่ถังหมักในน้ำ (controlled temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น

ผลของปริมาตรในถังพลาสติกปริมาตร 20 ลิตรต่อการผลิตกรด

เนื่องจากการใช้ถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ทำให้เกิดข้อจำกัดในด้านปริมาณของน้ำส้มสายชูที่ผลิต ดังนั้นจึงได้ทำการศึกษาถึงปริมาตรของน้ำหมักที่จะเหมาะสมในการผลิตในถังพลาสติกดังกล่าว โดยเลือกใช้ที่ 10 14 และ 18 ลิตร ผลของการหมักแสดงในภาพที่ 9 ซึ่งพบว่า ปริมาตรที่เหมาะสมต่อการสร้างกรดอะซิติกของ “หัวเชื้อน้ำส้ม FT” ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น คือ 14 ลิตร



ภาพที่ 9 ผลของปริมาตรน้ำหมักต่อการสร้างกรดอะซิติกของ “หัวเชื้อน้ำส้ม FT” ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

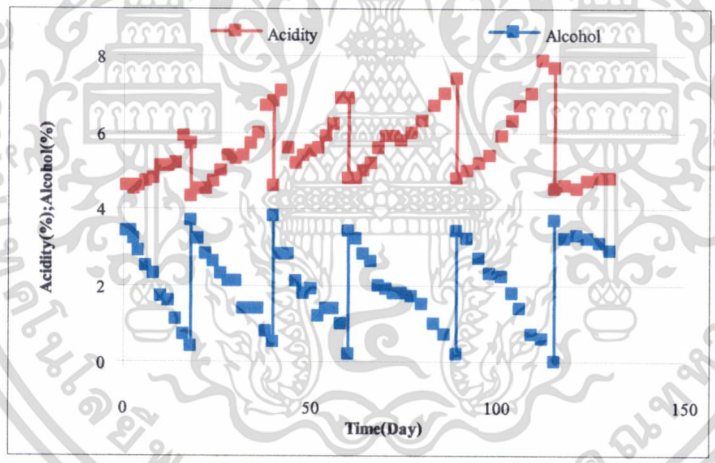
สรุปสภาพการหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้ว

จากผลการศึกษาเกี่ยวกับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจาก "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร สามารถสรุปสภาพที่เหมาะสมต่อการผลิตได้ดังแสดงในตารางที่ 3

ตารางที่ 3 สภาพการหมักที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วจาก "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร

รายละเอียด	สภาพการหมัก
ถังหมัก	ถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร
ปริมาตรน้ำหมักที่ใช้	14 ลิตร
การให้อากาศ	การเขย่าถังทุกเช้า-เย็น
อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก	อุณหภูมิห้อง
ระยะเวลาในการหมักแต่ละรอบ	20-25 วัน

เมื่อทำการหมักโดยใช้สภาพการหมักตามที่ระบุในตารางที่ 3 ได้ผลการหมักดังแสดงในภาพที่ 10 ซึ่งยืนยันได้ว่าสภาพการหมักที่ได้จากการศึกษาให้ผลการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้วได้ปริมาณกรดระหว่าง 6-8% โดยมีระยะเวลาการหมัก 18-25 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

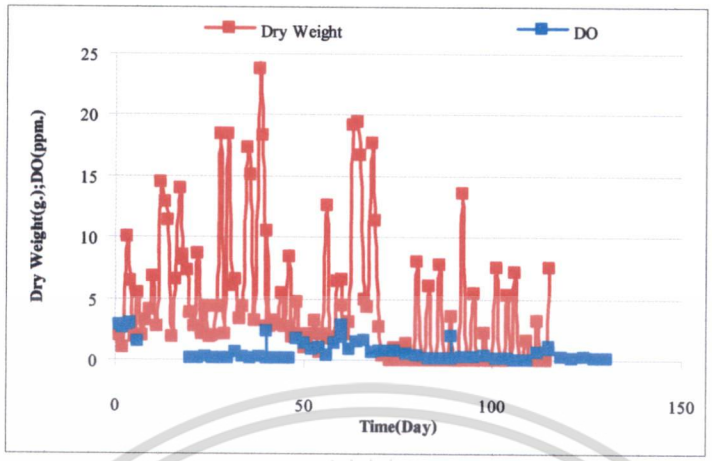


ภาพที่ 10 การสร้างกรดอะซิติกของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น จำนวน 5 รอบ ของการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

จากการติดตามปริมาณเซลล์ของ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" และค่าออกซิเจนที่ละลายน้ำได้ (dissolved oxygen; DO) ดังแสดงในภาพที 11 พบว่า ปริมาณเซลล์มีการเปลี่ยนแปลงในระหว่างการหมัก ทั้งนี้เนื่องจากการหมักน้ำส้มสายชูในสภาพการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (semi-continuous fermentation) นี้อาศัยการทำหน้าที่ของเซลล์ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" อย่างไรก็ตาม "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" ในระหว่างการหมักจะอยู่ในช่วงใดของการเจริญ (growth phase) อนึ่งเป็นที่น่าสังเกตว่าปริมาณเซลล์ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" มีการเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วและต่อเนื่องจึงส่งผลให้สามารถเกิดการผลิตน้ำส้มสายชูในแต่ละรอบของการหมักได้ ส่วนค่า DO ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำหมัก พบว่า มีอยู่ในปริมาณต่ำ ทั้งนี้เนื่องจากระบบการหมักในถังพลาสติกอาศัยการให้อากาศด้วยการเขย่าเช้า-เย็นเท่านั้น รวมถึงผลดังกล่าวทำให้แต่ละรอบของการหมักจะใช้เวลานาน



ภาพที่ 11 การติดตามปริมาณเซลล์ "หัวเชื้อน้ำส้ม FT" และค่า DO ในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูในถังพลาสติกขนาด 20 ลิตร ในสภาพการหมักที่อุณหภูมิห้อง (room temperature) โดยมีการเขย่าถังหมักเช้า-เย็น จำนวน 5 รอบ ของการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง

การเปรียบเทียบกลิ่นของน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำต้มแห้วกับน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตในประเทศ

น้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วที่ผ่านการกรองแล้วจะมีสีออกเหลืองอำพันดังแสดงในภาพที่ 12 ทั้งนี้น้ำส้มสายชูหมักที่ได้นี้เรียกชื่อว่า "Water Chestnut Vinegar"

ภาพที่ 12 ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากไวน์น้ำต้มแห้วโดยเรียกชื่อว่า "Water Chestnut Vinegar"

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการศึกษาเปรียบเทียบด้านกลิ่นและรสชาติของ "Water Chestnut Vinegar" กับน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตในประเทศ อนึ่ง แต่เดิมวางแผนเปรียบเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักจากต่างประเทศ เช่น Apple Cider Vinegar แต่ผลิตภัณฑ์ต่างประเทศส่วนใหญ่จะมีอายุสินค้าที่ค่อนข้างนานและมีผลกระทบต่อกลิ่น ดังนั้นจึงเลือกที่จะเปรียบเทียบกับผลิตภัณฑ์ของไทย เช่น น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวโพด (Corn Cider Vinegar) ข้าว (Rice Vinegar) และสับปะรด (Pineapple Vinegar) เป็นต้น

ตารางที่ 4 เปรียบเทียบด้านกลิ่นและรสชาติของ "Water Chestnut Vinegar" กับน้ำส้มสายชูหมักในประเทศ

รายละเอียด	Water Chestnut Vinegar	Corn Cider Vinegar	Rice Vinegar	Pineapple vinegar
กลิ่น	2.6^{b}	3.2^{a}	1.4^{c}	2.7^{b}
รสชาติ	2.3^{c}	3.0^{b}	3.4^{a}	2.2^{c}

อักษรที่เหมือนกันตามแนวนอน หมายถึง ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.5$) เมื่อเปรียบเทียบโดย DMRT

ผลของการเปรียบเทียบดังแสดงในตารางที่ 4 พบว่า ในด้านกลิ่นของน้ำส้มสายชู Water Chestnut Vinegar ให้กลิ่นที่ดีใกล้เคียงกันกับ Pineapple Vinegar แต่ด้อยกว่า Corn Cider Vinegar อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ Rice Vinegar ให้ผลด้านกลิ่นต่ำที่สุด ส่วนในกรณีของรสชาติ พบว่า Rice Vinegar ให้รสชาติภายในลำคอที่นุ่มและดีที่สุด ในขณะที่ Corn Cider Vinegar รองลงมา ส่วน Pineapple Vinegar และ Water Chest Vinegar ให้รสชาติที่เป็นกรดที่ค่อนข้างแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปผลการทดลองและคำแนะนำ

- น้ำต้มแห้วสามารถนำมาใช้ในการหมักไวน์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้ แต่ต้องเติมสารอาหารที่มีความจำเป็นต่อการหมักของยีสต์ด้วย เนื่องจากคุณค่าด้านสารอาหารและปริมาณน้ำตาลมีน้อย ดังนั้นในทางปฏิบัติจำเป็นต้องพิจารณาเรื่องต้นทุนด้วย อนึ่งในการต้มแห้วต้องควบคุมไม่ให้มีการเติมเปลือกของแห้วลงไปในน้ำที่ใช้ต้มเพื่อควบคุมการปนเปื้อนของสารฆ่าแมลงซึ่งมีการใช้มากในการปลูกแห้ว
- ในกรณีที่เตรียมน้ำต้มแห้วเพื่อใช้ในการหมักไวน์ให้ใช้แห้วปริมาณ 10 กิโลกรัม และน้ำ 20 ลิตร ทำการต้มแห้วประมาณ 120-180 นาที สำหรับสารอาหารที่เติมในน้ำหมัก ประกอบด้วย (ร้อยละ) ยีสต์สกัด 0.5 แมกนีเซียมซัลเฟต 0.02 ไดไฮโดรเจนแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 ปรับ pH เท่ากับ 5.5
- ในการหมักไวน์จากน้ำต้มแห้วด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ในถังพลาสติก (เกรดอาหาร) ขนาด 100 ลิตร พบว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้อยู่ระหว่าง 10-12% เมื่อทำการหมักเป็นเวลา 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (32-34°ซ) ไวน์น้ำต้มแห้วที่ได้มีสีชาภายหลังจากการกรอง แต่มีกลิ่นของแห้วที่น้อยมาก
- การปรับสภาพ**"หัวเชื้อน้ำส้ม *Acetobacter aceti* FT"** ในระยะเวลา 3 เดือน สามารถทำให้ **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** เหมาะสมกับไวน์น้ำต้มแห้ว โดยอาศัยการปรับสภาพ **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ในสารอาหารที่มีปริมาณกรด 4.5% และปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% หรือที่เรียกว่าปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด (Total concentration; TC) เท่ากับ 8 ทำการปรับสภาพ **"หัวเชื้อน้ำส้ม WK"** จำนวน 20 รอบ (เป็นเวลา 82 วัน) โดยระยะเวลาในการผลิตกรดที่ต้องการอยู่ที่ 3-6 วัน
- การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำต้มแห้วด้วย **"หัวเชื้อน้ำส้ม FT"** ในถังพลาสติก ขนาด 20 ลิตร ปริมาตรน้ำหมัก 14 ลิตร ใช้การให้อากาศด้วยการเขย่าถังช่วงเช้า-เย็น ทำการหมักโดยอาศัยระบบการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ที่อุณหภูมิห้อง ใช้ระยะเวลาในการหมักแต่ละรอบอยู่ระหว่าง 20-25 วัน การหมักในระบบนี้จัดทำเพื่อผู้ประกอบการระดับ OTOP เพื่อใช้ค่าใช้จ่ายในการผลิตที่ไม่สูงนัก
- การศึกษาเปรียบเทียบด้านกลิ่นและรสชาติของ "Water Chestnut Vinegar" กับน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตในประเทศ Water Chestnut Vinegar ให้กลิ่นที่ดีใกล้เคียงกันกับ Pineapple Vinegar แต่ด้อยกว่า Corn Cider Vinegar อย่างมีนัยสำคัญ ขณะที่ Rice Vinegar ให้ผลด้านกลิ่นต่ำที่สุด ส่วนในกรณีของรสชาติ พบว่า Rice Vinegar ให้รสชาติภายในลำคอที่นุ่มและดีที่สุด ในขณะที่ Corn Cider Vinegar รองลงมา ส่วน Pineapple Vinegar และ Water Chest Vinegar ให้รสชาติที่เป็นกรดที่ค่อนข้างแรง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

จรูญ คำนวนตา. 2522 และ 2524. การปรับปรุงประสิทธิภาพการหมักเพื่อผลิตแอกอฮอล์. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ โครงการวิจัยมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นงพงา คุณจักร. 2530. การปรับปรุงความทนเค็มของยีสต์ที่ผลิตเอธานอลโดยโปรโตพลาสฟิวชั่น. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (จุลชีววิทยา). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2523. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์เพื่อหมักแอลกอฮอล์จากกากน้ำตาลและน้ำอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท (จุลชีววิทยา). มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2545. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำอ้อย. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์. สำนักงานกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) ฝ่ายอุตสาหกรรม. ปี 2544-2545. 113 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2547. การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำต้มข้าวโพดฝักอ่อน. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ทุนวิจัยบริษัท แอกโกร-ออน (ประเทศไทย) จำกัด ปี พ.ศ.2546-47. 30 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา และอัสนี วิจิตระกะ. 2550. การพัฒนาหัวเชื้อน้ำส้มสายชูหมักเพื่อรองรับเทคโนโลยีผลิตน้ำส้มสายชูจากต่างชาติ. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ทุนวิจัยโครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย ศูนย์บริหารจัดการเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ปี พ.ศ. 2548-50. 53 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2550. น้ำส้มสายชูจากเปลือกและเนื้อมะม่วงเพื่อเอกลักษณ์ไทย. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. 32 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2551ก. การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในถังหมัก High Speed Agitation ขนาด 600 ลิตร. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ทุนวิจัยโครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย ศูนย์บริหารจัดการเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ปี พ.ศ. 2550-51. 23 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2551ข. การพัฒนากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเกษตรอินทรีย์. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ทุนวิจัยโครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย ศูนย์บริหารจัดการเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ปี พ.ศ.2550-51. 26 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2552. การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างกรดในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในถังหมักขนาด 600 ลิตร. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์ ทุนวิจัยโครงการสนับสนุนการพัฒนาเทคโนโลยีของอุตสาหกรรมไทย ศูนย์บริหารจัดการเทคโนโลยี สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ (สวทช) ปี พ.ศ.2551-52. 16 หน้า.

วราวุฒิ ครูส่ง พนิต เพ็ชรน่วม และประภาส ปิ่นวิเศษ. 2553. เส้นทางวิจัยกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก : การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อทดแทนการนำเข้า...สู่การยอมรับของภาคเอกชนไทย. บทความทัศนวิสัย. วารสารวิจัยและนวัตกรรมเพื่ออุตสาหกรรมไทย. 1(1) : 13-20.

สำนักงานเกษตรอำเภอศรีประจันต์. มปป. เอกสารถ่ายทอดเทคโนโลยีการเกษตร เรื่อง การผลิตและการตลาดแห้วจีน. กรมส่งเสริมการเกษตร กระทรวงเกษตรและสหกรณ์. 14 หน้า.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2527. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมน้ำส้มสายชู. มอก. 83-2527. กระทรวงอุตสาหกรรม. ISBN 974-8119-64-5.

Gard, N., D.K. Tandon, S.K. Kalra and N. Garg. 1995. Production of mango vinegar by immobilized cells of *Acetobacter aceti*. J. Food Sci.Tech.Mysore. 32: 216-218.

Horiuchi, J., T. Kanno and M. Kobayashi. 1999. New Vinegar Production from Onions. J.Biosci. Bioeng. 88 : 107-109.

Kumnuanta, J. and V. Vongsuvanlert. 1982. Ethanol fermentation by flocculating yeast at high temperature.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Proceedings Fifth Inter. Alc. Fuel. Technol. Symposium. Vol.1, Auckland, New Zealand. P.1-205-1-215.

Krishnankutty, S. 1995. Products from matured coconut water. Indian Coconut J. 26: 12-13.

Kubota, T., I. Itoh, S. Tanijiri. 1990. Process for producing rice vinegar. Patent US4897272.

Softly, B.J., A.S. Huang. 1987. Cider vinegar flavor. Patent US4701336.

Suresh, E.R. and S. Ethiraj. 1991. Utilization of overripe bananas for vinegar production. Tropical Sci. 31: 317-320.

Tuckett, H.M., A.W. Nichol and T.J. Harden. 1996. Production of pickling vinegar from acid whey. Australian J.Dairy Tech. 51 (1) : 53-57.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. PDA (Potato Dextrose Agar PDA)

Potato	20 g.
Dextrose	20 g.
Agar	20 g.

มันฝรั่งปอกเปลือกหั่นเป็นชิ้นเล็กขนาด 1 X 1 X 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ชั่งให้ได้น้ำหนัก 20 กรัม นำมันฝรั่งไปต้มไฟอ่อน ๆ กับน้ำที่ตวงไว้ 1 ลิตร เป็นเวลา 20 นาที (อย่าใช้ไฟแรงจะทำให้น้ำต้มมันฝรั่งขุ่น) กรองเอาแต่น้ำใสมาใส่วุ้นผงที่ชั่งไว้ 15 กรัม ตั้งไฟอ่อน ๆ คนอยู่เรื่อย ๆ จนวุ้นละลายใช้เวลาประมาณ 20 นาที แล้วแต่ชนิดของวุ้นที่ละลายเร็ว หรือละลายช้า ในการละลายวุ้นระวังอย่าให้ไหม้หรือวุ้นเดือดออกนอกหม้อ ใส่ dextrose ที่ชั่งไว้ 20 กรัม คนให้ละลาย อาหารที่ผสมแล้วควรมีค่า pH ประมาณ 5 – 6 ก่อนที่จะนำไปบรรจุหลอดแก้วทดลองหรือขวดแบน กรอกวุ้นที่ได้ใส่หลอดหรือใส่ขวดแบน อย่าให้วุ้นเปื้อนปากหลอดหรือปากขวดเอาสำลีอุดจุกแล้วเอากระดาษหุ้มมัดยางให้แน่น นำไปนึ่งในหม้อนึ่งความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว ใช้เวลา 20 นาที เสร็จแล้วนำออกมาทิ้งไว้ประมาณว่าวุ้นเกือบแข็งตัว จึงนำหลอดหรือขวดมาเอียงเพื่อเพิ่มเนื้อที่ผิวอย่าเอียงเร็วเกินไปเพาะจะทำให้มีหยดน้ำเกาะที่ผิววุ้นและข้างหลอดหรือข้างขวดมากเกินไป

2.Yeast Malt medium (YM medium)

Yeast extract	3 g.
Malt extract	3 g.
Peptone	5 g.
Glucose	10 g.

นำส่วนประกอบทั้งหมดละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1 ลิตร ถ้าเป็นอาหารแข็งเติมผงวุ้นลงไป 20 กรัม จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งความดันที่ 121°ซ ความดัน 15 ปอนด์ ต่อตารางนิ้ว เป็นระยะเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ทางจุลินทรีย์และทางเคมี

1. การนับปริมาณเซลล์ยีสต์ด้วยวิธี Counting Chamber

มีขั้นตอนดังนี้

1. การนับปริมาณเซลล์ยีสต์ด้วยวิธี Counting Chamber โดยใช้ Haemacyytometer
2. ตัวอย่างมีปริมาณยีสต์มากให้ทำการเจือจาง
3. ตรวจนับด้วยกล้องจุลทรรศน์กำลังขยาย 40 เท่า
4. ตรวจนับด้วยการสุ่มตัวอย่างเป็นรูปตัว X

การคำนวณจำนวนเซลล์ยีสต์

ขนาดความลึกของ Haemacytometer ที่ใช้ = 0.1 มิลลิเมตร

ขนาดพื้นที่ Haemacytometer ที่ใช้ = 1/ 400 ตารางมิลลิเมตร

เพราะฉะนั้น Haemacytometer ที่ใช้มีปริมาตรแต่ละ field = ¼ x 10^{-6} มิลลิลิตร

$$\text{จำนวนเซลล์ต่อมิลลิลิตร} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่นับได้ทั้งหมด} \times \text{เจือจาง} \times 4 \times 10^{6}}{\text{จำนวนที่นับ} \times \text{ปริมาตรตัวอย่าง}}$$

2. Total acid

มีขั้นตอนดังนี้

1. สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์มาตรฐาน

น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์	1	ลิตร
สารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH	4	กรัม

ผสมให้เข้ากันเก็บในขวดพลาสติก นำมาหาความเข้มข้นมาตรฐานก่อนใช้

การหาความเข้มข้นมาตรฐาน 0.1 N NaOH ทำได้โดยชั่ง acid potassium phthalate (potassium hydrogen phthalate $COOH.C_6H_4.COOK$ analytical reagent) อบ 2 ชั่วโมง ที่ 120°ซ แล้วทำให้เย็นในโถอบแห้งชั่งอย่างละเอียดประมาณ 0.6000 - 0.7000 กรัม เติมลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 90-100 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 2 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลาย 0.1 N NaOH ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัมของ COOH.C6H4.COOK} \times 1000}{\text{มิลลิลิตรของ NaOH} \times 204.22}$$

2. Phenolphthalein

ฟีนอล์ฟธาลีน (Phenolphthalein)	1	กรัม
แอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์	100	มิลลิลิตร

ผสมให้เข้ากัน

วิธีวิเคราะห์หาปริมาณกรดทั้งหมด (Total acids)

ปิเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 20 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอล์ฟธาลีน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึง end point สีชมพู

การคำนวณปริมาณกรดทั้งหมด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\%)} = \frac{(V)(N)\,(eq.Wt)(100)}{(1000)(V)}$$

กำหนดให้ V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH

N = Normality ของ สารละลายมาตรฐาน NaOH

v = ปริมาตรของสารละลายอาหารตัวอย่าง (5 มิลลิลิตร)

eq. Wt. = น้ำหนักสมมูลย์ของกรด เป็นกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี Lane & Eynon

3.1 เตรียมสารละลาย Fehling ประกอบด้วย

สารละลาย A

ละลาย $CuSO_4 . 5H20$	34.64	กรัม
น้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น	500	มิลลิลิตร

สารละลาย B

$KnaC_4H_4O_6 . 4H2O$	173	กรัม
NaOH	50	กรัม ในน้ำกลั่น
น้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น	500	มิลลิลิตร

ผสมสารละลาย A และ B เข้าด้วยกัน ตั้งทิ้งไว้ 1 คืน ที่อุณหภูมิห้อง

ชั่งตัวอย่างน้ำหมัก ประมาณ 5 กรัม ในบีกเกอร์ที่แห้ง (m_0) ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 250 มิลลิลิตรเติมน้ำกลั่นจนได้ปริมาตรตามขีดปรับปริมาตร เขย่าให้เข้ากัน นำตัวอย่างที่เตรียมได้ไปไตเตรทสารละลายกลูโคสมาตรฐานจดปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ คำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

<u>การคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์</u>

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์} = \frac{250 \times A\ \%}{V \times m_0}$$

กำหนดให้

A = ปริมาตรของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ที่ใช้ในการหาค่ามาตรฐานของ Fehling solution (มิลลิลิตร)

V = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ (มิลลิลิตร)

m_0 = น้ำหนักของตัวอย่างที่ใช้เตรียมสารละลาย (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้