สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

# การผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชู

(Production of dry Inocula for Vinegar Fermentation)

T096514

จัดทำโดย

นายธนพล เภาศรี รหัสนักศึกษา 46041057

นางสาวภัสศิมณฑ์ ศุภกนิษฐถวิล รหัสนักศึกษา 46041079

ปพ.
ส1521
2549

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....
วัน,เดือน,ปี.....

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลัก สูตรปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชู

(Production of dry Inocula for Vinegar Fermentation)

จัดทำโดย

นายธนพล เภาศรี รหัสนักศึกษา 46041057

นางสาวภัสศิมณฑ์ ศุภกนิษฐถวิล รหัสนักศึกษา 46041079

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... ...../...../.....

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(รองศาสตราจารย์.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ธนพล เภาศรี และ ภัสศิมณฑ์ ศุภกนิษฐถวิล. 2549 : การผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชู (Production of dry Inocula for Vinegar Fermentation).
โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา: รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

## บทคัดย่อ

จากการศึกษาการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชู โดยทำการทดสอบผลของสมุนไพร 3 ชนิด ได้แก่ พริกไทยขาว 3 % ดอกจันทน์ 3% และลูกจันทน์ 1% ต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู (Acetobacter spp.) 3 สายพันธุ์ คือ *Acetobacter aceti WK*. *Acetobacter aceti วว*. และ *Acetobacter aceti สป5*. พบว่าสมุนไพรทั้งสามชนิดไม่มีผลต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์ ซึ่งเมื่อนำมาทดลองผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูแล้วตรวจสอบหาปริมาณเชื้อก่อนอบและหลังอบพบว่า ลูกแป้งน้ำส้มสายชูนั้นมีปริมาณเชื้ออยู่ จึงนำลูกแป้งของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มาหมักน้ำส้มสายชูโดยใช้ไวน์น้ำลวกข้าวโพด แล้วปรับให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 4% ปรับกรดให้มีปริมาณ 1% ทำการหมักเป็นเวลา 10 วันโดยตรวจสอบปริมาณกรดทุกวันเพื่อทดสอบประสิทธิภาพของลูกแป้งที่เก็บรักษาที่ 0 1 2 4 และ 6 สัปดาห์ พบว่า ลูกแป้งน้ำส้มสายชูจากเชื้อ *A. aceti WK*. สามารถผลิตกรดน้ำส้มสายชูได้ดีที่สุด อย่างไรก็ตามลูกแป้งน้ำส้มสายชูของเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดออกมาเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

ธนพล เภาศรี ..... ภัสศิมณฑ์ ศุภกนิษฐถวิล .....
ลายมือชื่อนักศึกษา

..... (รองศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)

15 มี.ค 50 .....
วัน เดือน ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# กิตติกรรมประกาศ

การจัดทำปัญหาพิเศษ เรื่องการผลิตลูกแป้ง ฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี เนื่องจากได้รับคำปรึกษาและคำแนะนำที่ดีจาก รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง ที่ให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาและกรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าคอยให้ข้อเสนอแนะต่าง ๆ ตลอดจนช่วยแก้ไขข้อมูลในการเรียบเรียงปัญหาพิเศษฉบับนี้เพื่อให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น จึงขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เป็นอย่างสูง

ขอขอบพระคุณอาจารย์สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบปัญหาพิเศษ

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้กำลังใจในการทำงานและสนับสนุนทางด้านการศึกษามาตลอด อีกทั้งยังช่วยออกกำลังทรัพย์ในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ สาขาเทคโนโลยีการหมักทุกคนที่คอยช่วยเหลือและให้คำแนะนำในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้

สุดท้ายหวังว่าความรู้และคุณค่าของปัญหาพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อทุกท่าน

ธนพล เภาศรี

ภัสศิมณฑ์ ศุภกนิษฐณวิล

13 มีนาคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ


| | หน้า |
|---|---|
| บทคัดย่อ | ก |
| กิตติกรรมประกาศ | ข |
| สารบัญ | ค |
| สารบัญตาราง | จ |
| สารบัญภาพ | ฉ |
| บทที่ 1 บทนำ | 1 |
| 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา | 1 |
| 1.2 ขอบเขตการวิจัย | 2 |
| 1.3 วัตถุประสงค์ | 2 |
| บทที่ 2 วารสารปริทัศน์ | 3 |
| 2.1 ลูกแป้ง | 3 |
| 2.2 ชนิดของลูกแป้ง | 3 |
| 2.3 คุณภาพและลักษณะทั่ว ๆ ไป | 3 |
| 2.4 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง | 4 |
| 2.5 ลูกแป้งน้ำส้มสายชู | 4 |
| 2.6 การผลิตลูกแป้ง | 5 |
| 2.7 เชื้อน้ำส้มสายชูและปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ | 8 |
| 2.8 ขั้นตอนการหมักและวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู | 8 |
| บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ | 11 |
| 3.1 วัตถุดิบ | 11 |
| 3.2 เชื้อจุลินทรีย์ | 11 |
| 3.3 สารเคมี | 12 |
| 3.4 สารอาหาร | 12 |
| 3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ | 12 |
| 3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์ | 13 |
| 3.7 สถานที่ทำการทดลอง | 13 |
| 3.8 วิธีการดำเนินงาน | 14 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญ (ต่อ)


| | หน้า |
|---|---|
| บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ | 16 |
| 4.1 ผลของสมุนไพร 3 ชนิดต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์ | 16 |
| 4.2 ผลการทดลองผลิตลูกแป้ง | 19 |
| 4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพลูกแป้งน้ำส้มสายชูในการผลิตน้ำส้มสายชู | 20 |
| บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ | 24 |
| บรรณานุกรม | 26 |
| ภาคผนวก ก | 29 |
| ภาคผนวก ข | 30 |
| ภาคผนวก ค | 36 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญภาพ

ภาพที่ หน้า

4.1 ลักษณะความขุ่นที่เกิดขึ้นเมื่อเติมสมุนไพร ลูกจันทน์ 1% ดอกจันทน์ 3% และพริกไทยขาว 3% ตามลำดับ 18

4.2 ลูกแป้งน้ำส้มสายชูของเชื้อ 3 สายพันธุ์ ดังนี้ *Acetobacter aceti* WK. *Acetobacter aceti* วว. และ *Acetobacter aceti* สป.5 19

4.3 ผลการผลิตกรดอะซิติกของเชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์ในลูกแป้งที่มีอายุการเก็บรักษา ดังนี้ (ก) 0 สัปดาห์ (ข) 1 สัปดาห์ (ค) 2 สัปดาห์ (ง) 4 สัปดาห์ (จ) 6 สัปดาห์ 21

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# สารบัญตาราง


| ตารางที่ | หน้า |
|---|---|
| 4.1 แสดงปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์ | 16 |
| 4.2 แสดงผลการทดสอบสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด โดยสังเกตความขุ่น | 17 |
| 4.3 แสดงปริมาณเชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์เมื่อเติมสมุนไพร 3 ชนิด | 18 |
| 4.4 แสดงปริมาณเชื้อในลูกแป้งน้ำส้มสายชูก่อนอบ-หลังอบ ของเชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์ | 19 |
| 4.5 แสดงปริมาณความชื้นของลูกแป้งน้ำส้มสายชูก่อนอบ-หลังอบ | 20 |
| 4.6 แสดงปริมาณเชื้อในลูกแป้งน้ำส้มสายชูของเชื้อ 3 สายพันธุ์ | 23 |

**ภาคผนวก ค**

| | |
|---|---|
| 1 ผ. ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์ | 36 |
| 2 ผ. ผลปริมาณกรดของเชื้อน้ำส้มสายชูในลูกแป้งที่อายุการเก็บรักษาแต่ละสัปดาห์ | 37 |


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 1
# บทนำ

## 1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันประเทศไทยได้มีการส่งเสริมให้มีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมากขึ้น ทั้งในระดับอุตสาหกรรมและระดับครัวเรือน เนื่องจากน้ำส้มสายชูหมักมีคุณภาพดี ทั้งด้านสี กลิ่น รส และไม่เป็นอันตรายต่อผู้บริโภคต่างจากน้ำส้มสายชูเทียมที่ขายตามท้องตลาดซึ่งมักพบว่ามีการปลอมปนของกรดกำมะถันหรือกรดแร่อื่นๆ นอกจากนี้การผลิตน้ำส้มสายชูหมักยังนับว่าเป็นการนำวัสดุเหลือใช้บางชนิด เช่น น้ำต้มข้าวโพด และน้ำคั้นจากเปลือกแกนสับปะรด เป็นต้น มาใช้ให้ประโยชน์และยังเป็นการลดต้นทุนในการผลิต โดยใช้วัสดุเหลือใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชู

กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในปัจจุบัน เชื้อที่ใช้หมักอยู่ในรูปเชื้อเก่าที่เหลืออยู่ในถังหมักเดิม โดยมีการเปลี่ยนเป็นครั้งคราว ซึ่งจำเป็นต้องสั่งซื้อในรูปไลโอฟิไลส์จากต่างประเทศ ต่างจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักของไทยแต่โบราณ ที่ใช้เชื้อจากลูกแป้งที่เรียกว่าลูกแป้งน้ำส้ม (จิราภรณ์, 2518; นภา, 2520) การผลิตลูกแป้งนี้นอกจากจะใช้เป็นกล้าเชื้อในการหมักแล้ว ยังมีวัตถุประสงค์เพื่อเก็บรักษาเชื้ออีกด้วย ซึ่งเป็นที่ทราบกันดีอยู่แล้วว่าเชื้อน้ำส้มสายชูนั้นเป็นจุลินทรีย์ที่มีชีวิตรอดอยู่ได้ไม่นานในอาหารลี้ยงเชื้อ จากเอกสารพบว่าการเก็บเชื้อน้ำส้มสายชูในระยะยาว จะทำได้โดยการไลโอฟิไลส์เท่านั้น ซึ่งเป็นวิธีการยุ่งยากและสิ้นเปลือง

ลูกแป้งที่ รู้จักกันทั่วไปๆ ไปมีอยู่หลายชนิด ผลิตขึ้นตามวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้ ประโยชน์ได้แก่ ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งน้ำส้มสายชู และลูกแป้งขนมถ้วยฟู เป็นต้น ลูกแป้งน้ำส้มสายชูนี้ไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายนัก และไม่มีข้อมูลเกี่ยวกับกรรมวิธีผลิตปรากฏเป็นเอกสารเลย เทคโนโลยีของการผลิตลูกแป้งน้ำส้มนี้เป็นความลับที่ถ่ายทอดต่อเนื่องกันเฉพาะชนิดและปริมาณของสมุนไพรที่ใช้ในลูกแป้ง สมุนไพรแต่ละชนิดมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ต่างกัน ดังนั้นการเลือกใช้สมุนไพรให้ถูกต้องทั้งชนิดและปริมาณจะเป็นปัจจัยสำคัญต่อการผลิตลูกแป้ง จึงไม่เป็นที่น่าสนใจที่ทำการทดสอบประสิทธิภาพของสมุนไพรชนิดต่างๆ ต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter* spp.) และจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ปนเปื้อนในลูกแป้งทั่ว ๆ ไป ซึ่งมีทั้ง เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ทั้งนี้เพื่อคัดเลือกชนิดและกำหนดปริมาณการใช้สมุนไพรให้เหมาะสมในการทำลูกแป้งน้ำส้มสายชู นอกจากสมุนไพรแล้ว การเลือกใช้สายพันธุ์เชื้อน้ำส้มสายชูที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดได้ดีและทนต่ออุณหภูมิในระดับสูงในระดับที่ใช้ในการตากลูกแป้ง ตลอดจนการศึกษา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะที่เหมาะสมต่อการเพิ่มจำนวนของเชื้อในขณะเตรียมลูกแป้ง ก็เป็นสิ่งสำคัญที่จะนำมาซึ่งการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูที่มีประสิทธิภาพดี อันจะทำให้ลูกแป้งที่ผลิตได้มีมาตรฐานคงที่มากกว่าใช้จุลินทรีย์จากธรรมชาติ จึงเป็นที่คาดหวังว่าการศึกษานี้จะนำมาซึ่งข้อมูลดังกล่าว ทำให้มีการพัฒนาการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูขึ้นใช้ในประเทศใหม่และเป็นการสืบทอดเทคโนโลยีที่มีอยู่แล้วแต่โบราณกาลมิให้สูญหายไป

## 1.2 ขอบเขตของการวิจัย

ปัญหาพิเศษนี้เป็นการศึกษาการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูด้วยเชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter aceti* 3 สายพันธุ์ ได้แก่ สายพันธุ์ WK วว. และ สป.5 โดยมีสมุนไพร 3 ชนิดเป็นส่วนประกอบ คือ พริกไทยขาว 3 % ดอกจันทน์ 3% ลูกจันทน์ 1% และส่วนผสมของกรดโพพิโอนิก 0.02% ซึ่งจะทำการทดสอบว่าสมุนไพรมีผลต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชูหรือไม่ จึงทำการทดสอบประสิทธิภาพลูกแป้งน้ำส้มสายชูทั้ง 3 สายพันธุ์เมื่อเก็บรักษาไว้เป็นระยะเวลา 0 1 2 4 6 และ 8 สัปดาห์ โดยใช้ไวน์น้ำลวกข้าวโพดฟักอ่อนเป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชู เพื่อให้ได้ลูกแป้งน้ำส้มสายชูที่สามารถผลิตกรดน้ำส้มสายชูที่มีประสิทธิภาพต่อไป

## 1.3 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาผลของสมุนไพร 3 ชนิด ต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter* spp.) 3 สายพันธุ์

2. เพื่อศึกษาประสิทธิภาพของลูกแป้งน้ำในการผลิตน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 2
# วาสสารปริทัศน์

## 2.1 ลูกแป้ง

ลูกแป้ง คือ กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (inoculums) ที่เก็บในรูปเชื้อแห้งเพื่อใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิดในแถบเอเชีย โดยเทคโนโลยีการผลิตลูกแป้งและการใช้ลูกแป้งมาแต่โบราณ โดยเข้าใจกันว่าต้นกำเนิดมาจากประเทศจีนและได้ถ่ายทอดไปยังประเทศเพื่อนบ้าน เช่น ทิเบต สิขิม อินเดีย เกาหลี และกลุ่มประเทศเอเชียตะวันตกเฉียงใต้รวมทั้งประเทศไทย กล้าเชื้อในลักษณะนี้มีชื่อเรียกตามภาษาท้องถิ่นของแต่ละประเทศ ส่วนในการใช้ประโยชน์นั้นจะคล้ายคลึงกันเป็นส่วนใหญ่ คือ ใช้ในการหมักที่มีกิจกรรมการเปลี่ยนแป้งในวัตถุดิบประเภทธัญพืชและพืชหัว ให้เป็นน้ำตาล (saccharification) เพื่อผลิตอาหารหมักประเภทข้าวหมาก สุราและเมรัย เช่น กระแช่ สาโท หรือ อุ (นภา, 2519)

## 2.2 ชนิดของลูกแป้ง

ลูกแป้งแบ่งได้หลายชนิด โดยผลิตขึ้นตามวัตถุประสงค์ที่จะนำไปใช้ เช่น ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งน้ำส้มสายชู และลูกแป้งที่ใช้ทำขนมถ้วยฟู เป็นต้น (มนตรี, 2521)

## 2.3 คุณภาพและลักษณะทั่ว ๆ ไป

ลูกแป้งที่ดีจะโปร่งเบา สีขาวนวล ไม่มีรอยแตก ก้อนแป้งเป็นรูพรุน ซึ่งเกิดจากการฟูของแป้งขณะบ่ม เมื่อขยี้จะยุ่ยเป็นผงละเอียด ไม่มีกลิ่นเปรี้ยว มีรูปร่างและขนาดต่าง ๆ กัน ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าส่วนใหญ่เป็นลักษณะครึ่งวงกลม ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 3-4 ซม. ลูกแป้งน้ำส้มสายชูหมักนิยมปั้นเป็นก้อนใหญ่ประมาณ 5-6 ซม. และมีกลิ่นเครื่องเทศฉุนจัด ลูกแป้งที่ผลิตแต่ละแหล่งจะมีประสิทธิภาพการหมักต่างกัน ซึ่งบางครั้งไม่สามารถบอกได้ด้วยลักษณะที่ปรากฏ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.4 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง

ลูกแป้งเป็นกล้าเชื้อผสมที่มีทั้งเชื้อรา ยีสต์และแบคทีเรีย เนื่องจากการผลิตลูกแป้งไม่สามารถควบคุมการปนเปื้อนได้โดยสิ้นเชิง แต่หารกระทำการผลิตอย่าระมัดระวังจะมีเพียงจุลินทรีย์บางสกุลเท่านัน ที่สามารถเจริญและเพิ่มจำนวนจนตรวจนับได้ในปริมาณสูง ในขณะที่จุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่นๆจะพบปนมาในปริมาณน้อย

**เชื้อรา**

ราที่พบในลูกแป้งจากรายงานการศึกษาได้แก่ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus spp.* ปริมาณมากน้อยขึ้นอยู่กับชนิดของลูกแป้ง ส่วนใหญ่พบประมาณ $10^4$ CFU ต่อกรัม ในลูกแป้งที่ปั้นใหม่ๆจะพบถึง $1.5 \times 10^5 - 2.7 \times 10^5$ CFU ต่อกรัม นอกจากเชื้อราที่กล่าวแล้วยังพบเชื้อราอื่นต่างๆชนิดกันขึ้นอยู่กับแหล่งที่ผลิตลูกแป้ง

**ยีสต์**

ยีสต์พบในลูกแป้งข้าวหมากเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งได้แก่ *Endomycopsis spp.* เช่น *H. malanga* โดยมี *Sacharomyces cerevisiae* ปนมาบางส่วน ผิดจากลูกแป้งเหล้าที่จะพบ *S. cerevisiae* ปริมาณมากกว่า *Endomycopsis spp.* ปริมาณยีสต์โดยทั่วไปในลูกแป้งสูงถึง $5 \times 10^6 - 8 \times 10^7$ เซลต่อกรัมของลูกแป้ง

**แบคทีเรีย**

มีรายงานตรวจพบแบคทีเรียแลคติก ซึ่งส่วนใหญ่ได้แก่ *Pediococcus pentosaceus* ปริมาณที่พบขึ้นอยู่กับที่มาของลูกแป้ง นอกจากนี้ยังพบ *Lactobacillus spp.* และเชื้อน้ำส้มสายชูจำพวก *Acetobacter spp., Gluconobacter spp.* ซึ่งมีมากในส่าน้ำส้ม แบคทีเรีย *Bacillus spp.* เป็นแบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งที่พบได้บ่อยในลูกแป้ง เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เช่นแป้งและสมุนไพร

แต่หากส่วนผสมของสมุนไพรที่ใช้นั้นเหมาะสม จะช่วยลดปริมาณจุลินทรีย์นี้ไปได้มาก

## 2.5 ลูกแป้งน้ำส้มสายชู

ดังได้กล่าวแล้วว่าการผลิตลูกแป้งหรือส่าน้ำส้มสายชูนั้น ไม่ปรากฏข้อมูลเป็นเอกสารจากการสอบถามผู้ที่ยังผลิตอยู่น้อยรายในปัจจุบันไม่สามารถทราบถึงกรรมวิธีและสูตรที่แน่นอนโดยเฉพาะชนิดและปริมาณของสมุนไพรที่ใช้ ซึ่งเชื้อน้ำส้มสายชูเป็นเชื้อแบคทีเรีย ดังนั้นการตอบสนองต้องสารยับยั้งการเจริญต่างจากเชื้อราและยีสต์ จากการศึกษาสมุนไพร 29 ชนิด ต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ยีสต์และแบคทีเรียที่พบในลูกแป้งรวมทั้ง *Acetobacter* spp. 4 สายพันธุ์ พบว่า ส่วนของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สมุนไพรที่เหมาะสมที่สุดในการปั้นลูกแป้งน้ำส้มสายชูได้แก่ พริกไทยขาว และดอกจันทน์ อย่างละ 3% และลูกจันทน์ 1% (นภา,2534)โดยที่ส่วนผสมของสมุนไพรดังกล่าวไม่ยับยั้งการเจริญของ *Acetobacter* spp. แต่จะมีผลต่อการเจริญของจุลินทรีย์ชนิด อื่น ๆ โดยเฉพาะสามารถยับยั้งการเจริญของ *Bacillus* spp. ได้อย่างสมบูรณ์ และยับยั้งการเจริญของ *Aspergillus njger* ได้ดีกว่าส่วนผสมอื่น ๆ ซึ่งเชื้อรานี้เป็นอุปสรรคปัญหาในการปั้นลูกแป้ง การเติมกรดโปปิโอนิกเพียงอย่างเดียว ผลของสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญนั้นนอกจากจะปรากฏในเอกสารเกี่ยวกับการเตรียมลูกแป้งด้วยเชื้อบริสุทธิ์แล้ว ยังมีรายละเอียดในรายงานอีกจำนวนมาก

## 2.6 การผลิตลูกแป้ง

2.5.1 วัตถุดิบ

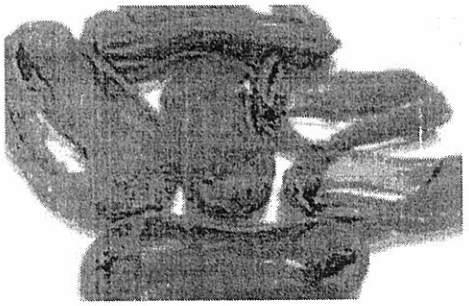
องค์ประกอบหลักของวัตถุดิบที่ใช้ผลิตลูกแป้งได้แก่

-แป้งซึ่งถึงแม้ว่าข้อมูลที่ได้จากผู้ผลิตจะระบุว่าใช้ได้ทั้งแป้งข้าวเหนียวและแป้งข้าวเจ้า สำหรับการผลิตลูกแป้งซึ่งจุลินทรีย์เป็นแบคทีเรียเช่นลูกแป้งในน้ำส้มสายชูนั้น จากการตรวจวิเคราะห์พบว่าแป้งที่ผลิตขายเป็นการค้าในปัจจุบัน (เฉพาะแป้งแห้งซึ่งบรรจุถุงพลาสติกปิดสนิท) มีจุลินทรีย์ปนเปื้อนน้อยมาก เมื่อเทียบกับแป้งที่ผลิตเองในห้องปฏิบัติการ (อรนุช, 2530) สำหรับการผลิตแป้งเพื่อใช้ในแต่ละครั้งนี้ ต้องเลือกข้าวที่ไม่เก่าเก็บและไม่อับเชื้อรา

-สมุนไพรเป็นองค์ประกอบที่สำคัญซึ่งแต่ละประเทศมีสูตรการผลิตที่แตกต่างกันหลายตำรับและมักเฉพาะครัวเรือน ซึ่งสมุนไพรที่ใช้ในการทดลองผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูมีดังนี้

**ดอกจันทร์ (Mace)**

เป็นส่วนหนึ่งของผลต้นจันทร์เทศ ส่วนที่ใช้เป็นเครื่องเทศ คือ เยื่อหุ้มเมล็ด (รก) ลักษณะเป็นเส้นใยแบน สีแสด กลิ่นหอมฉุนมาก รสค่อนข้างเปรี้ยวอมฝาด เวลาใช้นำมาป่นละเอียดใส่เพียงเล็กน้อยในเครื่องแกง สรรพคุณทางสมุนไพร บำรุงกำลัง บำรุงธาตุ ช่วยให้เจริญอาหาร



ที่มา: baanjomyut.com
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ลูกจันทน์ (Nutmeg Seed)**

เป็นผลของต้นจันทน์เทศส่วนที่ใช้เป็นเครื่องเทศ คือ ส่วนในของเมล็ด เพราะเมล็ดมีเปลือกแข็งต้องทุบเปลือกออก ใช้เพียงส่วนเมล็ดภายในสีดำ กลิ่นหอมฉุนมาก เวลาใช้ใส่เพียงเล็กน้อย รสฝาด ใช้ดับกลิ่นคาว นิยมใส่ในเครื่องแกง สรรพคุณทางสมุนไพร บำรุงร่างกาย บำรุงกำลัง ช่วยเจริญอาหาร

ที่มา: baanjomyut.com

**พริกไทย (Pepper)**

ส่วนที่ใช้เป็นเครื่องเทศ คือ ผลแก่ตากแห้งทั้งเปลือก เรียกพริกไทยดำ ผลแก่เอาเปลือกออกเหลือแต่เม็ด เรียกพริกไทยขาว หรือพริกไทยล่อน ลักษณะผลกลม โตประมาณ 3-5 มิลลิเมตร มีกลิ่นหอมค่อนข้างฉุน รสเผ็ดร้อน ใช้ทั้งเมล็ดหรือนำไปป่นละเอียด ใช้แต่งกลิ่นอาหาร สรรพคุณทางสมุนไพร แก้ท้องอืด ท้องเฟ้อ ปวดฟัน ช่วยเจริญอาหาร

ที่มา: baanjomyut.com

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2 การเตรียมวัตถุดิบและการปั้นลูกแป้ง

1.เตรียมแป้งโดยซาวข้าวให้สะอาด แช่น้ำไว้ประมาณ 2-3 ชั่วโมง นำไปโม่แล้วซับน้ำให้แห้ง หรือทำให้ข้าวสะเด็ดน้ำเสียก่อนแล้วจึงนำไปบดหรือปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าให้ละเอียดและร่อนด้วยแร่ง การแช่ข้าวนานเกินไปโดยไม่เปลี่ยนน้ำ จะมีผลให้แบคทีเรียแลคติก และ *Bacillus* spp. เจริญเพิ่มจำนวนในปริมาณมาก ทำให้ลูกแป้งที่ผลิตได้ด้อยคุณภาพ

2. บดสมุนไพรชนิดแห้งให้ละเอียด สมุนไพรสดอาจนำไปบดพร้อมกับข้าว

3. ผสมแป้งและสมุนไพรกับลูกแป้ง (ลูกแป้ง 5 กรัม ต่อแป้ง 1 กิโลกรัม) ที่บดละเอียดให้เข้ากัน โดยการร่อนด้วยแร่งหรือปั่นด้วยเครื่องปั่นไฟฟ้าความเร็วต่ำ ๆ เติมน้ำหรือน้ำต้มชะเอม (Bacus and Brown, 1981) ในปริมาณที่นวดแป้งแล้วปั้นเป็นก้อนได้ ปริมาณน้ำที่ใช้นั้นกำหนดไม่ได้แน่นอน ขึ้นกับความแห้งของแป้งที่ใช้ ปริมาณสมุนไพรสดซึ่งแตกต่างกันแต่ละตำรับ และสภาวะความชื้นในบรรยากาศขณะบ่มลูกแป้ง ซึ่งต้องอาศัยประสบการณ์ของผู้ผลิต อย่างไรก็ตามจากการทดลองผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชู โดยใช้แป้งแห้งที่มีความชื้นประมาณ 8% และสมุนไพรแห้ง พบว่านวดแป้ง 100 กรัม กับน้ำ 80-85 มิลลิลิตร แป้งที่นวดได้จะมีความชื้นประมาณ 45-46% ซึ่งเป็นระดับความชื้นที่เหมาะสมที่สุด โดยปั้นแป้งให้เป็นก้อนได้ และเชื้อน้ำส้มสายชูสามารถเจริญได้ดีที่สุด

4. เมื่อนวดแป้งจนเหนียวแล้วจึงปั้นเป็นก้อนกลมขนาดต่าง ๆ กันตามชนิดของลูกแป้งในการผลิตลูกแป้งเหล่านั้น พบว่าการหมักแป้งที่นวดแล้วไว้ประมาณ 6-12 ชั่วโมง แล้วจึงนำมาปั้นจะได้แป้งที่มีคุณภาพดีกว่าที่ปั้นโดยไม่หมักแป้ง

5. เรียงลูกแป้งบนกระด้งหรือภาชนะก้นโปร่งอื่น ๆ ให้แต่ละลูกห่างกันเล็กน้อย เนื่องจากเมื่อจุลินทรีย์เจริญจะทำให้ลูกแป้งฟูขึ้น ส่วนของลูกแป้งที่ด้านติดภาชนะจะแบนราบตามผิวที่สัมผัส โดยที่ด้านบนยังคงรูปร่างโค้งเป็นครึ่งวงกลม สำหรับการปั้นลูกแป้งขนาดใหญ่เรียงบนภาชนะแล้วควรกดด้านบนลงเล็กน้อย เพื่อให้ลูกแป้งบางลง จุลินทรีย์ภายในก้อนแป้งจะมีโอกาสรับอากาศมากขึ้น

6. เมื่อเรียงลูกแป้งเต็มภาชนะแล้ว โรยผงลูกแป้งที่เตรียมไว้ลงบนผิวของลูกแป้งที่ปั้นใหม่ โดยใช้ผงลูกแป้งประมาณ 15 กรัม ต่อสูตรที่ใช้แป้ง 1 กิโลกรัม คลุมภาชนะด้วยผ้าหนา ๆ โดยไม่ให้ผ้าสัมผัสกับลูกแป้ง บ่มประมาณ 48 ชั่วโมงนำไปตากแดดให้แห้งแล้วเก็บในภาชนะที่ปิดฝาสนิท การที่ลูกแป้งได้รับแสงแดดโดยตรง จะทำให้ปริมาณจุลินทรีย์ลดลงไปบ้าง ซึ่งเป็นผลจากรังสีอุลตราไวโอเลต (UV) ดังนั้นจึงควรตากลูกแป้งโดยมีแผ่นกระจกใสกั้นแสงอยู่ด้านบนโดยเว้นระยะระหว่างผิวลูกแป้งและกระจกให้อากาศถ่ายเทได้ นอกจากนั้นการทำให้ลูกแป้งแห้งอย่างได้ผลอีกวิธีหนึ่ง คือ การอบในตู้อบ ซึ่งได้กล่าวถึงในเรื่องของการเตรียมลูกแป้งด้วยเชื้อบริสุทธิ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 2.7 เชื้อน้ำส้มสายชูและปัจจัยที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ

เชื้อน้ำส้มสายชูเป็นแบคทีเรียซึ่งมีรูปร่างตั้งแต่รีถึงเป็นท่อน อาจเป็นท่อนตรงหรือโค้งเล็กน้อย มีขนาดตั้งแต่ 0.6 – 0.8 x 1.0-3.0 ไมโครเมตร เซลล์อาจอยู่เดี่ยว ๆ เป็นคู่ หรือต่อกันเป็นสาย ไม่สร้างเอนโดสปอร์ (endospore) ย้อมติดสีแกรมลบ แต่ในเซลล์ที่มีอายุมากอาจย้อมติดสีแกรมบวก (Buchanan and Gibbons,1974)

จากการศึกษาลักษณะโคโลนีของเชื้อน้ำส้มสายชูบนอาหาร Glucose yeast extract $CaCO_3$ agar พบว่า ส่วนใหญ่จะให้โคโลนีสีขาวหรือสีครีม (Daengsubha *et al.*,1981) แต่ก็มีบางสายพันธุ์ที่ให้โคโลนีสีชมพู ซึ่งเกิดจากสารพอร์ไฟรินส์ (porphyrins) (Buchanan and Gibbons, 1974)

เชื้อน้ำส้มสายชูเป็นแบคทีเรียที่เจริญได้ในสภาพที่มีอากาศเท่านั้น และมักพบอยู่ร่วมกับยีสต์ตามผิวของพืชหลายชนิด โดยเฉพาะดอกไม้และผลไม้ ซึ่งเมื่อยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็น เอทาธานอลแล้ว เชื้อน้ำส้มสายชูจะออกซิไดส์แอลกอฮอล์ต่อไปเป็นกรดน้ำส้ม โดยมี คาร์โบไฮเดรต primary alcohol และ secondary alcohol เป็นแหล่งพลังงาน (Stanier *et al*, 1976)

มักพบเชื้อน้ำส้มสายชูในพืชและผลไม้หลายชนิด เช่น องุ่น ส้ม น้อยหน่า สับปะรด กล้วย เงาะ ผลตาลสุก ลางสาด ฝรั่ง ชมพู่ มะละกอ ผลจันทน์ ขนุน ระกำ และพุทรา เป็นต้น (นันทพร, 2517; รสสุคนธ์, 2528) นอกจากนี้ยังอาจแยกเชื้อน้ำส้มได้จากน้ำส้มสายชู ผลิตภัณฑ์จากการหมักสับประรด น้ำตาลมะพร้าว เหล้าขาว สาโท น้ำตาลเมา ข้าวหมาก ลูกแป้งข้าวหมาก และลูกแป้งเหล้า (นันทพร, 2517; นภา, 2520; รสสุคนธ์, 2528; Daengsubha *et al*, 1981; Buchanan and Gibbons, 1974)

## 2.8 ขั้นตอนการหมักและวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูเกิดขึ้นจากกระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน คือ

1. การหมักแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) คือ การหมักน้ำตาลให้ได้แอลกอฮอล์โดยยีสต์ ซึ่งมักใช้ *Saccharomyces cerevisiae* (Greenshields, 1978; Adam,1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2$$

น้ำตาล เอธานอล ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

การหมักแอลกอฮอล์โดยทั่วไปจะหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ประมาณ 48-72 ชั่วโมงก็จะหมักได้สมบูรณ์ ขั้นตอนการหมักแอลกอฮอล์และน้ำส้มสายชูควรแยกจากกัน เพราะการสร้างกรดน้ำส้มสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ และทำให้การหมักแอลกอฮอล์เป็นไปโดยไม่สมบูรณ์ แม้ว่าจะยังคงมีน้ำตาลเหลืออยู่ (Adams, 1985)

2. การหมักน้ำส้มสายชู (acetification) เป็นขั้นตอนการออกซิไดส์เอทธานอลโดยเชื้อน้ำส้มสายชู เพื่อสร้างกรดน้ำส้ม

$$C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow CH_3COOH + H_2O$$

เอธานอล ออกซิเจน กรดน้ำส้ม น้ำ

เนื่องจากเชื้อน้ำส้มสายชูเป็นแบคทีเรียที่ต้องการอากาศ และต้องใช้ออกซิเจนในการออกซิไดส์แอลกอฮอล์ให้เป็น acetaldehyde แล้วจึงเปลี่ยนเป็นกรดน้ำส้ม ฉะนั้น ประสิทธิภาพของการให้อากาศจึงมีผลต่ออัตราการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดน้ำส้ม (Banwart, 1979)

สารที่มีน้ำตาลเป็นองค์ประกอบส่วนใหญ่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชูได้ เช่น แอปเปิล กล้วย ส้ม สับปะรด อ้อย มันเทศ กากน้ำตาล (molasses) ข้าวมอลท์ และไวน์ เป็นต้น (Adam, 1985) สำหรับในประเทศไทยมีการผลิตจากน้ำสับปะรด น้ำมะพร้าว (เพ็ญพรรณ, 2505) มะเฟือง (แสงมนต์, 2507) กล้วยน้ำว้า มะละกอ ละมุด (วราภรณ์, 2511) ลูกจาก หัวแห้ว หมู ข้าวเหนียว และน้ำตาลเมา (นภา, 2520) เป็นต้น

น้ำส้มสายชูกลั่นใช้เอธานอลเป็นวัตถุดิบ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ใช้จะแตกต่างกันไป เช่น ในสหรัฐอเมริกาใช้ 9 เปอร์เซ็นต์ ญี่ปุ่น 5 เปอร์เซ็นต์ ฝรั่งเศส 5 เปอร์เซ็นต์ และเยอรมันตะวันตก 7 เปอร์เซ็นต์ เป็นต้น (Adams and Flynn, 1982)

ส่วนมากแล้วมักมีการเติมสารอาหารลงในวัตถุดิบที่ใช้หมักน้ำส้มสายชู เพื่อให้เชื้อน้ำส้มเจริญและมีกิจกรรมได้ ซึ่งแต่ละโรงงานก็จะใช้สารอาหารเหล่านี้แตกต่างกันไป แต่โดยทั่วไปแล้วจะประกอบด้วย กลูโคส แอมโมเนียมไนโตรเจน (ammonium nitrogen) สารอนินทรีย์ของฟอสเฟต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(inorganic phosphate) ซัลเฟอร์ แคลเซียม แมกนีเซียม วิตามิน และสารเร่งการเจริญ เช่นยีสต์สกัด (Adams, 1985)

วิธีการเตรียมสารละลายน้ำตาลเพื่อใช้หมักแอลกอฮอล์จะขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ โดยมากมักเตรียมให้ได้ปริมาณน้ำตาล 10-15 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักโดยปริมาตร) แล้วจึงปรับpHให้ได้4.5-5.0 ด้วยกรดซัลฟูริค แล้วต้มฆ่าเชื้อเพื่อป้องกันการปนเปื้อนของเชื้ออื่น และในบางกรณีอาจมีการเติมสารอาหารสำหรับยีสต์ลงไปด้วย เช่น แอมโมเนียมซัลเฟต (Adams, 1985)

วัตถุดิบที่เป็นแป้ง เช่น พวกธัญพืช จะต้องทำการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลก่อน ซึ่งอาจทำให้ได้โดยการย่อยด้วยกรด หรือเอนไซม์ที่ย่อยแป้งได้ ซึ่งอาจใช้ในรูปของมอลท์ (malted gria) หรือจากจุลินทรีย์ เช่น เอนไซม์อะไมเลสจากโคจิ (koji) ซึ่งได้จากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ที่เจริญบนข้าวที่นึ่งแล้ว (Adams, 1985)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 3
# อุปกรณ์และวิธีการ

## 3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 สมุนไพร 3 ชนิด

- ลูกจันทน์ (*Myristica fragrans*)
- ดอกจันทน์ (*Myristica fragrans*)
- พริกไทยขาว (*Piper nigrum*)

3.1.2 แป้งข้าวเจ้า

3.1.3 ไวน์น้ำลวกข้าวโพดฟักอ่อนได้รับจาก บริษัท แอกโกรออน (ประเทศไทย) จำกัด อ.สามชุก จ.สุพรรณบุรี

## 3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 *Acetobacter aceti WK.* ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 *Acetobacter acet วว.* ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.3 *Acetobacter acet สป5.* ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.3 สารเคมี

| | ชื่อสารเคมี | บริษัทหรือประเทศที่ผลิต |
|---|---|---|
| 3.3.1 | โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) | Merck Co.,Ltd |
| 3.3.2 | กรดไฮโดรคลอริก (HCl) | Merck Co.,Ltd |
| 3.3.3 | แอมโมเนียมซัลเฟต ($(NH_4)_2SO_4$) | Merck Co.,Ltd |
| 3.3.4 | แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) | Merck Co.,Ltd |
| 3.3.5 | แคลเซียมคาร์บอเนต ($CaCO_3$) | Merck Co.,Ltd |
| 3.3.6 | โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต ($KH_2PO_4$) | Merck Co.,Ltd |
| 3.3.7 | กรดโพพิโอนิก | Merck Co.,Ltd |
| 3.3.8 | Phenolphthalein | Riedel-desaen |
| 3.3.9 | แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์ | โรงงานสุรา องค์การสุรา กรมสรรพสามิต |

## 3.4 สารอาหาร

| | ชื่อสารอาหาร | บริษัทหรือประเทศที่ผลิต |
|---|---|---|
| 3.4.1 | Glucose | Merck Co.,Ltd |
| 3.4.2 | Yeast Extract | DIFCO |
| 3.4.3 | Peptone | DIFCO |
| 3.4.4 | Agar | S.P SCIENCE |

## 3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.1 อาหาร Glucose Yeast Extract Broth (GYE Broth)

3.5.2 อาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYE Agar)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์

| | ชื่อเครื่องมือ | รุ่น | บริษัทหรือประเทศที่ผลิต |
|---|---|---|---|
| 3.6.1 | เครื่องชั่งชนิดละเอียด (4 ตำแหน่ง) | Mettler, AE 3000 | Switzerland |
| 3.6.2 | เครื่องชั่งชนิดหยาบ (2 ตำแหน่ง) | OHAUS | America |
| 3.6.3 | เครื่องพ่นให้อากาศ(Air Pump) | | Thailand |
| 3.6.4 | ตู้บ่มเชื้อ | Hermotex | Japan |
| 3.6.5 | ตู้แช่เย็น | Thermotek | Thailand |
| 3.6.6 | ตู้อบลมร้อน (Hot air oven) | Memmert | Germany |
| 3.6.7 | ตู้ปลอดเชื้อ | | Thailand |
| 3.6.8 | ตัวกรองอากาศ(Membrane filter) | Sartorius | Germany |
| 3.6.9 | สายยางซิลิโคน | | Thailand |
| 3.6.10 | หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ(Autoclave) | Tomy SS-245 | Japan |
| 3.6.11 | เครื่องเขย่า(Shaker) | Gerhardt Bonn | Germany |
| 3.6.12 | Ebuliometer | ARCUEUEIL, 94117 | France |
| 3.6.13 | ถังน้ำพลาสติก | | Thailand |
| 3.6.14 | ผ้าขาวบาง | | Thailand |
| 3.6.15 | สำลี | | Thailand |

## 3.7 สถานที่ทำการทดลอง

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 3.8 วิธีการดำเนินงาน

### 3.8.1 การทดสอบผลของสมุนไพร 3 ชนิด ต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์

3.8.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อน้ำส้มสายชู

การเตรียมกล้าเชื้อน้ำส้มสายชู *A. aceti* WK วว. และ สป.5 โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth ปริมาณ 100 มิลลิลิตร ในขวดแก้วรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร จำนวน 3 ฟลาสก์ นำไปทำการนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็น แล้วจิงถ่ายเชื้อ *A. aceti* WK วว. และ สป.5 ที่เลี้ยงบนอาหาร GYE Agar Slant มาใส่ในอาหารที่เตรียมไว้ นำไปให้อากาศโดยการเขย่าที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

3.8.1.2 การเตรียมสารละลายสมุนไพรในอาหารเหลว GYE

การเตรียมสารละลายสมุนไพรในอาหารเหลว GYE Broth โดยนำสมุนไพรทั้ง 3 ชนิดคือ พริกไทยขาว ดอกจันทน์ และลูกจันทน์ไปบดให้ละเอียด เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth ลงหลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร หลอดละ 9 มิลลิลิตร จำนวน 100 หลอดชั่งสมุนไพรแต่ละชนิดลงหลอดอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth ที่เตรียมไว้ โดยชั่งพริกไทยขาว ดอกจันทน์ อย่างละ 3% และลูกจันทน์ 1% ลงหลอดทดลองชนิดละ 30 หลอด นำสารละลายสมุนไพรในอาหารเหลว GYE ทั้งหมดผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นเพื่อใช้ต่อไป

3.8.1.3 ศึกษาผลของสมุนไพรต่อการยับยั้งการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู

นำกล้าเชื้อน้ำส้มสายชูทั้ง 3 สายพันธุ์ที่เตรียมจากข้อ 3.8.1.1 มา 1 มิลลิลิตร ถ่ายลงในหลอดสารละลายสมุนไพรในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth ที่เตรียมไว้จากข้อ 3.8.1.2 ทำการเจือจางต่อไปจนถึงระดับ $10^{-8}$ ต่อมาจึงนำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน

จากนั้นทำการตรวจนับจำนวนเชื้อด้วยวิธี spread plate ที่ระดับความเจือจางต่างๆ เป็นจำนวน 2 ซ้ำ บนอาหารแข็งเลี้ยงเชื้อ GYE Broth นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน แล้วจึงตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อในหน่วย logCFU/ml

### 3.8.2 การทดลองผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชู

การผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยนำแป้งข้าวเจ้า 100 กรัม พริกไทยขาว ดอกจันทน์ อย่างละ 3% ลูกจันทน์ 1% และกรดโพรพิโอนิก 0.2% ผสมส่วนประกอบต่างๆให้เข้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กันในภาชนะผสมที่สะอาด จากนั้นถ่ายสารละลายเชื้อน้ำส้มสายชู 85-90 มิลลิลิตร ลงไปยังส่วนผสมดังกล่าว (ทำการตรวจหาปริมาณเชื้อก่อนการถ่ายเชื้อด้วยวิธี spread plate) ผสมให้เข้ากัน ปั้นเป็นก้อนให้มีเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 5-6 เซนติเมตร บ่มต่อเป็นระยะเวลา 2-3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นนำลูกแป้งที่ได้มาทำการตรวจหาปริมาณเชื้อและปริมาณความชื้น (หาปริมาณความชื้นโดยอบลูกแป้งที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส ตรวจชั่งน้ำหนักของลูกแป้งทุก 2 ชั่วโมง จนกระทั่งน้ำหนักคงที่แล้วนำไปคำนวณหาปริมาณความชื้น) แล้วนำลูกแป้งที่ได้ไปอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง แล้วทำการตรวจหาปริมาณเชื้อและความชื้นหลังอบอีกครั้ง ทำการเก็บรักษาลูกแป้งเป็นเวลา 0 1 2 4 6 และ 8 สัปดาห์เพื่อทดสอบประสิทธิภาพการผลิตกรดน้ำส้มสายชูต่อไป

**3.8.3 การทดสอบประสิทธิภาพลูกแป้งน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์ในการผลิตกรดอะซิติกเมื่อเก็บรักษาเป็นระยะเวลาต่าง ๆ**

3.8.3.1 การผลิตน้ำน้ำสายชู

นำไวน์น้ำลวกข้าวโพดมาทำการปรับปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรดให้เป็น 4 % และ 1% ตามลำดับ เติมสารอาหารที่จำเป็นลงไปซึ่งประกอบด้วย Yeast extract 0.05 % (w/v) $KH_2PO_4$ 0.05 % (w/v) และ $MgSO_4$ 0.02% (w/v) ในฟลาสก์ ขนาด 2 ลิตร นำไปพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งไว้ให้เย็น เทใส่ลงในถังพลาสติกที่ผ่านการทำความสะอาดและฆ่าเชื้อ จากนั้นนำกล้าเชื้อลูกแป้งน้ำส้มสายชูที่ระยะการเก็บรักษาไว้ที่ 0, 1, 2, 4, 6 และ 8 มาทำการหมัก โดยถ่ายกล้าเชื้อลูกแป้งน้ำส้มสายชูที่ต้องการทดสอบประสิทธิภาพในข้อ 3.8.4 ร้อยละ 2 โดยปริมาตรน้ำหมัก ทำการหมักในสภาพที่มีอากาศโดยปั๊มอากาศผ่านตัวกรอง ( filter membrane ) ณ อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลา 10 วัน ติดตามผลการหมัก โดยนำตัวอย่างมาวัดปริมาณแอลกอฮอล์ที่ลดลงและปริมาณกรดที่สร้างด้วยการไทเทรตตามวิธีการของ AOAC และติดตามการเปลี่ยนแปลงของเชื้อน้ำส้มสายชู โดยอาศัยการตรวจวิเคราะห์จุลินทรีย์โดยวิธี Viable plate count ด้วยการ Spread plate

3.8.3.2 เปรียบเทียบประสิทธิภาพของลูกแป้งน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์

นำผลที่ได้จากการติดตามการหมักในแต่ละสายพันธุ์ คือ *A. aceti* WK *A. aceti* วว. และ *A. aceti* สป.5 และแต่ละช่วงการเก็บรักษา คือ 0 1 2 4 6 และ 8 สัปดาห์ ทำการเปรียบเทียบค่าที่ทำการติดตาม เพื่อวิเคราะห์ประสิทธิภาพลูกแป้งน้ำส้มสายชูที่ดีที่สุดทั้ง 3 สายพันธุ์ในการผลิตกรดน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 4
# ผลการทดลองและวิจารณ์

## 4.1 ผลของสมุนไพร 3 ชนิดต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์

เมื่อทำการเลี้ยงเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์ ในอาหารเลี้ยงเชื้อ GYE Broth ที่ผ่านการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วนาน 15 นาที นำไปเขย่าที่อุณภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน เพื่อเป็นการเพิ่มปริมาณเชื้อ จากนั้นทำการหาปริมาณเชื้อเริ่มต้นโดยการเจือจางสารละลายเชื้อน้ำส้มสายชูที่ระดับการเจือจาง $10^{-1}$-$10^{-6}$ และตรวจนับโดยวิธี Spread plate ทุกระดับการเจือจาง ระดับการเจือจางละ 2 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง 3 วัน ทำการนับจำนวนโคโลนี โดยรายงานผลเป็น logCFU/ml ดังแสดงในตารางที่ 4.1

**ตารางที่ 4.1 แสดงปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์**

| ชนิดของเชื้อน้ำส้มสายชู | ปริมาณเชื้อที่ตรวจนับ (log CFU/ml) |
|---|---|
| *Acetobacter aceti WK.* | 5.18 |
| *Acetobacter aceti* ฉว. | 6.65 |
| *Acetobacter aceti* สป5. | 5.35 |

เมื่อทำการเตรียมอาหารเหลว GYE Broth ใส่หลอดทดลองขนาดกลาง หลอดละ 9 มิลลิลิตร โดยผสมส่วนของสมุนไพรในอัตราต่างกัน ดังนี้ ส่วนที่ 1 ผสมลูกจันทน์ 1% ส่วนที่ 2 ผสมดอกจันทน์ 3% ส่วนที่ 3 ผสมพริกไทยขาว 3% และส่วนที่ 4 ไม่ผสมสมุนไพรเพื่อใช้เป็นตัวควบคุม จากนั้นนำสารละลายเชื้อน้ำส้มสายชูของแต่ละสายพันธุ์ที่บ่มไว้เป็นเวลา 3 วัน มาเจือจางที่ระดับการเจือจาง $10^{-1}$-$10^{-6}$ บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน สังเกตความขุ่นของอาหารเหลวที่เกิดขึ้น และหาปริมาณเชื้อในแต่ละระดับการเจือจาง โดยการตรวจนับด้วยวิธี Spread plate เพื่อทดสอบการอยู่รอดของเชื้อน้ำส้มสายชูทั้ง 3 สายพันธุ์ พบว่า หลอดทดลองทุกหลอดเกิดความขุ่นขึ้นทุกหลอด และลักษณะความขุ่นที่เกิดขึ้นมากน้อยต่างการดังแสดงในตารางที่ 4.2 และเมื่อทดสอบการอยู่รอดของเชื้อน้ำส้มสายชู พบว่า เชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์ ในส่วนของที่เติมสมุนไพรและไม่เติมสมุนไพรทั้ง 3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชนิด มีปริมาณเชื้อที่ตรวจนับได้ใกล้เคียงกัน คือไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ จึงสามารถสรุปได้ว่า สมุนไพรไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชูทั้ง 3 สายพันธุ์

**ตารางที่ 4.2 แสดงผลการทดสอบสมุนไพรทั้ง 3 ชนิด โดยสังเกตความขุ่น**

| ชนิดของเชื้อน้ำส้มสายชู | ชนิดของสมุนไพร | ลักษณะความขุ่น ระดับความเจือจาง | | | | | |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $10^{-1}$ | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | $10^{-4}$ | $10^{-5}$ | $10^{-6}$ |
| *A.aceti WK..* | ไม่เติม | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + |
| | ลูกจันทน์ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + |
| | ดอกจันทน์ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + |
| | พริกไทยขาว | +++ | +++ | ++ | + | + | + |
| *A.aceti วว.* | ไม่เติม | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + |
| | ลูกจันทน์ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + |
| | ดอกจันทน์ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + |
| | พริกไทยขาว | ++ | ++ | ++ | + | + | + |
| *A.aceti สป5* | ไม่เติม | +++ | ++ | ++ | ++ | ++ | + |
| | ลูกจันทน์ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + |
| | ดอกจันทน์ | +++ | ++ | ++ | ++ | + | + |
| | พริกไทยขาว | +++ | +++ | ++ | + | + | + |

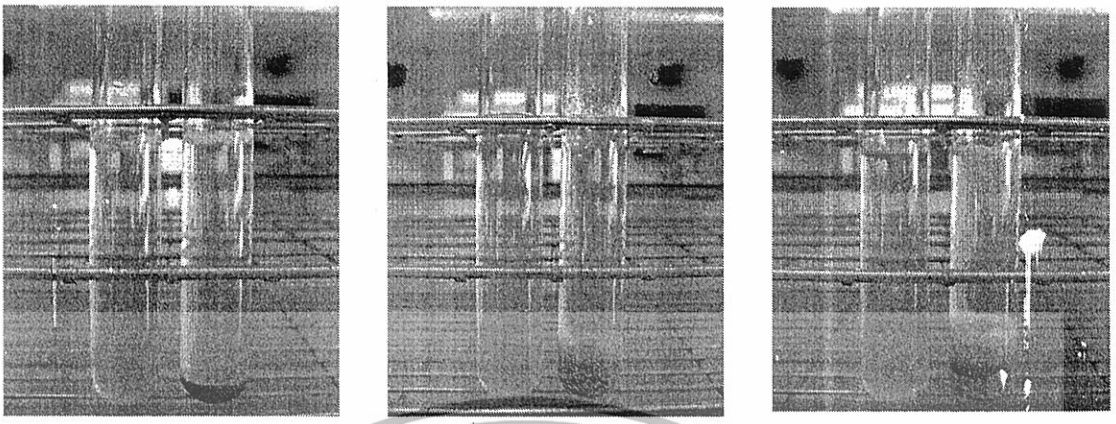
**หมายเหตุ** +++ แสดงว่ามีลักษณะขุ่นมาก

++ แสดงว่ามีลักษณะขุ่นปานกลาง

\+ แสดงว่ามีลักษณะขุ่นน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96514



**ภาพที่ 4.1** ลักษณะความขุ่นที่เกิดขึ้นเมื่อเติมสมุนไพร ลูกจันทน์ 1% ดอกจันทน์ 3% และพริกไทยขาว 3% ตามลำดับ

**ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณเชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์เมื่อเติมสมุนไพร 3 ชนิด**

| ชนิดของเชื้อน้ำส้มสายชู | ชนิดของสมุนไพร | ปริมาณเชื้อที่ตรวจนับได้ (logCFU/ml) |
|---|---|---|
| *Acetobacter aceti WK.* | ไม่เติม | 5.42 |
| | ลูกจันทน์ | 5.37 |
| | ดอกจันทน์ | 5.39 |
| | พริกไทยขาว | 5.31 |
| *Acetobacter aceti วว.* | ไม่เติม | 6.21 |
| | ลูกจันทน์ | 6.32 |
| | ดอกจันทน์ | 6.19 |
| | พริกไทยขาว | 6.35 |
| *Acetobacter aceti สป5* | ไม่เติม | 5.16 |
| | ลูกจันทน์ | 5.22 |
| | ดอกจันทน์ | 5.42 |
| | พริกไทยขาว | 5.41 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 4.2 ผลการทดลองผลิตลูกแป้ง

จากการทดสอบแล้วว่าผลของสมุนไพร 3 ชนิดไม่มีผลต่อการเจริญของเชื้อน้ำส้มสายชู *(Acetobacter aceti)* 3 สายพันธุ์ จึงทำการทดลองผลิตลูกแป้งโดยนำแป้งข้าวเจ้า สมุนไพรทั้ง 3 ชนิดตามอัตราส่วนที่กำหนด (นภา,2534) และสารละลายเชื้อน้ำส้มสายชูแต่ละสายพันธุ์ที่ทำการเลี้ยงไว้เป็นเวลา 3 วัน ผสมให้เข้ากัน และเติมกรดโพพิโอนิก 0.2% ในส่วนผสมของสมุนไพรเพื่อยับยั้งการเจริญของเชื้อรา ปั้นเป็นก้อนกลม บ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน ทำการตรวจนับปริมาณเชื้อในลูกแป้งและหาปริมาณความชื้นก่อนอบ-หลังอบ ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และตารางที่ 4.5

**ภาพที่ 4.2** ลูกแป้งน้ำส้มสายชูของเชื้อ 3 สายพันธุ์ ดังนี้ *Acetobacter aceti* WK. *Acetobacter aceti* วว. และ *Acetobacter aceti* สป.5

**ตารางที่ 4.4 แสดงปริมาณเชื้อในลูกแป้งน้ำส้มสายชูก่อนอบ-หลังอบ ของเชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์**

| ชนิดของน้ำส้มสายชู | จำนวนเชื้อที่นับได้ (log CFU/ml) | |
|---|---|---|
| | ก่อนอบ | หลังอบ |
| *Acetobacter aceti WK.* | 5.39 | 4.19 |
| *Acetobacter aceti* วว. | 6.14 | 4.92 |
| *Acetobacter aceti สป5.* | 5.19 | 4.31 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

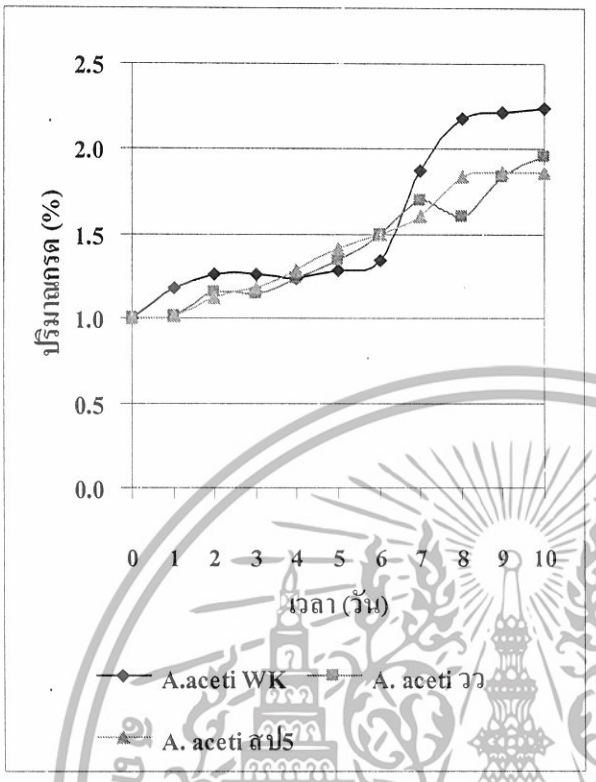
**ตารางที่ 4.5 แสดงปริมาณความชื้นของลูกแป้งน้ำส้มสายชูก่อนอบ-หลังอบ**

| ชนิดของน้ำส้มสายชู | ปริมาณความชื้น (%) | |
|---|---|---|
| | ก่อนอบ | หลังอบ |
| *Acetobacter aceti WK.* | 54.63 | 19.61 |
| *Acetobacter aceti* วว. | 53.26 | 17.00 |
| *Acetobacter aceti สป5.* | 52.65 | 16.89 |

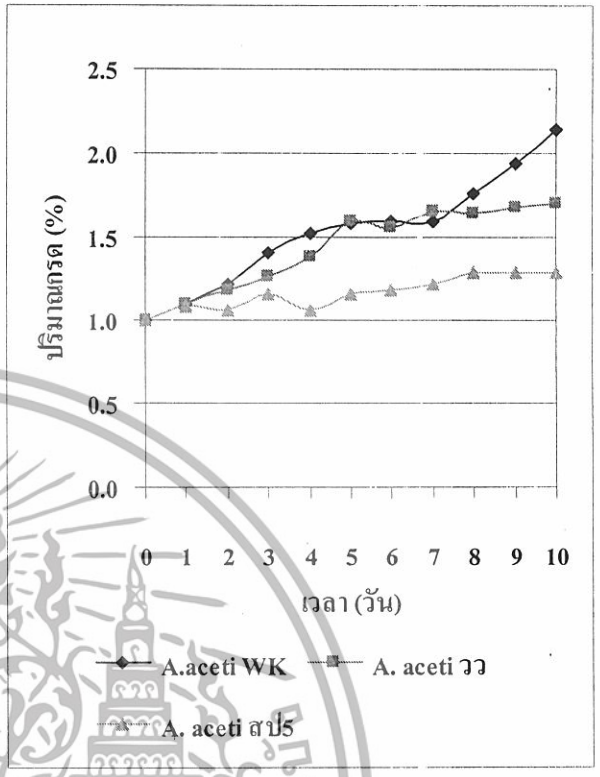
**4.3 ผลการทดสอบประสิทธิภาพลูกแป้งน้ำส้มสายชูในการผลิตน้ำส้มสายชู**

เมื่อได้ทำการผลิตลูกแป้งจากเชื้อน้ำส้มสายชูทั้ง 3 สายพันธุ์แล้ว นำมาเก็บรักษาที่ 0 1 2 4 6 และ 8 สัปดาห์ จึงนำมาทดสอบประสิทธิภาพของลูกแป้งของเชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์ โดยทำการหมักน้ำส้มสายชูด้วยไวน์น้ำลวกข้าวโพดฟักอ่อน ซึ่งปรับให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 4% และปรับกรดให้มีปริมาณ 1% ด้วยน้ำส้มสายชู จากนั้นเติมสารอาหาร Yeast Extract 0.05% $KH_2PO_4$ 0.05% และ $MgSO_4$ นำไปพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที เทลูกแป้ง 30 กรัม และน้ำหมักที่เตรียมใส่อุปกรณ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วหมักที่อุณหภูมิห้องในสภาวะปราศจากเชื้อด้วยเครื่องปั๊มอากาศโดยผ่าน Filter membrane ติดตามการสร้างกรดเป็นเวลา 10 วันและวัดแอลกอฮอล์ทุก 4 วัน จากนั้นทำการหาปริมาณเชื้อในลูกแป้งก่อนทำการหมักด้วยวิธี Spread plate พบว่าเมื่ออายุการเก็บรักษานานขึ้นประสิทธิภาพของเชื้อในการผลิตกรดอะซิติกจะลดลง ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จะลดน้อยลงด้วย ซึ่งสัมพันธ์โดยตรงกับปริมาณเชื้อน้ำส้มสายชูที่ลดลงเมื่ออายุการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น นอกจากนี้ยังพบว่าในเชื้อทั้ง 3 สายพันธุ์นั้น *A. aceti* WK จะมีประสิทธิภาพในการผลิตกรดอะซิติกได้ดีที่สุด แต่ถึงอย่างไรก็ตามปริมาณกรดอะซิติกที่เชื้อน้ำส้มสายชูสามสายพันธุ์สร้างออกมามีปริมาณเพียงเล็กน้อยเท่านั้น

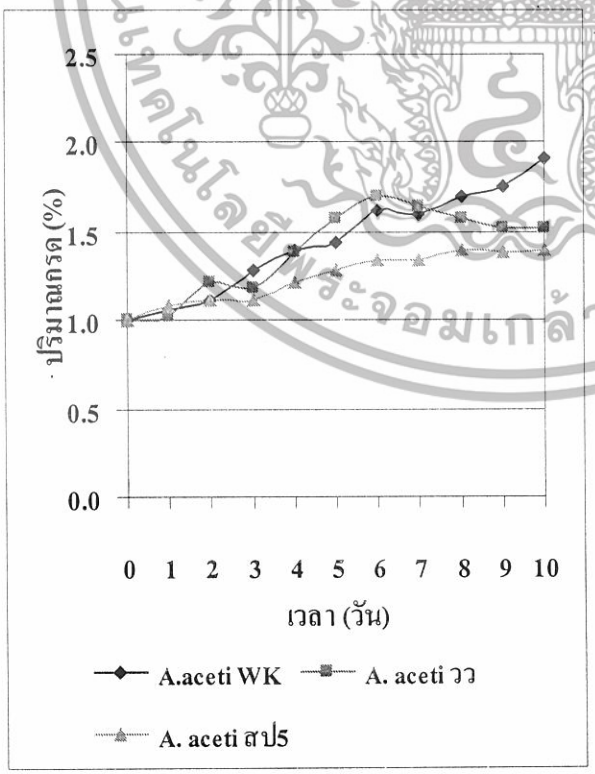
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



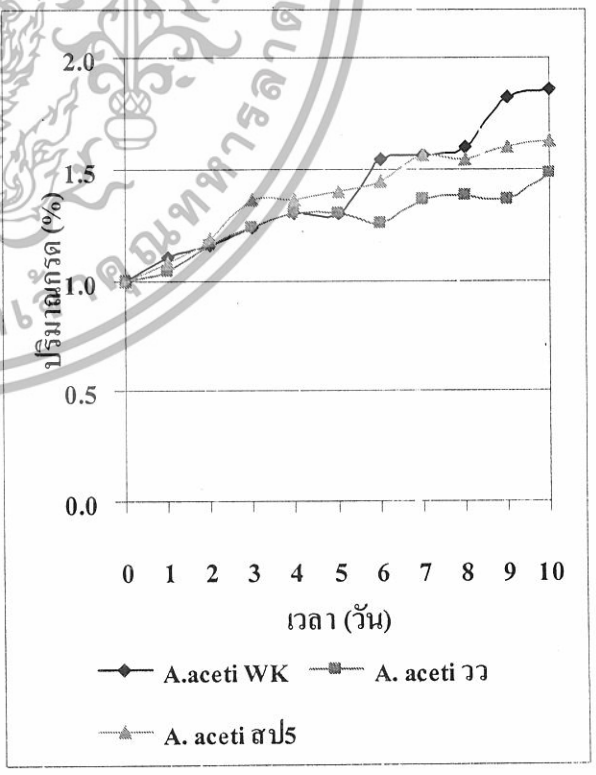

(ก)




(ข)

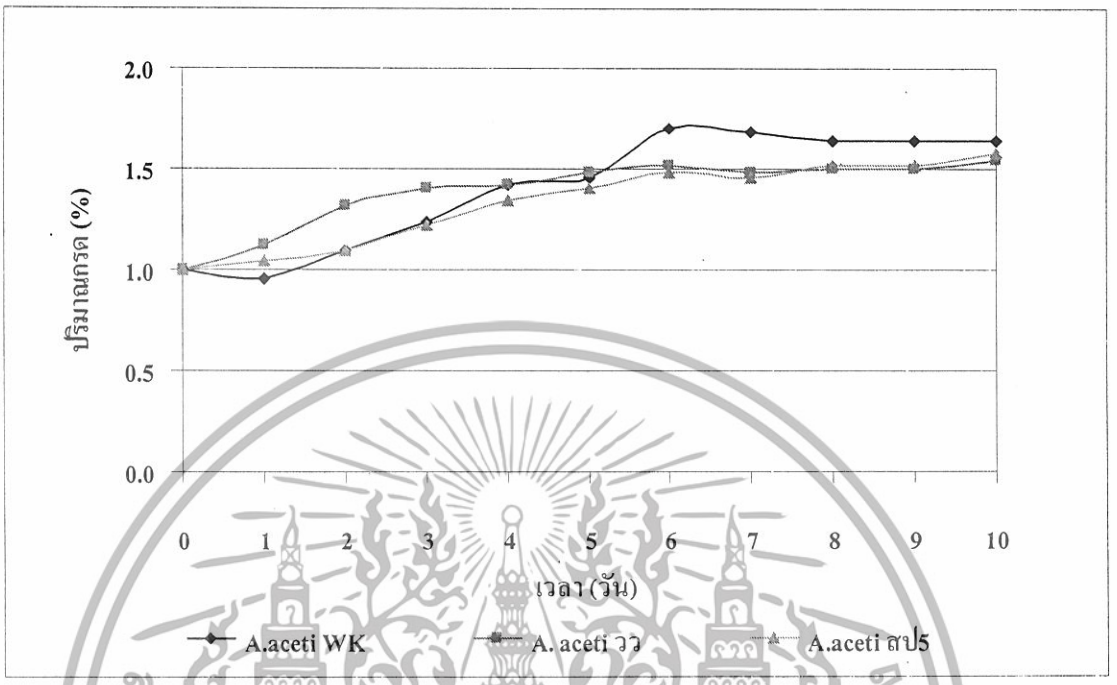



(ค)




(ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้




(จ)

**ภาพที่ 4.3** ผลการผลิตกรดอะซิติกของเชื้อน้ำส้มสายชู 3 สายพันธุ์ในลูกแป้งที่มีอายุการเก็บรักษาดังนี้ (ก) 0 สัปดาห์ (ข) 1 สัปดาห์ (ค) 2 สัปดาห์ (ง) 4 สัปดาห์ (จ) 6 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 4.6 แสดงปริมาณเชื้อในลูกแป้งน้ำส้มสายชูของเชื้อ 3 สายพันธุ์**

| ชนิดของเชื้อน้ำส้มสายชู ในลูกแป้ง | อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์) | ปริมาณเชื้อที่ตรวจนับได้ (log CFU/ml) |
|---|---|---|
| *Acetobacter aceti WK.* | 0 | 4.27 |
| | 1 | 4.35 |
| | 2 | 4.40 |
| | 4 | 4.08 |
| | 6 | 4.12 |
| *Acetobacter aceti* วว. | 0 | 4.32 |
| | 1 | 4.34 |
| | 2 | 4.25 |
| | 4 | 4.26 |
| | 6 | 4.11 |
| *Acetobacter aceti สป5.* | 0 | 3.36 |
| | 1 | 4.04 |
| | 2 | 3.15 |
| | 4 | 3.00 |
| | 6 | 2.96 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บทที่ 5
# สรุปผลการทดลอง

จากการศึกษาการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูเริ่มจากการผสมส่วนประกอบต่างๆเข้าด้วยกันจนปั้นเป็นก้อน พบว่าในการผสมจะต้องนำแป้งข้าวเจ้าผสมกับสมุนไพรบดทั้ง 3 ชนิดและกรดโพรพิโอนิกให้ทั่วถึงและเข้าเป็นเนื้อเดียวกันก่อนแล้วจึงค่อยๆ เติมสารละลายเชื้อน้ำส้มสายชูสายพันธุ์ที่ต้องการลงไป ทั้งนี้เนื่องจากหากไม่ผสมส่วนประกอบดังกล่าวให้เข้ากันก่อนเติมสารละลายเชื้อ จะทำให้ลูกแป้งที่ได้มีปริมาณสมุนไพรที่กระจายอยู่ในลูกแป้งไม่สม่ำเสมอกันเท่าที่ควร ซึ่งมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ปนเปื้อน คือทำให้ลูกแป้งที่ได้บางลูกดีบางลูกมีเชื้ออื่นเจริญแทน นอกจากนี้จำเป็นที่จะต้องค่อยๆ เติมสารละลายเชื้อน้ำส้มสายชูลงไปเพราะหากเติมมากเกินไปจะทำให้แป้งผสมที่ได้เหลวนิ่มเกินไป ปั้นเป็นทรงได้ยากและทำให้ปริมาณความชื้นในลูกแป้งสูงเกินไป ซึ่งทำให้ไม่ได้ลูกแป้งที่มีรูพรุน โปร่งเบา แต่หากความชื้นในลูกแป้งมีน้อยเกินไปจะทำให้ลูกแป้งที่ได้มีรอยแตกร้าว

หลังจากนำลูกแป้งมาบ่มที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 2-3 วัน แล้วเมื่อนำไปทำการอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมงนำมาทำการตรวจหาปริมาณเชื้อหลังอบพบว่าลดลงจากก่อนอบประมาณหนึ่ง log cycle เห็นตัวอย่างได้จากลูกแป้งน้ำส้มสายชูจากเชื้อ *A. aceti* WK ปริมาณเชื้อก่อนอบคือ 5.4 log CFU ต่อมิลลิกรัม เมื่อผ่านการอบแล้วปริมาณเชื้อลดลงเหลือ 4.4 log CFU ต่อมิลลิกรัม นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อผ่านการอบแล้วปริมาณความชื้นจะลดลงจากก่อนอบประมาณ 53 เปอร์เซ็นต์เหลือเพียงประมาณ 19 เปอร์เซ็นต์เท่านั้น

เมื่อทำการตรวจหาปริมาณเชื้อลูกแป้งน้ำส้มสายชูที่อายุการเก็บรักษาที่ระยะเวลาต่างๆ พบว่าปริมาณเชื้อน้ำส้มสายลูกในลูกแป้งจะลดลงอย่างค่อยเป็นค่อยไปในลูกแป้งเชื้อสายพันธุ์ *A. aceti* WK และวว. แต่ในสายพันธุ์ สป. 5 ปริมาณเชื้อจะลดลงอย่างเห็นได้ชัดในช่วงอายุการเก็บรักษาสัปดาห์ที่ 2 ต่อจากนั้นจะมีแนวโน้มลดลงเรื่อย ๆ

และจากการติดตามผลประสิทธิภาพในการสร้างกรดอะซิติกของเชื้อในลูกแป้งทั้ง 3 สายพันธุ์ โดยใช้ไวน์น้ำลวกข้าวโพดฟักอ่อนเป็นวัตถุดิบ พบว่าเชื้อจากลูกแป้งทั้ง 3 สายพันธุ์สามารถผลิตกรดออกมาได้เพียงเล็กน้อย แต่พบว่าในสามสายพันธุ์นี้ *A. aceti* WK มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดได้ดีที่สุด นอกจากนี้ยังพบว่าเมื่อทำการหมักดด้วยลูกแป้งน้ำส้มสายชูที่มีอายุการเก็บรักษานานขึ้นประสิทธิภาพในการสร้างกรดอะซิติกของเชื้อจะลดลงไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ข้อเสนอแนะ**

1. ในการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูองค์ประกอบหลักคือ แป้งข้าวเจ้าโดยส่วนใหญ่ ซึ่งเมื่อทำการหมักน้ำส้มสายชูจะทำให้กลิ่นของแป้งเด่นชัดจนทำให้กลบกลิ่นของน้ำส้มสายชูที่ผลิตได้จนหมด ดังนั้นควรหาวัตถุดิบอื่นมาทดแทนในการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชู เพื่อปรับปรุงประสิทธิภาพของกลิ่นให้ดีขึ้น

2. ในการผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูด้วยเชื้อน้ำส้มสายชูทั้ง 3 สายพันธุ์นั้น ไม่สามารถยืนยันได้ว่าลูกแป้งที่ผลิตขึ้นจะไม่ถูกการปนเปื้อนเนื่องจากเชื้อราหรือจุลินทรีย์ชนิดอื่นเมื่ออายุการเก็บรักษานานมากขึ้น ดังนั้นควรมีการตรวจสอบในระหว่างการหมักโดยเก็บตัวอย่างมาตรวจสอบหรืออาจจะทดสอบจากสารที่เติมไปสามารถยับยั้งการเจริญของเชื้อราได้มากน้อยเพียงใด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# บรรณานุกรม


จิราภรณ์ สุขุมาวาสี. 2518. การศึกษาทางชีววิทยาของลูกแป้งข้าวหมาก. รายงานการประชุมวิชาการเกษตรศาสตร์และชีววิทยา ครั้งที่ 14 สาขาพืช. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.498 น.

นภา โล่ห์ทอง, 2520. น้ำส้มสายชู. ข่าวสารเกษตรศาสตร์ 22(4) : 70-75.

นภา โล่ห์ทอง. 2534. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

นันทพร วรวุฒิพงษ์. 2517. การคัดสายพันธุ์แบคทีเรียเพื่อใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

บรรจงจิตร มหินทรเทพ. 2529. การผลิตลูกแป้งน้ำส้มสายชูและอิทธิพลของสมุนไพรต่อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง. วิทยานิพนธ์ ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เพ็ญพรรณ พุ่มชูศรี. 2505. การทำน้ำส้มผลไม้และผลไม้. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

มนตรี เชาว์สังเกต. 2521. การศึกษาขั้นพื้นฐานในการหมักสาโท. ปัญหาพิเศษปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

รสสุคนธ์ เหล่าไพบูลย์. 2528. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อน้ำส้มสายชูที่เหมาะสมต่อวิธีการผลิตแบบต่างๆ. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุ

วราภรณ์ รัตนัย. 2511. การำน้ำส้มสายชูจากผลไม้พื้นเมืองบางชนิด. วิทยานิพนธ์ปรญญาโท. มหาลัยเกษตรศาสตร์,กรุงเทพฯ

สุรชาติ พังประเสริฐกุล. 2525. ผู้จัดการฝ่ายโรงงาน บริษัท ไทยไวนีก้า จำกัด. สัมภาษณ์เรื่องการผลิตน้ำส้มสายชูกลั่นโดยอะซิเตเตอร์. 22 มิถุนายน 2525.

แสงมนต์ ปานใจ. 2507. การทำน้ำส้มสายชูจากมะเฟือง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

Adam, M.R. 1978. Small-scale vinegar production from bananas. Trop. Sci. 20: 11-19.

Adam, M.R. 1985. Vinegar,pp.1-47. In B.J.B. Wood (ed.). Microbiology of Fermented Foods. Vol. l. Elsevier Applied Science Publishers, London.

Adam, M.R. and G.R. Flynn. 1982. Fermentation ethanol : an industrial profile. Rep. Trop. Prod. Inst. G169, V +26 p. In B.J.B. wood (ed.). 1985 Microbiology of fermented Foods vol. l. Elsevier Applied Science Publishers, London.

Allgeier, R.J. and F.M. Hildebrandt. 1960. Newer developments in vinegar manufacture. Adv.


เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Appl. Microbiol. ll : 163-182.

Baanjomyut. 2006. "สมุนไพร" . [online]. Available at : http://www.baanjomyut.com/library/thai_spices/page2.html

Bacus, J.N. and W.L. Brown.1981. Use of Micr obial cultures : meat products. Food Technol. 35(1) 74-83.

Banwart, G.T. 1979. Basic Food Microbiology. The AVI Publishing Co., Inc., Connecticu..781 p.

Beaman, R.G. 1967. Vinegar fermentation, pp. 344-376. In H.J. Peppler (ed.). Microbial Technology. Van Nostrand-Reinhold, New Jersey.

Buchanan, R.E. and N.E. Gibbons. 1974. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. 8th ed., The Williams and Wilkins Co., Baltimore. 1268 p.

Casida, L.E. 1968. Industrial Microbiology. John Wiley and Sons, Inc. , New York. 460 p.

Conner, H.A. and R.J. Allgeier. 1976. Vinegar: Its history and development. Adv. Appl. Microbiol. 20: 81-133.

Conway, P.L., S.L. Goruach, S.L. and B.R. Goldin. 1987. Survival of lactic acid bacteria in the human stomach and adhesion to intestinal cells. J. Dairy Sci. 70: 1-12.

Cruess, W.V. 1958. Commercial Fruit and Vegetable Products : A Textbook for Student, Investigator and Manufacturer. 4th ed., McGraw-Hill, New York. 884 p.

Daengsubha, W., S. Artjariyasripong, M. Chaowsangket and K.Komagata. 1981. Indentification of acetic acid bacteria isolated from Thailand, pp. 10-12. In Miccrobial Engineering, Faculty of Engineering, Osaka University, Osaka.

Desrosier, N.W. and J.N. Desrosier. 1977. The Technology of Food Preservation. 4th ed., AVI, Westport, Connecticut. 588 p.

Ebner, H. and A. Enenkel. 1976. Ultrafiltration process and apparatus using low hydrostatic pressure to prevent concentration polarization. US Patent 3,974,068. 18 p.

Ebner, H., K. Pohl and A. Enenkel. 1967. Self-priming aerator and mechanical defoamer for microbiologycal processes. Biotechnol. Bioeng. 9: 357-364.

Espina, F. and V.S. Packard. 1979. Survival of Lactobacillus acidophilus in a spray-drying process. J. Food Prot. 42: 149-152.

Florenzani, G. and W. Balloni. 1969. Microbiological study of the alcoholic beverage Tuba and the vinergar Sukang puti prepared from the sap of Nipa fruticans in the Philippines. Agr. Ital.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(pisa) 69(3) : 93:98.

Goepfert, J.M. and G.T. Chung.1970 Growth of salmonella at low pH. J. Food Sci. 35:326-328.

Greenshields, R.N. 1978. Acetic acid : vinegar, pp. 121-186. In A.H. Rose (ed.). Primary Products of Metabolism. Academic Press, London.

Ham, J. 1824. Manufacture of vinegar. British Patent 5,012. In B.J.B. Wood (ed.). 1985. Microbiology of Fermentaed Foods. Vol. 1. Elsevier Applied Science Publishers, London.

Hromatka, O. and H. Ebner. 1959. Vinegar by submerged oxidative fermentation. Ind. Eng. Chem. (Ind. ed.) 51(10) : 1279-1280.

Lotong, N.F. , B.Y.K. Rao, A.R. Shah, G.M. Tewari and C. Bandyopadhyay. 1997. Antibacterial activity of volatile components of onion (Allium cepa). J of Food Sci. and Technol. 14: 35-36.

Masai, H. 1980. Recent technical developments on vinegar manufacture in Japan. P. 24. In B.J.B. Wood (ed.). 1985. Microbiology of Fermented Foods. Vol. 1. Elsevier Applied Science Publishers, London.

Mayer, E. 1953. Historic and modern aspects of vinegar marking (acetic fermentation). Food Tech. 17:582-584.

Muller, F.1978. Amodern bioreactor for vinegar production. Process Biochem. 13: 10-11

Nickol, G.B. 1971. Preseverative of fungi, pp. 113-151. In C. Booth (ed.). Methods in Microbiology. Vol. 4. Academic Press, London.

Shimwell, J.L. 1954. Pure culture vinegar production. J. Inst. Brewing 60(2): 136-141.

Vaughn, R.H. 1942. The acetic acid bacteria. Wallerstein Labs. Commun. 5: 5-26.

Wahid, M.A. and M.I.D. Chughtai. 1969. Studies in the chemical activities of microorganism. VII : Acetic (vinegar) from indigenous raw materials. Pakistan J. Scientific Res. 21(3,4): 88-93.

White, J. 1970. Malt vinegar manufacture. Process Biochem. 5(10) : 54-56.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก

## ภาคผนวก ก
## วิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

**1. อาหาร Glucose Yeast Extract Broth (GYE Broth)**

| | | | |
|---|---|---|---|
| มีองค์ประกอบดังนี้ | Glucose | 100.0 | กรัม |
| | Yeast Extract | 10.0 | กรัม |
| | Distilled water | 1000.0 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกรอง แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน 15 นาที

**2. อาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYEA)**

| | | | |
|---|---|---|---|
| มีองค์ประกอบดังนี้ | Glucose | 100.0 | กรัม |
| | Yeast Extract | 10.0 | กรัม |
| | Calcium carbonate | 20.0 | กรัม |
| | Agar | 17.0-20.0 | กรัม |
| | Distilled water | 1000.0 | มิลลิลิตร |

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกรองด้วยความร้อนจน Agar ละลาย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลานาน15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ข

## วิธีวิเคราะห์และรายงานผล

### 1. การวิเคราะห์แอลกอฮอล์โดยใช้ Ebuliometer

#### 1.1 การหาจุดเดือดของน้ำ

ล้าง Ebuliometer ให้สะอาดแล้วเติมน้ำให้ได้ปริมาตรที่ขีดไว้ตอนล่างของกระบอกตวง (25 มิลลิลิตร) โดยเติมลงในช่องใส่เทอร์โมมิเตอร์ไว้ตามเดิม จุดไฟตะเกียงแอลกอฮอล์ใส่ไว้ใต้เครื่อง รอประมาณ 8-9 นาที น้ำจะร้อนขึ้น จะเห็นปรอทของเทอร์โมมิเตอร์ขึ้น เมื่อน้ำเดือดและปรอทอยู่คงที่ อ่านค่าอุณหภูมิที่ได้จะเป็นจุดเดือดของน้ำ (ควรจะได้ใกล้เคียงกับ 100)

ข้อสังเกต ไม่ต้องเติมน้ำในส่วนคอนเดนเซอร์ข้างบนขณะที่หาจุดเดือดของน้ำ

#### 1.2 การหาจุดเดือดของตัวอย่าง

เทน้ำออกแล้วใช้ตัวอย่างล้างและเททิ้งให้หมด ตวงตัวอย่างด้วยกระบอกตวงโดยใช้ปริมาตรของขีดบน (50 มิลลิลิตร) เติมน้ำลงในคอนเดนเซอร์จุดตะเกียงแอลกอฮอล์สังเกตปรอทที่เริ่มขึ้นสูงจนกระทั่งปรอทหยุดคงที่อ่านค่าอุณหภูมิที่ได้

ข้อสังเกต จุดเดือดที่ถูกต้องจะคงที่อยู่ระยะหนึ่ง ถ้าปล่อยไว้นานขึ้นจุดเดือดจะสูงขึ้นไปเรื่อยๆ เพราะน้ำในคอนเดนเซอร์ร้อน ค่าที่อ่านได้จะผิดไป จำเป็นต้องเฝ้าสังเกตให้ดี เครื่องมือนี้เหมาะสำหรับหาตัวอย่างที่มีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 20% ถ้าสูงกว่านั้นจำเป็นต้องทำให้เจือจางลงตามอัตราส่วน

#### 1.3 การอ่านค่าแอลกอฮอล์

อ่านค่าได้โดยใช้แป้นกลม หมุนปุ่มวงกลมให้จุดเดือดของน้ำตรงกับค่าแอลกอฮอล์ที่ 0 ดีกรี จากนั้นอ่านค่าจุดเดือดของตัวอย่างและด้านตรงข้ามจะเป็นค่าแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยวิธีนี้ก็อ่านค่าได้โดยตรงไม่ตรงปรับค่าของอุณหภูมิทำให้สะดวกและรวดเร็วขึ้น

Ebuliometer จะวัดค่าแอลกอฮอล์ได้แม่นยำในช่วงที่มีแอลกอฮอล์น้อยกว่า 5% ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้ในช่วงที่เหมาะสมคือประมาณ 96-100 องศาเซลเซียส ถ้าตัวอย่างที่ต้องการหามีปริมาณแอลกอฮอล์สูงควรจะเติมน้ำให้เจือจางลงมา เมื่ออ่านค่าได้แล้วจึงคำนวณกลับไปหาปริมาตรเดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก่อนเติมน้ำ นอกจากนี้ตัวอย่างที่ใช้หาควรจะมีน้ำตาลน้อยกว่า 2% จึงจะอ่านค่าได้ใกล้เคียงที่สุดและมีความผิดพลาดไม่เกิน 0.1%

Ebuliometer ควรจะต้องไม่มีคราบตะกอน โดยปกติเมื่อใช้หาตัวอย่างไปแล้วทุกๆ 50 ครั้งทำความสะอาดโดยต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกซ์ 2 % สัก 5-10 นาที แล้วล้างน้ำให้สะอาดและต้มด้วยน้ำเปล่าสองสามครั้ง

**2. การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด** (AOAC , 1995)

**2.1 สารเคมี**

2.1.1 น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยนำน้ำกลั่นมาต้มเดือดเป็นเวลา 20 นาที

2.1.2 สารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH เตรียมจาก NaOH 4 กรัม ที่เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดแก้วที่กันคาร์บอนไดออกไซด์ได้และเป็นแก้วทนด่างก่อนใช้นำมาหาความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1 N NaOH ทำได้โดยชั่งโพแทสซียมไฮโดรเจนพาทาเลท (อบ 2 ชั่วโมงที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส แล้วทำให้เย็นในโถดูดความชื้น) อย่างละเอียดประมาณ 0.3 กรัม เติมลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร จึงเติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ 90-100 มิลลิลิตร เมื่อโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท (มีสูตรเป็น $KHC_8O_4H_4$) ละลาย จึงเติมสารละลายฟีนอฟธาลีน 3 หยด แล้วไตเตรทด้วยสารละลาย 0.1 N NaOH ความเข้มข้นมาตรฐาน คำนวณได้จากสูตร

$$\text{ความเข้มข้นมาตรฐาน (N)} = \frac{\text{กรัม } KHC_8O_4H_4 \times 1{,}000}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 204.229}$$

2.1.3 สารละลายฟีนอฟทาลีน (Phenolphthalein) ชั่ง 1 กรัม ฟีนอฟธาลีนละลายในแอลกอฮอล์ 95 เปอร์เซ็นต์ 100 มิลลิลิตร

**2.2 วิธีวิเคราะห์**

นำตัวอย่าง 1 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เติมสารละลายฟีนอฟธาลีน 3 หยด แล้วไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 0.1 N NaOH จนกระทั่งถึงจุดยุติ (End point) สีชมพู แต่ถ้าตัวอย่างมีสีให้ใช้พีเอชมิเตอร์วัด โดยจุดยุติ (End point) ของฟีนอฟธาลีน คือ พีเอช 8.6 ปริมาณกรดคำนวณเป็นกรดอะซิติคตามสูตร

$$\text{กรดทั้งหมด (กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{N \times V \times 60 \times 100}{1{,}000 \times 1}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในกรณีที่อัตราส่วนจำนวนโคโลนี (จำนวนสูง/จำนวนต่ำ) มีค่าน้อยกว่า 2 ให้หาค่าเฉลี่ยทั้ง 4 ซ้ำ (ตัวอย่างการนับที่ 3)

ในกรณีที่อัตราส่วนจำนวนโคโลนีมีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 2 ให้ใช้ค่าเฉลี่ยเฉพาะ 2 ซ้ำ ของระดับการเจือจางที่เมื่อคูณด้วย dilution factor แล้วมีค่าน้อยกว่า (ตัวอย่างการนับที่ 5 )

**หลักข้อที่ 4.** ในการตรวจนับครั้งใดก็ตามที่มีมีโคโลนีเกิดขึ้นในจานใดจานหนึ่ง โดยที่ได้ใช้ตัวอย่างระดับความเจือจางต่ำที่สุดแล้ว (ตัวอย่างที่เป็นอาหารแข็ง) หรือใช้ตัวอย่างที่ไม่ได้เจือจาง (ตัวอย่างที่เป็นอาหารเหลว) ให้รายงานผลว่าอกหารนั้นมีจุลินทรีย์อยู่น้อยกว่าตัวเลขของระดับความเจือจางต่ำที่สุดที่ตรวจนับหรือต่ำว่า 1 เซลล์ต่อมิลลิลิตร (ตัวอย่างการนับที่ 6 )

**หลักข้อที่ 5.** การตรวจนับที่มีโคโลนีเกิดขึ้นระหว่าง 1-20 โคโลนี ในตัวอย่างที่ระดับความเจือจางต่ำสุด ให้รายงานผลว่ามีจำนวนจุลินทรีย์น้อยกว่า 30 x ระดับความเจือจางต่ำสุด (ตัวอย่างการนับที่ 7)

**หลักข้อที่ 6.** ในกรณีที่มีโคโลนีแผ่ลาม (spreader)เกิดขึ้น ถ้าการแผ่ลามนั้นไม่ถึงครึ่งหนึ่งของจานเพาะเชื้อ ให้นับโคโลนีที่แผ่ลามเป็น 1 และนับจำนวนโคโลนีที่เกิดขึ้นทั้งในและนอกบริเวณการแผ่ลาม

**หลักข้อที่ 7.** ไม่ควรรายงานผลการทดลองที่มีข้อผิดพลาดดังต่อไปนี้ เช่น

- จำนวนที่นับได้จากระดับความเจือจางสูง มีค่ามากกว่าที่นับได้จากระดับความเจือจางต่ำ
- มีโคโลนีแผ่ลามคลุมทั้งจาน หรือแผ่ลามตั้งแต่ครึ่งจาน
- มีมดหรือแมลงเดินบนผิวของอาหารทำให้เกิดโคโลนีเรียงต่อกันเป็นสาย
- มีโคโลนีเกาะกลุ่มหนาแน่นเฉพาะบริเวณใดบริเวณหนึ่ง ซึ่งแสดงว่าเขย่าจานไม่มากพอที่จะทำให้ตัวอย่างอาหารกระจายไปทั่วถึง หรือเกิดจากเมื่อดูดตัวอย่างอาหารใส่ลงในจานเพาะเชื้อแล้วทิ้งตัวอย่างอาหารไว้นานเกินไปก่อนเทอาหารเลี้ยงเชื้อทำให้ตัวอย่างอาหารแห้งติดจาน

ในกรณีที่จำนวนที่นับได้เป็นเลขนัยสำคัญ 3 หลัก ให้ปัดเป็นเลข 2 หลัก โดยถ้าเลยนัยสำคัญตำแหน่งที่ 3 มีค่าเท่ากับหรือมากกว่า 5 ให้ปัดขึ้น การรายงานผลการตรวจนับเป็นเลขยกกำลังให้รายงานผลเป็นเลขจำนวนเต็มเพียง 1 ตัว และเลขทศนิยมเพียง 1 ตำแหน่งคูณด้วยเลขสิบยกกำลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตัวอย่างการรายงานผลการตรวจนับจุลินทรีย์ในอาหาร**

| ตัวอย่างการนับที่ | จำนวนโคโลนีที่นับได้ | | | | อัตราส่วนจำนวนโคโลนี จำนวนสูง/จำนวนต่ำ | ผลการตรวจนับโคโลนีต่อกรัม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ซ้ำที่ | ระดับความเจือจาง | | | | |
| | | 1:10(หรือ $10^{-1}$) | 1:100(หรือ$10^{-2}$) | 1:1000(หรือ $10^{-3}$) | | |
| 1 | 1 | >300 | 175 | 16 | - (ใช้เพียงระดับการเจือจางเดียว) | $1.9 \times 10^4$ (19,000) |
| | 2 | >300 | 208 | 17 | | |
| | | | ค่าเฉลี่ย = 191.5 | | | |
| | | | $191.5 \times 10^2$ | | | |
| | | | ≈ 19000 | | | |
| 2 | 1 | >300 | 322* | 23 | - (ใช้เพียงระดับการเจือจางเดียว) | $3.0 \times 10^4$ (30,000) |
| | 2 | >300 | 278 | 29 | | |
| | | | ค่าเฉลี่ย = 300 | | | |
| | | | $300 \times 10^2$ | | | |
| | | | = 30000 | | | |
| 3 | 1 | >300 | 291 | 32 | 1.3 (36000/27050 มีค่าน้อยกว่า 2 ให้ใช้ค่าเฉลี่ยของทั้ง 4 ซ้ำ) | $3.2 \times 10^4$ (32,000) |
| | 2 | >300 | 250 | 40 | | |
| | | | ค่าเฉลี่ย = 270.5 | ค่าเฉลี่ย = 36 | | |
| | | | $270.5 \times 10^2$ | $36 \times 10^3$ | | |
| | | | ค่าเฉลี่ย = 31525 | | | |
| | | | ≈ 32000 | | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| ตัวอย่างการนับที่ | จำนวนโคโลนีที่นับได้ | | | | อัตราส่วนจำนวนโคโลนีจำนวนสูง/จำนวนต่ำ | ผลการตรวจนับโคโลนีต่อกรัม |
|---|---|---|---|---|---|---|
| | ซ้ำที่ | ระดับความเจือจาง | | | | |
| | | 1:10(หรือ $10^{-1}$) | 1:100(หรือ$10^{-2}$) | 1:1000(หรือ $10^{-3}$) | | |
| 4 | 1 | >300 | 281 | 40 | 1.1 (32,959/32,000 มีค่าน้อยกว่า 2 ให้ใช้ค่าเฉลี่ยของทั้ง 4 ซ้ำ) | $3.3 \times 10^4$ (33,000) |
| | 2 | >300 | 378*** | 24** | | |
| | | | ค่าเฉลี่ย = 329.5 | ค่าเฉลี่ย = 32 | | |
| | | | $329.5 \times 10^2$ | $36 \times 10^3$ | | |
| | | | ค่าเฉลี่ย = 32,475 ≈ 33,000 | | | |
| 5 | 1 | >300 | 138 | 42 | 2.4 (36,000/15,000 มีค่ามากกว่า 2 ให้ใช้ค่าเฉลี่ยของ 2 ซ้ำ ของระดับการเจือจางที่เมื่อคูณด้วย dilution factor แล้วมีค่าน้อยกว่า) | $1.5 \times 10^4$ (15,000) |
| | 2 | >300 | 162 | 30 | | |
| | | | เฉลี่ย = 36 | เฉลี่ย = 36 | | |
| | | | $150 \times 10^2$ | $36 \times 10^3$ | | |
| | | | 15,000 | 36,000 | | |
| 6 | 1 | 0 | 0 | 0 | - | $< 1 \times 10^1$ ($<10^1$) |
| | 2 | 0 | 0 | 0 | | |
| 7 | 1 | 18 | 2 | 0 | - | $< 30 \times 10^1$ (<300) |
| | 2 | 12 | 3 | 0 | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ภาคผนวก ค
# ข้อมูล

**ตารางที่ 1 ผ. ปริมาณเชื้อเริ่มต้นของเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter aceti*) 3 สายพันธุ์**

| ชนิดของเชื้อน้ำส้มสายชู | ซ้ำที่ | จำนวนโลนีที่นับได้ ระดับความเจือจาง | | | | อัตราส่วนจำนวนโคโลนีจำนวนสูง/จำนวนต่ำ | ผลการตรวจนับ(LOG CFU/ml) |
|---|---|---|---|---|---|---|---|
| | | $10^{-2}$ | $10^{-3}$ | $10^{-4}$ | $10^{-5}$ | - | 5.2 |
| *A.aceti* WK | 1 | >300 | 135 | 7 | 1 | (ใช้เพียงระดับการเจือจางเดียว) | |
| | 2 | >300 | 169 | 17 | 1 | | |
| | | | 152000 | | | | |
| *A.aceti* วว. | 1 | >300 | >300 | 247 | 76 | 3.01 | 6.4 |
| | 2 | >300 | >300 | 201 | 59 | | |
| | | | | 2240000 | 6750000 | | |
| *A.aceti* สป.5 | 1 | >300 | 149 | 32 | 10 | 1.67 | 5.3 |
| | 2 | >300 | 186 | 24 | 7 | | |
| | | | 167500 | 280000 | | | |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ตารางที่ 2 ผ. ผลปริมาณกรดของเชื้อน้ำส้มสายชูในลูกแป้งที่อายุการเก็บรักษาแต่ละสัปดาห์**

| อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์) | ระยะเวลาติดตามผล (วัน) | ปริมาณกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *A.aceti* WK | *A.aceti* วว. | *A.aceti* สป.5 |
| 0 | 0 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | 1 | 1.18 | 1.02 | 1.02 |
| | 2 | 1.26 | 1.16 | 1.12 |
| | 3 | 1.26 | 1.14 | 1.18 |
| | 4 | 1.24 | 1.24 | 1.28 |
| | 5 | 1.29 | 1.34 | 1.42 |
| | 6 | 1.34 | 1.50 | 1.50 |
| | 7 | 1.88 | 1.70 | 1.60 |
| | 8 | 2.18 | 1.60 | 1.84 |
| | 9 | 2.22 | 1.84 | 1.86 |
| | 10 | 2.24 | 1.96 | 1.86 |
| 1 | 0 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | 1 | 1.10 | 1.10 | 1.08 |
| | 2 | 1.22 | 1.18 | 1.06 |
| | 3 | 1.40 | 1.26 | 1.16 |
| | 4 | 1.52 | 1.38 | 1.06 |
| | 5 | 1.58 | 1.60 | 1.16 |
| | 6 | 1.60 | 1.56 | 1.18 |
| | 7 | 1.60 | 1.66 | 1.22 |
| | 8 | 1.76 | 1.64 | 1.28 |
| | 9 | 1.94 | 1.68 | 1.28 |
| | 10 | 2.14 | 1.70 | 1.28 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์) | ระยะเวลาติดตามผล (วัน) | ปริมาณกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *A.aceti* WK | *A.aceti* วว. | *A.aceii* สป.5 |
| 2 | 0 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | 1 | 1.06 | 1.02 | 1.08 |
| | 2 | 1.12 | 1.22 | 1.12 |
| | 3 | 1.28 | 1.18 | 1.12 |
| | 4 | 1.40 | 1.38 | 1.22 |
| | 5 | 1.44 | 1.58 | 1.28 |
| | 6 | 1.62 | 1.70 | 1.34 |
| | 7 | 1.60 | 1.64 | 1.34 |
| | 8 | 1.70 | 1.58 | 1.40 |
| | 9 | 1.76 | 1.52 | 1.38 |
| | 10 | 1.92 | 1.52 | 1.40 |
| 4 | 0 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | 1 | 1.10 | 1.04 | 1.08 |
| | 2 | 1.16 | 1.16 | 1.18 |
| | 3 | 1.24 | 1.24 | 1.36 |
| | 4 | 1.30 | 1.30 | 1.36 |
| | 5 | 1.30 | 1.30 | 1.40 |
| | 6 | 1.54 | 1.26 | 1.44 |
| | 7 | 1.56 | 1.36 | 1.56 |
| | 8 | 1.60 | 1.38 | 1.54 |
| | 9 | 1.82 | 1.36 | 1.60 |
| | 10 | 1.86 | 1.48 | 1.62 |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

| อายุการเก็บรักษา (สัปดาห์) | ระยะเวลาติดตามผล (วัน) | ปริมาณกรดอะซิติก (เปอร์เซ็นต์) | | |
|---|---|---|---|---|
| | | *A.aceti* WK | *A.aceti* วว. | *A.aceti* สป.5 |
| 6 | 0 | 1.00 | 1.00 | 1.00 |
| | 1 | 0.96 | 1.12 | 1.04 |
| | 2 | 1.10 | 1.32 | 1.10 |
| | 3 | 1.24 | 1.40 | 1.22 |
| | 4 | 1.42 | 1.42 | 1.34 |
| | 5 | 1.46 | 1.48 | 1.40 |
| | 6 | 1.70 | 1.52 | 1.48 |
| | 7 | 1.68 | 1.48 | 1.46 |
| | 8 | 1.64 | 1.50 | 1.52 |
| | 9 | 1.64 | 1.50 | 1.52 |
| | 10 | 1.64 | 1.54 | 1.58 |

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

# ประวัติผู้เขียน

| | |
|---|---|
| ชื่อ-สกุล | นายธนพล เภาศรี |
| วัน เดือน ปี เกิด | 4 มิถุนายน 2527 |
| สถานที่อยู่ปัจจุบัน | 7/1 หมู่ 1 ตำบลท่าผา อำเภอบ้านโป่ง จังหวัดราชบุรี |
| ประวัติการศึกษา | ปีการศึกษา 2546 สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนรัตนราษฎร์บำรุง |
| | ปีการศึกษา 2549 จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมัก จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกลาดกระบัง |

| | |
|---|---|
| ชื่อ-สกุล | นางสาวภัสศิมณฑ์ ศุภกนิษฐวิล |
| วัน เดือน ปี เกิด | 9 ตุลาคม 2527 |
| สถานที่อยู่ปัจจุบัน | 168/2 หมู่ 1 อ่อนนุช-ลาดกระบัง เขตลาดกระบัง กรุงเทพฯ |
| ประวัติการศึกษา | ปีการศึกษา 2546 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย จากโรงเรียนอุดรพิทยานุกูล |
| | ปีการศึกษา 2549 จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมัก จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง |

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้