21732

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

T096576

ปัญหาพิเศษ

การปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูเพื่อความเหมาะสมกับไวน์ผลไม้

(Adaptations Acetic Producing Bacteria for Local wine)

จัดทำโดย

นางสาวณัชนลิน	เจริญจิตร์	รหัสนักศึกษา	46041053
นางสาวนันทินี	จันทร์ธรี	รหัสนักศึกษา	46041060
นางสาวอาภาภรณ์	หอมสามสอน	รหัสนักศึกษา	46041083

วพ.
ว4959ก
2549

ชหมู่.....
ชทะเบียน 96576
ม.เดือน,ปี..... 8 JUN 2009

.b 11229056
.i.....

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

Faculty of Agricultural Industry

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง
กรุงเทพ ฯ 10520

King Mongkut's Institute of
Technology Ladkrabang
Bangkok 10520 Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง

การปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูเพื่อความเหมาะสมกับไวน์ผลไม้

(Adaptations Acetic Producing Bacteria for Local wine)

จัดทำโดย

นางสาวณัชนลิน เจริญจิตร์	รหัสนักศึกษา 46041053
นางสาวนันทินี จันทร์ศรี	รหัสนักศึกษา 46041060
นางสาวอาภาภรณ์ หอมสามเสน	รหัสนักศึกษา 46041083

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

..... 15/2/50 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(รองศาสตราจารย์.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูเพื่อความเหมาะสมกับไวน์ผลไม้

(Adaptations Acetic Producing Bacteria for Local wine)

จัดทำโดย

นางสาวณัชนิน	เจริญจิตร์	รหัสนักศึกษา	46041053
นางสาวนันทินี	จันทร์ศรี	รหัสนักศึกษา	46041060
นางสาวอาภาภรณ์	หอมสมเสน	รหัสนักศึกษา	46041083

รายงานนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาศาสตร์วิทยาศาสตร์บัณฑิต

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2549

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นางสาวณัชนลิน เจริญจิตร์, นางสาวนันทินี จันทร์ศรี และนางสาวอาภาภรณ์ หอมสามเสน.2549 :
การปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูเพื่อความเหมาะสมกับไวน์ผลไม้ (Adaptations Acetic Producting Bacteria for Local wine) สาขาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
อาจารย์ที่ปรึกษา : รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

จากการศึกษาการปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูให้เหมาะสมกับไวน์ผลไม้สามชนิด คือ ไวน์ลิ้นจี่ ไวน์มะขาม และไวน์มะม่วง โดยใช้เชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในสภาพให้อากาศ โดยทำการปรับสภาพเชื้อ 2 ขั้น กล่าวคือ ขั้นแรกปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นโดยสร้างสภาวะเริ่มต้นให้ในไวน์ผลไม้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรดจนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5%เพิ่มปริมาณกรดในน้ำไวน์ 20% (5.4% 6.48% และ 7.77%) โดยที่ปริมาณแอลกอฮอล์ยังคง 3.5% เท่าเดิม จากนั้นจึงทำการปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรดในขั้นที่สองโดยปรับสภาวะให้ไวน์แต่ละชนิดให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ เริ่มต้น 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณกรดและแอลกอฮอล์เช่นเดียวกับขั้นที่ 1 จากนั้นทำการปรับกรดและแอลกอฮอล์ให้อยู่ในสภาวะเช่นเดิมจนกระทั้งอัตราการเพิ่มขึ้นของกรดเริ่มเป็นแนวโน้มแล้วจึงเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำไวน์ 20% (4.2%) โดยที่ปริมาณกรดยังคง 4.5% เท่าเดิม ทั้งนี้เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกับแอลกอฮอล์ในไวน์ผลไม้ที่ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างๆ กันจากการปรับสภาพครั้งที่ 1 มาพลอตกราฟ พบว่าเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในไวน์ผลไม้ต่างๆ ทั้ง 12 isolates ที่ผ่านการปรับสภาพให้ทนกรด สามารถทนสภาวะที่มีแอลกอฮอล์และกรดเริ่มต้น 3.5 เปอร์เซ็นต์และ 7.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ในอัตราที่ต่างกัน และเมื่อพิจารณาร่วมกับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกับแอลกอฮอล์ในไวน์ผลไม้ที่ ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างๆ กันจากการปรับสภาพครั้งที่ 2 พบว่าเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในไวน์ผลไม้ต่างๆ ทั้ง 12 isolates ที่ผ่านการปรับสภาพให้สร้างกรดสามารถทนสภาวะที่มีแอลกอฮอล์และกรดเริ่มต้น 4.2 เปอร์เซ็นต์และ 4.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ พบว่าเชื้อน้ำส้มสายชูแต่ละสายพันธุ์สามารถทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและสร้างกรดในไวน์ผลไม้ชนิดต่างๆได้ต่างกัน คือ เชื้อน้ำส้มสายชูสายพันธุ์ที่สามารถทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและสร้างกรดได้ดีที่สุด ในไวน์มะขาม และในไวน์มะม่วง คือ *Acetobacter* sp. สายพันธุ์ WK ส่วนในไวน์ลิ้นจี่ คือ *Acetobacter* sp. สายพันธุ์ สป.5

ณัชนลิน เจริญจิตร์ .....
นันทินี จันทร์ศรี .....
อาภาภรณ์ หอมสามเสน .....

..... 15 มี.ค. 50

ลายมือชื่อนักศึกษา ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีต้องขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง อาจารย์ที่ปรึกษาเป็นอย่างสูง ที่ให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำในวิธีการดำเนินงาน การแก้ไขปัญหาตลอดจนหาเครื่องมือและอุปกรณ์ที่ใช้ในการทดลอง รวมทั้งการตรวจทานแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ที่ได้ให้เกียรติเป็นคณะกรรมการในการสอบปัญหาพิเศษ และให้ความรู้ คำปรึกษา คำแนะนำในวิธีการดำเนินงานรวมทั้งช่วยในการแก้ไขปัญหาต่างๆที่เกิดขึ้นในระหว่างการทดลอง

ขอขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่อบรมสั่งสอนและเลี้ยงดูมาตลอดจนถึงทุกวันนี้ และเป็นผู้ที่ช่วยออกกำลังทรัพย์ในการทำปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ โดยเฉพาะ เพื่อนๆที่อยู่ในห้องปฏิบัติการปัญหาพิเศษที่คอยช่วยเหลือคอยอยู่เป็นเพื่อนและและคอยเป็นกำลังใจให้ในการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้โดยตลอด

สุดท้ายนี้หวังว่าความรู้ วิธีการดำเนินงานและคุณค่าของปัญหาพิเศษฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อทุกท่านที่สนใจ

คณะผู้จัดทำ

9 มีนาคม 2550

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ ..... ก
กิตติกรรมประกาศ ..... ข
สารบัญ ..... ค
สารบัญภาพ ..... จ
บทที่ 1 บทนำ 1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา 1
1.2 ขอบเขตการวิจัย 2
1.3 วัตถุประสงค์ 2
1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ 2
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3
2.1. ผลไม้ที่ใช้เป็นวัตถุดิบ 3
2.2 ไวน์ 7
2.3 น้ำส้มสายชู 8
2.4 ประเภทของน้ำส้มสายชู 9
2.5 องค์ประกอบของน้ำส้มสายชู 10
2.6 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก 11
2.7 ประวัติการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชู 11
2.8 แหล่งที่พบและคุณสมบัติที่ใช้ในการแยกเชื้อ Acetobacter sp. 12
2.9 คุณสมบัติทั่วไปของ *Acetobacter sp.* 12
2.10 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก 13
2.11 ลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มสายชูหมัก 15
2.12 การประเมินคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมัก 15
2.13 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมัก 15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการ 17
3.1 วัตถุดิบ....17
3.2 เชื้อจุลินทรีย์ 17
3.3 สารเคมี 17
3.4 สารอาหาร....18
3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ....18
3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์ 18
3.7 สถานที่ดำเนินงาน 19
3.8 วิธีการดำเนินงาน....19
3.9 การตรวจติดตามผล....22
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 24
4.1 การปรับสภาพเชื้อในไวน์ลิ้นจี่....24
4.2 การปรับสภาพเชื้อในไวน์มะขาม.... 27
4.3 การปรับสภาพเชื้อในไวน์มะม่วง....30
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ....33
บรรณานุกรม....34
ภาคผนวก ก.... 36
ภาคผนวก ข 38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	ลิ้นจี่	3
2.2	มะขาม	4
2.3	มะม่วง	5
2.4	มะม่วง	6
3.8	เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* M30	19
3.8.2	การปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น	22
3.9	การเก็บตัวอย่างเชื้อ	23
4.1	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่ โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK	25
4.2	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่ โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5	25
4.3	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่ โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1	25
4.4	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่ โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK	26
4.5	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่ โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5	26
4.6	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่ โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1	26
4.7	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขาม โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5	28
4.8	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขาม โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1	28
4.9	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขาม โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK	28
4.10	ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขาม โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK	29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขาม โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5.....29

4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขาม โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1.....29

4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วง โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK.....31

ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วง โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5.....31

4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วง โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1.....31

4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วง โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK.....32

4.17 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วง โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5.....32

4.18 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วง โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1.....32

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

น้ำส้มสายชูเป็นเครื่องปรุงรสอาหาร มีทั้งเป็นผลิตผลที่ได้จากธรรมชาติ และจากการสังเคราะห์ทางเคมี มีองค์ประกอบที่สำคัญ คือ กรดน้ำส้ม (Acetic acid) มีคุณสมบัติที่ให้รสเปรี้ยว และเป็นกรดที่เหมาะสมในการรักษาคุณภาพอาหารยิ่งกว่ากรดชนิดใด ๆ เพราะไม่มีพิษต่อร่างกาย

แม้รสเปรี้ยวของอาหารมีที่มาจากหลายทาง ทั้งที่ใช้วัตถุดิบสดๆ จากธรรมชาติ เช่น น้ำมะนาว น้ำมะขาม ซึ่งให้ทั้งความเปรี้ยวแถมด้วยความหอมไปพร้อมกัน หรือจะเป็นความเปรี้ยวที่หาซื้อได้ง่ายและสะดวกสบายในการใช้สอยอย่างน้ำส้มสายชู ทั้งนี้น้ำส้มสายชูหมักเป็นผลิตภัณฑ์อาหารหมักชนิดหนึ่งที่นิยมนำมาใช้ปรุงแต่งรสชาติในอาหารทั่วโลก โดยถ้าเปรียบเทียบปริมาณการใช้น้ำส้มสายชูกับเครื่องปรุงรสอื่นๆ เช่น น้ำปลา หรือซอสปรุงรสต่างๆ ดูเหมือนว่า การนำมาใช้ของน้ำส้มสายชูอาจน้อยกว่า แต่แท้จริงแล้วน้ำส้มสายชูกลับเป็นส่วนประกอบสำคัญที่ขาดไม่ได้ในการทำอาหารหลายชนิด เช่น การทำผักดอง สลัด หรือเป็นส่วนประสมในซอสปรุงรส มัสตาร์ด มายองเนส นอกจากนี้ยังช่วยป้องกันการเน่าเสียของอาหาร (food preservative) เป็นส่วนผสมในเครื่องสำอาง (mixture in cosmetics) เป็นตัวทำละลาย (solvent) และช่วยยับยั้งแบคทีเรียที่ก่อให้เกิดโรค (some bacterial diseases inhibitor) (Dusscane, 1971) ทั้งนี้น้ำส้มสายชูหมักยังอุดมไปด้วยสารอาหารต่างๆ เหล่านี้ เช่น กรดอะมิโน เอ็นไซม์ แร่ธาตุต่าง ๆ เช่น แคลเซียม แมกนีเซียม ฟอสฟอรัส ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก

ประเทศไทยมีผลไม้มากมายที่สามารถนำมาทำไวน์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบเริ่มต้นในการหมักน้ำส้มสายชู ได้แก่ ไวน์ลิ้นจี่ ไวน์มะขาม ไวน์มะม่วง ทั้งนี้เนื่องจากไวน์เหล่านี้มาจากวัตถุดิบที่หาได้ง่าย ราคาไม่แพง ทำให้เป็นที่น่าสนใจที่จะนำไวน์จากวัตถุดิบเหล่านี้มาผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมักที่ให้กลิ่นรสเฉพาะตัว ทั้งนี้น้ำส้มสายชูที่หมักจากไวน์ผลไม้ชนิดต่าง ๆ เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์มะม่วง ไวน์กระเจี๊ยบ ไวน์กล้วย ไวน์มะพร้าว ฯลฯ ทำให้น้ำส้มสายชูหมักที่ได้มีสีและกลิ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามชนิดของไวน์ผลไม้ที่นำมาผลิต บางทีอาจมีการเติมกลิ่นรสของผลไม้เพิ่มเข้าไปเพื่อประหยัดต้นทุนในการผลิตและเพื่อให้ได้สีกลิ่นรสตามต้องการ

เชื้อน้ำส้มสายชู(Acetic acid bacteria) เป็นแบคทีเรียแกรมลบที่รู้จักกันดีซึ่งมีการนำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูมานานกว่า 100 ปีมาแล้ว (Asai, 1968) แอซิติกแบคทีเรียนี้จัดอยู่ในแฟมิลี Acetobacteraceae อาศัยกระบวนการเมตาบอลิซึมที่ต้องการอากาศ โดย Acetobacter sp. มีกลไกที่มีประสิทธิภาพสูงในการออกซิไดซ์เอธานอลให้เปลี่ยนกรดอะซิติกด้วยเอนไซม์ที่อยู่บนผิวชั้นนอกของเยื่อหุ้มเมมเบรนเรียกว่า เมมเบรน-เบานดไฮโดรจีเนส (membrane-bound dehydrogenase) (Adachi et al., 1978; Ameyama et al.,1981; Matsushita et al., 1994)

ดังนั้นการปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูเพื่อความเหมาะสมกับไวน์ผลไม้นี้จึงเป็นประโยชน์สำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ลิ้นจี่ ไวน์มะขาม ไวน์มะม่วง เพื่อให้ได้น้ำส้มสายชูที่มีคุณภาพดีและสม่ำเสมอ

1.2 ขอบเขตของการวิจัย

ปัญหาพิเศษนี้เป็นการศึกษาอัตราการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter* sp. สายพันธุ์ สป.5 , WK และ F1 หมักในขวดโดยใช้ลิ้นจี่ มะขาม และมะม่วงในการผลิตเป็นไวน์ซึ่งใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูต่อไป เพื่อให้ได้ผลผลิตเป็นกรดน้ำส้มสายชูมีปริมาณกรดสูง

1.3 วัตถุประสงค์

เพื่อปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูให้เหมาะสมกับไวน์ผลไม้ใช้เป็นวัตถุดิบ โดยสามารถทนกรดและผลิตกรดน้ำส้มสายชูได้ในปริมาณสูง

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 เชื้อสามารถทนสภาพเครียดได้ กล่าวคือ สามารถทนสภาพที่มีปริมาณแอลกอฮอล์และกรดเริ่มต้น 3.5 เปอร์เซ็นต์และ 4.5 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ

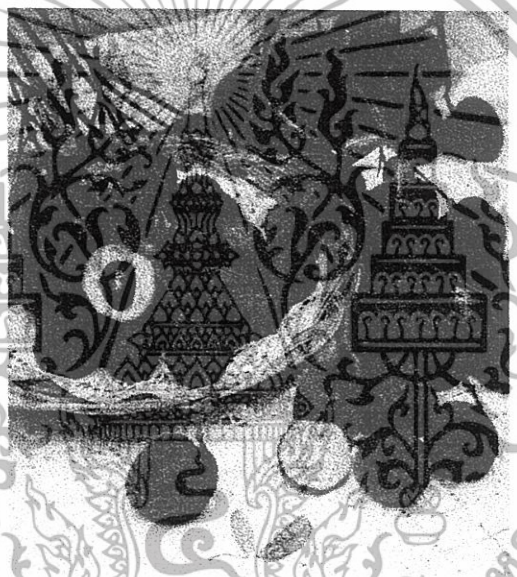
1.4.2 เชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter* sp. สามารถทนกรด และสามารถทนแอลกอฮอล์สูง เพื่อให้ได้ผลผลิตน้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรดสูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ผลไม้ที่ใช้เป็นวัตถุดิบ

2.1.1 ลิ้นจี่ (Lichee) (www.kanchanapisek.or.th/kp8/cem/cem501d.html)



รูปที่ 2.1 ลิ้นจี่
ที่มา : www.thaitradesource.com

ลิ้นจี่ เป็นไม้ผลที่มีชื่อทางวิทยาศาสตร์ว่า Litchi chinensis, Somn สามารถขึ้นได้งอกงามในดินร่วนเหนียวหรือดินร่วน ปนทราย มีความเป็นกรดเป็นด่างของดิน (PH) ประมาณ 6 - 7 มีฝนตกสม่ำเสมอตลอดปีประมาณ 40 - 60 นิ้วต่อปี มีอากาศหนาว ปานกลางจะช่วยให้ลิ้นจี่ออกดอกและติดผลมากขึ้น โดยเฉพาะภาคเหนือของประเทศไทยมีดินที่อุดมสมบูรณ์อากาศหนาวพอสมควร จึงเป็นทำเลที่เหมาะแก่การปลูกลิ้นจี่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ลิ้นจี่ที่นิยมมี 2 พันธุ์ คือ

ก. พันธุ์เบา เริ่มตั้งแต่ดอกบานจนถึงผลสุกใช้เวลาประมาณ 45 - 50 วัน ได้แก่ พันธุ์แห้ว พันธุ์กระโหลกใบยาว

ข. พันธุ์หนัก เริ่มตั้งแต่ดอกบานจนถึงผลสุกใช้เวลาประมาณ 70-75 วัน ได้แก่ พันธุ์กระโถนท้องพระโรง พันธุ์กระโนใบไหม้

สำหรับภาคกลางนิยมปลูกพันธุ์ค่อมและพันธุ์ลำเจียก ส่วนภาคเหนือนิยมปลูกพันธุ์โอวเฮียะ พันธุ์ฮงฮวย และพันธุ์จักรพรรดิ์ ในเขตจังหวัดเชียงใหม่ เช่นที่อำเภอฝาง อำเภอแม่อาย และจังหวัดเชียงรายมีการปลูกลิ้นจี่มาก สันนิษฐานว่าพันธุ์ลิ้นจี่ ที่เข้ามาระยะหลังคงจากไต้หวัน เพราะมีหมู่บ้านที่เป็นเขตที่อยู่ของชาวจีนฮ่ออดีตทหารจีนก๊กมินตั๋งมาอาศัยอยู่จึงได้รับความช่วยเหลือทางด้านพืชเมืองหนาว เช่น ลิ้นจี่ ท้อ และสาลี่ จากทางรัฐบาลไต้หวัน ประกอบกับโครงการหลวงมีนโยบายจะไม่ให้ชาว เขาย้ายถิ่นจึงสนับสนุนให้ปลูกพืชเมืองหนาวเหล่านี้ ทำให้มีปริมาณของลิ้นจี่ที่มีคุณภาพดีเพิ่มขึ้น และลิ้นจี่ทางภาคเหนือกับลิ้นจี่ทาง ภาคกลางสุกในเวลาแตกต่างกันจึงนับว่าเป็นผลดีอย่างยิ่งแก่ทั้งเกษตรกรและผู้บริโภค(www.kanchanapisek.or.th/kp8/cem/cem501d.html)

2.1.2 มะขาม

รูปที่ 2.2 มะขาม

ที่มา : www.rspg.thaigov.net/.../use/herbs02-4.htm

มะขาม มีชื่อวิทยาศาสตร์ Tamarindus indica Linn. ชื่อวงศ์ Leguminosae มีลักษณะทั่วไป มะขามเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่แตก กิ่งก้านสาขามาก เปลือกต้นขรุขระและหนา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สีน้ำตาลอ่อน ใบ เป็นใบ ประกอบ ใบเล็กออกตามกิ่งก้านใบเป็นคู่ ใบย่อยเป็นรูปขอบขนานปลายไบและโคนใบมน ดอก ออกเป็นช่อเล็กๆ ตามปลายกิ่ง หนึ่งช่อ มี 10-15 ดอก ดอกย่อยขนาดเล็ก กลีบดอกสีเหลืองและมีจุดประสี แดงอยู่กลางดอก ผล เป็นฝักยาว รูปร่างยาวหรือโค้งยาว 3-20 ซม. ฝักอ่อนมีเปลือกสีเขียวอมเทา สีน้ำตาลเกรียม เนื้อในติดกับเปลือก เมื่อแก่ฝักเปลี่ยนเป็นเปลือกแข็ง กรอบหักง่าย สีน้ำตาล เนื้อในกลาย เป็นสีน้ำตาลหุ้มเมล็ด เนื้อมีรสเปรี้ยวและหวาน

การปลูก มะขามขึ้นได้กับดินทุกชนิด เจริญเติบโตได้ดีในดินร่วนในดินเหนียวทนแล้งได้ดี เหมาะที่จะปลูกในฤดูฝน ใช้กิ่งพันธุ์ปลูกโดย การขุดหลุมและใส่ปุ๋ยที่ก้นหลุมก่อน ดูแลรักษาเหมือนกับพืชโดยทั่วไป นิยมขยายพันธุ์โดยการทาบกิ่ง ติดตาหรือต่อกิ่ง เพราะได้ผลเร็วและไม่ทำให้กลายพันธุ์ มีสรรพคุณทางยา คือ ยาระบาย แก้อาการท้องผูก ใช้มะขามเปียกรสเปรี้ยว 10–20 ฝัก (หนัก 70–150 กรัม) จิ้มเกลือ รับประทาน แล้วดื่มน้ำตามมากๆ หรือ ต้มน้ำใส่เกลือเล็กน้อยดื่มเป็นน้ำมะขาม ขับพยาธิไส้เดือน นำเอาเมล็ดแก่มาคั่ว แล้วกะเทาะเปลือกออก เอาเนื้อในเมล็ดไปแช่น้ำเกลือจนนุ่ม รับประทานครั้งละ 20-30 เม็ด ขับเสมหะ ใช้เนื้อในฝักแก่หรือมะขามเปียกจิ้มเกลือรับประทานพอสมควร คุณค่าทางโภชนาการ โดยยอดอ่อนและฝักอ่อนมีวิตามิน เอ มาก มะขามเปียก รสเปรี้ยว ทำให้ชุ่มคอ ลดความร้อนของร่างกายได้ดี เนื้อในฝักมะขามที่แก่จัด เรียกว่า "มะขามเปียก" ประกอบด้วยกรดอินทรีย์หลายตัว เช่น กรดทาร์ททาร์ริค กรดซิตริค เป็นต้น ทำให้ออกฤทธิ์ ระบายและลดความ ร้อนของร่างกายลงได้แพทย์ไทยเชื่อว่า รสเปรี้ยวนี้จะกัดเสมหะให้ละลาย ได้ด้วย

2.1.3 มะม่วง

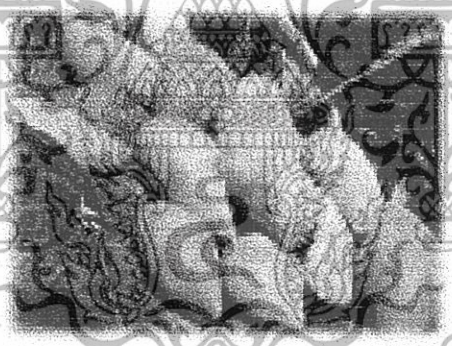
รูปที่ 2.3 มะม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มา : www.doae.go.th

มะม่วงเป็นไม้ผลที่นิยมปลูกกันมาก เพราะนอกจากจะใช้บริโภคกันภายในประเทศทั้งในรูปผลสดและแปรรูป ยังสามารถส่งเป็นสินค้าส่งออกเป็นจำนวนมาก ปัจจุบันมีพื้นที่เพาะปลูกมะม่วงเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้เกิดปัญหาผลผลิตล้นตลาด ราคาผลผลิตที่เกษตรกรขายได้ต่ำกว่าที่ควรจะเป็น จึงต้องหาทางส่งออกให้มากขึ้น เพื่อเป็นทางแก้ไขปัญหาดังกล่าว ในปี 2538 มีพื้นที่ปลูก 1.8 ล้านไร่ ผลผลิตส่งออกมะม่วงสด 8,249 ตัน มูลค่า 120 ล้านบาท และมะม่วงแปรรูป 6,937 ตัน มูลค่า 175.4 ล้านบาท

มะม่วงเป็นไม้ผลขนาดใหญ่ ปลูกได้ทุกภาคของประเทศไทย ปลูกได้ในดินทั่วไป ยกเว้นดินเค็มและดินที่มีน้ำขัง ถ้าปลูกในดินร่วนซุยมีอินทรียวัตถุมาก และมีการระบายน้ำดีก็จะยิ่งให้ผลผลิตดี นอกจากนี้มะม่วงยังมีความต้านทานต่อสภาพแห้งแล้งได้ดี จะเริ่มให้ผลหลังจากการปลูกด้วยกิ่งทาบประมาณ 3 ปี สามารถให้ผลผลิตมากกว่า 15 ปี และผลผลิตจะสูงขึ้นเฉลี่ยปีที่ 8 ประมาณ 50-100 กก./ต้น โดยเฉลี่ยอายุจากดอกบาน เก็บผลแก่อยู่ระหว่าง 90-115 วัน น้ำหนักผลมะม่วงเฉลี่ยอยู่ในระหว่าง 260 รับประทานสุก ได้แก่ น้ำดอกไม้ หนังกลางวัน



รูปที่ 2.4 มะม่วง

ที่มา : www.kanchanapisek.or.th

ชื่อวิทยาศาสตร์ Mangifera indica Linn. ชื่อวงศ์ ANACARDIACEAE และชื่อสามัญ Mango Tree มีลักษณะทั่วไป มะม่วงเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางถึงขนาดใหญ่ สูงประมาณ 10–30 เมตร ใบเดี่ยวสีเขียว ขอบใบเรียบ ฐานใบมน ปลายใบแหลม ดอก เป็นช่อ กลีบดอกมี 5 กลีบ เกสรสีแดงเรื่อๆ ดอกออกช่วงเดือนธันวาคมถึงเดือนกุมภาพันธ์ ช่วงฤดูร้อนจะติดผล ผล ยาวประมาณ 5–20 ซม. กว้าง 4–8 ซม. ลูกดิบสีเขียว เมื่อสุกเปลี่ยนเป็นสีเหลือง หรือเหลืองส้ม มีเมล็ดภายใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 เมล็ด นอกจากนี้มีสรรพคุณทางยา คือ ผลสดแก่ รับประทานแก้คลื่นไส้อาเจียน วิงเวียน กระหายน้ำ ผลสุก หลังรับประทานแล้วล้างเมล็ดตากแห้ง ต้มเอาน้ำดื่ม หรือบดเป็นผง รับประทานแก้ท้องอืดแน่น ขับพยาธิ ใบสด 15–30 กรัม ต้มเอาน้ำดื่ม แก้ลำไส้อักเสบเรื้อรัง ท้องอืดแน่น เอาน้ำต้มล้างบาดแผลภายนอกได้ เปลือกต้น ต้มเอาน้ำดื่ม แก้ไข้ตัวร้อน เปลือกผลดิบ คั่วรับประทานร่วมกับน้ำตาล แก้อาการปวดเมื่อยเมื่อมีประจำเดือน แก้ปวดประจำเดือน

2.2 ไวน์

การเปลี่ยนแปลงน้ำตาลให้แอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ ในระหว่างการหมักไวน์ต้องเป็นสภาพที่ไร้อากาศ (anaerobic condition) ซึ่งยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลที่มีในน้ำหมักให้เป็นแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ ดังสมการ

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow[\text{Enzyme}]{\text{Yeast}} 2C_2H5OH + 2CO_2$$

Glucose Ethyl alcohol

ในระหว่างการหมัก 2-3 วันแรก น้ำตาลจะลดลงอย่างรวดเร็ว ส่วนอุณหภูมิของน้ำหมักและปริมาณแอลกอฮอล์จะสูงขึ้น นั่นคือการทำงานของเชื้อยีสต์ที่เป็นกล้าเชื้อทำงาน สารแทนนินรงควัตถุจะถูกสกัดออกมา พร้อมกับเกิดก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (วราวุฒิ และรุ่งนภา, 2532)

2.2.1 การเตรียมน้ำผลไม้สำหรับหมัก

ผลไม้ทุกชนิดสามารถนำมาทำหมักได้ แต่กลิ่นรสและคุณภาพจะแตกต่างกันไปตามชนิดของผลไม้นั้น ผลไม้ที่เหมาะสมควรจะมีทั้งรสเปรี้ยว รสฝาด และรสหวาน หรือประกอบด้วยกรดอินทรีย์ในปริมาณที่เหมาะสม มีสารพวกโพลี่ฟีนอล (polyphenol) ซึ่งได้แก่ แทนนิน (tannin) และควรมีน้ำตาลเพียงพอ

การเตรียมน้ำผลไม้สำหรับหมัก เป็นขั้นตอนที่สำคัญมากในการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ เพราะคุณภาพของน้ำหมักมีผลต่อคุณลักษณะ และคุณภาพของน้ำหมัก ควรเลือกผลไม้ที่สุกจัด ซึ่งมีการเปลี่ยนแปลงภายในผลอย่างเต็มที่แล้ว ปกติผลไม้ที่สุกจัดจะมีความเปรี้ยวลดลง มีความหวานเพิ่มขึ้น ซึ่งในการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์จะต้องทำการปรับแต่งน้ำผลไม้ให้มีคุณภาพเหมาะสม โดยมีจุดประสงค์สำคัญของการปรับแต่งน้ำผลไม้มี 2 ประเภท คือ

ก. การปรุงแต่งเพื่อให้ยีสต์ได้รับสารอาหารเพียงพอ เพื่อให้การหมักน้ำผลไม้ให้เกิดแอลกอฮอล์ได้สมบูรณ์ เช่น การเติมสารไนโตรเจน ฟอสเฟต แร่ธาตุและวิตามิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข. การปรุงแต่งเพื่อให้ได้น้ำมักที่เกิดแอลกอฮอล์ที่มีรสกลมกล่อม เช่น การเติมน้ำตาล กรดอินทรีย์ และแทนนิน เป็นต้น

2.2.2 เชื้อยีสต์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่รู้จักกันดีในแง่ที่ยีสต์มีคุณสมบัติในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และแอลกอฮอล์ได้ มีการนำยีสต์มาใช้กันอย่างแพร่หลาย ยีสต์ที่มีอยู่ทั่วไปมีเซลล์เดียว ไม่มีคลอโรฟิลล์ มีนิวเคลียสเคลื่อนไหวไม่ได้ รูปไข่ มียีสต์อีกหลายชนิดที่มีรูปร่างลักษณะแตกต่างไป เช่น ยีสต์ที่ใช้ในการทำขนมปัง ทำเบียร์ มีการสร้างแอสโคสปอร์เพื่อขยายพันธุ์

มีอาหารหลายชนิดที่ยีสต์สามารถใช้ในการเจริญเติบโต ยีสต์ที่มีอยู่ตามธรรมชาติมักปะปนลงไปในอาหารเป็นเหตุทำให้อาหารเกิดการเน่าเสีย เช่นเดียวกับเชื้อราและแบคทีเรีย การเจริญเติบโตและเมตาบอลิซึมของยีสต์ขึ้นอยู่กับปัจจัยหลายอย่าง เช่น คุณสมบัติของยีสต์แต่ละชนิด จำนวนยีสต์ ความชื้นหรือปริมาณน้ำที่เป็นประโยชน์ ความเข้มข้นของน้ำตาลและส่วนประกอบของอาหาร ความเป็นกรด- ด่าง และปริมาณออกซิเจน เวลาและอุณหภูมิ

2.3 น้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชู (vinegar) หรือกรดอะซิติก (acetic acid) เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ผลิตขึ้นมาจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว น้ำส้มสายชูนี้รู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์ประเภทไวน์ ทั้งนี้เนื่องจากพบว่าน้ำส้มสายชูนี้เกิดขึ้นมาจากการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไวน์นั่นเอง โดยเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในสกุล Acetobacter ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดอะซิติกในสภาพที่มีออกซิเจนทำให้ไวน์นั้นมีรสเปรี้ยว ดังนั้นจึงทำให้เรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า "น้ำส้มสายชู" มาจากภาษาฝรั่งเศสว่า "vinaigre" ซึ่งหมายถึงไวน์เปรี้ยว (sour wine) นั่นเอง (วราวุฒิและรุ่งนภา, 2532)

คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูที่เป็นเครื่องปรุงรสอาหารนี้ จะต้องเป็นของเหลวที่ใสปราศจากสีและสิ่งเจือปน ในกรณีที่มีสีจะต้องเป็นสีของวัตถุดิบที่ใช้เท่านั้น นอกจากนี้แล้วปริมาณของตัวทำละลาย (solutes) ต่าง ๆ ในน้ำส้มสายชูจะต้องขึ้นอยู่กับสารประกอบต่าง ๆ ที่มีอยู่ในวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก ส่วนคุณสมบัติของน้ำส้มสายชู อาทิเช่น ความหนาแน่น (density) จุดเดือด(boiling point) จุดเยือกแข็ง (freezing point) ความตึงผิว (surface tension) และความหนืด (viscosity) เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาจจะมีมากหรือน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับคุณสมบัติดังกล่าวของน้ำบริสุทธิ์ ขึ้นกับความเข้มข้นของกรดอะซิติก และชนิดของวัตถุดิบที่ใช้เป็นสำคัญ ค่าพีเอชของน้ำส้มสายชู ควรอยู่ระหว่าง 2 - 3.5

2.4 ประเภทของน้ำส้มสายชู (online at http://www.io.com~wilsone/herbalvinegar.htm)

น้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ตามความแตกต่างของกระบวนการผลิต คือ

2.4.1 น้ำส้มสายชูหมัก(fermented vinegar หรือ wine vinegar) หมายถึง น้ำส้มสายชูที่ได้จากการนำวัตถุดิบที่เหมาะสม ซึ่งได้แก่ ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาล หรือกากน้ำตาลมาหมักด้วยยีสต์ให้เป็นแอลกอฮอล์แล้วจึงหมักต่อกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ ซึ่งจะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดแอซิติกหรือกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชูที่ได้จะมีสีเหลืองอ่อนไปจนถึงสีน้ำตาล มีกลิ่นหอมปนกลิ่นเฉพาะของกรดน้ำส้มมีรสหวานของน้ำตาลที่ตกค้างมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก ความแตกต่างในด้านกลิ่นรส และความเข้มข้นขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก น้ำส้มสายชูหมักจะใส ไม่มีตะกอน ยกเว้นตะกอนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ และมีปริมาณกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4%

2.4.2 น้ำส้มสายชูกลั่น มี 2 ชนิด คือ

ก. Distilled vinegar หมายถึง น้ำส้มสายชูที่ได้จากการนำน้ำส้มสายชูหมักมากลั่น

ข. Spirit vinegar หมายถึง น้ำส้มสายชูที่ได้จากการนำเอาเอทิลแอลกอฮอล์เจือจางมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีการผลิตแล้วนำไปกลั่นหรือกรอง

2.4.3 น้ำส้มสายชูเทียม หมายถึง น้ำส้มสายชูที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้ม (acetic acid) อย่างเข้มข้น ซึ่งได้จากการสังเคราะห์ขึ้นตามกรรมวิธีทางวิทยาศาสตร์มาเจือจางให้มีคุณภาพหรือมาตรฐานตามกฎหมายกำหนดคือ ให้มีความเข้มข้นของกรดเหลือ 4 – 7 % น้ำส้มสายชูชนิดนี้มีลักษณะใส ไม่มีสี มีกลิ่นฉุนของกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชูชนิดนี้มีราคาถูกและไม่อนุญาตให้เติมแต่งสี

น้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นจัดเป็นน้ำส้มสายชูแท้ เนื่องจากผลิตมาจากแอลกอฮอล์ชีวภาพที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้หรือกากน้ำตาลกับส่าเหล้า ส่วนน้ำส้มสายชูเทียม ต้องนำกรดน้ำส้มมาเจือจางให้ได้ 5% จึงจะถือว่าเป็นน้ำส้มสายชูที่ได้มาตรฐาน แต่ถ้าไม่สอดคล้องกับมาตรฐานจะถือว่าเป็นน้ำส้มสายชูปลอม อย่างไรก็ตามน้ำส้มสายชูทั้ง 3 ประเภท จัดเป็นน้ำส้มสายชูที่มีความปลอดภัยในการบริโภค แต่ในปัจจุบันมีการนำน้ำส้มสายชูปลอมมาจำหน่ายเนื่องจากมีราคาถูกมากเมื่อเทียบกับน้ำส้มสายชูที่เป็นอาหารได้ โดยนำกรดน้ำส้มชนิดเข้มข้นมาจำหน่ายในชื่อว่าหัวน้ำส้ม หัวน้ำส้มนี้ คือ กรดน้ำส้มอย่างแรง (Glacial acetic acid) มักพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวน้ำส้มชนิดนี้ใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง สิ่งพิมพ์ สิ่งทอ น้ำส้มดังกล่าวแม้ว่าจะเป็นกรดน้ำส้ม แต่ไม่มีความบริสุทธิ์เพียงพอที่จะนำมาบริโภคได้ เนื่องจากมีโลหะหนัก หรือวัตถุเจือปนอื่นๆที่เกิดขึ้นระหว่างกรรมวิธีการผลิตปนเปื้อนอยู่ ทำให้เกิดพิษสะสมจากโลหะหนัก และสิ่งปนเปื้อนดังกล่าว นอกจากนี้ยังพบปัญหาการผสมไม่ถูกส่วน หากปริมาณกรดน้ำส้มสูงเกินไปก็จะเกิดอันตรายต่อผู้บริโภค คือ อาจทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรงเนื่องจากผนังลำไส้ไม่ดูดซึมอาหาร รวมทั้งได้มีการนำเอากรดแร่อิสระบางอย่าง เช่น กรดกำมะถัน หรือ กรดซัลฟุริก (Sulphuric acid) ซึ่งเป็น กรดแก่มาเจือจางด้วยน้ำมาก ๆ แล้วบรรจุขวดขาย นับว่าเป็นอันตรายอย่างยิ่ง เพราะกรดกำมะถันเป็นกรดที่มีสรรพคุณกัดกร่อนรุนแรงมาก จะทำให้เกิดอันตรายต่อระบบทางเดินอาหารและตับ น้ำส้มสายชูเหล่านี้จึงไม่ปลอดภัยที่จะนำมาบริโภค (มาลัย, 2548)

2.5 องค์ประกอบของน้ำส้มสายชู

องค์ประกอบของน้ำส้มสายชูที่ได้จากกระบวนการหมัก ได้แก่ น้ำกรดอะซิติกและสารอื่นๆ อีกเล็กน้อย ซึ่งกรดที่ได้จะทำให้น้ำส้มสายชูมีรสเปรี้ยว จึงมีคุณสมบัติในการป้องกันการเน่าเสียของอาหารและเป็นตัวทำละลายที่ดี พระราชบัญญัติควบคุมคุณภาพอาหารกำหนดว่าน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นต้องมีความเข้มข้นของกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส ส่วนสารอื่น ๆ ที่มีปริมาณเพียงเล็กน้อยนั้นจะมีความสำคัญในด้านกลิ่นรส ทำให้น้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูกลั่นมีกลิ่นรสที่ดีกว่าน้ำส้มสายชูเทียม ซึ่งจะขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู หรืออาจเป็นสารที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชู หรือเป็นสารที่เกิดจากการทำปฏิกิริยากันของวัตถุดิบตั้งต้นกับสารที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก เช่น การทำปฏิกิริยาระหว่างเอทธานอลกับกรดอะซิติกเกิดเป็นเอธิทอะซิเตท ซึ่งเป็นสารที่ให้กลิ่นรสชนิดหนึ่งในการหมักน้ำส้มสายชู ในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูโดยวิธีการหมักตามธรรมชาติจะพบสารระเหย 4 ชนิด คือ อะซิตัลดีไฮด์ อะซิตัล เอธิลอะซิเตทและเอทธานอล ส่วนในน้ำส้มสายชูกลั่นจะพบสารระเหยอีก 7 ชนิด สารที่ทำให้น้ำส้มสายชูเกิดกลิ่นรสที่ดี ได้แก่ คาร์บอนิล (carbonyl) แอลกอฮอล์ และเอสเทอร์ (ester)

นอกจากนั้น Yanazida และคณะ (1974) พบว่าในน้ำส้มสายชูยังมีกรดอะมิโนหลายชนิด ได้แก่ อะลานีน กรดแอสปาร์ติก โปรตีน และกรดกลูตามิก รวมทั้ง พบฮีสติดีน (Histidine) อาร์จีนีน(Arginine) และเมทไธโอนีน (Methionine) ในปริมาณเล็กน้อย และความเข้มข้นของกรดอะมิโนจะลดลงเรื่อย ๆ ในระหว่างการหมักเนื่องจากถูกแบคทีเรียนำมาใช้ ดังนั้น Seppi และ Sperando (1980) จึงได้ใช้ประโยชน์จากปริมาณของกรดอะมิโนในน้ำส้มสายชูเป็นดัชนีที่แสดงถึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปลอมปน น้ำส้มสายชู โดยพบว่าน้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรดอะมิโนต่ำกว่าปกติอาจเกิดจากการเติมกรดน้ำส้มเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของกรดตามมาตรฐานที่กำหนด

2.6 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

ธัญพืชชนิดต่างๆ น้ำผึ้ง ผลไม้ชนิดต่างๆ เช่น แอบเปิ้ล ลูกเกด เชอร์รี องุ่น สับปะรด กล้วย มะพร้าว มะม่วง ฯลฯ ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักของแต่ละภูมิประเทศจะใช้วัตถุดิบในการผลิตที่แตกต่างกันออกไปซึ่งวัตถุดิบที่นำมาผลิตแล้วแต่ภูมิประเทศของแต่ละประเทศ ตัวอย่างเช่น ประเทศที่เป็นเมืองหนาวน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จะได้จากผลไม้เหล่านี้ ได้แก่ แอปเปิ้ลไซเดอร์ องุ่น สตรอเบอร์รี เป็นต้น หรือจะเป็นประเทศแถบเมืองร้อนอย่างเช่นประเทศไทยสามารถนำผลไม้หลายชนิดมาหมักเป็นน้ำส้มสายชูได้ เช่น มะม่วง สับปะรด กล้วย มะพร้าว เป็นต้น แต่มีหลายประเทศ เช่น ประเทศแถบตะวันออกกลาง ตุรกี และฝรั่งเศส นำน้ำผึ้ง ลูกเกด มาหมักเป็นน้ำส้มสายชูซึ่งจะทำให้น้ำส้มสายชูที่ได้มีกลิ่นรสที่ดีหอมหวาน ดังนั้นวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักของแต่ละภูมิภาคหรือแต่ละภูมิประเทศจึงแตกต่างกันออกไป

2.7 ประวัติการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชู

Ebner และ Enenkel (1978) เสนอวิธีผลิตน้ำส้มสายชูที่มีปริมาณกรดสูงโดยการหมักต่อเนื่อง 2ขั้นตอน เริ่มด้วยวัตถุดิบที่มีกรดอะซิติก 7-10 เปอร์เซ็นต์ และเอทธานอล 5 เปอร์เซ็นต์ (GK 12-15) เมื่อมีกรดเกิดขึ้น เอทธานอลจะเพิ่มขึ้นจนกระทั่ง GK เป็น 15 จึงปล่อยลงสู่ถังที่สอง และหมักจนเอทธานอลหมดที่อุณหภูมิ 27-34 องศาเซลเซียส จะได้น้ำส้มสายชูที่มีกรดมากกว่า 15 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร Park, Ohtake และ Toda (1988) ศึกษาการผลิตกรดอะซิติก โดยให้ *Acetobacter aceti* M23 ยึดเกาะบน Hallow Fiber Filter Module โดยมีการให้อากาศที่มีปริมาณออกซิเจนสูงซึ่งออกซิเจนจำเป็นในการผลิตกรดอะซิติก

ในปี 1989, Park และ Ohtake ได้ทำการศึกษาผลของออกซิเจนที่ละลายและความเข้มข้นของกรดอะซิติกต่อการผลิตกรดอะซิติกแบบต่อเนื่องของ *Acetobacter aceti*

ในปี 1990, Park และ Toda ได้พบว่าการเพิ่มสารตัวกลาง คือ กรดอะซิติกใน TCA cycle จะมีผลต่อการผลิตกรดอะซิติกโดย *Acetobacter acti* M23 ทั้งในการหมักแบบรุ่นและการหมักแบบต่อเนื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 แหล่งที่พบและคุณสมบัติที่ใช้ในการแยกเชื้อ Acetobacter sp.

2.6.1 แหล่งที่พบ *Acetobacter sp.*

แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถพบได้ในผักชนิดต่าง ๆ น้ำผลไม้ที่มีรสเปรี้ยว น้ำส้มสายชู เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์และผิวของพืชต่าง ๆ โดยเฉพาะที่ดอกและผล (De ley and Frateur, 1974) แบคทีเรียกลุ่มนี้เป็นสาเหตุให้ผักเกิดการเน่าเสียต่อเนื่องจากยีสต์ได้ ในสภาวะที่มีอากาศและเป็นตัวการในการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติกสำหรับในประเทศไทยนั้น นภา (2519) และนันทพร (2517) ได้รายงานว่าพบแบคทีเรียกลุ่มนี้ในน้ำตาลสด น้ำตาลปีบ น้ำตาลเมา กระแช่ ลูกแป้ง ข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้าและเหล้าขาว ซึ่งจะเจริญเป็นแผ่นฟิมล์บาง ๆ บนผิวหน้าของสารละลายที่มีแอลกอฮอล์ และเชื้อน้ำส้มสายชูบางชนิดสามารถสร้างเซลลูโลสได้ จะมีลักษณะเป็นแผ่นหนา เจริญร่วมกับยีสต์ในน้ำชาที่เติมน้ำตาลซึ่ง เรียกว่า เห็ดรัสเซีย (tea fungus) เพราะมีลักษณะคล้ายดอกเห็ด (Hesseltine, 1965)

2.6.2 คุณสมบัติที่ใช้ในการแยกแบคทีเรียสกุล *Acetobacter sp.*

โดยทั่ว ๆ ไปจะพบแบคทีเรียสกุล *Acetobacter sp* และ *Gluconobacter sp.* อยู่ปะปนกันดังนั้นในการแยก *Acetobacter sp.* ออกจาก *Gluconobacter sp.* จะอาศัยคุณสมบัติที่แตกต่างกันของแบคทีเรียสองสกุลนี้ ในทางปฏิบัติจะใช้คุณสมบัติในการออกซิไดซ์กรดอะซิติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์ (Norris and Riobbons, 1970) เรียกคุณสมบัตินี้ว่า overoxidation ในสภาวะที่ขาดเอทธานอล *Acetobacter sp.* จะสามารถออกซิไดซ์กรดอะซิติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้อย่างสมบูรณ์ ในขณะที่ *Gluconobacter sp.* จะไม่มีคุณสมบัตินี้ นอกจากนี้อาจใช้คุณสมบัติในการออกซิไดซ์แลกเตท (lactate) เป็นคาร์บอนไดออกไซด์โดยแบคทีเรียสกุล *Acetobacter sp.* (Cirigliano, 1982) จึงอาจเรียก *Acetobacter sp.* ว่าเป็นแล็กตาไฟล์ (Lactaphile)

2.9 คุณสมบัติทั่วไปของ *Acetobacter sp.*

เซลล์ของ *Acetobacter sp.* มีหลายลักษณะ (pleomorphic) ปกติพบรูปร่างค่อนข้างรีจนกระทั่งเป็นท่อนชัดเจน ขนาดกว้างประมาณ 0.6-0.8 ไมครอน ยาวประมาณ 1.0-3.0 ไมครอนอาจพบเซลล์เดี่ยวๆจับเป็นคู่หรือต่อกันเป็นลูกโซ่ บางครั้งพบเซลล์ที่มีรูปร่างแปลกไปจากที่กล่าวมาแล้ว เช่น รูปร่างกลม ยืดยาวออก บวมหรือรูปกระบอก บางชนิดมีแฟล็กเจลลาแบบรอบเซลล์ (peritrichous flagella) ทำให้สามารถเคลื่อนที่ได้ (De Ley and Frateur, 1974)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

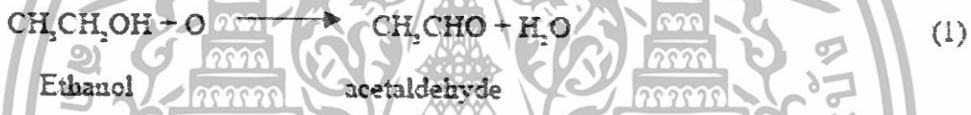
นอกจากนั้นมีรายงานว่าเซลล์ที่มีอายุน้อยของ *A. peroxydans* สามารถเคลื่อนที่ได้ แต่ไม่พบการเคลื่อนที่เมื่อเซลล์มีอายุมาก แสดงว่า อายุของเซลล์มีผลต่อการเคลื่อนที่และการสร้างแฟล็กเจลลา

2.10 การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

การออกซิไดซ์เอทธานอลเป็นกรดอะซิติก

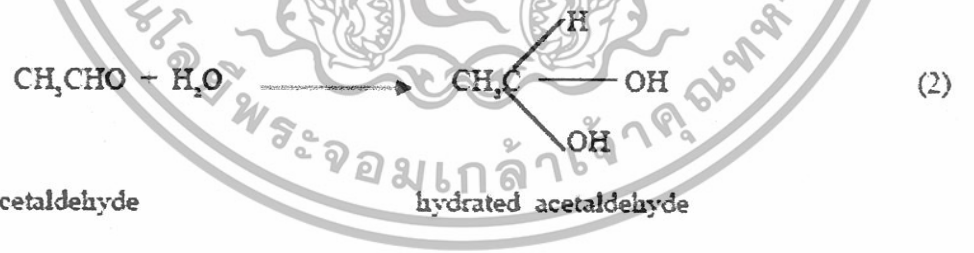
Conner and Allgeier (1976) ได้สรุปรายงานเกี่ยวกับปฏิกิริยาการเปลี่ยนเอทธานอลเป็นกรดอะซิติกดังนี้

ขั้นที่ 1 เกิดการออกซิไดซ์เอทธานอลเป็นอะซิตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) โดยใช้เอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) ดังสมการที่ 1



(1)

ขั้นที่ 2 เป็นการสร้างกรดอะซิติกจากอะซิตัลดีไฮด์ ปฏิกิริยาแบ่งเป็น 2 ขั้นตอนคือ ขั้นตอนแรกอะซิตัลดีไฮด์รวมกับน้ำเป็นไฮเดรต อะซิตัลดีไฮด์ (hydrated acetaldehyde) ดังสมการที่ 2

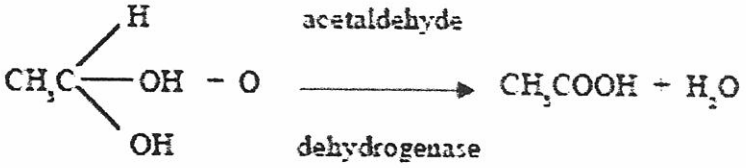


(2)

จากนั้นปฏิกิริยาขั้นตอนที่ 2 ไฮเดรต อะซิตัลดีไฮด์ถูกออกซิไดซ์หรือดีไฮโดรจีเนส(dehydrogenase) เป็นกรดอะซิติกโดยเอนไซม์อะซิตัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนส (Acetaldehyde dehydrogenase) ทำให้โปรตอน (proton) 2 ตัวของไฮเดรต อะซิตัลดีไฮด์ ถูกส่งผ่านไปสู่อะตอมของออกซิเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังสมการที่ 3

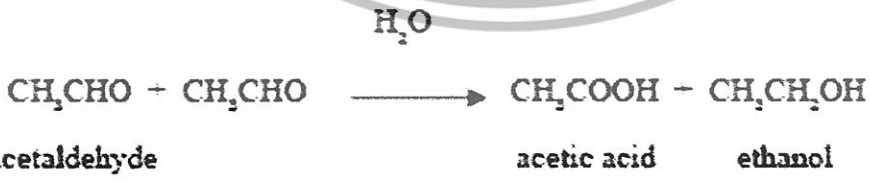


(3)

เมื่อเติมแคลเซียมซัลไฟต์ (calcium sulfite) หรือแคลเซียมไบซัลไฟต์ (calcium bisulfite) ซึ่งสามารถจับกับสารอัลดีไฮด์ได้ดังสมการที่ 4 ลงในถังหมักน้ำส้มสายชู ตรวจพบว่าไม่มีกรดอะซิติกเพิ่มขึ้นเป็นการยืนยันว่าอะซิตัลดีไฮด์ที่สร้างมาตามสมการที่ 1 เป็นสารตัวกลาง (intermediate) ในการเกิดกรดอะซิติก

(4)

อะซิตัลดีไฮด์อาจเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้อีกแนวทางหนึ่งโดยอะซิตัลดีไฮด์สองโมเลกุลจากสมการที่ 1 ทำปฏิกิริยากันเองได้กรดอะซิติกและเอทธานอลดังสมการที่ 5 ซึ่งปฏิกิริยานี้เรียกว่าปฏิกิริยาแคนนิซซาโร (cannizaro reaction) ส่วนเอทธานอลที่เกิดขึ้นจะเข้าสู่สมการที่ 1 อีกเป็นวัฏจักรจนกระทั่งกลายเป็นกรดอะซิติกทั้งหมด ในทางทฤษฎีพบว่า เอทธานอล 1 กรัม สามารถเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกได้ 1.31 กรัม (Adams, 1985)



(5)

เชื้อ *Acetobacter* จะเจริญในแอลกอฮอล์และจะเจริญได้ดีในพื้นที่ผิวสัมผัสอาหาร ฉะนั้นจะทำให้เกิดแผ่นฝ้าขึ้นด้านบนของน้ำหมัก เมื่อแอลกอฮอล์ถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกหมด แผ่นฝ้าจะไม่เกิดขึ้น หลังจากขบวนการหมักยุติแล้ว ไม่ควรให้น้ำส้มสายชูสัมผัสอากาศเนื่องจากจะทำให้กรดอะซิติกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 ลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มสายชูหมัก

ลักษณะน้ำส้มสายชูที่ดี เป็นของเหลวใส ไม่มีตะกอน หนอนน้ำส้ม หรือสิ่งเจือปนอื่นใด มีกลิ่นของกรดแอซีติก และอาจมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้หมักอยู่ด้วยก็ได้ ต้องบรรจุในภาชนะบรรจุที่สะอาดและไม่ถูกกัดกร่อนได้ง่าย เช่น ภาชนะที่ทำด้วยแก้วหรือเครื่องเคลือบดินเผาเท่านั้น มีฝาซึ่งปิดได้สนิทพอดีกับภาชนะบรรจุ ทั้งนี้ลักษณะทางกายภาพของน้ำส้มสายชูหมักที่ปรากฏได้แก่ สี กลิ่น รส ซึ่งสีของน้ำส้มสายชูหมักที่ได้นั้นจะเกิดตามกระบวนการหมักของผลไม้ชนิดนั้นๆ ซึ่งส่วนใหญ่จะเป็นโทนสีเหลืองตั้งแต่เหลืองอ่อนจนถึงเหลืองเข้ม ส่วนผลไม้ที่มีสีเข้ม เช่น กระเจี๊ยบ องุ่นแดง องุ่นดำ สีที่ได้จะออกมาตามโทนสีของผลไม้นั้น กลิ่นของน้ำส้มสายชูหมักจะมีกลิ่นเฉพาะของผลไม้หรือวัตถุดิบนั้นๆ และรสของน้ำส้มสายชูหมักจะมีรสเปรี้ยวหลายแบบขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบ เช่น วัตถุดิบที่มีกลิ่นฉุนแรง ทำให้น้ำส้มสายชูหมักที่ได้มีรสเปรี้ยวแหลม

2.12 การประเมินคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมัก (Quality evaluation of wine vinegar)

เมื่อกล่าวถึงคุณภาพของอาหาร จะพิจารณาจาก คุณค่าทางโภชนาการ ความปลอดภัย และสมบัติทางประสาทสัมผัส ในกรณีของน้ำส้มสายชูหมักนั้นคุณภาพจะพิจารณาจากสมบัติทางประสาทสัมผัสเป็นสำคัญ ทั้งนี้เนื่องจากการเติมน้ำส้มสายชูลงในอาหารใดๆ จะมีผลต่อคุณภาพทางประสาทสัมผัสของอาหารนั้นๆ

ขั้นตอนการทดสอบคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มสายชูหมัก

2.10.1 นำน้ำส้มสายชูมาเจือจางด้วยน้ำร้อนหรือน้ำเย็นก็ได้ แล้วเติมด่าง เช่น โซเดียมคลอไรด์ ลงไป จะทำให้ความเป็นกรดของน้ำส้มสายชูอ่อนลงหรือเป็นกลาง ตัวอย่างเช่น นำกรดน้ำส้ม 1% มาเติมโซเดียมคลอไรด์ 1.5 กรัมแล้วปรับปริมาตรด้วยน้ำ (น้ำร้อนหรือน้ำเย็นก็ได้)เป็น100 มิลลิลิตร

2.10.2 ทดสอบทางด้านประสาทสัมผัส โดยนำน้ำส้มสายชูที่เจือจางแล้วมาทดสอบทางด้านประสาทสัมผัสในห้อง Sensory โดยนำน้ำส้มสายชูมาเทใส่แก้ว แล้วสังเกตดูสี ดมกลิ่น แล้วชิมรส

2.13 ปัจจัยที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมัก

ปัจจัยหลักที่มีผลต่อคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมัก ได้แก่ วัตถุดิบ กระบวนการผลิต รวมถึงระยะเวลาในการบ่ม และสมบัติทางเคมีกายภาพ น้ำส้มสายชูหมักจะมีสีอะไร รสใด และมีคุณค่าทางโภชนาการมากน้อยเพียงใดขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่นำมาผลิต สำหรับกระบวนการผลิตและระยะเวลาในการบ่มก็มีผลต่อ สี กลิ่น รส ตลอดจนคุณค่าทางโภชนาการ เช่นกัน ทั้งนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นอยู่กับว่าใช้กระบวนการผลิตแบบใด แบบดั้งเดิม หรือแบบที่ใช้เทคโนโลยีเข้ามาเกี่ยวข้อง ถ้าใช้กระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมจะได้น้ำส้มสายชูหมักที่มีสี กลิ่นรสที่ดี และราคาแพงกว่าน้ำส้นสายชูที่ใช้กระบวนการผลิตแบบที่ใช้เทคโนโลยีเข้ามาเกี่ยวข้อง ส่วนระยะเวลาในการบ่ม เมื่อพิจารณาจาก spider chart จะเห็นได้ว่าบางที่ถ้าบ่มนานเกินไปอาจจะไม่ดีก็ได้ เช่น ทำให้สีเข้มเกินไป หรือว่ากลิ่นรสอาจไม่ดี และคุณสมบัติทางงเคมีกายภาพ ได้แก่ คุณสมบัติทางเคมีกายภาพทั้งของวัตถุดิบและของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักที่ได้ โดย คุณสมบัติทางเคมีกายภาพของวัตถุดิบ เช่น กลิ่น ซึ่งวัตถุดิบที่มีกลิ่นฉุนแรงเกินไป จะทำให้น้ำส้มสายชูที่ได้มีรสเปรี้ยวแหลม และคุณสมบัติทางเคมีกายภาพของน้ำส้มสายชูหมัก เช่น ปริมาณกรดแอซิติค ถ้าปริมาณกรดแอซิติคต่ำกว่ามาตรฐานจะถือว่าน้ำส้มสายชูนั้นเป็นน้ำส้มสายชูปลอม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร พระจอมเกล้าลาดกระบัง

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการ

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 ผลไม้ทั้งสามชนิด ได้แก่ มะขาม มะม่วง และลิ้นจี่

3.2 เชื้อจุลินทรีย์

3.2.1 *Saccharomyces cerevisiae* M30 ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.2.2 *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 , F1 ได้จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.3 สารเคมี

ชื่อสารเคมี	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.3.1 กรดอะซิติก (CH3COOH)	Merck Co.,Ltd
3.3.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH)	Merck Co.,Ltd
3.3.3 แคลเซียมคาร์บอเนต (CaCO3)	Merck Co.,Ltd
3.3.4 แอมโมเนียม ((NH4))2SO4)	Merck Co.,Ltd
3.3.5 โพแทสเซียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต (KH2PO4)	Merck Co.,Ltd
3.3.6 โพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท (KHC8H4O4)	Merck Co.,Ltd
3.3.7 แมกนีเซียมซัลเฟต (MgSO4)	Merck Co.,Ltd
3.3.8 แอลกอฮอล์ 70 และ 95 เปอร์เซ็นต์	โรงงานสุรา องค์การสุรา กรมสรรพสามิต
3.3.9 Phenolphthalein	Riedel-desaen
3.3.10 Diatomaceous earth	Eagle/Ticher minerals, inc.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96576

3.4 สารอาหาร

ชื่อสารอาหาร	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.4.1 กลูโคส	Merck Co.,Ltd
3.4.2 หน้าตาทราย	มิตรผล
3.4.3 Yeast extract	HIMEDIA
3.4.4 Malt extract	HIMEDIA
3.4.5 Peptone	Merck Co.,Ltd
3.4.6 Agar	S.P. SCIENCE

3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อ

3.5.1 อาหาร Glucose Yeast Extract Broth (GYE Broth)

3.5.2 อาหาร Glocose Yeast Extract Agar (GYE Agar)

3.5.3 อาหาร MY Broth

3.5.4 อาหาร MY Agar

3.6 เครื่องมือและอุปกรณ์

ชื่อเครื่องมือและอุปกรณ์	รุ่น	บริษัทหรือประเทศที่ผลิต
3.6.1 Peristaltic pump	Watson-Marlow, 302S	England
3.6.2 เครื่องปั๊มอากาศ (Air pump)	Ladybird, 4000	Thailand
3.6.3 สายยางซิลิโคน		Thailand
3.6.4 ตัวกรองอากาศ (Membrane filter)	Satorius	Germany
3.6.5 เครื่องชั่ง	OHAUS, 4120	Switzerland
3.6.6 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ	Tomy, SS-245	Japan
3.6.7 Shaker	Gerhardt Bonn	Germany
3.6.8 PH Meter	Jenway, 3510	England
3.6.9 Ebuliometer	ARCUEUEIL, 94117	France
3.6.10Hand refractometer	ATAGO, N-1E	Japan
3.6.12ตู้ปลอดเชื้อ		Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.7 สถานที่ดำเนินงาน

ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.8 วิธีดำเนินการทดลอง

3.8.1 การเตรียมไวน์จากวัตถุดิบ

3.8.1.1 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ (Starter) บรรจุอาหาร MY Broth 100 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตรปิดด้วยสำลี และหุ้มด้วยกระดาษหรือพลาสติกทนความร้อนที่สะอาดและนำไป นึ่งฆ่าเชื้อในหม้อนึ่งความดัน (autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นถ่ายเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ที่เลี้ยงบน MY Agar slant ที่บ่มเป็นเวลา 18-24 ชั่วโมง มาใส่ในอาหารMY Broth แล้วนำไปเข้าเครื่องเขย่าที่ความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

ภาพที่ 3.8 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* M30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.8.1.2 กระบวนการผลิตไวน์ลิ้นจี่

คัดเลือกลิ้นจี่ที่สุกและไม่เน่าเสีย ทำการล้าง แกะเม็ดออก และชั่งน้ำหนัก แล้วเติมน้ำสะอาด 1 เท่า ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยเติมน้ำเชื่อมให้ได้ค่าประมาณ 20 - 22 องศาบริกซ์(เพื่อต้องการให้ไวน์มีปริมาณเอทานอล 10 - 11 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งวัดด้วยเครื่องรีแฟคโตมิเตอร์ (Refractometer) และปรับค่าพีเอช ให้อยู่ในช่วง 4.0-4.5 จากนั้นทำการเติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ 0.1 กรัมต่อกิโลกรัม ของน้ำหมักทั้งหมด แล้วนำไปถ่ายใส่ถังพลาสติก แล้วเติมกล้าเชื้อยีสต์ (starter) ที่เตรียมในข้อ 7.1 ในปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมักไวน์ทั้งหมด ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง 4 – 5 วัน แยกส่วนใสใส่ถังที่สะอาด แล้วทำการ บ่มที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 – 4 วัน จากนั้นนำไวน์ที่ได้ไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อสำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

3.8.1.2 กระบวนการผลิตไวน์มะขาม

คัดเลือกมะขามที่สุกและไม่เน่าเสีย ทำการล้าง แกะเม็ดออก และชั่งน้ำหนัก แล้วเติมน้ำสะอาด 20 เท่า ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยเติมน้ำเชื่อมให้ได้ค่าประมาณ 20 - 22 องศาบริกซ์ (เพื่อต้องการให้ไวน์มีปริมาณเอทานอล 10 - 11 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งวัดด้วยเครื่องรีแฟคโตมิเตอร์ (Refractometer) และปรับค่าพีเอช ให้อยู่ในช่วง 4.0-4.5 จากนั้นทำการเติมเติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ 0 .1 กรัมต่อกิโลกรัม ของน้ำหมักทั้งหมด แล้วนำไปถ่ายใส่ถังพลาสติก แล้วเติมกล้าเชื้อยีสต์ (starter) ที่เตรียมในข้อ 7.1 ในปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมักไวน์ทั้งหมด ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง 4 – 5 วัน แยกส่วนใสใส่ถังที่สะอาด แล้วทำการ บ่มที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 – 4 วัน จากนั้นนำไวน์ที่ได้ไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อสำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

3.8.1.3 กระบวนการผลิตไวน์มะม่วง

คัดเลือกมะม่วงที่สุกและไม่เน่าเสีย ทำการล้าง แกะเม็ดออก และชั่งน้ำหนัก แล้วเติมน้ำสะอาด 20 เท่า ปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยเติมน้ำเชื่อมให้ได้ค่าประมาณ 20 - 22 องศาบริกซ์ (เพื่อต้องการให้ไวน์มีปริมาณเอทานอล 10 - 11 เปอร์เซ็นต์) ซึ่งวัดด้วยเครื่อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รีแฟคโตมิเตอร์ (Refractometer) และปรับค่าพีเอช ให้อยู่ในช่วง 4.0-4.5 จากนั้นทำการเติมเติมโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ 0.1 กรัมต่อกิโลกรัมของน้ำหมักทั้งหมด แล้วนำไปถ่ายใส่ถังพลาสติก แล้วเติมกล้าเชื้อยีสต์ (starter) ที่เตรียมในข้อ 7.1 ในปริมาณร้อยละ 5 ของน้ำหมักไวน์ทั้งหมด ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง 4 – 5 วัน แยกส่วนใสใส่ถังที่สะอาด แล้วทำการ บ่มที่อุณหภูมิ 5-15 องศาเซลเซียส ประมาณ 2 – 4 วัน จากนั้นนำไวน์ที่ได้ไปพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อสำหรับใช้ในการศึกษาต่อไป

3.8.2 การผลิตน้ำส้มสายชูเพื่อปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดและแอลกอฮอล์

3.8.2.1 การเตรียมกล้าเชื้อ *Acetobacter* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ (F1,สป5 และ WK)

การเตรียมกล้าเชื้อ *Acetobacter* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ (F1,สป5 และ WK) โดยเขี่ยเชื้อน้ำส้มสายชู *Acetobacter* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ (F1,สป5 และ WK) ที่เลี้ยงบนอาหาร GYE Agar slant มา 1 ลูป ใส่ลงในฟลาสก์ซึ่งบรรจุอาหาร GYE Broth 100 มิลลิลิตร นำเข้าเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จึงนำไปใช้ศึกษาต่อไป

3.8.2.2 การปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น

การผลิตน้ำส้มสายชูเริ่มต้นโดยนำไวน์ผลไม้แต่ละชนิดที่ปรับปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5 เปอร์เซ็นต์ใส่ลงในขวดหมักน้ำส้มสายชูซึ่งมีการให้อากาศอย่างต่อเนื่องบริเวณด้านบนของขวด ปรับปริมาณกรดโดยใช้อะซิติกให้มีปริมาณกรดเริ่มต้น 4.5 เปอร์เซ็นต์ถ่ายกล้าเชื้อ *Acetobacter* sp. ทั้ง 3 สายพันธุ์ (F1,สป5 และ WK) ทำการหมักที่อุณหภูมิห้อง และสุ่มตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างทุก 8 ชั่วโมง พร้อมทั้งติดตามปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการเพิ่มปริมาณกรดในน้ำไวน์ 20 เปอร์เซ็นต์ (5.4 , 6.48 , 7.77 เปอร์เซ็นต์) โดยที่ปริมาณแอลกอฮอล์ยังคง 3.5 เปอร์เซ็นต์ เท่าเดิม และตรวจติดตามปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรดจนปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5% หลังจากนั้นปรับไวน์แต่ละชนิดให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง ทำการเก็บหัวเชื้อใส่ขวดตัวอย่าง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3.8.2 การปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น

3.8.2.3 การปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรด

ทำปรับไวน์แต่ละชนิดจาก 7.4.2 ให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5เปอร์เซ็นต์ และปรับปริมาณกรดโดยใช้อะซิติกให้มีปริมาณกรดเริ่มต้น 4.5 เปอร์เซ็นต์ ใส่ลงในขวดหมักน้ำส้มสายชูซึ่งมีการให้อากาศอย่างต่อเนื่องบริเวณด้านบนของขวด ทำการสุ่มตัวอย่างเพื่อทำการวิเคราะห์การเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรดด่างทุก 8 ชั่วโมง พร้อมทั้งติดตามปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5 เปอร์เซ็นต์ แล้วทำการเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำไวน์ 20% (4.2%,5.04%,6.05%) โดยที่ปริมาณกรดยังคง 4.5% เท่าเดิมและตรวจติดตามปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรดจนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5% แล้วทำการเก็บหัวเชื้อใส่ขวดตัวอย่าง

3.9 การตรวจติดตามผล

3.9.1 การติดตามปริมาณกรด

ทำการตรวจวัดปริมาณกรดโดยวิธีการไทเทรตด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 0.2 N โดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีน 1% เป็นอินดิเคเตอร์

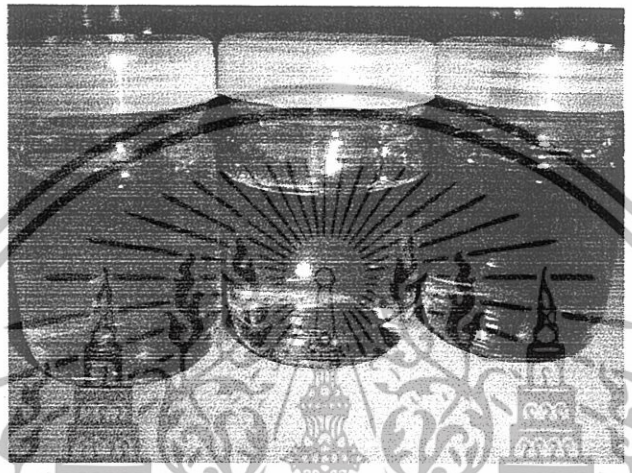
3.9.2 การติดตามปริมาณแอลกอฮอล์

ทำการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้อีบูลิโอมิเตอร์ (Ebulliometer) ซึ่งอาศัยความแตกต่างของจุดเดือดของน้ำและจุดเดือดของสารละลายที่ต้องการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.9.3 การปรับปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรด

เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำไวน์มีปริมาณแอลกอฮอล์เหลืออยู่ประมาณ 0.5 % จึงทำการปรับน้ำไวน์ให้มีปริมาณแอลกอฮอล์และกรดตามที่ต้องการ โดยให้มีหัวเชื้อเหลืออยู่ 40% ของปริมาตรน้ำไวน์



ภาพที่ 3.9 การเก็บตัวอย่างเชื้อ (จากซ้ายมือ) เป็นเชื้อ *Acetobacter aceti* สายพันธุ์ wk ในน้ำส้มสายชูจากไวน์ลิ้นจี่ , เชื้อ *Acetobacter aceti* สายพันธุ์ wk ในน้ำส้มสายชูจากไวน์มะม่วง และเชื้อ *Acetobacter aceti* สายพันธุ์ wk ในน้ำส้ม สายชูจากไวน์มะขาม ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

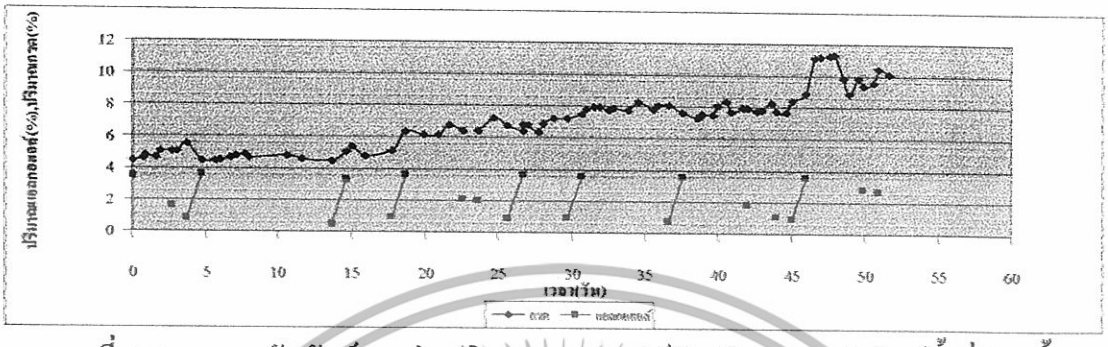
บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การปรับสภาพเชื้อในไวน์ลิ้นจี่

จากการศึกษาการปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูให้เหมาะสมกับไวน์ผลไม้คือ ไวน์ลิ้นจี่ โดยใช้เชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในสภาพให้อากาศ โดยทำการปรับสภาพเชื้อ 2 ขั้น กล่าวคือ ขั้นแรกปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นโดยสร้างสภาวะเริ่มต้นให้ในไวน์ผลไม้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรดจนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5%เพิ่มปริมาณกรดในน้ำไวน์ 20% (5.4% 6.48% และ 7.77%) โดยที่ปริมาณแอลกอฮอล์ยังคง 3.5% เท่าเดิม จากนั้นจึงทำการปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรดใน ขั้นที่สองโดยปรับสภาวะให้ไวน์ผลไม้มีปริมาณแอลกอฮอล์ เริ่มต้น 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณกรดและแอลกอฮอล์เช่นเดียวกับขั้นที่ 1 แล้วทำการปรับกรดและแอลกอฮอล์ให้อยู่ในสภาวะเช่นเดิม จนกระทั่งอัตราการเพิ่มขึ้นของกรดเริ่มเป็นแนวโน้มแล้วจึงเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำไวน์ 20% (4.2%) โดยที่ปริมาณกรดยังคง 4.5% เท่าเดิม ทั้งนี้เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกับแอลกอฮอล์ในไวน์ผลไม้ที่ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างๆ กันจากการปรับสภาพครั้งที่ 1และ 2 มาพลอตกราฟได้ความสัมพันธ์ดังภาพที่ 4.1 ถึง 4.6

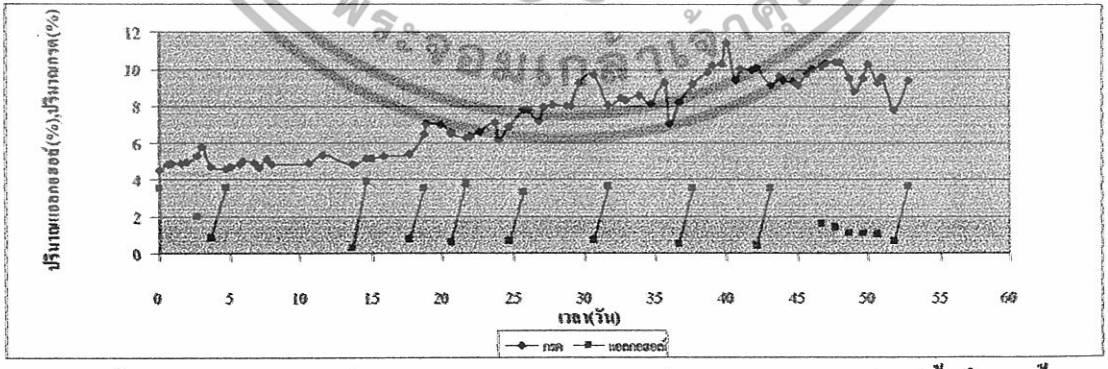
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK

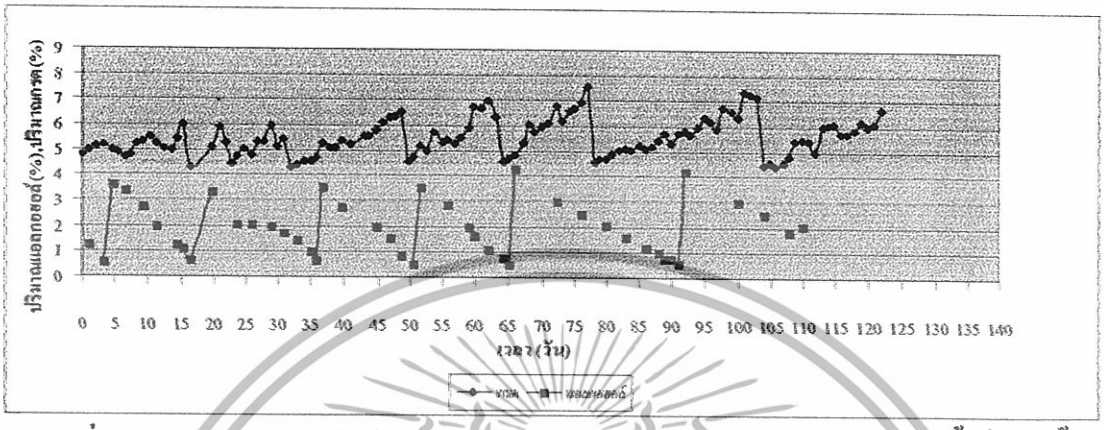
ภาพที่ 4.2 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5



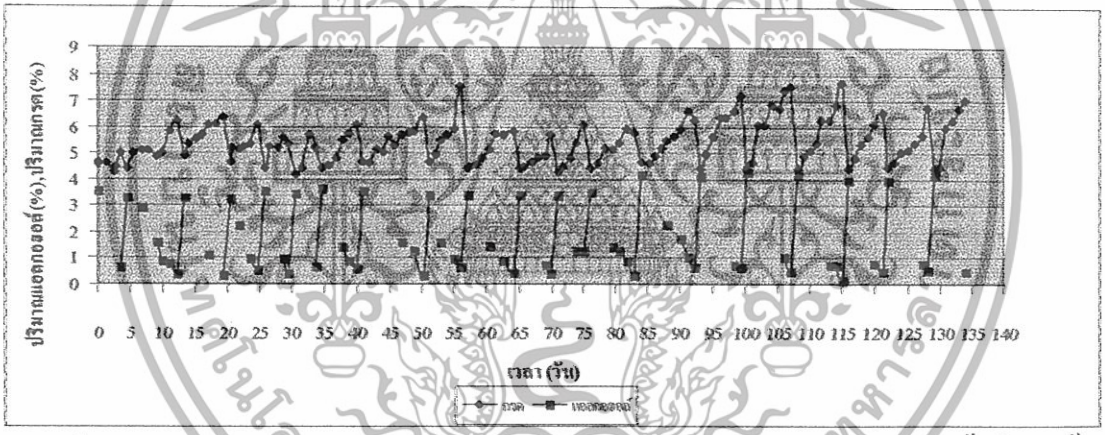
ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

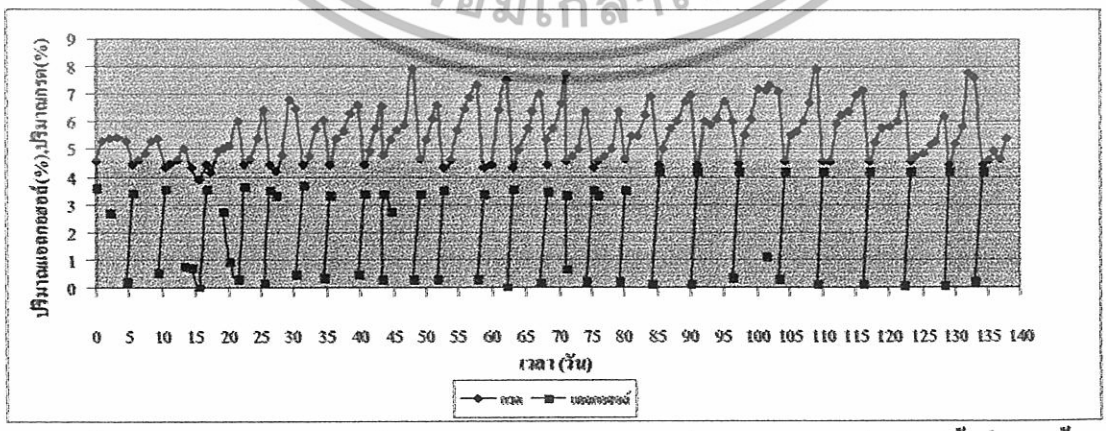
การปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรด



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK



ภาพที่ 4.5 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5



ภาพที่ 4.6 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์ลิ้นจี่โดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1

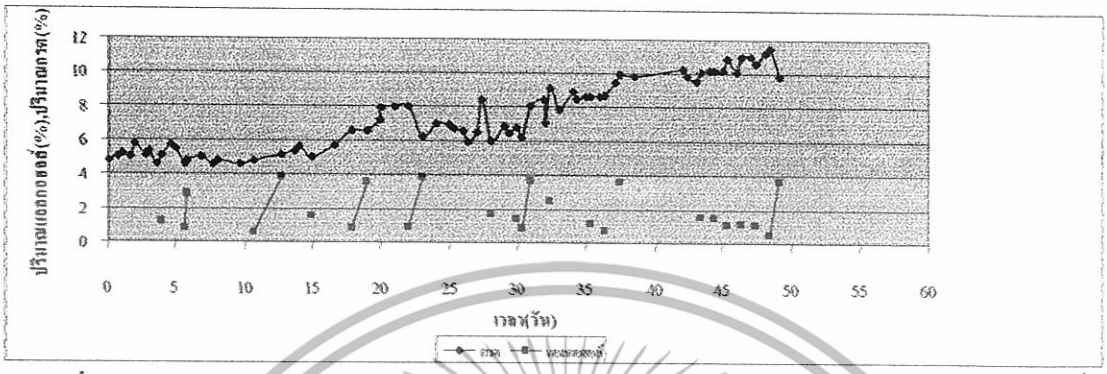
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 การปรับสภาพเชื้อในไวน์มะขาม

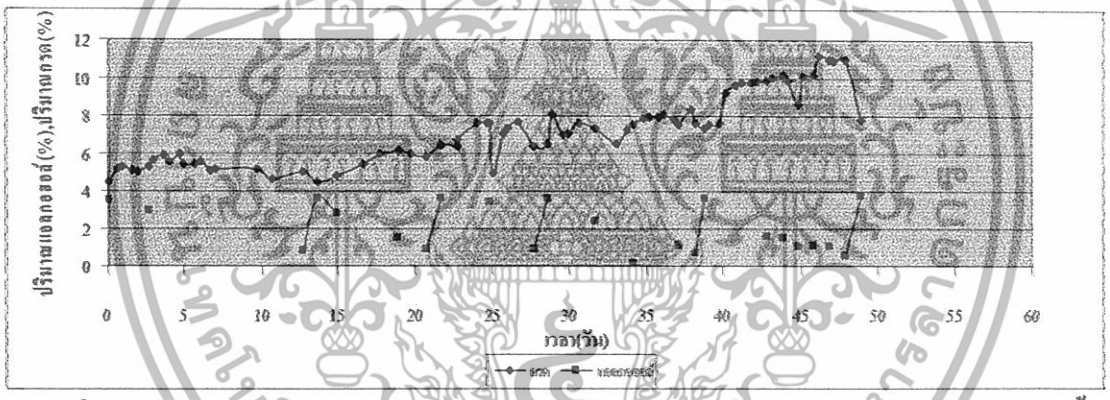
จากการศึกษาการปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูให้เหมาะสมกับไวน์ผลไม้คือ ไวน์มะขาม โดยใช้เชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในสภาพให้อากาศ โดยทำการปรับสภาพเชื้อ 2 ขั้น กล่าวคือ ขั้นแรกปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นโดยสร้างสภาวะเริ่มต้นให้ในไวน์ผลไม้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรดจนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5% เพิ่มปริมาณกรดในน้ำไวน์ 20% (5.4% 6.48% และ 7.77%) โดยที่ปริมาณแอลกอฮอล์ยังคง 3.5% เท่าเดิม จากนั้นจึงทำการปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรดใน ขั้นที่สองโดยปรับสภาวะให้ไวน์ผลไม้มีปริมาณแอลกอฮอล์ เริ่มต้น 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณกรดและแอลกอฮอล์เช่นเดียวกับขั้นที่ 1 แล้วทำการปรับกรดและแอลกอฮอล์ให้อยู่ในสภาวะเช่นเดิม จนกระทั่งอัตราการเพิ่มขึ้นของกรดเริ่มเป็นแนวโน้มแล้วจึงเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำไวน์ 20% (4.2%) โดยที่ปริมาณกรดยังคง 4.5% เท่าเดิม ทั้งนี้เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกับแอลกอฮอล์ในไวน์ผลไม้ที่ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างๆ กันจากการปรับสภาพครั้งที่ 1และ 2 มาพลอตกราฟได้ความสัมพันธ์ดังภาพที่ 4.7 ถึง 4.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

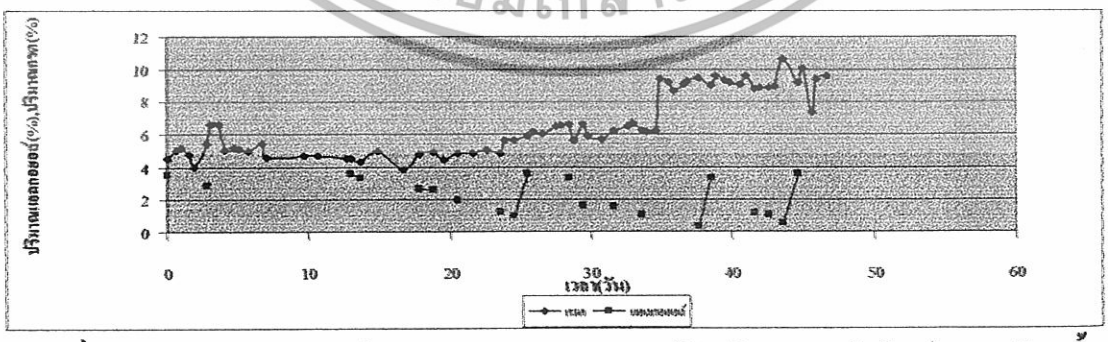
การปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.7 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขามโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK



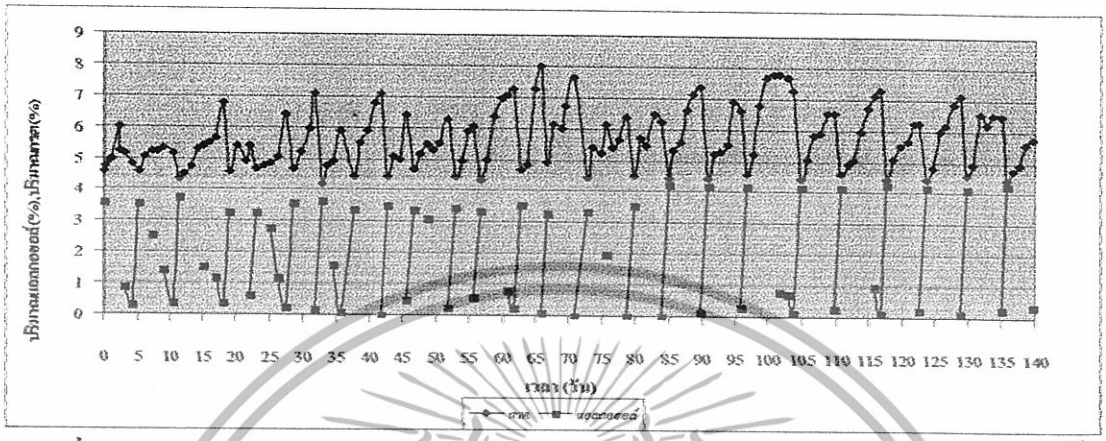
ภาพที่ 4.8 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขามโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5



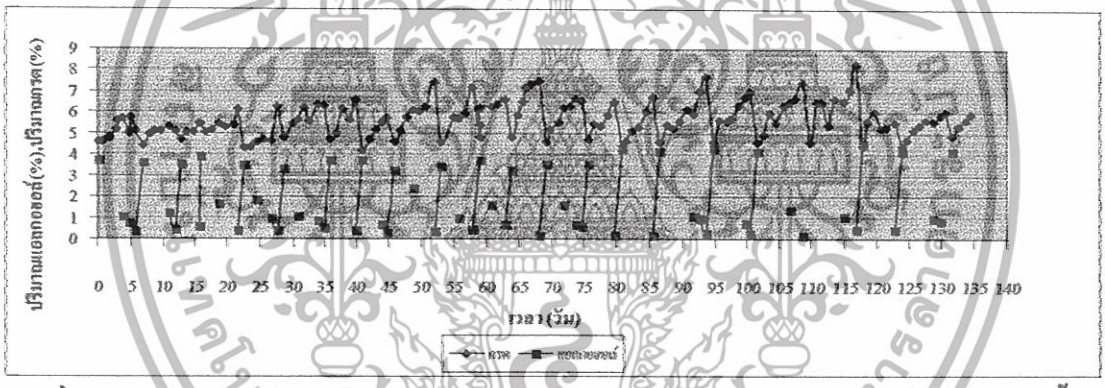
ภาพที่ 4.9 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขามโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

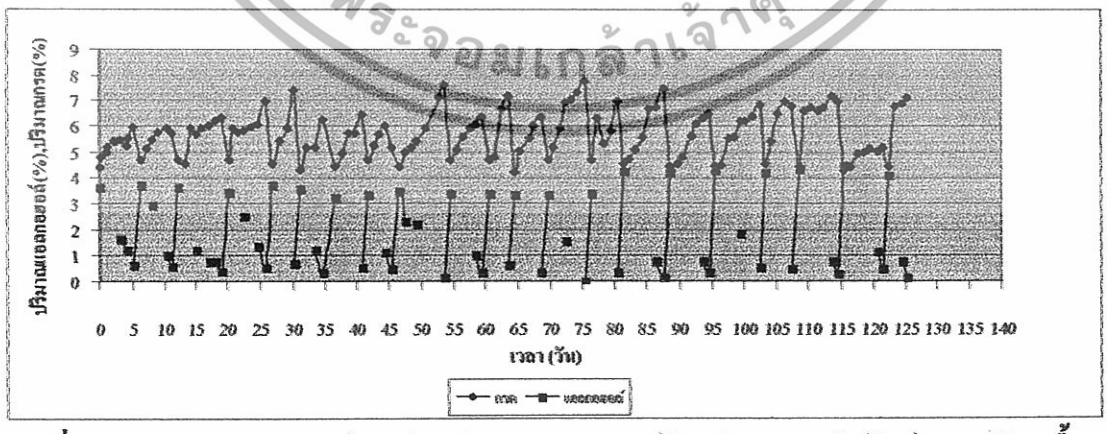
การปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรด



ภาพที่ 4.10 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขามโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK



ภาพที่ 4.11 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขามโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5



ภาพที่ 4.12 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะขามโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1

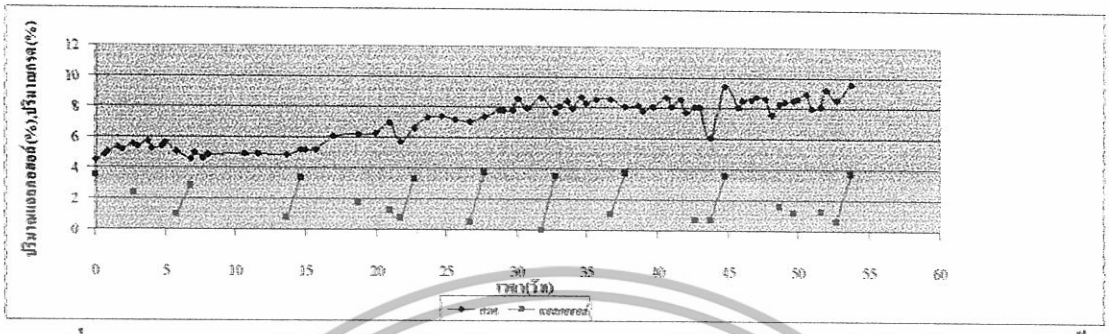
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 การปรับสภาพเชื้อในไวน์มะม่วง

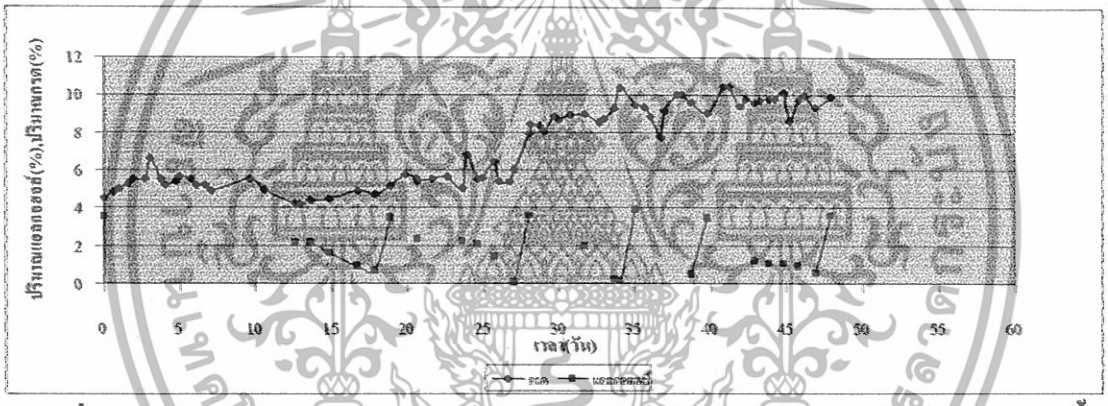
จากการศึกษาการปรับสภาพเชื้อน้ำส้มสายชูให้เหมาะสมกับไวน์ผลไม้คือ ไวน์มะม่วง โดยใช้เชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักในสภาพให้อากาศ โดยทำการปรับสภาพเชื้อ 2 ขั้น กล่าวคือ ขั้นแรกปรับสภาพเชื้อให้ทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นโดยสร้างสภาวะเริ่มต้นให้ในไวน์ผลไม้มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณกรดจนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเหลือ 0.5% เพิ่มปริมาณกรดในน้ำไวน์ 20% (5.4% 6.48% และ 7.77%) โดยที่ปริมาณแอลกอฮอล์ยังคง 3.5% เท่าเดิม จากนั้นจึงทำการปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรดใน ขั้นที่สองโดยปรับสภาวะให้ไวน์ผลไม้มีปริมาณแอลกอฮอล์ เริ่มต้น 3.5% และปริมาณกรด 4.5% ติดตามปริมาณกรดและแอลกอฮอล์เช่นเดียวกับขั้นที่ 1 แล้วทำการปรับกรดและแอลกอฮอล์ให้อยู่ในสภาวะเช่นเดิม จนกระทั่งอัตราการเพิ่มขึ้นของกรดเริ่มเป็นแนวโน้มแล้วจึงเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำไวน์ 20% (4.2%) โดยที่ปริมาณกรดยังคง 4.5% เท่าเดิม ทั้งนี้เมื่อนำความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกับแอลกอฮอล์ในไวน์ผลไม้ที่ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างๆ กันจากการปรับสภาพครั้งที่ 1และ 2 มาพลอตกราฟได้ความสัมพันธ์ดังภาพที่ 4.13 ถึง 4.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

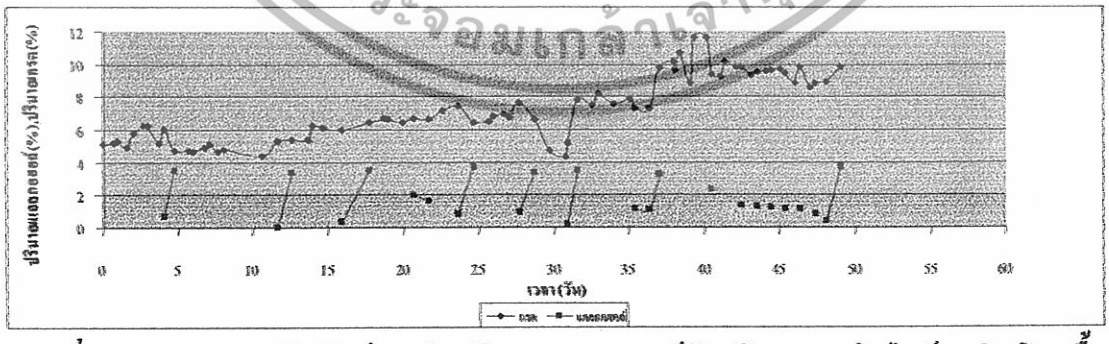
การปรับสภาพเชื้อให้ต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้น



ภาพที่ 4.13 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วงโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk



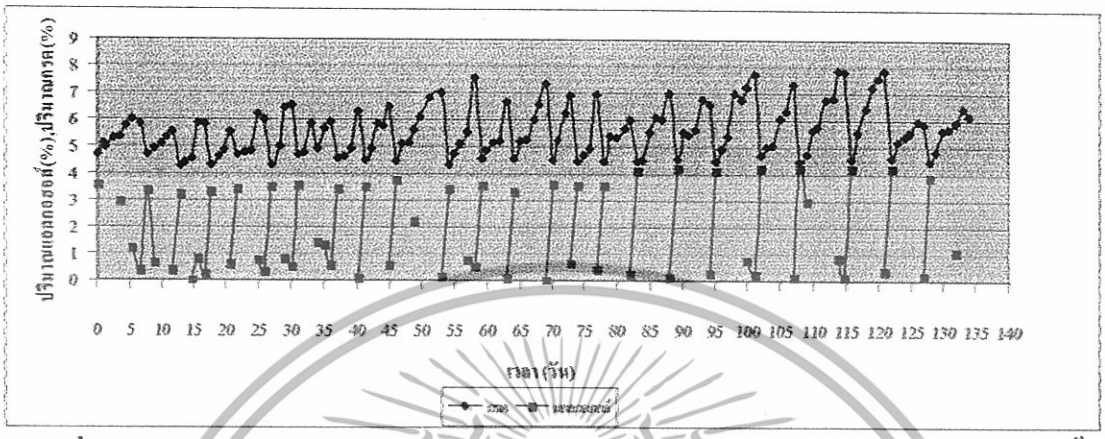
ภาพที่ 4.14 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วงโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5



ภาพที่ 4.15 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วงโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1

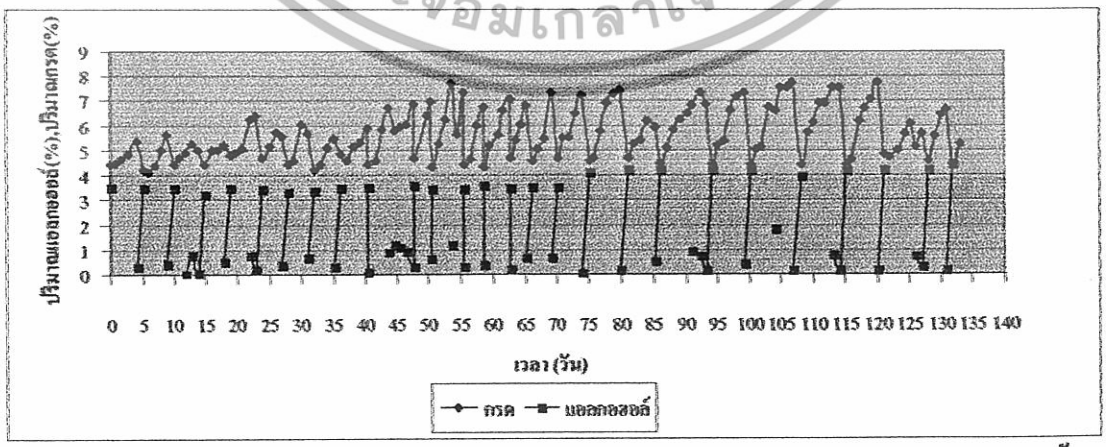
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การปรับสภาพเชื้อให้สร้างกรด



ภาพที่ 4.16 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วงโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ WK

ภาพที่ 4. 17 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วงโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ สป 5



ภาพที่ 4.18 ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณแอลกอฮอล์กับปริมาณกรดในไวน์มะม่วงโดยเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ F1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

จากความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกับแอลกอฮอล์ในไวน์ผลไม้ที่ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่างกันจากการปรับสภาพครั้งที่ 1 มาพลอตกราฟ พบว่าเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในไวน์ผลไม้ต่าง ๆ ทั้ง 12 isolates ที่ผ่านการปรับสภาพให้ทนกรด สามารถทนสภาวะที่มีแอลกอฮอล์และกรดเริ่มต้น 3.5 เปอร์เซ็นต์และ 7.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ในอัตราที่ต่างกัน และเมื่อพิจารณาร่วมกับกราฟความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดกับแอลกอฮอล์ในไวน์ผลไม้ที่ใช้เชื้อแต่ละสายพันธุ์แตกต่าง กันจากการปรับสภาพครั้งที่ 2 พบว่าเชื้อ *Acetobacter sp.* สายพันธุ์ wk , สป.5 และ F1 ในไวน์ผลไม้ต่างๆ ทั้ง 12 isolates ที่ผ่านการปรับสภาพให้สร้างกรดสามารถทนสภาวะที่มีแอลกอฮอล์และกรดเริ่มต้น 4.2 เปอร์เซ็นต์และ 4.5 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ได้ พบว่าเชื้อน้ำส้มสายชูแต่ละสายพันธุ์สามารถทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและสร้างกรดในไวน์ผลไม้ชนิดต่างๆได้ต่างกัน คือ เชื้อน้ำส้มสายชูสายพันธุ์ที่สามารถทนต่อปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นและสร้างกรดได้ดีที่สุด ในไวน์มะขาม และไวน์มะม่วง คือ *Acetobacter* sp. สายพันธุ์ WK ส่วนในไวน์ลิ้นจี่ คือ *Acetobacter* sp. สายพันธุ์ สป.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

นภา โล่ห์ทอง. 2519. เอกสารประกอบการบรรยายวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร. ภาควิชาจุลชีววิทยา,คณะวิทยาศาสตร์และอักษรศาสตร์, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.(โรเนียว)

มาลัย บุญรัตนกรกิจ.2548.วารสารเกษตรกรรมธรรมชาติ เรื่องน้ำส้มสายชูหมักแบบธรรมชาติ. บริษัทรุ่งเรืองสาส์น การพิมพ์ .กรุงเทพฯ.หน้า 21-50.

วราวุฒิ ครูส่ง และ รุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. 2532. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพ.

Adachi, O., Miyagawa, E., Shinagawa, E., Matsushita, K., and Ameyama, M. 1978. Purification and properties of particulate alcohol dehydrogenase from *Acetobacter aceti*. Agric. Biol. Chem. 42: 2331-2340.

Asai, T. 1968. Acetic acid bacteria: classification and biochemical activities. University of Tokyo Press.

De Ley, J. and J. Frateur. 1974. The Genus Acetobacter. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology. The Williams and Wilkin Co. Baltimore.

Dusscanc, H. 1971. A general treatise on manufacture of vinegar. USA.

Ebner, H. and A. Enenkel. 1978. Philadelphia U.S. Patents. 4 076 844.

Gibbs, B.M. and D.A. Shapton. 1968. Identification Method for Microbiologist. Part B. NewYork : Academic Press.

Hesseltine, C.W. 1965. Industrial mycology. Mycologia. 57:177-179

Mango. Available online at http://www.doae.go.th/plant/mango.html and www.kanchanapisek.or.th. Accessed date 11/01/2007.

Lichee. Available online at www.kanchanapisek.or.th/kp8/cem/cem501d.html. Accessed date 10/12/2006.

Park, Y, H. Ohtake, J. Toda. 1990. Effects of tricarboxylic acid cycle intermediates on acetic acid production by *Acetobacter aceti*. J. Gen. Appl. Microbial., 36 :105-110.

Tamarind Available online at www.rspg.thaigov.net/.../use/herbs02-4.htm. Accessed date 10/12/2006.

Type of vinegar.Available online at http://www.io.com~wilsone/herbalvinegar.htm. Access July,2006. Accessed date 10/12/2006.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Seppi, A. and A. Sperando. 1980. Free amino acid composition of vinegar. Revista della Societa Italiana di Scienza Alimentazione. 9(5) : 315-324.

Yanazida, F., J. Fukui, N. Kaneko, Y. Yamamoto and H. Loizumi. 1974. Acetic acid bacteria and their utilization XI. Amino acid contained in vinegar mash by various treatments. J. of the Society of Brewing Japan. 69(11) : 759-764.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

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	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. อาหาร Glucose Yeast Extract Agar (GYE Agar)

มีองค์ประกอบดังนี้

Glucose	100.0	กรัม
Yeast Extract	10.0	กรัม
Calcium carbonate	20.0	กรัม
Agar	20.0	กรัม
Distilled water	1000.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นด้วยความร้อนจน Agar ละลาย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. อาหาร MY Broth

มีองค์ประกอบดังนี้

Glucose	10.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Yeast Extract	3.0	กรัม
Malt Extract	3.0	กรัม
Distilled water	1000.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่น แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

4. อาหาร MY Agar

มีองค์ประกอบดังนี้

Glucose	10.0	กรัม
Peptone	5.0	กรัม
Yeast Extract	3.0	กรัม
Malt Extract	3.0	กรัม
Agar	2.0	กรัม
Distilled water	1000.0	กรัม

ละลายส่วนผสมทั้งหมดในน้ำกลั่นด้วยความร้อนจน Agar ละลาย แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์ทางเคมี

1. การวิเคราะห์แอลกอฮอล์โดยใช้ Ebuliometer

1.1 การหาจุดเดือดของน้ำ

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

1.2 การหาจุดเดือดของตัวอย่าง

เทน้ำออกแล้วใช้ตัวอย่างล้างและเททิ้งให้หมด ตวงตัวอย่างด้วยกระบอกตวงโดยใช้ปริมาตรของขีดบน (50 มิลลิลิตร) เติมน้ำลงในคอนเดนเซอร์จุดตะเกียงแอลกอฮอล์สังเกตปรอทที่เริ่มขึ้นสูงจนกระทั่งปรอทหยุดคงที่อ่านค่าอุณหภูมิที่ได้ข้อสังเกต จุดเดือดที่ถูกต้องจะคงที่อยู่ระยะหนึ่ง ถ้าปล่อยไว้นานขึ้นจุดเดือดจะสูงขึ้นไปเรื่อยๆ เพราะน้ำในคอนเดนเซอร์ร้อน ค่าที่อ่านได้จะผิดไป จำเป็นต้องเฝ้าสังเกตให้ดี เครื่องมือนี้เหมาะสำหรับหาตัวอย่างที่มีแอลกอฮอล์ไม่เกิน 20% ถ้าสูงกว่านั้นจำเป็นต้องทำให้เจือจางลงตามอัตราส่วน

1.3 การอ่านค่าแอลกอฮอล์

อ่านค่าได้โดยใช้แป้นกลม หมุนปุ่มวงกลมให้จุดเดือดของน้ำตรงกับค่าแอลกอฮอล์ที่ 0 ดีกรีจากนั้นอ่านค่าจุดเดือดของตัวอย่างและด้านตรงข้ามจะเป็นค่าแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในตัวอย่าง โดยวิธีนี้ก็อ่านค่าได้โดยตรงไม่ตรงปรับค่าของอุณหภูมิทำให้สะดวกและรวดเร็วขึ้น Ebuliometer จะวัดค่าแอลกอฮอล์ได้แม่นยำในช่วงที่มีแอลกอฮอล์น้อยกว่า 5% ค่าอุณหภูมิที่อ่านได้ในช่วงที่เหมาะสมคือประมาณ 96-100 องศาเซลเซียส ถ้าตัวอย่างที่ต้องการหามีปริมาณแอลกอฮอล์สูงควรจะเติมน้ำให้เจือจางลงมา เมื่ออ่านค่าได้แล้วจึงคำนวณกลับไปหาปริมาตรเดิมก่อนเติมน้ำ นอกจากนี้ตัวอย่างที่ใช้หาควรจะมีน้ำตาลน้อยกว่า 2% จึงจะอ่านค่าได้ใกล้เคียงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และมีความผิดพลาดไม่เกิน 0.1% Ebuliometer ควรจะต้องไม่มีคราบตะกอน โดยปกติเมื่อใช้หาตัวอย่างไปแล้วทุกๆ 50 ครั้งทำความสะอาดโดยต้มกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกซไซด์ 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 ที่เติมน้ำกลั่นจนครบ1 ลิตร เก็บไว้ในขวดแก้วที่กันคาร์บอนไดออกไซด์ได้และเป็นแก้วทนด่างก่อนใช้นำมาหาความเข้มข้นมาตรฐานก่อน

การหาความเข้มข้นมาตรฐานของ 0.1 N NaOH ทำได้โดยชั่งโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท (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 ความเข้มข้นมาตรฐานคำนวณได้จากสูตร

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

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

ปริมาณกรด

คำนวณเป็นกรดอะซิติคตามสูตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล นางสาวณัชนลิน เจริญจิตร์
วัน เดือน ปี เกิด 6 ธันวาคม 2527
สถานที่อยู่ปัจจุบัน 142/33 ม.4 ถ. ร่มเกล้า คลองสามประเวศ ลาดกระบัง กรุงเทพฯ
ประวัติการศึกษา ปีการศึกษา 2545 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
จากโรงเรียนระยองวิทยาคม
ปีการศึกษา 2549 จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีการหมัก
จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-สกุล นางสาวนันทินี จันทร์ศรี
วัน เดือน ปี เกิด 7 พฤศจิกายน 2527
สถานที่อยู่ปัจจุบัน 291 ม.15 ซ.ชมุมนิวัฒน์ ถ.สุขุมวิท 103 บางแก้ว บางพลี สมุทรปราการ 10540
ประวัติการศึกษา ปีการศึกษา 2545 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
จากโรงเรียนอุทัยวิทยาคม
ปีการศึกษา 2549 จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีการหมัก
จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ชื่อ-สกุล นางสาวอาภาภรณ์ หอมสมเสน
วัน เดือน ปี เกิด 5 สิงหาคม 2527
สถานที่อยู่ปัจจุบัน 115/4 ม.13 ต.บางเสาธง กิ่งอ.บางเสาธง จ.สมุทรปราการ
ประวัติการศึกา ปีการศึกษา 2545 สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย
จากโรงเรียนวัดทรงธรรม
ปีการศึกษา 2549 จบการศึกษาวิทยาศาสตร์บัณฑิต
สาขาเทคโนโลยีการหมัก
จากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้