

การศึกษากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเศษเหลือมะม่วงมหาชนกโดยระบบ
ผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (INTERNAL VENTURI EJECTOR SYSTEM)

STUDY ON VINEGAR PRODUCTION FROM MAHACHANOK MANGO WESTS
BY INTERNAL VENTURI EJECTOR SYSTEM



วรัญญู โตชวงค์

VARANYU TOJUVONG

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

คณะวิศวกรรมศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2566

KMITL-2023-EN-M-270-061

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

STUDY ON VINEGAR PRODUCTION FROM MAHACHANOK MANGO WESTS
BY INTERNAL VENTURI EJECTOR SYSTEM



A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT
OF THE REQUIREMENTS FOR THE DEGREE OF
MASTER OF ENGINEERING IN FOOD ENGINEERING
SCHOOL OF ENGINEERING
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG
2023

KMITL-2023-EN-M-270-061

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านอื่น
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



COPYRIGHT 2023

SCHOOL OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABAN

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การศึกษากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเศษเหลือมะม่วงมหาชนกโดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (INTERNAL VENTURI EJECTOR SYSTEM)
นักศึกษา	นายวีรณัฐ โตชวงค์
รหัสประจำตัว	60601013
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	วิศวกรรมอาหาร
พ.ศ.	2566
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์	ผศ. ดร.วริสา ชูวัฒนกุล

บทคัดย่อ

มะม่วงมหาชนกจัดเป็นผลไม้ที่ได้รับความนิยมบริโภคทั้งในประเทศและต่างประเทศ เนื่องจากมีคุณค่าทางโภชนาการและรสชาติเป็นเอกลักษณ์ แต่ในกระบวนการแปรรูปมะม่วงนั้น พบว่ามีเศษเหลือในกระบวนการถึงร้อยละ 20 เช่น เนื้อติดเปลือก ผลไม้ผ่านเกณฑ์คุณภาพมาตรฐาน หรือ มีจุดดำเน่าบริเวณเนื้อบางส่วน วิทยานิพนธ์นี้ศึกษากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเศษเหลือมะม่วงมหาชนกที่ได้จากการแปรรูป เป็นการลดขยะเหลือทิ้งและเพิ่มมูลค่าเศษเหลือการแปรรูปผลผลิตทางการเกษตร ศึกษาหาสภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมในถังหมักในระดับโรงงานต้นแบบ กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักที่ศึกษาเป็นระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) ที่อุณหภูมิ 30.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส แบ่งกระบวนการแปรรูปน้ำส้มสายชูหมักเป็น 2 ช่วงคือ ช่วงกระบวนการผลิตไวน์ (น้ำตาลเปลี่ยนเป็นเอทานอล) และช่วงกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู (เอทานอลเปลี่ยนเป็นกรดแอสติก) ระยะเวลาหมักน้ำส้มสายชูที่ศึกษา คือ ช่วง Start-Up phase (250 ลิตร) และในช่วง Acetification operation phase (600 ลิตร) ที่ปริมาณมีความเข้มข้นรวมเริ่มต้นที่ 80 กรัมต่อลิตร (Total Solution Concentration 8 (TC8)) โดยมีความดันในการเติมอากาศที่ส่งผลต่อประสิทธิภาพการผลิตในช่วง Start-Up phase 4 ระดับ คือ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 บาร์ เมื่อได้สภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมแล้วนำสภาวะนี้ทดสอบผลิตระดับโรงประลอง (Acetification operation)

ผลงานวิจัยในฉบับนี้ใช้ไวน์มะม่วงมหาชนกที่มีเอทานอล 88.90 ± 4.50 กรัมต่อลิตร เพื่อเป็นวัตถุดิบสำหรับผลิตน้ำส้มสายชู หมักด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ระยะเวลาการหมัก 7 วัน ที่สภาวะไม่ควบคุมอุณหภูมิในกระบวนการหมักแบบคราวเดียว ส่วนของการศึกษากระบวนการหมักน้ำส้มสายชูระบบแบบกึ่งต่อเนื่องในช่วง Start-Up phase โดยใช้เชื้อสายเอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พันธุ์ *Acetobacter aceti* WK โดยตัวแปรต้น คือ สภาวะการเติมอากาศที่แตกต่างกัน 4 ระดับที่ส่งผลกระทบต่อตัวแปรตาม คือ น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell Dry Weight; CDW) อัตราการผลิตกรด (Acetification rate; ETA) ผลิตภัณฑ์กรด (Acid products; AP) ปริมาณเอทานอล (ET) เอทานอลที่ถูกออกซิไดซ์ (Ethanol oxidized; EO) และค่าออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen; DO) พบว่าความดันในการเติมอากาศส่งผลกระทบต่อประสิทธิภาพการผลิตอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ โดยความดันในการเติมอากาศที่ 0.50 บาร์ มีอัตราการผลิตสูงกว่า 0.25 1.00 และ 0.75 บาร์ งานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นอีกว่า เมื่อความดันในการเติมอากาศที่เพิ่มขึ้นส่งผลให้ปริมาณเอทานอลในระหว่างกระบวนการผลิตนั้นลดลงอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังนั้น อากาศที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูระบบแบบกึ่งต่อเนื่อง คือ 0.5 บาร์ ผลการผลิตในช่วง Acetification operation phase พบว่า อัตราการผลิตเฉลี่ยที่ถูกออกซิไดซ์เท่ากับ 1.284 กรัมต่อลิตรต่อวัน ผลิตภัณฑ์กรดเฉลี่ยเท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร และการออกซิไดซ์เอทานอล 31 กรัมต่อลิตร และพบว่าอัตราการผลิตกรด ในช่วง Acetification operation phase น้อยกว่าในช่วง Start-Up phase อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ซึ่งหมายถึงความดันในการเติมอากาศไม่พอดีสำหรับการผลิตจำนวน 600 ลิตร จากการประเมินผลกระทบทางด้านเศรษฐศาสตร์ผลิตภัณฑ์จากงานวิจัยนี้ได้เพิ่มมูลค่าให้กับเศษเหลือการแปรรูปผลผลิตทางการเกษตรเป็น 12 เท่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	STUDY ON VINEGAR PRODUCTION FROM MAHACHANOK MANGO WASTES BY INTERNAL VENTURI EJECTOR SYSTEM
Student	Mr. Varanyu Tojuvong
Student ID.	60601013
Degree	Master of Engineering
Program	Food Engineering
Year	2023
Thesis Advisor	Asst. Prof. Dr. Varesa Chuwattanakul

ABSTRACT

Mahachanok Mango is a popular fruit consumed both domestically and internationally due to its unique taste and phytochemical properties. However, during the processing of mango, there are usually residues, such as peels, fruits that do not meet the standard quality, and portions with black or rotten spots. This study aims to investigate the production process of Mahachanok mango waste fermented vinegar to reduce waste and increase the value of agricultural production residues. The suitable air supply condition in the fermentation tank was also investigated at the fabrication lab level. The vinegar was produced through a mixed fermentation system combined with an internal venturi ejector system at a temperature of 30.0 ± 0.1 °C. The production process was divided into two stages: wine production (sugar converted to ethanol) and vinegar production (ethanol converted to acetic acid). The fermentation process was conducted in two phases, which were the Start-Up phase (250 L) and Acetification operation phase (600 L), starting with a total solution concentration of 80 g/L (Total Solution Concentration 8; TC8). Four levels of air supply were tested in the Start-Up phase, which were 0.25, 0.50, 0.75, and 1.00 bar. After finding the suitable air supply condition, the Acetification operation phase was carried out in the fabrication lab.

This research study used a high-quality Mahachanok mango wine with an ethanol content of 88.90 ± 4.50 g/l as a raw material for producing vinegar. The mango wine was fermented using the *Saccharomyces cerevisiae* FER1 yeast strain for 7 days under

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

non-controlled temperature conditions in a single-batch fermentation process. The process of continuous fermentation of vinegar using the *Acetobacter aceti* WK strain was studied during the startup phase. The study examined the effect of different levels of air supply on various variables, including cell dry weight (CDW), acetification rate (ETA), acid products (AP), ethanol content (ET), ethanol oxidized (EO), and dissolved oxygen (DO). The statistical analysis revealed that the amount of air supplied significantly affected the acetification rate, with the highest rate observed at 0.50 bar of air supply compared to 0.25, 1.00, and 0.75 bars of air supply. The research also showed that increasing the amount of air supply during the fermentation process led to a statistically significant decrease in the volume of ethanol produced. Therefore, the appropriate level of air supply for the continuous fermentation process of vinegar is 0.5 bar. Production results during Acetification operation phase. The results showed that the average daily acid production rate was 1.284 g/L/day. The average acid product was 30 g/l and oxidized ethanol was 31 g/l and it was found that the rate of acid production during the acetification operation phase was significantly lower than that during the Start-Up phase. This means that the volume of air is inadequate for 600 liters of production. The economic impact assessments, the product from this research adds a 12 through increase in the value of agricultural processing waste.

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จด้วยความกรุณาจาก ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.วีรสา ชูวัฒนกุลอาจารย์ที่ปรึกษา ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำชี้แนะช่วยแก้ปัญหาตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า

ขอขอบพระคุณ ศาสตราจารย์ ดร.วราวุฒิ ครุสงฆ์ ที่ได้มอบเครื่องหมักน้ำส้มสายชูระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) และคำแนะนำองค์ความรู้การทดลองกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู จนในที่สุดทำให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ ที่อนุเคราะห์พื้นที่ อุปกรณ์สำหรับการทดลอง และแนะนำความรู้สำหรับงานวิจัยชิ้นนี้ ตลอดจนการเขียนรายงานและวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. มาฤดี ผ่องพิพัฒน์พงศ์ ที่เป็นประธานสอบจบวิทยานิพนธ์ชิ้นนี้และแนะนำการเขียนเล่มวิทยานิพนธ์จนสำเร็จ

ขอขอบพระคุณ ภาควิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง และ FACTory Classroom ที่เอื้อเพื่ออุปกรณ์และสถานที่ในการทำงานวิจัยในครั้งนี้

สุดท้ายนี้ขอขอบคุณพี่ น้อง และเพื่อน ประจำห้องปฏิบัติการ FACTory Classroom สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่คอยช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา

สำหรับคุณงามความดีอันใดที่เกิดจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ข้าพเจ้าขอมอบให้กับบิดามารดา ซึ่งเป็นที่รักและเคารพยิ่ง ตลอดจนครูอาจารย์ที่เคารพทุกท่านที่ได้ประสิทธิ์ประสาทวิชาความรู้และถ่ายทอดประสบการณ์ที่ดีให้แก่ข้าพเจ้า

วัลัญญ โตชูวงศ์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	III
กิตติกรรมประกาศ.....	V
สารบัญ.....	VI
สารบัญตาราง.....	IX
สารบัญภาพ.....	X
บทที่ 1 บทนำ.....	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....	1
1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....	3
1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....	3
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....	3
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	5
2.1 มะม่วง.....	5
2.1.1 มะม่วงมหาชนก.....	5
2.1.2 ประโยชน์และคุณค่าทางอาหารในมะม่วง.....	6
2.1.2.1 วิตามินซี (Vitamin C).....	6
2.1.2.2 แคโรทีนอยด์ (Carotenoid).....	7
2.2 น้ำส้มสายชู (vinegar).....	8
2.2.1 น้ำส้มสายชูเทียม.....	8
2.2.2 น้ำส้มสายชูกลั่น.....	9
2.2.3 น้ำส้มสายชูหมัก.....	9
2.3 การหมักน้ำส้มสายชู.....	10
2.3.1 การหมักแอลกอฮอล์.....	10
2.3.2 การหมักกรดแอสซิติค.....	12
2.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู.....	14
2.4.1 ยีสต์.....	14
2.4.1.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์.....	15
2.4.1.1.1 อุณหภูมิ.....	15
2.4.1.1.2 พีเอช.....	16
2.4.1.1.3 สารอาหาร.....	16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.4.1.1.4 ออกซิเจน.....	16
2.4.2 แบคทีเรียแอซีติก (Acetic acid bacteria)	17
2.5 วิธีการผลิตน้ำส้มสายชู	20
2.5.1 วิธีการดั้งเดิม (Ancient method)	20
2.5.2 วิธีการออลีน (Orleans method)	21
2.5.3 วิธีการหมักอย่างรวดเร็ว (Quick process)	22
2.5.4 วิธีการหมักในอาหารเหลว (The Submerged fermentation method).....	23
2.4 ระบบการหมักในอาหารเหลว.....	23
2.4.1 การเลี้ยงเชื้อแบบคราวเดียว (Bath culture)	23
2.4.2 การเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง (Continuous culture)	24
2.4.3 การเลี้ยงเชื้อแบบกึ่งกะ (Fed-batch culture)	24
2.4.4 การเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง (Continuous culture)	24
2.5 จลนพลศาสตร์ของการหมัก.....	24
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....	27
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย.....	31
3.1 วัตถุประสงค์ เครื่องมือ และอุปกรณ์.....	31
3.1.1 วัตถุประสงค์.....	31
3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์.....	31
3.1.3 สารเคมี.....	31
3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์.....	31
3.2 การเตรียมมะม่วงมหาชนกพิวเร่แข่งที่ได้จากของเสียในกระบวนการรูป	32
3.3 การหมักไวน์.....	33
3.3.1 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับหมักไวน์.....	33
3.3.2 การหมักไวน์มะม่วงมหาชนกและการวิเคราะห์คุณภาพ.....	34
3.4 การหมักน้ำส้มสายชู.....	37
3.4.1 การวางแผนการทดลอง.....	37
3.4.2 การศึกษาผลกระทบของความดันในการเติมอากาศในช่วง Start-Up	38
3.4.3 การศึกษาผลกระทบของของความดันในการเติมอากาศในช่วง Acetification operation.....	39
3.5 การวิเคราะห์คุณภาพ.....	44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยมนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.5.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS).....	45
3.5.2 เปอร์เซนต์เอทานอล (ethanol percentage, ET)	45
3.5.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง (cell dry weight, CDW)	45
3.5.5 ปริมาณกรดทั้งหมดในอาหาร (total acid content)	45
3.5.6 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen meter).....	45
3.6 การวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการผลิตการน้ำส้มสายชูหมักจากมะม่วง มหาชนระดับอุตสาหกรรม.....	45
บทที่ 4 ผลการทดลองและการอภิปราย.....	47
4.1 ผลการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนก.....	47
4.2 ผลการศึกษาหาสภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมของ <i>A. aceti</i> WK ช่วง Start-Up โดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ.....	49
4.3 ผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย <i>A. aceti</i> WK ในช่วง operation phase (600 ลิตร) โดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ.....	52
4.4 การประเมินค่าใช้จ่ายในการผลิต.....	55
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ.....	57
5.1 สรุปผลการทดลอง.....	57
5.2 ข้อเสนอแนะ.....	57
เอกสารอ้างอิง.....	59
ภาคผนวก ก รายละเอียดเครื่องมือกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก.....	65
ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อ.....	67
ภาคผนวก ค วิธีการวิเคราะห์คุณภาพ.....	69
ภาคผนวก ง ผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ.....	75
ภาคผนวก จ งานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์.....	92
ประวัติผู้เขียน.....	102

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 ค่าเฉลี่ยของสารประกอบและแร่ธาตุในมะม่วงอินทรีย์ผลดิบและสุก.....	6
2.2 สมดุลการเปลี่ยนแปลง 100 กรัม ในสภาวะการหมักของยีสต์.....	12
2.3 สรุปขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชูโดยกระบวนการหมักตามออลิซิมโดยจุลินทรีย์.....	14
2.4 คุณสมบัติที่ใช้จำแนกแบคทีเรียยีสต์ <i>Acetobacter</i> เป็นชนิดหลักและชนิดย่อย	19
3.1 อัตราส่วนในการหมักไวน์ต่อหนึ่งรอบ.....	35
3.2 การวิเคราะห์ต้นทุนการหมักน้ำส้มสายชูมหาชนกต่อ 1 ลิตร.....	46
4.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนกในวันที่ 0 และวันที่ 7.....	47
4.2 อิทธิพลของการเติมอากาศในช่วง Start-Up (ปริมาตร 250 ลิตร) โดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศของเชื้อ <i>A. aceti</i> WK ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส.....	50
4.3 ประสิทธิภาพการผลิตกรดโดย <i>A. aceti</i> WK ที่สภาวะการให้อากาศ 0.5 บาร์ ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส.....	52
4.4 ต้นทุนเบื้องต้นในการผลิตน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนก.....	56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ต้นมะม่วงมหาชนก (ก) ลักษณะของผลมะม่วงมหาชนก (ข)	5
2.2 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี	7
2.3 โครงสร้างทางเคมีเบต้าแคโรทีน.....	8
2.4 วิธี Embden-Meyerhof-Parnas และการหมักเอทานอลโดยยีสต์.....	11
2.5 ปฏิกริยาออกซิเดชันของเอทานอลโดยแบคทีเรียกรดแอสติก PQQ: ไพร์โรโล- ควิโนน; Q: ยูบิควิโนน.....	11
2.6 ยีสต์ <i>Saccharomyces</i> ที่ใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ ไวน์ และขนมปัง.....	15
2.7 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 50,000 เท่า ของเชื้อ.....	18
2.8 เครื่องแบบ The Orleans Method	21
2.9 เครื่องแบบ The Trickleing Method	22
2.10 เครื่องแบบ The Submerged Fermentation Method.....	23
3.1 กระบวนการคัดและการเตรียมตัวอย่างมะม่วงมหาชนกพิวเร่แช่เยือกแข็ง.....	32
3.2 แผนภาพการผลิตหัวเชื้อสำหรับหมักไวน์.....	33
3.3 (ก) เครื่องเขย่าหัวเชื้อ (ข) ถังหมักหัวเชื้อในระดับอุตสาหกรรม (ขนาด 200 ลิตร และ 50 ลิตร ตามลำดับ).....	34
3.4 แผนภาพการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนก.....	35
3.5 กระบวนการหมักไวน์มะม่วงมหาชนก: (ก) ผสม; (ข) หมักไวน์; (ค) กรอง หยาบ; (ง) ฆ่าเชื้อ; และ (จ) กรองขนาด 100 ไมครอน.....	36
3.6 ตัวแปรต้นและตัวแปรตามในช่วง Start-Up.....	37
3.7 กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกช่วง Start-Up.....	39
3.8 กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกช่วง Acetification operation..	40
3.9 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนก: (ก) หัวเชื้อ <i>Acetobacter</i> <i>acetii</i> WK; (ข) ถ่ายลงถังผสม; (ค) ถ่ายขึ้นถังหมักน้ำส้มสายชู; (ง) กรอง; (จ) ฆ่าเชื้อ; (ฉ) บรรจุ.....	41
3.10 กลไกการควบคุมการกระบวนการทั้งหมดของการหมักน้ำส้มสายชูหมักจาก เศษเหลือ.....	43
4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา ปริมาณเอทานอล และปริมาณของแข็งที่ ละลายได้ทั้งหมด ในการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนกโดยเชื้อ <i>S. cerevisiae</i> FER1.....	48
4.2 อัตราการผลิตกรดต่อวัน (Acetification rate; ETA (\square)) และ การออกซิไดซ์	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

ภาพที่	หน้า
เอทานอล (Ethanol oxidized rate; ER \square) ของเชื้อ <i>A. aceti</i> WK ช่วง Start-Up (ปริมาตร 250 ลิตร) ในสภาวะการเติมอากาศที่แตกต่างกัน.....	51
4.3 ประสิทธิภาพการผลิตกรดโดย <i>A. aceti</i> WK ที่สภาวะการให้อากาศ 0.5 บาร์ ในช่วง Operation ปริมาตร 600 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส.....	53
4.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง DO (ppm) ระหว่าง CDW (กรัม/ลิตร) ที่สภาวะการเติมอากาศ 0.5 บาร์ ในช่วง Operation ปริมาตร 600 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส.....	54



บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะม่วงเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย โดยมีพื้นที่ปลูกมะม่วงประมาณ 2 ล้านไร่ ผลผลิตรวมทั้งประเทศประมาณ 2.8 ล้านตัน การส่งออกในปี 2561 อยู่ที่ 89,000 ตัน คิดเป็นมูลค่า 4,000 ล้านบาท ซึ่งตลาดส่งออกมะม่วงที่สำคัญ ได้แก่ ประเทศญี่ปุ่น เกาหลีใต้ สหรัฐอเมริกา เวียดนาม เป็นต้น พันธุ์มะม่วงที่นิยมปลูกเพื่อส่งออกไปยังต่างประเทศมีอยู่หลายพันธุ์ ได้แก่ น้ำดอกไม้ โชคอนันต์ หนังกกลางวัน และมหาชน เป็นต้น [1]

มะม่วงพันธุ์มหาชน (*Mangifera indica* L.cv. Mahachanok; syn. Mahajanaka) มีลักษณะผิวผลมีสีเขียวแล้วถูกแต้มด้วยสีแดง ที่เกิดจากสารแอนโทไซยานิน (anthocyanins) เมื่อผลสุกมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว และเนื้อมีรสหวานอมเปรี้ยว จากลักษณะที่โดดเด่นดังกล่าว [2] มะม่วงพันธุ์นี้จึงเป็นที่ต้องการของตลาดและได้รับความนิยมจากผู้บริโภคมากขึ้น มะม่วงยังสามารถแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เพื่อการส่งออก เช่น น้ำมะม่วง มะม่วงกระป๋อง ท็อปปิ้งมะม่วง เป็นต้น เนื่องจากมีผลผลิตมะม่วงมหาชนกั้นตลาดและราคาต่ำในช่วงฤดูกลาง ในปัจจุบันมะม่วงมหาชนกราคากิโลกรัมละ 5 บาท แต่ถ้ามะม่วงแก่สุกคาคันที่ผิวมีตำหนิ ไม่สวย ทำให้ราคาตกส่งผลให้มีราคาขายอยู่ที่กิโลกรัมละ 2 บาท [3] นอกจากนี้ในเนื้อมะม่วงมีสารสำคัญมากมาย ที่ช่วยป้องกันการเกิดโรคหัวใจในไต (Antilithialic) และการกำจัดอนุมูลอิสระ (Free radical scavenging) โดยไปลดการเข้าทำลายผนังเซลล์ (lipid peroxidation) และเพิ่มกิจกรรมของเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการต้านอนุมูลอิสระ (Superoxide dismutase และ catalase) มากกว่านี้ยังพบ วิตามิน สารอินทรีย์ คาร์โบไฮเดรต กรดอะมิโน สารประกอบฟีนอลิก แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) และสารหอมระเหยต่าง ๆ นอกจากนี้การศึกษาพบว่า สารประกอบฟีนอลิกในเนื้อผลมะม่วงและเปลือก ประกอบไปด้วย วิตามินซี (Ascorbic acids และ dehydroascorbic acids) ฟลาโวนอยด์ (Flavonoids) แคโรทีนอยด์ (Carotenoids) แซนโทน (Xanthones) กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) และ แกลลโลแทนนิน (Gallotannins) เป็นต้น [4][5]

น้ำส้มสายชู (vinegar) จัดเป็นสารใช้ปรุงแต่งรสของอาหารที่นิยมใช้ในประเทศไทย โดยเติมในอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติให้เปรี้ยวเพิ่มขึ้น และยังสามารถใช้ในการถนอมอาหารจำพวกของหมักดอง ประเภทของน้ำส้มสายชูที่บริโภคกันทั่วไปคือน้ำส้มสายชुक้น มีปริมาณกรดน้ำส้มอยู่ประมาณ 4-7 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักทั้งหมด น้ำส้มสายชูหมักสามารถผลิตได้จากผลไม้ ธัญพืช หรือแม้แต่การนำผลผลิตที่เหลือใช้ คุณภาพไม่ได้มาตรฐาน ตัวอย่างงานวิจัย การผลิตน้ำส้มสายชูจากเปลือกและแกนสับปะรด และ การผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยที่สุกจัด ขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก เริ่มจากการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์โดยกระบวนการหมักของยีสต์ จากนั้นนำไปหมักเพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดน้ำส้ม โดยเชื้อจำพวก acetic acid bacteria [6] น้ำส้มสายชูหมักมีลักษณะเด่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กว่าน้ำส้มกลั่นและน้ำส้มสายชูเทียมคือ มีกลีนิรสชาติเฉพาะตามวัตถุดิบที่นำมาผลิต [7] การบริโภค น้ำส้มสายชูประมาณ 10-30 มิลลิตรหรือประมาณ 2-6 ช้อนโต๊ะ ช่วยในการดูดซับกลูโคสในกระแส เลือดเข้าสู่ร่างกายได้ดีขึ้น และยับยั้ง α -amylase action โดยมีการรวบรวมข้อมูลงานวิจัยใน MEDLINE และ Web of Science [8]

บทความที่เผยแพร่ระหว่างปี ค.ศ. 1995 และ 2018 ที่ได้มีการศึกษาที่ตรวจสอบผลกระทบของ การบริโภคน้ำส้มสายชูหมักต่อ glycemic profile ในเลือดในมนุษย์ และ putative mechanistic cellular pathways ในทั้งแบบมนุษย์และสัตว์ [8] มีการศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าน้ำส้มสายชู หมักมีศักยภาพในการรักษาโรคอ้วน เบาหวาน โรคหัวใจ มะเร็งและการติดเชื้อจุลินทรีย์ และรวมถึง การดื่มเครื่องดื่มที่มีน้ำส้มสายชูหมัก 15 มล. ต่อวัน (กรดแอซีติก 750 มก.) เป็นประจำทุกวันช่วยลด ความเสี่ยงต่อโรคความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือด และโรคอ้วน อีกด้วย [9] การหมักน้ำส้มสายชูจาก ไวน์ที่นิยม แบ่งออกเป็น 2 วิธี ได้แก่ กระบวนการแบบดั้งเดิม (traditional process หรือ slow process) และวิธีการแบบจุ่ม (trickling method หรือ quick process) วิธีการแรกนั้นใช้ระยะเวลา ในการหมักประมาณ 3-4 เดือน ส่วนวิธีการที่สองเป็นวิธีที่ใช้เวลาสั้น ได้ปริมาณกรดน้ำส้มที่ผลิตสูง [10] งานวิจัยของ Krusong และคณะ [11] ทำการศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นเริ่มต้นของกรด แอซีติก และเอทานอลภายในถังหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous Acetification) โดยการ ปรับสภาพของ *Acetobacter aceti* WK ให้มีความทนทานต่อปริมาณกรดที่สูง และใช้เอทานอลเป็น สารอาหาร ผลที่ได้สามารถผลิตกรดแอซีติกโดยเฉลี่ย 9.12 กรัมต่อลิตรต่อวัน และค่าผลได้ 94.4% ซึ่งช่วยลดต้นทุนให้กับผู้ผลิตสินค้าที่ต้องใช้น้ำส้มสายชูหมักเป็นองค์ประกอบหลัก

ดังนั้นงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อเพิ่มมูลค่ามะม่วงมหาชนกที่ไม่ได้มาตรฐานตามที่ต้องการและ มีราคาต่ำโดยการแปรรูปด้วยวิธีการหมักให้ได้น้ำส้มสายชูที่มีคุณภาพสูงในระดับห้องปฏิบัติการและ ต่อยอดการผลิตให้สามารถผลิตได้จริงในระดับอุตสาหกรรมด้วยวิธีการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ระบบที่ อ้างอิงมาจาก Prediction of influence of stepwise increment of initial acetic acid concentration in charging medium on acetification rate of semicontinuous process by artificial neural network [12] และซึ่งมีถังหมักกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก (Fermented Vinegar Production Process) ด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) เลขที่ทรัพย์สินทางปัญญา : 12907 ในนาม ศ.ดร.วราวุฒิ ครุสง และคณะ ดังนั้นวิธีการ ดังกล่าวจะได้ปริมาณกรดน้ำส้มสายชูสูงและใช้ระยะเวลาในการหมักที่สั้น ซึ่งสามารถใช้เป็นแนวทาง ในการผลิตในระดับอุตสาหกรรมได้จริง

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1.2.1 การศึกษาผลกระทบปัจจัยความดันอากาศต่อการผลิตของน้ำส้มสายชูหมักจากเศษเหลือมะม่วงมหาชนกด้วยการหมักแบบจุ่ม (INTERNAL VENTURI EJECTOR SYSTEM)

1.2.2 ศึกษาคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะม่วงมหาชนกที่ได้จากสภาวะการผลิตที่เหมาะสม

1.2.3 ทดสอบการผลิตในระดับโรงงานต้นแบบ (Pilot scale)

1.3 ขอบเขตงานวิจัย

1.3.1 งานวิจัยนี้ใช้มะม่วงพิวเร่ในช่องแช่แข็ง (-) 18 องศาเซลเซียส จากสวนเชียงใหม่ มีค่าปริมาณของแข็งที่สามารถละลายน้ำได้เท่ากับ 14.73 ± 0.96 องศาบริกซ์ ค่าความเป็นกรดต่างเท่ากับ 4.41 ± 0.01

1.3.2 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 และ เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* WK ได้รับความอนุเคราะห์จากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

1.3.3 หมักไวน์มะม่วงมหาชนก ด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* FER1 แอลกอฮอล์ 80 - 110 กรัมต่อลิตร ทำการหมักในสภาพที่ไม่ได้มีการควบคุมอุณหภูมิ

1.3.4 ทาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการหมักน้ำส้มสายชู ช่วงการหมัก Start-Up โดยมีตัวแปรต้นคือ ปริมาณของอากาศ ที่ส่งผลต่อน้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell Dry Weight) อัตราการผลิตกรดน้ำส้มสายชู (Acetification rate; ETA) ผลิตภัณฑ์กรด (Acid products; AP) ปริมาณแอลกอฮอล์และค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen; DO) โดยเชื้อสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* WK ที่ผ่านการปรับสภาพแล้ว ใช้การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง การควบคุมอุณหภูมิระหว่างการทดลอง อยู่ที่ 30 ± 0.1 องศาเซลเซียส อ้างอิงคุณสมบัติน้ำส้มสายชูหมักตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543

1.3.5 ทดลองการหมักในระดับโรงงานต้นแบบ ขนาด 600 ลิตร

1.3.6 ตรวจสอบปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด พีเอช กรดแลกติกและกรดแอซีติกโดยวิธีการหาปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นจากการไตเตรท ในกระบวนการหมักไวน์และน้ำส้มสายชู

1.3.7 ออกแบบการทดลองโดยใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design)

1.3.8 วิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติโดยใช้ โปรแกรม SPSS 20.0

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1.4.1 ได้แนวทางการผลิตน้ำส้มสายชูจากเศษเหลือจากมะม่วงมหาชนกและยังประยุกต์ใช้เศษเหลือจากผลไม้ชนิดอื่นได้

1.4.2 ทราบถึงผลกระทบของความดันในการเติมอากาศต่อคุณสมบัติผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกในระหว่างกระบวนการผลิต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะม่วง

2.1.1 มะม่วงมหาชนก

มะม่วงมหาชนก (*Mangifera indica* L.) ผลของมะม่วงมหาชนกมีลักษณะ กลม ยาว เหมือนมะม่วงหนังกลางวัน ปลายผลงอนเล็กน้อยน้ำหนักของผลโดยเฉลี่ยประมาณ 350-500 กรัม เป็นมะม่วงที่มีกลิ่นหอม มีผิวเปลือกเนียนละเอียดเมื่อสุกมีสีเหลืองทองจนถึงสีแดงทั้งผล ดังที่แสดงใน ภาพที่ 2.1 เป็นหนึ่งในผลไม้ที่มีความสำคัญต่อเศรษฐกิจโลก ได้รับความนิยมบริโภคในประเทศจีน ญี่ปุ่น และอเมริกา เป็นต้น มะม่วงถือได้เป็นแหล่งสารต้านอนุมูลอิสระ เช่น วิตามินซี แคโรทีนอยด์ และสารประกอบฟีนอลิกโดยเฉพาะอย่างยิ่งเบต้าแคโรทีนที่พบได้ในปริมาณมากของผลมะม่วงสุก [13] มะม่วงมหาชนกเหมาะสำหรับการแปรรูปและส่งออกไปจำหน่ายยังต่างประเทศ ด้วยสมบัติ สี กลิ่น รสชาติ และความหนาของเปลือก อีกทั้งมะม่วงมหาชนกจะสุกช้ากว่ามะม่วงสายพันธุ์อื่น ๆ คือ ประมาณปลายเดือนพฤษภาคมถึงปลายมิถุนายนซึ่งเป็นช่วงที่มะม่วงสายพันธุ์อื่นหมดฤดูกาลแล้ว ทำให้เกิดเป็นช่องว่างมะม่วงขาดตลาด มะม่วงมหาชนกจึงมีโอกาสขายได้ราคาดีอีกด้วย[14]



(ก)

(ข)

ภาพที่ 2.1 ต้นมะม่วงมหาชนก (ก) ลักษณะของผลมะม่วงมหาชนก (ข)

(ที่มา : <https://mgronline.com/local/detail/>)

2.1.2 ประโยชน์และคุณค่าทางอาหารในมะม่วง

มะม่วงเป็นผลไม้ที่สามารถรับประทานได้ทั้งดิบและสุก มีสารประกอบสำคัญที่จำเป็นต่อร่างกายโดยเฉพาะคาร์โบไฮเดรต วิตามิน แร่ธาตุ และสารพฤกษเคมี เป็นต้น โดยในผลดิบและผลสุกมีปริมาณคาร์โบไฮเดรต 8.8 % และ 11.8 % ตามลำดับ ดังที่แสดงในตารางที่ 2.1 จากข้อมูลข้างต้นพบว่ามะม่วงผลสุกนั้นมีการให้พลังงานที่สูงกว่าผลดิบ และมากกว่านั้นยังมีปริมาณของแคโรทีนสูงกว่าถึง 32 เท่า [16] จากการศึกษาสารต้านอนุมูลอิสระในผลมะม่วงและเปลือก พบว่ามีสารต่าง ๆ มากมาย ตัวอย่างเช่น วิตามินซี ฟลาโวนอยด์ แคโรทีนอยด์ แซนโทน กรดฟีนอลิก (Phenolic acids) แมงกานีส และ แกลลโลแทนนิน เป็นต้น [15]

ตารางที่ 2.1 ค่าเฉลี่ยของสารประกอบและแร่ธาตุในมะม่วงอินทรีย์ผลดิบและสุก [16]

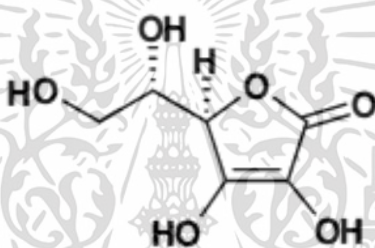
สารประกอบและแร่ธาตุ	ผลดิบ	ผลสุก
ความชื้น (%)	90.0	86.1
โปรตีน (%)	0.7	0.6
ไขมัน (%)	0.1	0.1
คาร์โบไฮเดรต (%)	8.8	11.8
แคลเซียม (%)	0.01	0.01
ฟอสฟอรัส (%)	0.02	0.02
เหล็ก (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	4.5	0.3
แคโรทีน (ไอ.ยู)	150	4,800
ไรโบฟลาวิน (ไมโครกรัม)	30	0.3
กรดแอสคอร์บิก (มิลลิกรัมต่อ 100 กรัม)	3	50

2.1.2.1 วิตามินซี (Vitamin C)

วิตามินซี หรือ แอสคอร์บิก เอซิด (Ascorbic Acid) ละลายน้ำได้ดี และพบได้ในธรรมชาติโดยเฉพาะ ผักและผลไม้ สามารถจำแนกโครงสร้างได้เป็นไอโซเมอร์ (Isomer) 2 รูป คือ รูป Levo และรูป Dextro โดยรูปที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระมากกว่าคือรูป Levo เนื่องจากรูป Dextro มีการขนส่งถ่ายอนุมูลอิสระที่ยาก

กว่า ดังนั้นจึงมีการใช้ L-Ascorbic acid มากกว่าทั้งในผลิตภัณฑ์อาหารเสริม การแพทย์ และในด้านอื่นๆ [17]

ในวิตามินซีมี 2 ลักษณะ คือ L-Ascorbic acid (reduced form) และ L-Dehydroascorbic acid (oxidized form) เมื่อวิตามินซีอยู่ในรูปแบบของเหลว จะถูกทำลายได้ง่าย แต่ในทางกลับเมื่ออยู่รูปผลึกสีขาว มีความเสถียรมาก ถ้าวิตามิน ละลายในน้ำค้างยิ่งเสื่อมเร็วขึ้น แต่ถ้าอยู่ในสารละลายพีเอชต่ำกว่า 7 จะไม่ถูก ทำลายด้วยอากาศหรือแสงสว่าง ลักษณะโครงสร้างทางเคมีของวิตามินซีแสดงใน ภาพที่ 2.2 [18]



ภาพที่ 2.2 โครงสร้างทางเคมีของวิตามินซี

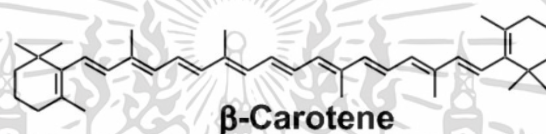
(ที่มา : วัฒนา [18])

2.1.2.2 แคโรทีนอยด์ (Carotenoid)

แคโรทีนอยด์เป็นสารพฤษเคมีที่พบในคลอโรฟิลล์และโครโมพลาสต์ของ พืชให้สีเหลือง สีส้ม หรือสีแดง พบได้ตามธรรมชาติ 700 ชนิด และมีเพียง 50 ชนิด เท่านั้นที่จัดเป็นโปรวิตามินเอ ที่พบได้มากที่สุด คือเบต้าแคโรทีน (Beta-carotene) แอลฟาแคโรทีน (Alpha-carotene) และเบต้าคริปโตแซนทีน (Beta-cryptoxanthin) [19] มีงานวิจัยพบว่า แคโรทีนอยด์ช่วยในการป้องกันโรคมะเร็ง โรคหัวใจ และป้องกันการถูกทำลายของผิวที่โดนแสงแดด เนื่องจากแคโรทีนอยด์ เป็นสารต้านอนุมูลอิสระมากกว่าและยังมีฤทธิ์ด้านการอักเสบ เพิ่มการกำจัดอนุมูล อิสระในร่างกาย และเพิ่มภูมิคุ้มกันอีกด้วย [20]

เบต้าแคโรทีน พบมากในพืชที่มีสีเหลือง และส้ม เช่น มะม่วงสุก หัวแครอท มะเขือเทศ เป็นต้น เป็นสารตั้งต้นในการสังเคราะห์วิตามินเอ โดยร่างกายสามารถ

เปลี่ยน 9-cis-beta-carotene ไปเป็นวิตามินเอที่ตับและลำไส้ด้วยเอนไซม์ 15,15'-beta-carotenoid dioxygenase ซึ่งวิตามินเอ เป็นสารที่มีความสำคัญต่อการมองเห็น การสร้างสเปิร์ม การสร้างกระดูกและฟัน การซ่อมแซมเนื้อเยื่อ และบำรุงผิวพรรณ เบต้าแคโรทีนตามธรรมชาติ มี 2 ไอโซเมอร์ คือ trans-isomers และ cis-isomers และพบว่าเฉพาะ 9-cis beta-carotene เท่านั้นที่สามารถเปลี่ยนแปลงเป็นเรตินอลหรือวิตามินเอ โครงสร้างทางเคมีเบต้าแคโรทีนแสดงในภาพที่ 2.3 [15] มิงงานวิจัยของ ดวงพร (2558) ได้ศึกษาปริมาณเบต้าแคโรทีนในมะม่วงบริเวณจังหวัดฉะเชิงเทรา พบว่าในมะม่วงพันธุ์มหาชนกผลสุกมีปริมาณมากที่สุด ถึง 50.32 มิลลิกรัม/100 กรัม [21]



ภาพที่ 2.3 โครงสร้างทางเคมีเบต้าแคโรทีน

(ที่มา: Maoka [22])

2.2 น้ำส้มสายชู (Vinegar)

น้ำส้มสายชู (Vinegar) คำดังกล่าวถูกใช้ตั้งแต่ศตวรรษที่ 14 ซึ่งนำมาจากคำในภาษาฝรั่งเศส หมายถึง ไวน์เปรี้ยว (sour wine) เป็นผลิตภัณฑ์ที่รู้จักกันมานานตั้งแต่โบราณ จัดเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักไวน์หรือเบียร์ โดยเริ่มแรกเกิดจากการที่ไวน์ที่เน่าเสีย ถูกปนเปื้อนจากแบคทีเรียจำพวก *Acetobacter* ในสภาวะที่มีอากาศแบคทีเรียจะบริโภคแอลกอฮอล์แล้วเปลี่ยนเป็นกรดแอสติก หรือ กรดน้ำส้ม [23]

น้ำส้มสายชูในประเทศไทยถูกแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 ดังนี้

2.2.1 น้ำส้มสายชูเทียม หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้ม (Acetic acid) ที่ได้จากการสังเคราะห์ทางเคมี มีฤทธิ์เป็นกรดความเข้มข้นประมาณ 95 % ลักษณะการใช้

งานคือการนำมาเจือจางกับน้ำเพื่อให้ได้ความเข้มข้นที่ต้องการ หรือประมาณ 5-7 % น้ำส้มที่ได้จะลักษณะที่ใส และมีกลิ่นฉุนกว่าน้ำส้มสายชูชนิดอื่น

2.2.2 น้ำส้มสายชูกลั่น หมายความว่า ผลิตรักษณ์ที่ได้จากการนำแอลกอฮอล์กลั่นเจือจาง (Dilute Distilled Alcohol) มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู เมื่อให้หยุดกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูแล้ว นำไปกลั่นเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของกรดน้ำส้มสายชูตามที่ต้องการ ลักษณะที่ได้จะใส และไม่มีตะกอนจากการหมัก โดยความเข้มข้นของกรดน้ำส้มที่ยอมรับประมาณ 4 %

2.2.3 น้ำส้มสายชูหมัก หมายความว่าถึง ผลิตรักษณ์ที่ได้จากการนำธัญพืช ผลไม้ หรือ น้ำตาลมาหมักกับส่าเหล้าแล้วหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก แบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน ดังนี้ ขั้นตอนแรกมีการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลเป็นเอทิลแอลกอฮอล์กับก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ โดยใช้เชื้อยีสต์ และในขั้นที่สอง เปลี่ยนเอทิลแอลกอฮอล์เป็นกรดแอสติกโดย เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter spp.*

Chin Wai Ho (2017) [24] รายงานว่าน้ำส้มสายชูหมักถูกนำมาใช้เป็นยาในหลายประเทศ และมีรายงานว่าให้ประโยชน์ด้านสุขภาพเมื่อบริโภคเป็นประจำ ประโยชน์ดังกล่าวเกิดจากโพลีฟีนอลชนิดต่าง ๆ ซึ่งสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ ที่มีผลต่อทางด้านเภสัชวิทยา เป็นสารช่วยยับยั้งจุลินทรีย์ ด้านเบาหวาน ด้านอนุมูลอิสระ และสามารถลดความดันโลหิต น้ำส้มสายชูหมักมักทำจากน้ำองุ่นแดง แต่ยังสามารถผลิตได้จากวัตถุดิบอื่น ๆ ตัวอย่างเช่น น้ำส้มสายชูสีดำจากถั่วเหลือง น้ำส้มสายชูจากข้าว น้ำส้มสายชูบัลซามิก และน้ำส้มสายชูไวน์ขาว น้ำส้มสายชูทั้งหมดนี้ผลิตขึ้นโดยใช้ยีสต์สายพันธุ์ที่แตกต่างกัน ซึ่งขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่เลือกใช้และขั้นตอนการหมักที่แตกต่างกันจึงให้รสชาติที่เป็นเอกลักษณ์ สารประกอบระเหยหลักในน้ำส้มสายชูคือกรดแอสติกซึ่งทำให้น้ำส้มสายชูมีกลิ่นหอมและรสเปรี้ยว สารประกอบระเหยอื่น ๆ ส่วนใหญ่เป็นแอลกอฮอล์ กรดเอสเทอร์ อัลดีไฮด์และคีโตน

น้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น ต้องมีคุณภาพและมาตรฐานดังต่อไปนี้ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 ดังนี้

- (1) มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส
- (2) ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณที่กำหนด ดังต่อไปนี้
 - (2.1) สารหนู ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
 - (2.2) ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
 - (2.3) ทองแดง ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

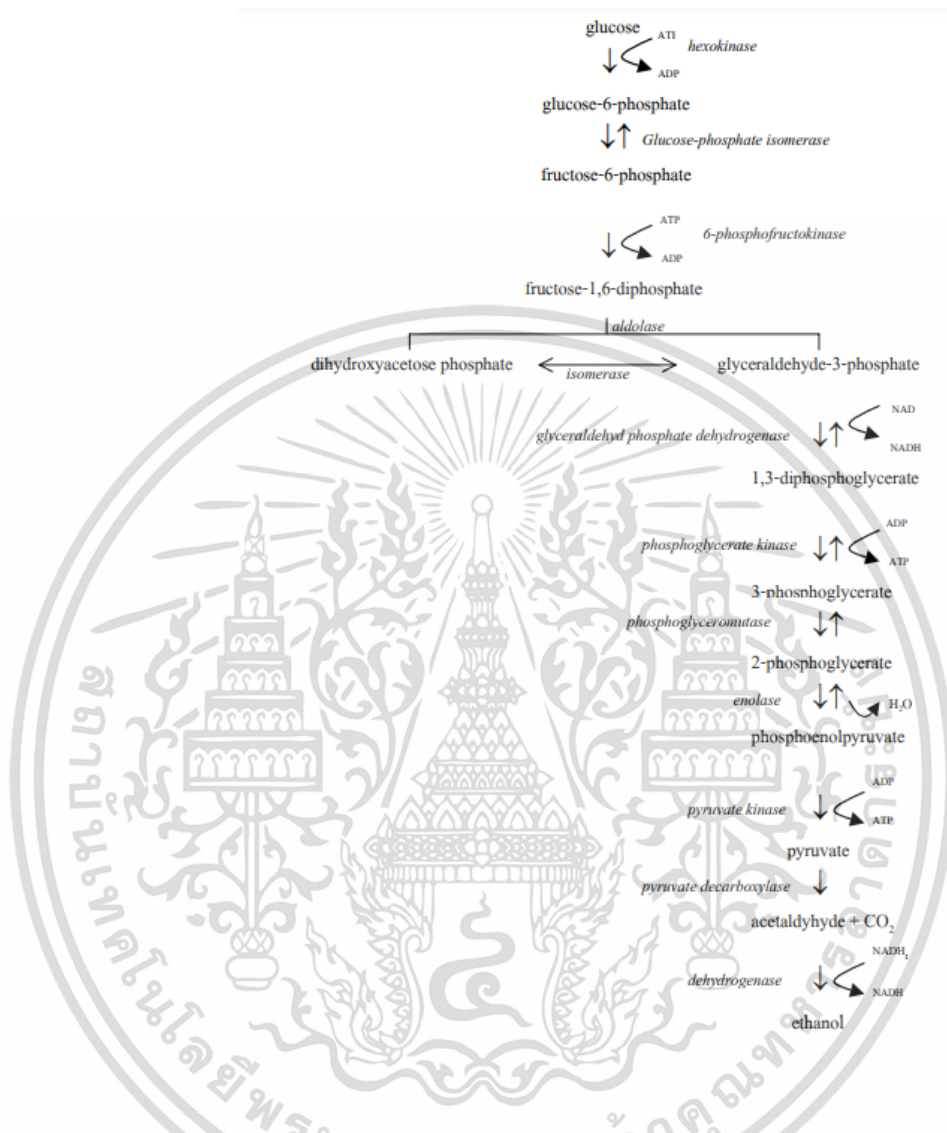
- (2.4) เหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
- (3) ไม่มีกรดน้ำส้มที่มีได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น
- (4) ไม่มีกรดกำมะถัน (Sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น
- (5) ใสไม่มีตะกอน เว้นแต่น้ำส้มสายชูหมักตามธรรมชาติ
- (6) ไม่มีหนอนน้ำส้ม (Vinegar eel)
- (7) ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม
- (8) ให้อdditives อนุญาตเป็นอาหาร (Food Additives) ได้ ดังต่อไปนี้
- (8.1) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
- (8.2) กรดแอล-แอสคอร์บิก ไม่เกิน 400 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
- (9) มีแอลกอฮอล์ตกค้าง (Residual alcohol) ไม่เกินร้อยละ 0.5
- (10) การแต่งสีให้น้ำตาลเคี้ยวใหม่หรือสีคาราเมล

2.3 การผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักถูกแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนดังต่อไปนี้ การหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ (Alcoholic Fermentation) โดยจุลินทรีย์ที่ใช้คือยีสต์ในรูปของสภาวะการหมักแบบไม่มีอากาศและ การหมักแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดแอซีติก (Acetic Fermentation) ด้วยกลุ่มแบคทีเรียแอซีติก (Acetic acid bacteria) ในสภาวะมีอากาศ แต่ในบางชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูนั้นจะพบว่าจุลินทรีย์ชนิดอื่นเข้าเกี่ยวข้องเช่น รา และ แลกติกแอซิดแบคทีเรีย (Lactic acid bacteria) [25]

2.3.1 การหมักแอลกอฮอล์

เป็นกระบวนการปลดปล่อยพลังงานแบบไม่มีออกซิเจน โดยยีสต์จะออกซิไดซ์น้ำตาลในวิถีไกลโคไลซิส (Glycolysis pathway) เกิดขึ้นในไซโทพลาสซึม ซึ่งน้ำตาลถูกเปลี่ยนเป็น 2 ไพรูเวท ปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นมีการสร้าง NAD^+ ขึ้นมาใหม่และจะทำให้ได้ ATP 2 โมเลกุลเท่านั้น หลังจากเกิดไพรูเวทจะเกิดการดีคาร์บอกซิเลชัน (Decarboxylation) โดยเอนไซม์ ไพรูเวทดีคาร์บอกซิเลส (Pyruvate decarboxylase) ทำให้ได้คาร์บอนไดออกไซด์และไพรูเวท เป็นอะซีทัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) ซึ่งถูกย่อยต่อด้วยเอนไซม์ แอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส (Alcohol dehydrogenase) ได้เป็นเอทานอลผลิตภัณฑ์สุดท้าย [26][27] ตามภาพที่ 2.4

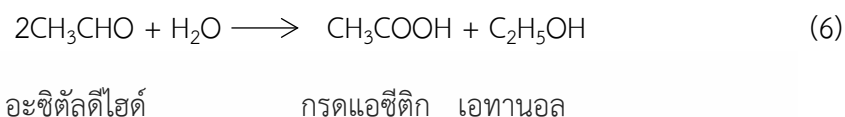


ภาพที่ 2.4 วิธี Embden-Meyerhof-Parnas และการหมักเอทานอลโดยยีสต์
(ที่มา: Slapack และคณะ [26])

การใช้น้ำตาลของยีสต์มีเอกลักษณ์ที่แตกต่างกันตามแต่ละสายพันธุ์ของยีสต์ที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ โดยใช้คาร์โบไฮเดรตที่มีอะตอม 6 ตัว (hexoses) ได้แก่ กลูโคส ฟรุกโตส และแมนโนสโดยปกติแล้วใช้กลูโคสและฟรุกโตสได้ดีกว่าแมนโนส ยีสต์สามารถหมักน้ำตาลที่ความเข้มข้นสูงถึง 20 % แต่ถ้ามีความเข้มข้นมากกว่านี้ทำให้เกิดการหมักที่ช้าลงหรือมากกว่า 50 % ทำให้เกิดแรงดันออสโมซิส [25]

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอกจากนี้ยังมีวิธีเกิดแอสिटิกในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจนโดยกระบวนการถูกเรียกว่า Cannizzaro dismutation reaction โดยอะซิทัลดีไฮด์ทำปฏิกิริยากับน้ำทำให้ได้กรดแอสिटิกและเอทานอล ตามสมการที่ 6 [27]



2.4 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู

การผลิตน้ำส้มสายชูเกิดจากกระบวนการออกซิเดชันโดยจุลินทรีย์มากกว่าหนึ่งชนิด ในช่วงระยะเวลาที่แตกต่างกัน ซึ่งระยะแรกมีการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอทานอลเรียกว่าการหมักแอลกอฮอล์ (Alcoholic fermentation) โดยยีสต์ (Yeast) แต่ในส่วนของแบคทีเรียแลคติก (Lactic acid bacteria) (LAB) สามารถผลิตเอทานอลพร้อมกับกรดแอสिटิกเป็นกระบวนการหมักแบบเฮเทอโรเฟอร์เมนเททีฟ (heterofermentative) ในกรณีของน้ำส้มสายชูจากข้าวต้องใช้เวลาในจินัส *Aspergillus* เพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล แต่สุดท้ายของการหมักเอทานอลถูกออกซิเดอร์เปลี่ยนเป็นกรดแอสिटิกโดยแอสिटิกแบคทีเรีย (Acetic acid bacteria) (AAB) [25] ซึ่งแสดงใน ตารางที่ 2.3

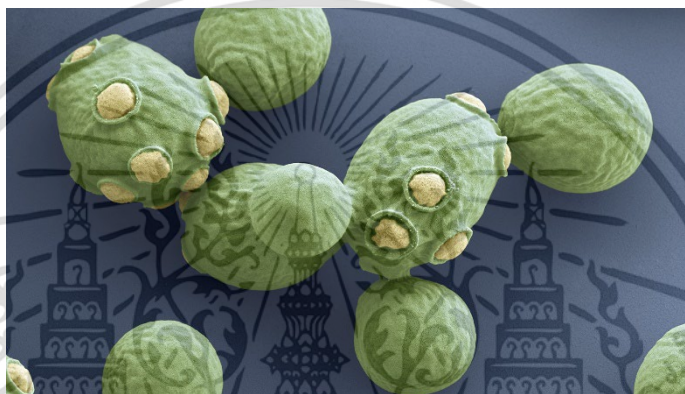
ตารางที่ 2.3 สรุปขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชูโดยกระบวนการเมตาบอลิซึมโดยจุลินทรีย์ [25]

ขั้นตอนที่ 1	ขั้นตอนที่ 2	ขั้นตอนที่ 3
แซ็กคาริฟิเคชัน	เอทานอลโปรดักชัน	แอสिटิกออกซิเดชัน
<i>Aspergillus</i> spp.	Yeasts Lactic acid bacteria (LAB)	Acetic acid bacteria (AAB)

2.4.1 ยีสต์

ยีสต์จัดอยู่อาณาจักร ฟังไจ (Fungi) อาศัยการสืบพันธุ์โดยการแตกหน่อ (budding) และมีบางสปีชีส์ที่สืบพันธุ์แบบไม้อาศัยเพศแบบไบนารีฟิชชัน (binary fission) พบยีสต์

มากมาย แต่มีเพียงไม่กี่ชนิดเท่านั้นที่สามารถนำไปเป็นผลิตภัณฑ์อาหารได้ ตัวอย่างเช่น *Candida* spp., *Saccharomyces cereviaceae* และ *Hansenula anomala* เป็นต้น ในกระบวนการหมักไวน์มียีสต์บริโภคน้ำตาลกลูโคส ได้ของเสียเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์โดย *S. cereviaceae* เป็นตัวกลางสำคัญในการเปลี่ยนแปลง การหมักไม่ต้องการอากาศมากนัก และควรให้มีทางระบายของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เกิดขึ้น [30] ตัวอย่างเชื้อยีสต์ เช่น *S. cerevisiae* Burgundy และ *S. cerevisiae* Montache ลักษณะของยีสต์แสดงใน ภาพที่ 2.6



ภาพที่ 2.6 ยีสต์ *Saccharomyces cereviaceae* ที่ใช้ในอุตสาหกรรมเบียร์ ไวน์ และขนมปัง
(ที่มา: <https://www.micropia.nl/en/discover/microbiology/saccharomyces-cerevisiae/>)

2.4.1.1 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์ [25]

2.4.1.1.1 อุณหภูมิ

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตประเภทเจริญที่อุณหภูมิปานกลาง (Mesophilic microorganism) มีอุณหภูมิที่เหมาะสมอยู่ที่ 20 ถึง 40 องศาเซลเซียส แต่อย่างไรก็ตามยังมียีสต์บางชนิดที่สามารถเจริญได้ที่อุณหภูมิสูง เช่น จีโนส *Kluyveromyces* spp. สามารถสืบพันธุ์ได้ที่อุณหภูมิสูงกว่า 40 องศาเซลเซียส และมากกว่านั้นจีโนส *Saccharomyces* บางชนิดเจริญและหมักที่อุณหภูมิต่ำกว่า 0 องศาเซลเซียส (Cold-fermenting yeasts)

2.4.1.1.2 พีเอช

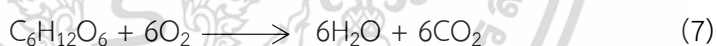
ยีสต์สามารถเจริญได้ในสภาพแวดล้อมที่มีพีเอชอยู่ที่ 3 ถึง 5 ซึ่งเป็นสภาวะมีความเป็นกรด ในกระบวนการหมัก ยีสต์ให้ผลผลิตเป็นกรดและคาร์บอนไดออกไซด์ตาม ตารางที่ 2.3

2.4.1.1.3 สารอาหาร

สารประกอบที่สำคัญในการเจริญประกอบด้วย คาร์โบไฮเดรต ไนโตรเจน วิตามินและแร่ธาตุ ยีสต์มีการบริโภคสารอาหารคล้ายกับฟังไจ (Fungi) แต่บางสปีชีส์นั้นมีลักษณะเฉพาะตามสภาพแวดล้อมในการดำรงอยู่

2.4.1.1.4 ออกซิเจน

ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตที่มีการเผาผลาญโดยใช้ออกซิเจนร่วมกับสารประกอบคาร์บอนในสภาพที่มีออกซิเจนที่เพียงพอ ยีสต์มีการเจริญคล้ายฟังไจ (Fungi) ในยีสต์หลายชนิดถ้าอยู่ในสภาวะที่มีออกซิเจนไม่เพียงพอจึงใช้โมโนแซ็กคาไรด์กับ 6 อะตอมคาร์บอนส่งผลให้ยีสต์มีการเติบโตที่น้อยลงและเข้าสู่การหมัก ในกรณีใช้น้ำตาลในการเมตาบอลิซึมตามสมการดังต่อไปนี้



ได้พลังงานศักย์ 688 กิโลแคลอรีต่อโมล

ในกรณีที่ไม่มีออกซิเจนยีสต์มีการเจริญที่ช้าและต้องใช้น้ำตาล 176 กรัม เพื่อผลิตเซลล์ยีสต์ได้ 1 กรัม ซึ่งผลิตภัณฑ์หลักที่ปล่อยออกมาคือเอทานอลให้พลังงาน 56 กิโลแคลอรีต่อโมล ตามสมการที่ (8)



จินัสและสปีชีส์ของยีสต์มีความสำคัญอย่างยิ่งต่อการผลิตน้ำส้มสายชู เนื่องจากมีหน้าที่ผลิตสารตั้งต้นในการผลิตน้ำส้มสายชูคือแอลกอฮอล์ กลุ่มยีสต์ที่มี

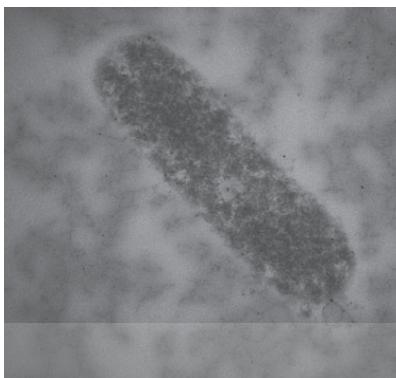
ความสำคัญมีดังต่อไปนี้ *Saccharomyces*, *Hanseniaspora*, *Klyveromyces* และ *Zygosaccharomyces*

Saccharomyces จัดว่าเป็นยีสที่ทนทานต่อเอทานอล โดยเฉพาะอย่างยิ่ง *S. cerevisiae* เป็นยีสที่มีความสำคัญที่สุดสำหรับอุตสาหกรรมการหมัก สามารถใช้วัตถุดิบจากพืช (ผลไม้ ผัก และเมล็ดพืช) จึงได้ผลิตภัณฑ์ที่หลากหลาย ตัวอย่างเช่น ไวน์ เบียร์ และเหล้า เป็นต้น นอกจากนี้ *S. cerevisiae* เป็นยีสที่มีสมบัติในการทนทานต่อเอทานอลมากที่สุดจึงเหมาะสมอย่างยิ่งในอุตสาหกรรมผลิตไวน์และน้ำส้มสายชูหมัก

ไวน์นั้นมีลักษณะของกลิ่นรสเฉพาะที่เกิดขึ้นจากสารสำคัญต่าง ๆ ในวัตถุดิบ เช่น กรดทาร์ทาริก กรดมาลิก และแทนนิน ที่ทำให้เกิดรสขม พบในรูปของสารจำพวกฟลาโวนอยด์ฟีนอล (flavonoid phenols) โดยยีสสามารถใช้สารประกอบเหล่านี้กับแอลกอฮอล์ทำให้เกิดกลิ่นดอกไม้ (wine flower) ในการป้องกันการเน่าเสียของไวน์ต้องกำจัดแบคทีเรียชนิดอื่น ที่ปนเปื้อนตัวอย่างเช่น *Acetobacter* สามารถเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์เป็นกรดแอสติกได้ [30][31]

2.4.2 แบคทีเรียแอสติก (Acetic acid bacteria)

แบคทีเรียแอสติก มีรูปร่างแบบแท่ง แกรมลบสามารถเคลื่อนที่โดยแฟลกเจลล่า แต่พบได้เฉพาะบางสกุลเท่านั้นที่สามารถผลิตกรดแอสติกได้จากเอทานอล โดยสามารถเจริญเติบโตได้ที่สภาวะที่มีอากาศแบบ Alphaproteobacteria ในวงศ์ Acetobacteraceae ประกอบไปด้วยแบคทีเรียในสกุล *Acetobacter*, *Gluconobacter*, *Gluconacetobacter*, *Acidomonas*, *Asaia*, *Kozakia*, *Swaminathania*, *Saccharibacter*, *Neoasaia*, *Granulibacter*, *Tantic haroenia*, *Ameyamaea*, *Neokomagataea* และ *Komagataeibacter* [32] สายพันธุ์ที่นิยมใช้ในการผลิตกรดแอสติกนั้นมีอยู่ 4 สายพันธุ์ คือ ได้แก่ *Acetobacter* ssp., *Gluconacetobacter* ssp., *Gluconobacter* และ *Komagataeibacter* ssp. ซึ่งการผลิตกรดแอสติกนั้นเรียกว่า อะซิทิฟิเคชัน (acetification) ชับสเตรตในการหมักกรดน้ำส้มเรียกว่า vinegar stock [30][31] ลักษณะโครงสร้างของ *Acetobacter aceti* WK จากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 50,000 เท่า แสดงในภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.7 ภาพถ่ายจากกล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนที่กำลังขยาย 50,000 เท่า ของเชื้อ

Acetobacter aceti WK

(ที่มา: Krusong และคณะ [33])

สายพันธุ์แบคทีเรียที่นิยมใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู *Acetobacter* spp. เนื่องจากสามารถเปลี่ยนแปลงเอทานอลโดยวิธีออกซิไดซ์ และยังสามารถทนต่อสภาวะที่เป็นกรดสูงมากไปกว่านั้นแบคทีเรียที่ผลิตกรดแอสติก ยังตอบสนองความต้องการในการผลิตสารต่าง ๆ ที่นอกเหนือกรดน้ำส้มสายชู ตัวอย่างเช่น การผลิตกรดอินทรีย์ที่สามารถป้องกันการเกิดออกซิเดชันในอาหาร ส่งผลให้อาหารมีอายุการเก็บรักษาได้นานขึ้น และยังสามารถผลิตแอลกอฮอล์ (L-sorbose) เป็นตัวสารที่จำเป็นในการสังเคราะห์วิตามินซี [34] *Acetobacter* spp. เป็นสายพันธุ์ที่ทำให้กรดน้ำส้มสูงทำให้เกิดการออกซิไดซ์เกิน (over-oxidation) ส่งผลต่อกรดแอสติกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ โดยมีการควบคุม 3 ปัจจัย คือ [30][31]

- 1) การรักษากรดน้ำส้มที่เกิดขึ้นในถังหมักไม่ให้หายไป
- 2) การป้องกันการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์อื่น
- 3) การป้องกันมิให้เกิดการออกซิไดซ์มากเกินไป เพื่อให้ได้ปริมาณกรดน้ำส้มตามที่ต้องการ

Acetobacter spp. แต่เดิมแล้วจะถูกจำแนกเป็นหลายชนิด โดยขึ้นอยู่กับคุณสมบัติต่าง ๆ ตัวอย่างเช่น การเกิดออกซิเดชันมากเกินไปของเอทานอล การผลิตแอสติกจากกลูโคส การผลิตเซลลูโลส และการผลิตเอนไซม์แคแทเลส เป็นต้น ซึ่งบางสายพันธุ์ไม่สามารถผลิตน้ำส้มสายชู ต่อมาได้รวบรวมและจำแนกใหม่ตาม ตารางที่ 2.4 ดังนี้ [35]

ตารางที่ 2.4 คุณสมบัติที่ใช้จำแนกแบคทีเรียจีนัส *Acetobacter* เป็นชนิดหลักและชนิดย่อย

2.5 กรรมวิธีผลิตน้ำส้มสายชู

การผลิตน้ำส้มสายชูในระดับอุตสาหกรรมมีหลากหลายกรรมวิธี และยังพัฒนาปรับปรุงมาอย่างต่อเนื่อง นับตั้งแต่โบราณ มีดังนี้ [23]

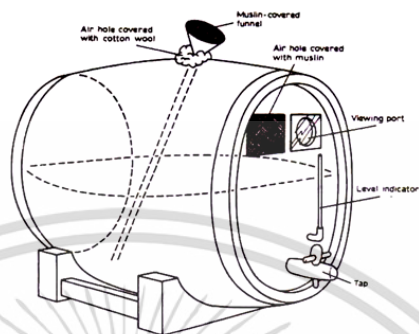
2.5.1 กรรมวิธีดั้งเดิม (Ancient method)

กรรมวิธีนี้เป็นการผลิตน้ำส้มสายชูที่เรียกว่า Let alone process คือการใส่ไวน์ในภาชนะเปิด หลังจากนั้นแบคทีเรียธรรมชาติที่ปะปนอยู่ในอากาศและผลไม้จะค่อยเปลี่ยนแปลงไวน์เป็นน้ำส้มสายชู การหมักครั้งต่อไปอาจนำน้ำส้มสายชูเก่าเติมลงในไวน์ใหม่เพื่อที่ได้ปริมาณน้ำส้มสายชูที่มากขึ้นและรวดเร็วขึ้น มากไปกว่านั้นกรดแลคติกที่ได้จากน้ำส้มสายชูเก่าจะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียชนิดอื่นที่สามารถผลิตกรดแลคติก (lactic acid) ดังนั้นคุณภาพของน้ำส้มสายชูไม่เหมือนกันในการหมักแต่ละครั้ง กรรมวิธีนี้ใช้มาหลายร้อยปี และบางครั้งก็เรียกว่า “Fielding process” แต่รสชาติที่ได้นั้นจะดีกว่าแบบอื่น ๆ อาจเนื่องจากการทำปฏิกิริยาที่เกิดขึ้นไปอย่างช้า ๆ

2.5.2 กรรมวิธีออลีน (Orleans method)

กรรมวิธีนี้เป็นวิธีการที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูซึ่งได้ถูกคิดโดยชาวฝรั่งเศสในปี ค.ศ. 1670 ใช้โดยถังขนาด 200 ลิตร เติมน้ำส้มสายชูที่ไม่ผ่านการฆ่าเชื้อ ลงไป 1 ใน 3 ของปริมาตรถัง หลังจากนั้นเติมไวน์ซึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชู 10 – 15 ลิตรทุกสัปดาห์ จนครบ 4 สัปดาห์ ส่วนในสัปดาห์ที่ 5 นำน้ำส้มสายชูถ่ายออก 10 – 15 ลิตร สังเกตว่ากรรมวิธีนี้สามารถที่จะผลิตน้ำส้มสายชูและยังสามารถเติมไวน์ลงไปอีกเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูได้อีกรอบ ในส่วนของอากาศนั้นจะให้อยู่ด้านบนจนถึง หรือช่องขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางประมาณ 2 นิ้ว ที่เจาะไว้ข้างบนถึง อากาศจะผ่านเข้ามาตามบริเวณรูนั้น ซึ่งมีที่กรองอากาศเพื่อป้องกันแมลง และการเติมไวน์หรือแอลกอฮอล์ก็จะเติมเข้าบริเวณนั้นเช่นกัน การเติมลงไปควรระวังโดยต้องใส่อย่างช้า ๆ เพื่อป้องกันการกระทบกระเทือนต่อแบคทีเรียที่ลอยอยู่บนผิวหน้าของอาหาร ในการหมักไวน์แต่ละครั้งจะเติมน้ำส้มสายชูจากถังเก่าลงไปประมาณร้อยละ 20 เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อ แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะเจริญและเกาะเป็นแผ่นฟิล์มบาง ๆ บริเวณผิวหน้า เรียกว่า master of vinegar ลักษณะเป็นเจลและเมื่อมีความหนาแน่นมาก ๆ ฟิล์มจะจมลงกันถึง จะทำให้แบคทีเรียตายเนื่องจากไม่มีอากาศ แต่มีการเกิดแบคทีเรียขึ้นมาใหม่จะสร้างฟิล์มแบบเดิม กรรมวิธีออลีนหรือ กระบวนการอย่างช้า

(slow process) ตัดแปลงมาจาก วิธีการดั้งเดิม (Ancient Method) ลักษณะเครื่องแสดง
ในภาพที่ 2.8



ภาพที่ 2.8 เครื่องแบบ Orleans Method

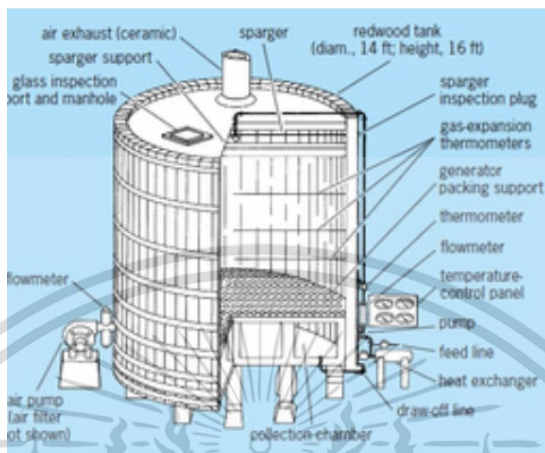
(ที่มา : <http://www.biologydiscussion.com/food-microbiology/fermentation-process-of-vinegar-microbiology/>)

2.5.3 กรรมวิธีหมักอย่างรวดเร็ว (Quick process)

กรรมวิธีการหมักอย่างรวดเร็ว หรือ tricking quick vinegar process ถูกสร้างขึ้นโดยชาวฮอลันดา มีนามว่า Boerhave ในปี ค.ศ. 1732 เป็นกรรมวิธีที่ใช้ผลิตน้ำส้มสายชูที่รู้จักกันดี อีกชื่อหนึ่งว่า กระบวนการหมักแบบเยอรมัน (German process) หลักการคือการค่อย ๆ ปล่อยแอลกอฮอล์ โดยหยดผ่านเครื่องหมัก (generator) ที่สร้างจากกากองุ่น กิ่งก้าน และต้นองุ่นมาตัดเข้าด้วยกันหรืออาจใช้วัสดุที่มีรูพรุนก็ได้ เพื่อเพิ่มพื้นที่ให้แบคทีเรียสัมผัสอากาศมากขึ้น เป็นกรรมวิธีที่เร็วกว่าแบบเก่า กรรมวิธีนี้ได้นำไปพัฒนาเครื่องหมักแบบ Fring ลักษณะเป็นภาชนะทรงสูง โดยแบ่งออกเป็นสามส่วนดังนี้ ส่วนล่างจะที่เก็บน้ำส้มสายชู ส่วนกลางจะมีวัสดุที่เป็นรูพรุน (Shaving material) ส่วนด้านบนเป็นส่วนที่แอลกอฮอล์ไหลลงมา หยดผ่านวัสดุที่พรุน แบคทีเรียจะเกาะและเจริญเติบโตในบริเวณรูพรุน โดยจะออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ให้เป็นกรดแอสติก ในการเริ่มต้นของการหมักจะนำน้ำส้มสายชูเติมลงไปก่อน เพื่อให้แบคทีเรียเกาะบนวัสดุ และยังเพิ่มระบบไหลเวียนของน้ำหมักเข้าไปซึ่งจะทำให้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ให้ได้กรดแอสिटิกที่เข้มข้นมากขึ้น ภายในควบคุมอุณหภูมิไม่เกิน 35 องศาเซลเซียส ลักษณะเครื่องแสดงใน ภาพที่ 2.9



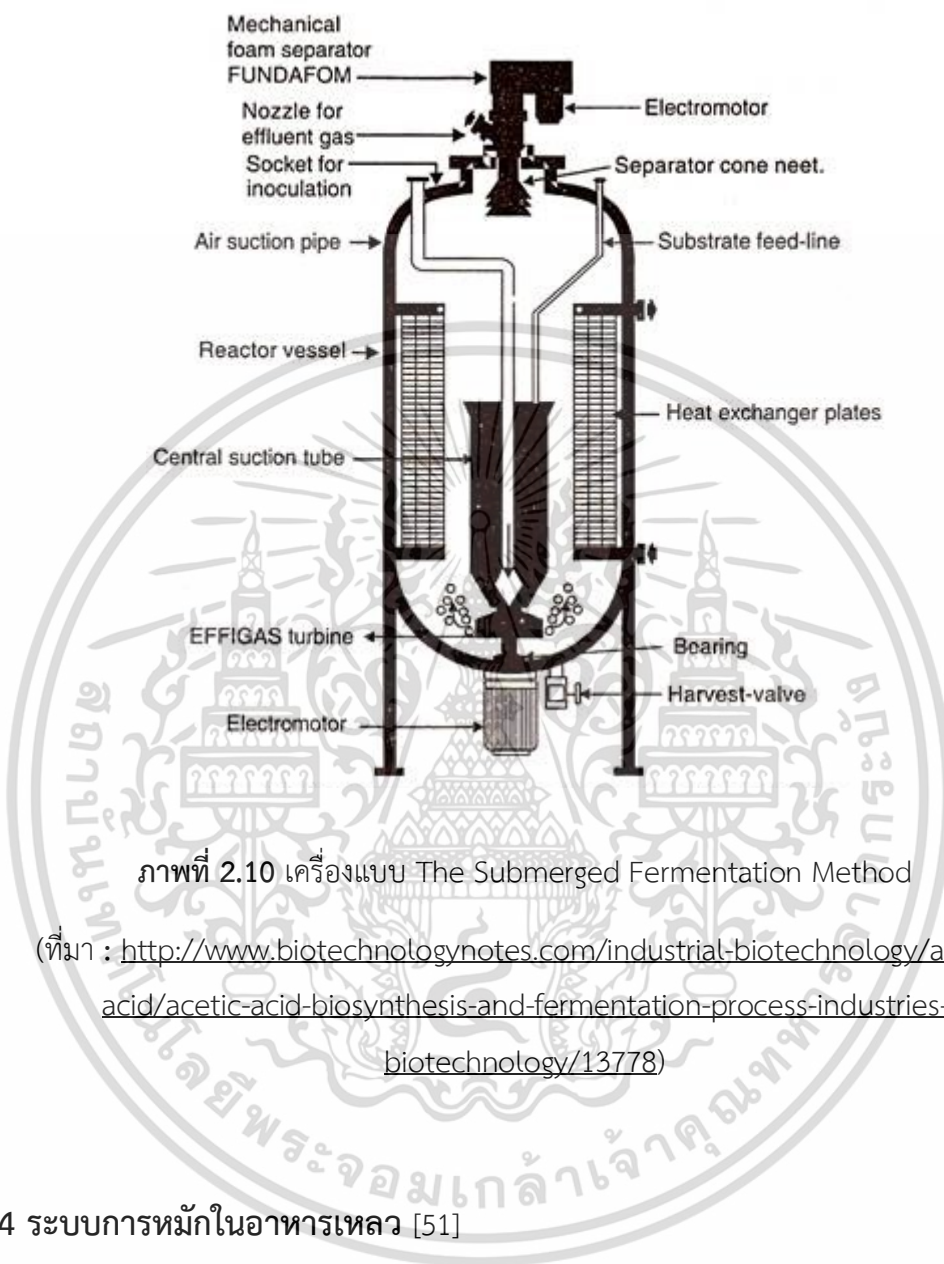
ภาพที่ 2.9 เครื่องแบบ The Trickling Method

(ที่มา : <http://www.biologydiscussion.com/food-microbiology/fermentation-process-of-vinegar-microbiology/>)

2.5.4 กรรมวิธีหมักในอาหารเหลว (Submerged fermentation method)

วิธีนี้เป็นวิธีการใหม่ในการผลิตน้ำส้มสายชูที่เร็วกว่า และมีประสิทธิภาพมากขึ้น ส่วนใหญ่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งวิธีนี้จำเป็นต้องมีอุปกรณ์พิเศษ เช่น มอเตอร์ความเร็วสูงที่ใช้กับใบพัดกววนความเร็วสูงทำหน้าที่กระจายอากาศภายในถัง ช่วยแยกอากาศให้เป็นฟองอากาศขนาดเล็ก ๆ และถูกบีบให้ละลายสารละลายของแอลกอฮอล์ เพื่อที่แบคทีเรียจะเปลี่ยนเป็นกรดน้ำส้มเร็วขึ้น ควบคุมอุณหภูมิอยู่ในช่วง 24 – 30 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นนำมากรองและพาสเจอร์ไรส์เพื่อยับยั้งการของแบคทีเรียและการทำงานของเอนไซม์ กรรมวิธีนี้มักใช้เวลา 1-2 วันในการผลิต หรือเร็วกว่าแบบเก่า 30 เท่า หรือเร็วกว่า trickling 10 เท่า ซึ่งเหมาะกับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่ ถังหมักนี้ไม่มีวัสดุที่เป็นรูพรุนลดปัญหาการอุดตัน แต่มีข้อเสียคือสิ้นเปลืองพลังงาน ได้น้ำส้มสายชูแบบขุ่น และจำเป็นต้องทำให้อากาศตลอดเวลา เนื่องจากถ้าหยุดการให้อากาศเพียง 1 นาที จะทำให้แบคทีเรียหยุดการเจริญ ต้องใช้เวลานานกว่าจะกลับสู่สภาพเดิมหลังจากเติมอากาศลงไปใหม่ ลักษณะของถังแสดงใน ภาพที่ 2.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.10 เครื่องแบบ The Submerged Fermentation Method
 (ที่มา : <http://www.biotechnologynotes.com/industrial-biotechnology/acetic-acid/acetic-acid-biosynthesis-and-fermentation-process-industries-biotechnology/13778>)

2.4 ระบบการหมักในอาหารเหลว [51]

ระบบการหมักในอาหารเหลว (Submerge Fermentation) คือการเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลว ในถังหมักต้องมีการกวน และการเติมอากาศ โดยแบ่งออกเป็นแบบต่าง ๆ ดังนี้

2.4.1 การเลี้ยงเชื้อแบบคราวเดียว (Bath culture) เป็นการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ที่มีการเติมอาหารเพียงรอบเดียว ไม่มีการนำผลิตภัณฑ์ออกระหว่างการผลิตแต่จะนำออกเมื่อเสร็จ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการ การเจริญของเชื้อแบ่งออกเป็นช่วงอย่างชัดเจน คือระยะพักตัว (Lag phase) ระยะ ล็อก (Lag phase) ระยะคงที่ (Stationary phase) และ ระยะตาย (Death phase)

2.4.2 การเลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง (Continuous culture) เป็นการเพาะเลี้ยง เชื้อจุลินทรีย์ โดยการเติมอาหารและนำผลิตภัณฑ์ที่ผ่านการหมักแล้วติดต่อกันตลอดเวลา เชื้อ นั้นจะอยู่ในช่วงระยะล็อกทำให้อยู่ในสภาพแอคทีฟ (active) โดยมีการไหลเข้าของอาหารที่ เท่ากับการไหลออกตลอดเวลา

2.4.3 การเลี้ยงเชื้อแบบกึ่งกะ (Fed-batch culture) คือกระบวนการเติมอาหารลง ในระบบที่เล็กลง เพื่อรักษาปริมาณสารอาหารให้คงที่และความเข้มข้นต่ำ ช่วยให้การเจริญของ จุลินทรีย์อย่างมีประสิทธิภาพ

2.4.4 การเลี้ยงเชื้อแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-continuous culture) เป็นกระบวนการ เลี้ยงเชื้อแบบต่อเนื่อง โดยทุกครั้งที่เสร็จกระบวนการ จะนำผลิตภัณฑ์ออกเหลือเพียง 1/4 เป็น อย่างมาก แล้วเติมอาหารใหม่ลงไปให้เท่าเดิม เพื่อให้เชื้อมีการบริโภคอย่างต่อเนื่อง

2.5 จลนพลศาสตร์ของการหมัก [51]

จลนพลศาสตร์ของการหมัก (Fermentation kinetics) เป็นการศึกษากระบวนการที่เกิดขึ้นใน การหมัก ประโยชน์เพื่อเพิ่มอัตราการผลิต ในกระบวนการหมักแบบครั้งเดียวหรือหลายครั้งที่เหมาะสมในการหมักแบบต่อเนื่อง ตัวแปรที่สำคัญคืออัตราการผลิตและอัตราการหมัก การเก็บข้อมูล ข้างต้นเป็นประโยชน์อย่างมากในการเพิ่มประสิทธิภาพในการหมัก

อัตราการผลิต คือ ปริมาณความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากกระบวนการหมักต่อระยะเวลาที่ ใช้ โดยเริ่มต้นจนถึงระยะเวลาสุดท้าย มีหน่วยเป็นความเข้มข้นของผลิตภัณฑ์ต่อหน่วยเวลา ซึ่งค่าที่ได้ เป็นค่าเฉลี่ยของการผลิตต่อระยะเวลา

อัตราการหมัก คือ อัตราการเปลี่ยนแปลงของความเข้มข้นผลิตภัณฑ์ต่อการเจริญเติบโตของ จุลินทรีย์ ที่มีผลต่ออาหารเลี้ยงหลัก ซึ่งเป็นการคำนวณหาอัตราของปริมาณ มีหน่วยเป็นกรัมเซลล์ต่อ ลิตรต่อชั่วโมง หรือ กรัมของผลผลิตต่อลิตรต่อชั่วโมง หรือ อัตราจำเพาะ เป็นอัตราความเข้มข้นต่อ น้ำหนักเซลล์ มีหน่วยเป็นกรัมของผลิตภัณฑ์ต่อชั่วโมงต่อกรัมเซลล์ หรือ ปริมาณน้ำตาลที่ถูกใช้ ต่อชั่วโมงต่อกรัมเซลล์

ในกรณีการหมักแบบคราวเดียว ค่าอัตราจำเพาะต่าง ๆ น้ำหนักเซลล์ ผลผลิต และสารตั้งต้น เขียนได้ตามสมการดังนี้

$$\text{Specific rate of growth } (\mu) = \frac{1}{x} * \frac{dx}{dt} \quad (9)$$

$$\text{Specific rate of product } (\pi) = \frac{1}{x} * \frac{dp}{dt} \quad (10)$$

$$\text{Specific rate of substrate } (v) = \frac{1}{x} * \left(- \frac{ds}{dt} \right) \quad (11)$$

Specific growth rate (μ) คืออัตราความเร็วในการเจริญเติบโตเฉพาะ ในสถานะที่จำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ในกระบวนการหมัก ประกอบไปด้วย จุลินทรีย์ที่มีชีวิต พลังงาน สารอาหาร สถานะที่ไม่มีการยับยั้งที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโต และสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมทางเคมีและกายภาพ

$$\text{อัตราการเจริญ} \quad \frac{dx}{dt} = \mu x \quad (12)$$

เมื่อ dx คือการที่เพิ่มขึ้นของมวลชีวภาพในช่วงเวลา dt

$$\frac{dx}{x} = \mu dt \quad (13)$$

อินทิเกรตสมการที่ (2.5.5)

$$x_t = x_0 * e^{\mu t} \quad (14)$$

เมื่อ x_0 คือค่ามวลชีวภาพเมื่อ $t=0$

x_t คือค่ามวลชีวภาพหลังจากกระบวนการหมักเป็นเวลา t ชั่วโมง

$$\ln x_t = \ln x_0 + \mu t \quad (15)$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำมาเขียนกราฟระหว่าง $\ln x$ กับ t จะได้ความชัน μ

$$\begin{aligned} \ln x_t - \ln x_0 &= \mu t \\ \mu t &= \ln \left(\frac{x_t}{x_0} \right) \end{aligned} \quad (16)$$

การคำนวณหาค่า Doubling time (t_d) เมื่อ $x_t = 2x_0$ และ $t = t_d$

$$\mu = \frac{\ln \left(\frac{x_t}{x_0} \right)}{t} \quad (17)$$

$$\begin{aligned} t_d &= \frac{\ln \left(\frac{2x_0}{x_0} \right)}{\mu} \\ t_d &= \frac{\ln 2}{\mu} \\ &= \frac{0.639}{\mu} \end{aligned} \quad (18)$$

ค่า μ และ t_d หาได้จากกราฟความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลาการหมักแบบคราวเดียวกับการเจริญของจุลินทรีย์ t_d

การหมักแบบกึ่งกะมีปริมาณของสารตั้งต้นที่จำกัด เมื่อเชื้อจุลินทรีย์ใช้สารตั้งต้น หรือสารจุลินทรีย์ผลิตออกมา แล้วยับยั้งการเจริญเติบโต ส่งผลให้การหมักเข้าสู่ระยะคงที่ ทำให้ไม่มีการเพิ่มของเชื้ออีก และหลังจากนั้นจะเข้าสู่ระยะการตายของเชื้อ จำนวนจุลินทรีย์ลดลงอย่างต่อเนื่อง ปัจจัยในกระบวนการนี้ ขึ้นอยู่กับสารอาหาร จุลินทรีย์ สารที่เกิดขึ้นจากการหมักและสภาวะภายในถังหมัก

การหมักแบบเติมอาหารเป็นระยะ คือการเติมสารตั้งต้นเข้าไปที่ละน้อยในช่วงของการหมัก เพื่อป้องกันไม่ให้เชื้อถูกยับยั้งการเจริญจากสารตั้งต้นหรือสับสเตรท เช่น แอลกอฮอล์ในกระบวนการหมัก น้ำส้มสายชูสามารถทำให้เกิดการยับยั้งได้ โดยการไปทำลายผนังเซลล์ของแบคทีเรียในกรณีที่ความเข้มข้นและการเติมเข้าไปภายในถังหมักอย่างรวดเร็ว การควบคุมสภาพแวดล้อมให้เหมาะสมเป็นสิ่งสำคัญอย่างยิ่ง เช่น การควบคุมพีเอช ปริมาณอากาศ ความเข้มข้นของออกซิเจน เป็นต้น ภายในถังหมักจำเป็นต้องมีการตรวจวิเคราะห์เพื่อปรับปรุงอัตราการเติมสารตั้งต้น

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Krusong และ Assanee ได้ศึกษาระบบ ALMR (Novel Air-Lift Acetifier with Mash Recycling) สำหรับการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องที่ 30 °C สำหรับผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวโพด โดยใช้ฟองน้ำรังบวบขนาด 1 นิ้ว ดูดซับเซลล์ของเชื้อ *Acetobacter aceti* WK ในการทดลองนี้ ใช้อัตราการให้อากาศ 200 ลิตรต่อชั่วโมง เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตน้ำส้มสายชู ซึ่งมีปริมาณไวน์ข้าวโพดที่ใช้ศึกษา ดังต่อไปนี้ 40% 50% และ 60% พบว่า ปริมาณของไวน์ 50% เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด โดยมีปริมาณกรดสุดท้าย 6.8-7.2% ภายใน 4-5 วัน อัตราการผลิตกรดอยู่ที่ 0.0183 เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง ถึง 0.0260 เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง และใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบสแกน (SEM) เพื่อยืนยันถึงโครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับการดูดซับเซลล์ *A. aceti* WK บนฟองน้ำรังบวบ [36]

ในการศึกษากระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องของการหมักน้ำส้มสายชูจากข้าว โดย Thitima และคณะ วัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด (Total Concentration) ระหว่างความเข้มข้นของกรดแอสिटิกและความเข้มข้นของเอทานอล โดยใช้ Near-infrared spectroscopy เพื่อตรวจสอบความเข้มข้นในระหว่าง 10 รอบของกระบวนการหมัก และทำแบบจำลอง partial least squares regression (PLS-regression) ในการทำนาย สำหรับการทำนายความเข้มข้นของกรดแอสिटิก มีตัวแปรดังต่อไปนี้ ค่าสัมประสิทธิ์การตัดสินใจ (R²) ค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนายของกลุ่มตัวอย่างสร้างสมการ (RMSEC) ค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนายด้วยตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบความถูกต้อง (RMSECV) ค่าอัตราส่วนระหว่าง SEP กับ SD และ ความผิดพลาด (Bias) ซึ่งมีค่าดังนี้ 0.96 2.30 กรัมต่อลิตร 2.44 กรัมต่อลิตร 1.11 กรัมต่อลิตร และ 5.56 ตามลำดับ ในส่วนเอทานอล มีตัวแปรเช่นเดียวกับกรดแอสिटิก ค่าที่ได้ดังนี้ 0.94, 3.15 กรัมต่อลิตร 2.73 กรัมต่อลิตร 0.40 กรัมต่อลิตร และ 4.04 ตามลำดับ จากค่าทั้งหมดแสดงถึงความสามารถใช้ในการตรวจวัดอย่างรวดเร็วเท่านั้น [37]

Changsawake และคณะ ได้ศึกษาการชะลอการเปลี่ยนแปลงคุณภาพหลังการเก็บเกี่ยวของโหระพา (*Ocimum basilicum* Linn.) โดยไอน้ำ (Vapor-Phase) จากน้ำส้มสายชู โดยมีวิธีการดังนี้ นำใบโหระพา (*Ocimum basilicum*) สัมผัสกับไอน้ำส้มสายชูข้าว (URV) ที่ได้จากกระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง มีปริมาณกรดแอสिटิก 4% (AA) ซึ่งใช้เวลา 0, 2, 4, 6, 8 หรือ 10 นาที ตามลำดับ ก่อนบรรจุในถุงพลาสติกและเก็บที่ 12 องศาเซลเซียส พบว่าสามารถเก็บรักษาได้ ซึ่งสามารถยืดอายุการเก็บรักษาหลังการเก็บเกี่ยวของใบโหระพาโดยรักษาความสดใหม่และสารต้านอนุมูลอิสระ ได้ถึง 25.4 วัน [38]

จากการศึกษาอิทธิพลของ CaCl_2 ในการผลิตกรดแอสติคที่อุณหภูมิสูงโดยเชื้อ *Acetobacter acetii* WK สำหรับน้ำส้มสายชู ของ Krusong และคณะ อุณหภูมิสูงที่ใช้อยู่ที่ 36 ± 1 °C ซึ่งบ่อยครั้งจะใช้อุณหภูมิที่ 30 ± 1 °C เปรอร์เซ็นต์ของ CaCl_2 ในการวิจัยอยู่ที่ 0.05 0.1 0.15 0.2 และ 0.25% พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณของ ฟอสโฟลิพิด (phosphatidylcholine และ phosphatidylglycerol) ไขมันอิสระ (cis-vaccenic acid, palmitic acid และ myristic acid) และเอนไซม์ที่ยึดเหนี่ยวเยื่อหุ้มเซลล์ ที่ เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดแอสติค (alcohol dehydrogenase และ aldehyde dehydrogenase) ต่างจากตัวควบคุมที่ไม่ได้เติม CaCl_2 (0%) ในส่วนของการผลิตแอสติค นั้นพบว่า การเติม CaCl_2 0.15% มีการผลิตกรดแอสติคสูงสุด มีผลการผลิตกรดแอสติค สามารถบดงนี้ 9.33 ± 0.6 8.67 ± 0.8 และ 9.67 ± 0.7 กรัมลิตรต่อวัน ตามลำดับ ในการศึกษาครั้งนี้มีประโยชน์อย่างมากในการลดต้นทุนการผลิตของระบบควบคุมความเย็น [39]

โหมข้าวโพดอ่อนเป็นของเสียที่ได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพดซึ่งส่วนใหญ่ถูกทิ้งหรือเป็นอาหารสัตว์ มีส่วนประกอบของสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ น้ำมันหอมระเหยสเตียรอยด์ ซาโปนิน และสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ มากกว่านั้นพบโปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน แทนนิน และเกลือแร่ ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย จึงทำให้นักวิจัย Krusong และคณะ ได้นำโหมข้าวโพดอ่อนมาอบแห้งเพื่อป้องกันการเกิดเชื้อรา หลังจากนั้นได้นำไปผลิตน้ำส้มสายชู จากข้าวโพดอ่อนอบแห้ง ซึ่งการวิเคราะห์สารสำคัญในน้ำส้มสายชู 9 รอบในการหมักประกอบไปด้วย การวิเคราะห์ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด DPPH ABTH และ FIC มีผลการวิเคราะห์ดังนี้ 1.21 ± 0.05 มิลลิกรัม GAE ต่อมิลลิลิตร 10.72 ± 0.3 % การยับยั้ง 4.06 ± 0.79 % การยับยั้ง และ 19.93 ± 0.17 % ผลกระทบของคีเลท ซึ่งมีการกรดแอสติค 75 ± 1 กรัมต่อลิตร ถูกสร้างขึ้นในการหมักแบบ กึ่งต่อเนื่อง [40]

Hipolito Rubio-Fernandez ทำการศึกษาอิทธิพลของปริมาณออกซิเจนในการหมักต่อผลิต กรดแอสติคกึ่งต่อเนื่องสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก โดยปริมาณที่ใช้ตั้งแต่ 21 % ถึง 63 % และมีการเติมอากาศ 3.7 หนึ่งต่อชม (vvm) กระบวนการอะซิติกเคชันถูกดำเนินการในถังหมักขนาดจาก 6 ลิตร เป็น 100 ลิตร โดยผลการทดลองในถังหมักขนาด 100 ลิตร พบว่าปริมาณออกซิเจนที่เพิ่มขึ้นทำให้มีอัตราการผลิตกรดแอสติคโดยรวมเพิ่มขึ้นจาก 0.72 กรัมต่อลิตรต่อชม. (ออกซิเจน 21 %) เป็น 1.35 กรัมต่อลิตรต่อชม. เมื่อใช้อากาศที่มีออกซิเจน 36 % ดังนั้นเวลาในกระบวนการทั้งหมดจึงลดลงตามสัดส่วนของผลผลิตที่เพิ่มขึ้น จาก 65 ชม. โดยใช้อากาศเป็น 35 ชม. การใช้การเติมอากาศที่มีออกซิเจน 36 % มีเปอร์เซ็นต์ผลได้ของกระบวนการอยู่ที่ 96 ถึง 99 % ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดแอสติคมีค่าถึง 116–118 กรัมต่อลิตร แต่เมื่อเพิ่มปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 40% จะส่งผลให้การผลิต

กรดลดลง และมากไปกว่านั้นปริมาณออกซิเจนอยู่ที่ 63% กระบวนการผลิตกรดจะหยุดลงในช่วงแรกของการหมัก และยังพบอะซีตัลดีไฮด์ที่ละลายในน้ำหมักที่เกิดจากแบคทีเรียแอซีติก [41]

งานวิจัยของ Ignacio de Ory ได้ศึกษาหาปริมาณความเข้มข้นของสารตั้งต้น (เอทานอลและกรดแอซีติก) ที่เหมาะสมที่สุดในช่วง Start-Up โดยเครื่องระดับโรงประลองสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชู ถูกแบ่งออกเป็นสามกลุ่มดังนี้ กลุ่ม 1 ความเข้มข้นของกรดแอซีติกเริ่มต้นเท่ากับหรือต่ำกว่า 20 กรัมต่อลิตร กลุ่ม 2 ความเข้มข้นของกรดแอซีติกเริ่มต้นเท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร และกลุ่ม 3 ความเข้มข้นสุดท้ายของกรดแอซีติกมากกว่าหรือเท่ากับ 80 กรัมต่อลิตร มีผลการทดลองดังนี้ ในกลุ่มที่ 1 มีปริมาณกรดเริ่มแรกอยู่ที่ประมาณ 20 กรัมต่อลิตร ส่งผลให้การเจริญในช่วง lag phase มีระยะเวลาที่นานที่สุดคือ 14 วัน ในทางกลับกันในการทดลองกลุ่มที่ 2 ปริมาณความเข้มข้นในสัดส่วนดังกล่าวมีค่าความเป็นกรดอยู่ที่ 30 กรัมต่อลิตร พบว่าความยาวของ lag phase ลดลงอย่างมาก โดยในทางปฏิบัติจะเห็นการเติบโตทันที ซึ่งความเป็นกรดเริ่มต้นสูงกว่าในกลุ่ม 1 แต่ไม่สูงมากที่จะทำให้เกิดพิษอย่างมีนัยสำคัญต่อแบคทีเรีย และในการทดลองของกลุ่ม 3 มีการศึกษาผลกระทบของความเข้มข้นสุดท้ายในช่วง Start-Up เพื่อจุดประสงค์นี้หาความเข้มข้นสูงสุดของการผลิตกรดแอซีติก โดยมีความเข้มข้นเริ่มต้นที่ 20 กรัมต่อลิตร ซึ่งสามารถผลิตกรดแอซีติกได้ถึง 80 กรัมต่อลิตร [52]

งานวิจัยอีกชิ้นของ de Ory ได้ศึกษาหาเปอร์เซ็นต์ผลได้ของการหมักกรดแอซีติกในถังหมักระบบแบบปิดโดยการเปรียบเทียบกระบวนการหมักแบบกึ่งกะ และกระบวนการหมักแบบต่อเนื่องในระดับโรงประลอง มีผลการทดลองดังนี้ กระบวนการแบบกึ่งกะในระหว่างการผลิตมีปริมาณแอซีติกอยู่ระหว่าง 40 ถึง 80 กรัมต่อลิตร เมื่อการทดลองเสร็จสิ้นได้กรดแอซีติก 80 กรัมต่อลิตร และจากนั้นนำน้ำส้มสายชู 125 ลิตร ระบายออกและแทนที่ด้วยไวน์ 125 ลิตร ซึ่งสามารถสังเกตได้ว่ามีพัฒนาการหมักแบบสั้น ๆ ในช่วงแรกของการหมักรอบแรกนั้นเชื่อมีช่วงเวลา lag phase ยาวนานกว่าถึง 12 วัน แต่ในรอบการหมักถัดไปนั้นมีระยะเวลาที่สั้นลงตามลำดับ และมีอัตราการผลิตกรดแอซีติกเฉลี่ยของทุกรอบการหมัก 8.4 กรัมต่อลิตรต่อวัน และมีระยะเวลารอบเฉลี่ยอยู่ที่ 4.75 วัน มากไปกว่านั้นปริมาณผลได้มีค่าถึง 100 % และในส่วนของผลการทดลองกระบวนการหมักแบบต่อเนื่อง ได้ศึกษาอัตราการผลิตกรดทั้งหมดเทียบกับอัตราการป้อนเข้าของไวน์ 4 แบบที่แตกต่างกันดังนี้ 0.2 0.9 1.1 และ 1.7 ลิตรต่อชม. พบว่าระยะเวลา 0.2 ลิตรต่อชม. อัตราการเติบโตของแบคทีเรียแอซีติกนั้นสูงทำให้ระยะเวลาในการหมักสั้น โดยในช่วงแรกจะมีการหน่วงสั้น ๆ และหลังจากนั้นเข้าสู่สภาวะคงที่เนื่องจากการเจือจาง แต่หากอัตราการป้อนเข้าคงที่ 1.7 ลิตรต่อชม. ทำให้หยุดการทำงานของถังหมัก

เพราะอัตราการเจอจางมาก ซึ่งพบว่าในงานวิจัยนี้อัตราการไหลที่เหมาะสมที่สุดคือ 1.1 ลิตรต่อชม. สามารถผลิตน้ำส้มสายชูที่มีกรดแอสติก 70 กรัมต่อลิตร และ 125 ลิตรในเวลา 4.75 วัน จากข้อมูลข้างต้นนั้นพบว่าการหมักแบบกึ่งกะนั้นมีการผลิตน้ำส้มสายชูที่มีความเข้มข้นของกรดแอสติกสูงกว่าต่อเนื่องในช่วงเวลาของกระบวนการที่ใกล้เคียงกัน [53]



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ เครื่องมือ และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

- มะม่วงมหาชนกสุก (*Mangifera indica* Linn. cv. 'Maha Chanok')
- น้ำส้มสายชูหมัก 7-8%
- กรดแอสซิติค 98.8% (เคมีภัณฑ์ คอร์ปอเรชั่น จำกัด, ประเทศไทย)

3.1.2 เชื้อจุลินทรีย์

- *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ได้รับจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
- *Acetobacter aceti* WK ได้รับจากห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.1.3 สารเคมี

- Di-ammonium Hydrogen Orthophosphate (KemAus, Australia)
- D-(+)-Glucose Anhydrous 99.5% (Himedia, India)
- Magnesium Sulphate 7-Hydrate 98% (KemAus, Australia)
- Peptone (Himedia, India)
- Sodium hydroxide (NaOH) (KemAus, Australia)

3.1.4 เครื่องมือและอุปกรณ์

- ตู้แช่แข็ง (Ultra-Low Temperature Freezer, New Brunswick™, Germany)
- เทอร์โมคัปเปออร์ (TREX-8, LogTag Recorder, USA)
- พาสเจอร์ไรส์ในเครื่อง UHT/HTST (Microthermic, USA)
- เครื่องปั่นน้ำผลไม้ (ProBlend 6, Philips, Thailand)
- ตู้ดูดความชื้น (Desiccator)
- เครื่อง pH meter (Starter300, OHAUS, USA)
- เครื่อง Refractometer (PAL-1, ATAGO, Japan)
- เครื่องสเปกโตรโฟโตมิเตอร์ (UV-1600PC, VWR, USA)
- เครื่องเขย่าสาร (Vortex) (G560E, Scientific Industries, USA)
- เครื่องปั่นเหวี่ยง (Centrifuge) (MIKRO 220R, Hettich, Germany)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- เครื่องชั่งน้ำหนัก 2 ตำแหน่ง (UX-3200G, SHIMADZU, Japan)
- เครื่องชั่งน้ำหนัก 4 ตำแหน่ง (BSA224S-CW, Sartorius, Germany)
- ปีกเกอร์ หลอดทดลอง ขวดปรับปริมาตร ขวดรูปชมพู่ ปิเปต และบิวเรต

3.2 การเตรียมมะม่วงมหาชนกพีวเร่แช่แข็งที่ได้จากของเสียในกระบวนการรูป

นำมะม่วงสายพันธุ์มหาชนก (*Mangifera indica* Linn. cv. 'Maha Chanok') (จากบริษัท เชียงใหม่ เพรช จำกัด ซึ่งตั้งอยู่ที่อำเภอฝาง จังหวัดเชียงใหม่) ที่ไม่ผ่านข้อกำหนดมาตรฐานทำความสะอาดและแช่สารละลาย PAA ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 5 นาที ตัดแต่ง แยกเปลือกออก นำเนื้อมะม่วงบดด้วยเครื่องปั่น และกรอง จึงได้มะม่วงพีวเร่ จากนั้นบรรจุมะม่วงพีวเร่ 10 กิโลกรัม ในถุงโพลีเอทิลีน (LLDPE) แช่เยือกแข็งโดยเครื่อง Compact Freeze แบบ Freon R407F จากบริษัท พัฒน์กล จำกัด (มหาชน) ที่อุณหภูมิต่ำ (-) 38 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง และเก็บรักษาที่อุณหภูมิต่ำ (-) 18 องศาเซลเซียส ดัง ภาพที่ 3.1



(ก) มะม่วงมหาชนกที่ไม่ผ่านข้อกำหนด



(ข) การปอกเปลือก ตัดแต่ง และบดมะม่วง

ภาพที่ 3.1 กระบวนการตัดและการเตรียมตัวอย่างมะม่วงมหาชนกพีวเร่แช่เยือกแข็ง: (ก) มะม่วงมหาชนกที่ไม่ผ่านข้อกำหนด; (ข) การปอกเปลือก ตัดแต่ง และบดมะม่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

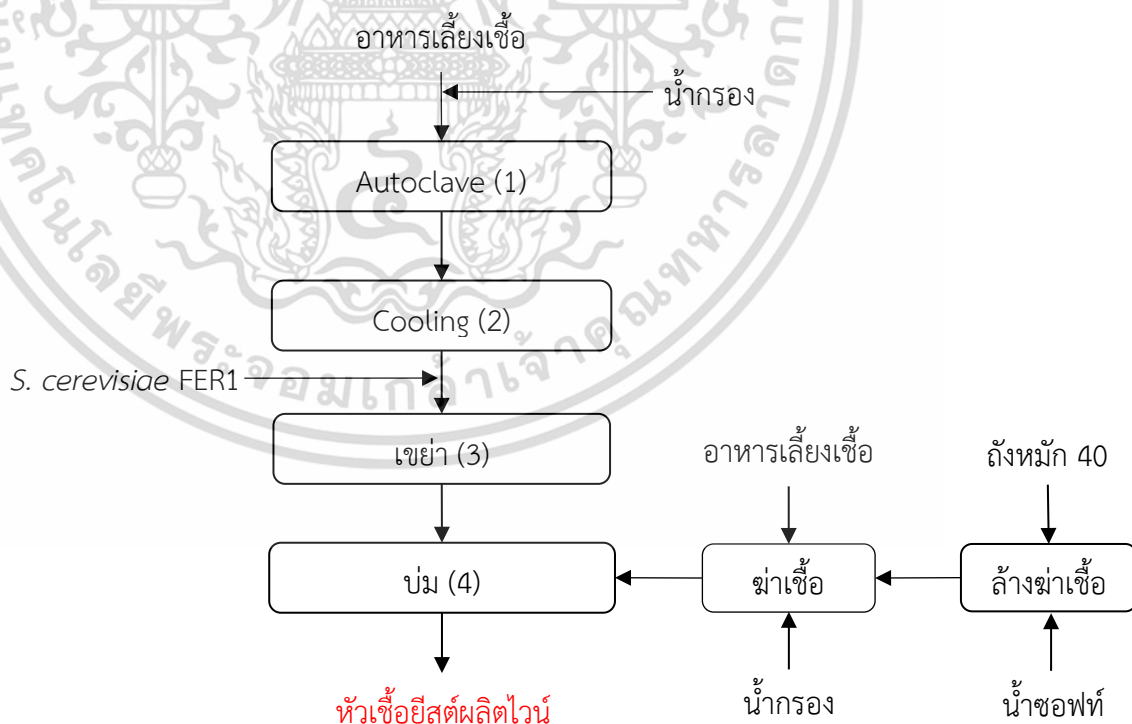
3.3 การหมักไวน์

การหมักไวน์มะม่วงมหาชนกถูกแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนดังนี้

3.3.1 การเตรียมหัวเชื้อสำหรับหมักไวน์

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ นำ Yeast extract malt extract broth (YM broth) ปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร (สูตรตามภาคผนวก) นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที ปล่องทิ้งไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นเชื้อเชื้อ *S. cerevisiae* FER1 ลงในอาหาร YM broth และนำไปเขย่าด้วยเครื่องเขย่าความเร็ว 100 รอบต่อนาที เป็นเวลา 1 วัน

หลังจากนั้นทำการขยายปริมาตรเชื้อให้เป็น 40 ลิตร โดยเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM broth ปริมาตร 38 ลิตร (สูตรตามภาคผนวก) ที่บรรจุในถังหมักหัวเชื้อ 50 ลิตร คนอาหารเลี้ยงเชื้อให้ละลาย และฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หลังจากนั้นทำการ Cooling โดยปรับอุณหภูมิไปที่ 37 องศาเซลเซียส จากนั้นถ่ายเชื้อที่ได้เติมลงในถังปริมาตร 2,000 มิลลิลิตร ที่เตรียมไว้ข้างต้นบ่มเชื้อที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ให้อากาศที่ความดัน 5-6 บาร์ และเปิดใบกวน 30 % เป็นเวลา 1 วัน ตาม ภาพที่ 3.2 และ 3.3



ภาพที่ 3.2 แผนภาพการผลิตหัวเชื้อยีสต์ สำหรับหมักไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก)

(ข)

ภาพที่ 3.3 (ก) เครื่องเขย่าหัวเชื้อ; (ข) ถังหมักหัวเชื้อในระดับอุตสาหกรรม (ขนาด 200 ลิตรและ 50 ลิตร ตามลำดับ)

3.3.2 การหมักไวน์มะม่วงมหาชนกและการวิเคราะห์คุณภาพ

นำมะม่วงพิวเร่แช่แข็ง 10 กิโลกรัม (จากหัวข้อที่ 3.2) มาทำการละลายโดยแช่ไว้ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และผสมกับน้ำเชื่อม (สูตรตามตารางที่ 3.1) แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ในเครื่อง UHT/HTST (Microthermic) ปรับอุณหภูมิที่ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที จากนั้นนำถัง 100 ลิตร ที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยการลวกน้ำร้อนและแช่ด้วย PAA ความเข้มข้น 80 มิลลิกรัมต่อลิตรเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นถ่ายวัตถุดิบลงถัง 100 ลิตร แล้วปล่อยให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

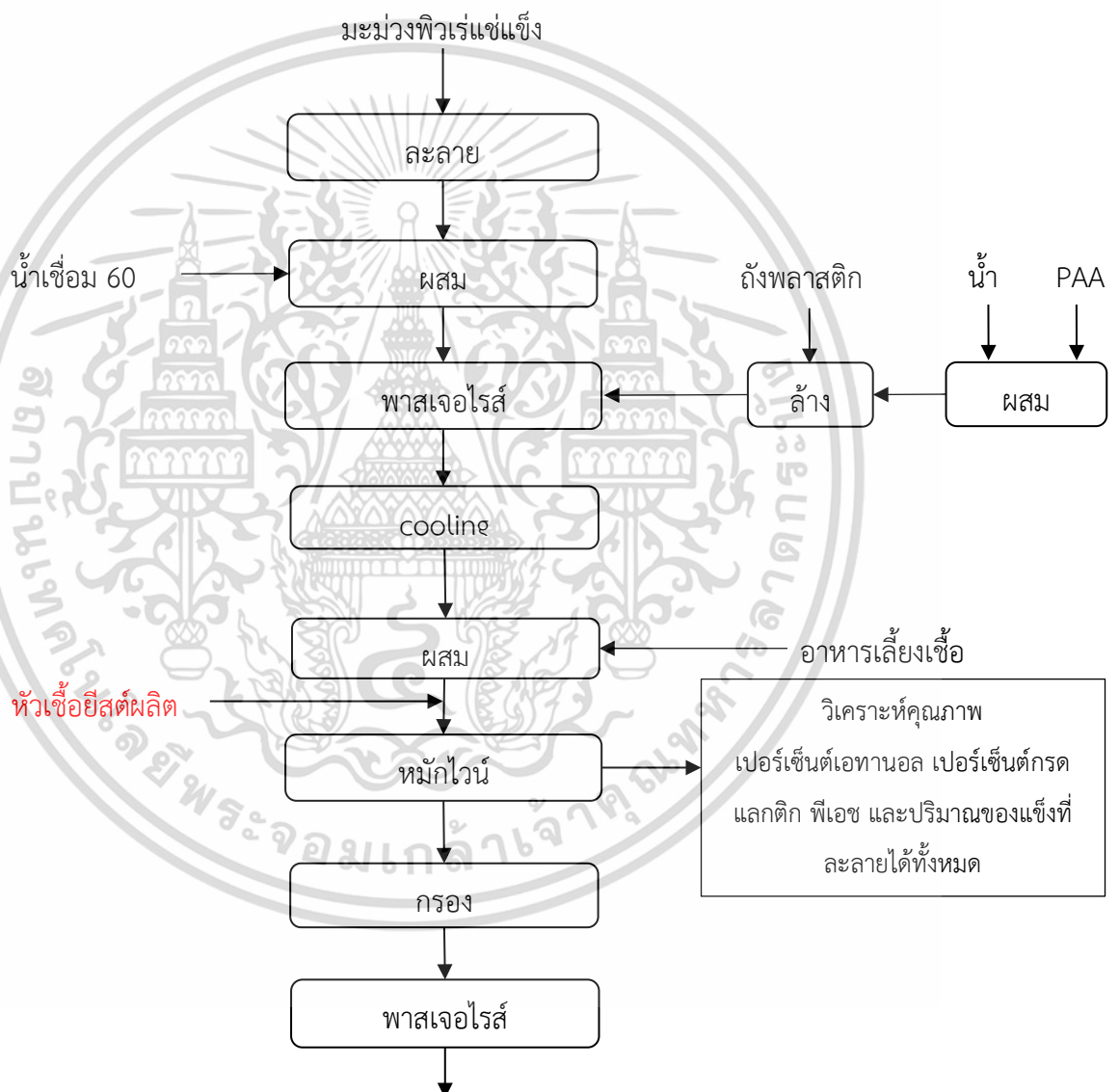
หลังจากนั้นถ่าย หัวเชื้อ *S. cerevisiae* FER1 ผลิตไวน์ ปริมาตร 5 กิโลกรัม (จากหัวข้อที่ 3.3.1) และเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ (อัตราส่วนตามภาคผนวก) ลงในถัง 100 ลิตรที่เตรียมไว้ เพื่อหมักไว้ในระยะเวลา 7-9 วัน เพื่อให้ได้ไวน์ตามที่ต้องการ

จากนั้นนำไปกรองด้วยถุงกรองขนาด 100 ไมครอน แล้วนำไปพาสเจอร์ไรส์ในเครื่อง UHT/HTST (Microthermic) ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 วินาที นำมาบรรจุในแกลอนพลาสติกกันกรดขนาด 20 ลิตร เก็บรักษาในอุณหภูมิที่ 4 องศาเซลเซียส หรือบริเวณที่ไม่มีแสงแดด ตามขั้นตอนและการวิเคราะห์คุณภาพแสดงในภาพที่ 3.4 และ 3.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3.1 อัตราส่วนในการหมักไวน์ต่อหนึ่งรอบ

วัตถุดิบ	ปริมาตร (กก.)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้สุดท้าย (°Brix)
น้ำเชื่อม	85	19-20
พิวเร่	10	



ไวน์มะม่วงมหาชนกเอทานอล 80-100 กรัมต่อลิตร

ภาพที่ 3.4 แผนภาพการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ก) ผสม



(ข) หมักไวน์



(ค) กรองหยาบ



(ง) ฆ่าเชื้อ



(จ) กรองขนาด 100 ไมครอน

ภาพที่ 3.5 กระบวนการหมักไวน์มะม่วงมหาชนก: (ก) ผสม; (ข) หมักไวน์; (ค) กรองหยาบ;

(ง) ฆ่าเชื้อ; และ (จ) กรองขนาด 100 ไมครอน

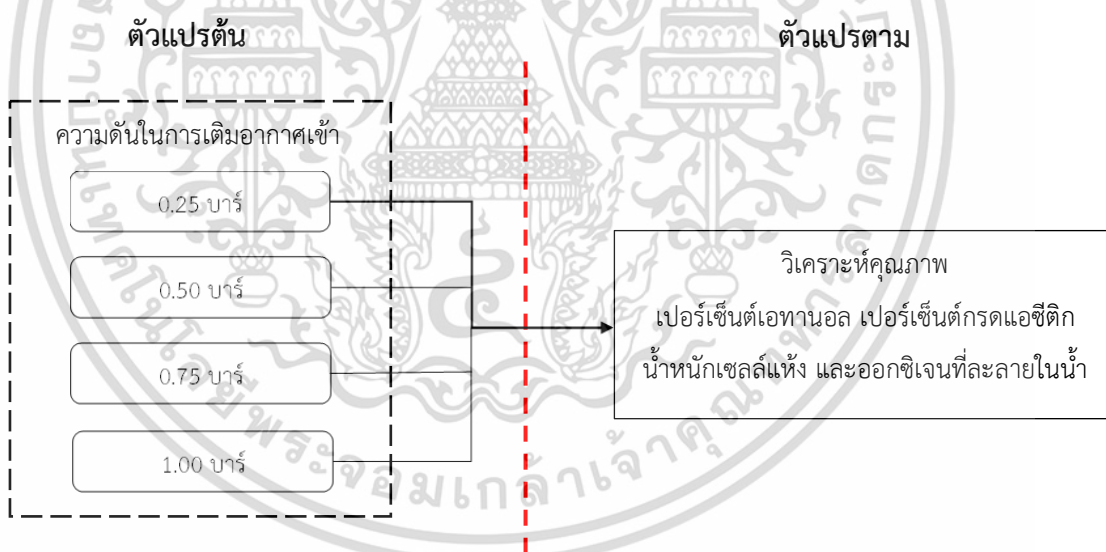
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 การหมักน้ำส้มสายชู

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักโดยถังหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) เลขที่ทรัพย์สินทางปัญญา : 12907 ในนาม ศ. ดร.วราวุฒิ ครูสง และคณะ ซึ่งหลักการใช้ถังหมักอยู่ในภาคผนวก และในกระบวนการหมักแบ่งออกเป็นช่วงดังนี้

3.4.1 การวางแผนการทดลอง

นำตัวอย่างไวน์มะม่วงมหาชนก ที่ได้จากหัวข้อ 3.3 (การหมักไวน์) มาผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมัก ในช่วง Start-Up โดยจะออกแบบแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ (Completely Randomized Design ; CRD) ซึ่งตัวแปรที่ศึกษาในงานวิจัยนี้ คือ ปริมาณอากาศ ประกอบไปด้วย 4 ความดันในการเติมอากาศเข้าถังหมัก ได้แก่ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 บาร์ ทำการทดลองอย่างสุ่ม ทำซ้ำทั้งหมด 3 ครั้ง รวมการทดลองทั้งหมด 12 หน่วยการทดลอง ตัวแปรต้นและตัวแปรตามตามภาพที่ 3.6



ภาพที่ 3.6 ตัวแปรต้นและตัวแปรตามในช่วง Start-Up

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

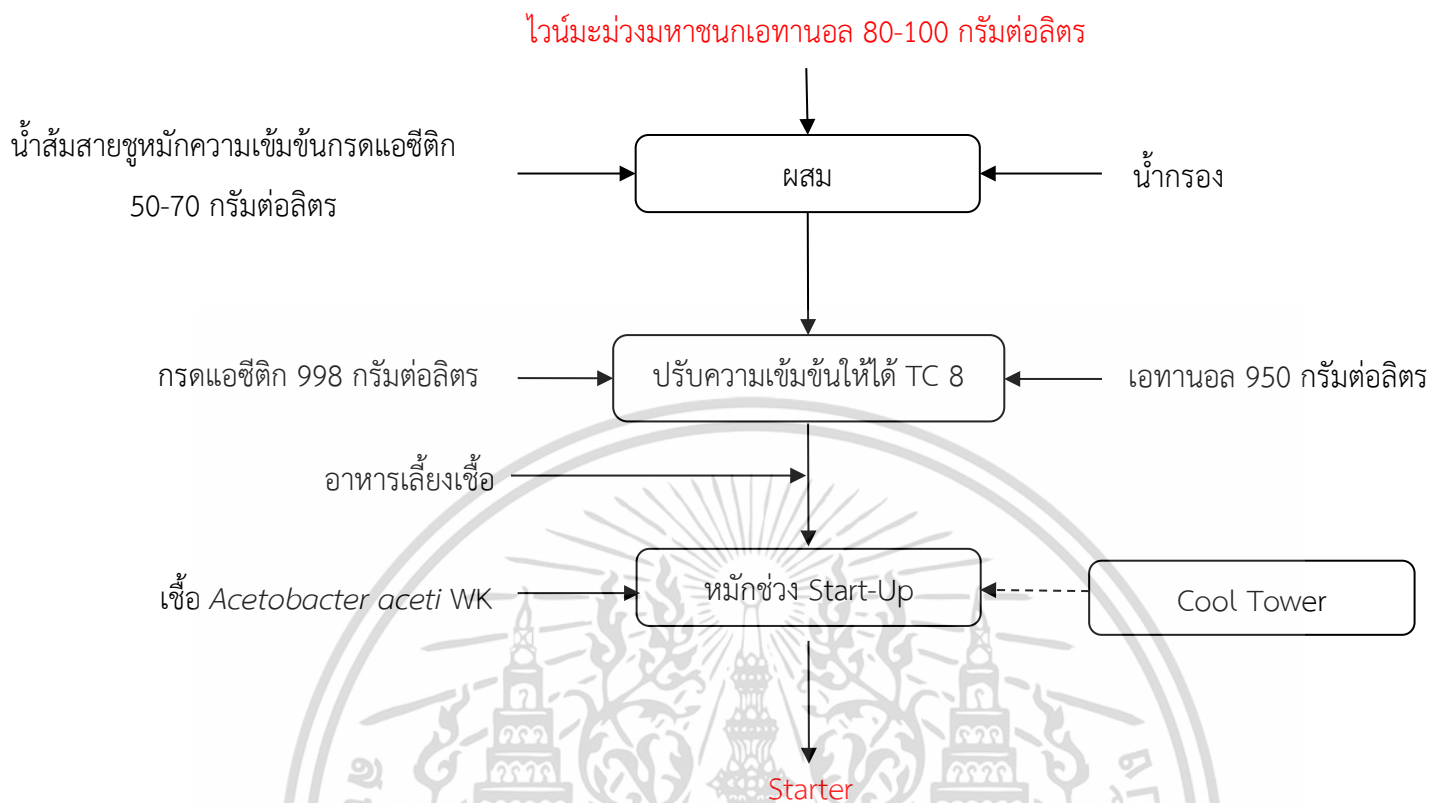
3.4.2 การศึกษาผลกระทบของความดันในการเติมอากาศในช่วง Start-Up

การหมักน้ำส้มสายชูในช่วง Start-Up phase มีปริมาณทั้งหมดอยู่ที่ 250 ลิตร และมีความเข้มข้นทั้งหมด (Total Concentration; TC) 80 กรัมต่อลิตร หรือ TC 8 ประกอบไปด้วยปริมาณกรดแอสติค 45 กรัมต่อลิตร และเอทานอล 35 กรัมต่อลิตร ซึ่งความเข้มข้นเริ่มต้นนั้นเกิดจากการเติมไวน์มะม่วงมหาชนก 8-10 % น้ำส้มสายชูหมัก 5-7 % เอทานอล 95% และ กรดแอสติค 98.9% (การเติมปริมาณของวัตถุดิบต่าง ๆ นั้นสามารถคำนวณได้ตามสูตรที่ 3.1) หลังจากได้ปริมาตรและความเข้มข้นที่ต้องการแล้ว จึงถ่ายหัวเชื้อ *A. aceti* WK ปริมาณ 1-2% พร้อมกับเติมอาหารเลี้ยงเชื้อ (ตามภาคผนวก) จากนั้นปรับความดันในการเติมอากาศที่เข้าถังหมัก (0.20 0.5 0.75 หรือ 1 บาร์) และควบคุมอุณหภูมิการหมักให้อยู่ที่ 30 องศาเซลเซียส โดยระบบการหมักจะหยุด ก็ต่อเมื่อเชื้อ *A. aceti* WK ได้เปลี่ยนเอทานอลเป็นกรดแอสติค ทำให้ปริมาณของเอทานอลลดลง น้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร ตามภาพที่ 3.7

$$N_1V_1 + N_2V_2 = N_{total}V_{total} \quad (3.1)$$

เมื่อ

- N_1 = ความเข้มข้นของเอทานอลในไวน์ที่ใช้
 V_1 = ปริมาตรของเอทานอลที่ต้องการ
 N_2 = ความเข้มข้นของแอสติคที่ใช้
 V_2 = ปริมาตรของแอสติคที่ต้องการ
 N_{total} = ความเข้มข้นเอทานอลหรือแอสติคที่เป็นเป้าหมายของการหมักทั้งหมด
 V_{total} = ปริมาตรของการหมักทั้งหมด



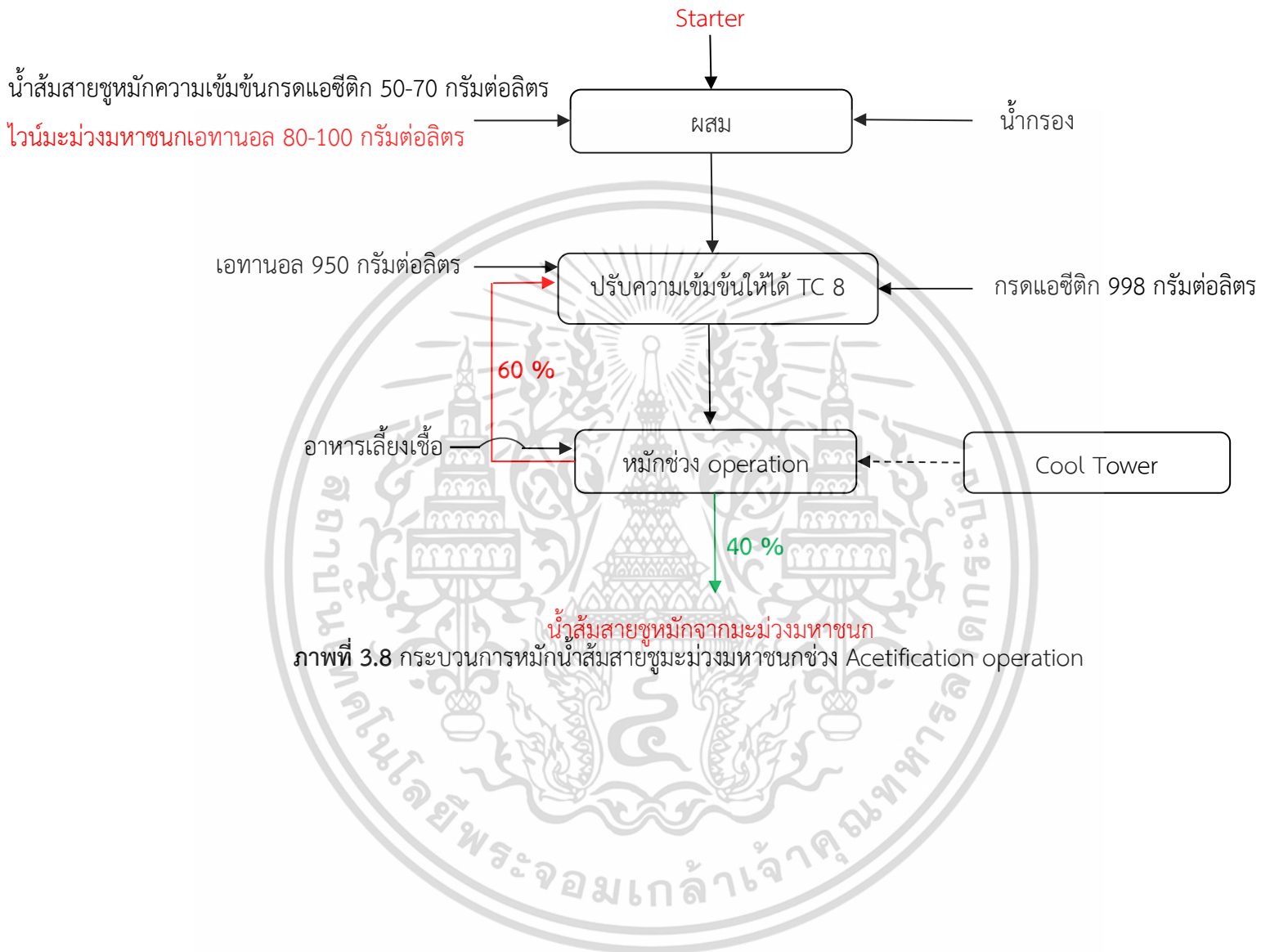
ภาพที่ 3.7 กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกช่วง Start-Up

3.4.3 การศึกษาผลกระทบของความดันในการเติมอากาศในช่วง Acetification operation

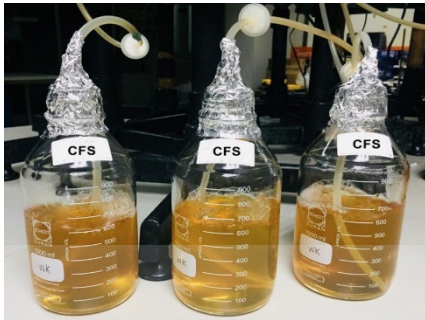
ในช่วง Acetification operation คือการเพิ่มปริมาตรจาก 250 ลิตร ให้เป็น 600 ลิตร โดยใช้ความดันในการเติมอากาศที่เหมาะสมที่สุดในช่วง Start-Up หลังจากนั้นรอให้ปริมาตรเอทานอลน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร เติมน้ำไวน์ใหม่เพื่อให้ปริมาตรเป็น 600 ลิตร โดยปรับ TC เท่ากับ 80 กรัมต่อลิตร ทำการหมักจนปริมาณเอทานอลน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร จากนั้นให้ถ่ายน้ำหมักปริมาตร 40% ออก และคงเหลืออีก 60% ในถังหมักซึ่งถูกใช้เป็นหัวเชื้อในรอบถัดไป นำส่วนที่ถ่ายออกกรองด้วยเครื่องกรองในระดัการกรองแบบไมโครฟิลเตรชัน และนำไปฆ่าเชื้อด้วยความร้อนที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 วินาที โดยเครื่องพัฒนักรกลจากนั้นจึงนำไปบรรจุในเกลลอนพลาสติกกันกรด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขนาด 20 ลิตร เก็บรักษาในอุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส หรือบริเวณไม่มีแสงแดดส่อง ตาม
ขั้นตอนและการวิเคราะห์คุณภาพแสดงในภาพที่ 3.8 และ 3.9



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(ก) หัวเชื้อ *Acetobacter aceti* WK

(ข) ถ่ายลงถังผสม



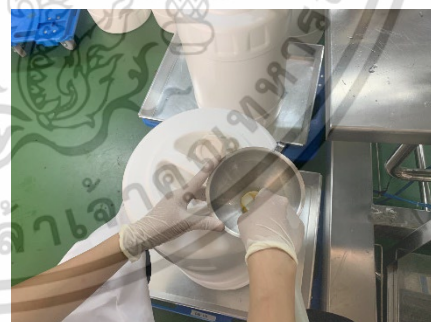
(ค) ถ่ายขึ้นถังหมักน้ำส้มสายชู



(ง) กรอง



(จ) ซ้ำเชื้อ



(ฉ) บรรจุ

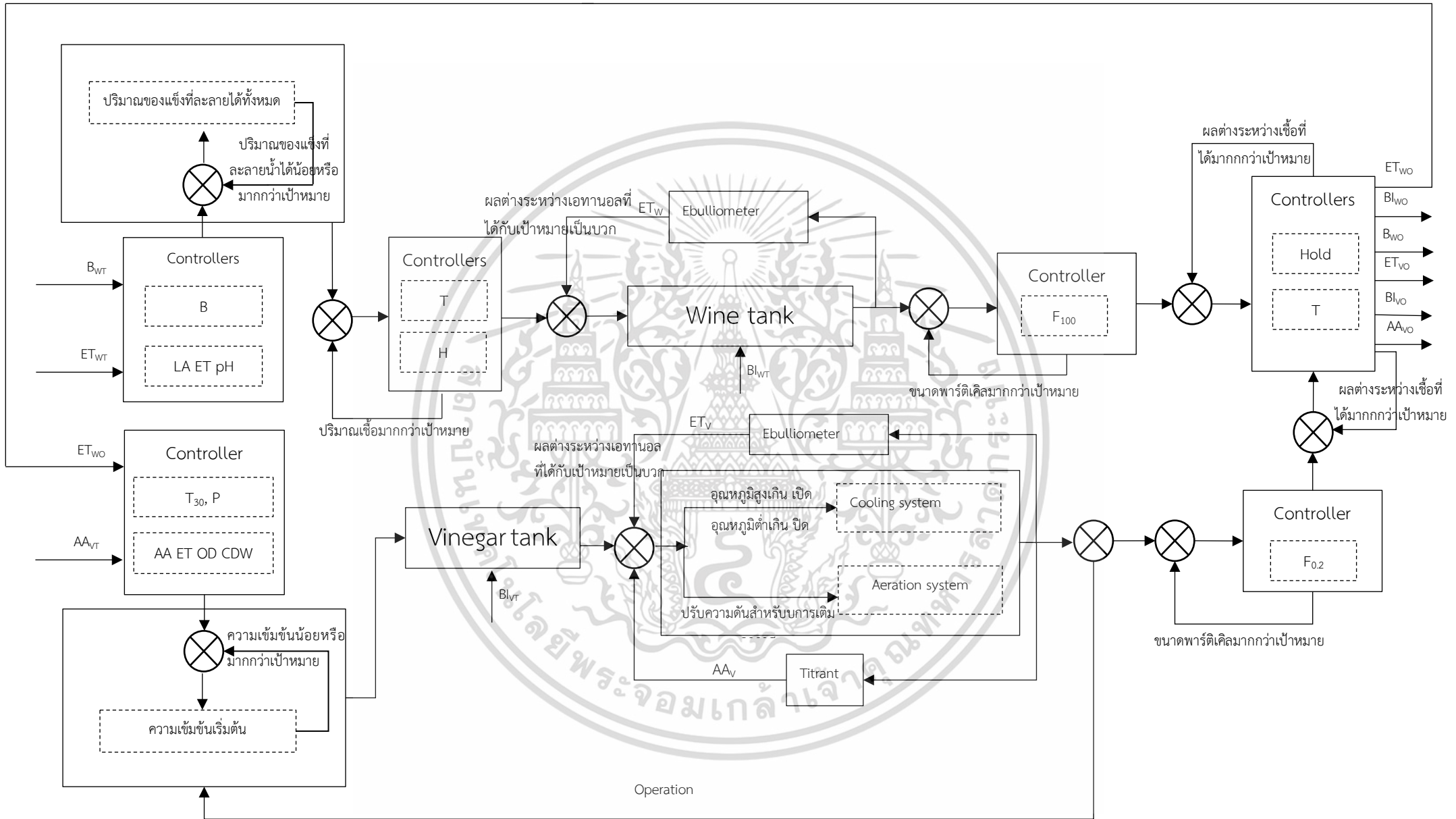
ภาพที่ 3.9 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนก: (ก) หัวเชื้อ *Acetobacter aceti* WK; (ข) ถ่ายลงถังผสม; (ค) ถ่ายขึ้นถังหมักน้ำส้มสายชู; (ง) กรอง; (จ) ซ้ำเชื้อ; (ฉ) บรรจุ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 3.10 แสดงกลไกการควบคุมกระบวนการทั้งหมดของการหมักน้ำส้มสายชูหมักจากเศษเหลือมะม่วงมหาชนก แบ่งออกเป็น 2 ส่วนดังนี้ ส่วนที่หนึ่งคือการหมักไวน์ เป้าหมายเพื่อควบคุมปริมาณเอทานอลและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเป็นไปตามเป้าหมาย ในส่วนที่สองคือการหมักน้ำส้มสายชูหมัก เป้าหมายเพื่อควบคุมปริมาณเอทานอลและควบคุมอุณหภูมิระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูหมักเป็นไปตามเป้าหมาย โดยการควบคุมอุณหภูมิทำงานควบคู่กับเทอร์โมมิเตอร์ (RTD) เมื่ออุณหภูมิสูงกว่าเป้าหมายเทอร์โมมิเตอร์ส่งสัญญาณไปตู้ควบคุมและส่งต่อไปยังโซลินอยด์วาล์วให้เปิดน้ำหล่อเย็นจากคูลลิ่งทาวเวอร์เข้ามาในคอยล์เย็นภายในถังหมัก เมื่ออุณหภูมิเท่ากับเป้าหมายเทอร์โมมิเตอร์ส่งสัญญาณกลับไปยังตู้ควบคุมและส่งต่อไปยังโซลินอยด์วาล์วให้ปิด เพื่อควบคุมอุณหภูมิคงที่ตลอดกระบวนการหมัก



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3.10 กลไกการควบคุมกระบวนการทั้งหมดของการหมักน้ำส้มสายชูหมักจากเศษเหลือ

เมื่อ

B_{WT}	= ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด เป้าหมาย	B	= ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด
B_{WO}	= ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจาก ควบคุม	LA	= ปริมาณกรดแลกติก
ET_{WT}	= ปริมาณเอทานอลเป้าหมายในไวน์	ET	= ปริมาณเอทานอล
ET_{WO}	= ปริมาณเอทานอลที่ได้จากควบคุมใน ไวน์	pH	= พีเอช
Bl_{WT}	= ปริมาณยีสต์เป้าหมาย	AA	= ปริมาณกรดแอสซิติค
Bl_{WO}	= ปริมาณยีสต์ที่ได้จากควบคุม	P	= ความดันอากาศที่ควบคุมปริมาณ อากาศ
ET_{VO}	= ปริมาณเอทานอลเป้าหมายในน้ำส้ม สายชูหมัก	T_{30}	= อุณหภูมิควบคุมการหมักน้ำส้ม สายชูหมัก
Bl_{VT}	= ปริมาณเชื้อแบคทีเรียเป้าหมาย	T	= อุณหภูมิฆ่าเชื้อ
Bl_{VO}	= ปริมาณเชื้อแบคทีเรียที่ได้จากควบคุม	H	= ระยะเวลาในการฆ่าเชื้อ
AA_{VT}	= ปริมาณแอสซิติคเป้าหมาย	CDW	= ปริมาณเซลล์แห้ง
AA_{VO}	= ปริมาณแอสซิติคที่ได้จากควบคุม	OD	= ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำได้
ET_W	= ปริมาณเอทานอลที่ตรวจวัดในไวน์	F_{100}	= ขนาดรูกรอง 100 ไมครอน
ET_V	= ปริมาณเอทานอลที่ตรวจวัดในน้ำส้ม สายชูหมัก	$F_{0.2}$	= ขนาดรูกรอง 0.2 ไมครอน
AA_V	= ปริมาณเอทานอลที่ตรวจวัดในน้ำส้ม สายชูหมัก		

3.5 การวิเคราะห์คุณภาพ

3.5.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS)

วิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของไวน์มะม่วงมหาชนก ด้วยเครื่อง Refractometer (HI96800, Hanna, Romania) แสดงวิธีการวิเคราะห์ดังภาคผนวก ค.1

3.5.2 ค่าพีเอช (pH)

วิเคราะห์ค่าพีเอชของของไวน์มะม่วงมหาชนก ด้วยเครื่อง pH meter (S-610L, PEAK instrument inc, USA) แสดงวิธีการวิเคราะห์ดังภาคผนวก ค.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.3 เปอร์เซ็นต์เอทานอล (ethanol percentage, ET)

วิเคราะห์ค่าพีเอชของของไวน์และน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนก ด้วยเครื่อง Ebulliometer (Dujadin-Salleron, France) แสดงวิธีการวิเคราะห์ดังภาคผนวก ค.3

3.5.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง (cell dry weight, CDW)

วิเคราะห์ค่าน้ำหนักเซลล์แห้งของน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนก ด้วยเครื่อง Spectrophotometer (Hettich, MIKRO 220R, Germany) โดยอ่านเป็นค่าเปอร์เซ็นต์การส่องผ่าน แสดงวิธีการวิเคราะห์ดังภาคผนวก ค.4

3.5.5 ปริมาณกรดทั้งหมดในอาหาร (total acid content)

วิเคราะห์ค่ากรดของไวน์มะม่วงมหาชนกโดยวิเคราะห์เป็นกรดแลกติก (AL) และน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกวิเคราะห์เป็นแอซีติก (AA) โดยวิธี AOAC, 2000 ดังภาคผนวก ค.5

3.5.6 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen meter)

วิเคราะห์ค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำของน้ำส้มสายชู ด้วยเครื่อง dissolved oxygen meter (HANNA, HI9146) ดังภาคผนวก ค.6

3.6 การวิเคราะห์ความเป็นไปได้ในการผลิตการน้ำส้มสายชูหมักจากมะม่วงมหาชนก ระดับอุตสาหกรรม

พิจารณาการหมักน้ำส้มสายชูนั้นประกอบไปด้วยหลายกระบวนการ จึงจำเป็นต้องวิเคราะห์ค่าใช้จ่ายในการดำเนินการผลิตที่ส่งผลให้น้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนก โดยในการคำนวณค่าใช้จ่ายการผลิตสำหรับน้ำส้มสายชูสามารถจำแนกวิเคราะห์ได้ ดังนี้

3.6.1 ต้นทุนคงที่ (Fixed cost)

ส่วนของต้นทุนการผลิตคงที่ของน้ำส้มสายชูหมักแบ่งออกเป็นสองส่วนดังนี้ 1) ค่าใช้จ่ายรูปแบบเงินสดในจำนวนคงที่ต่อปี คือ ค่าเช่าพื้นที่ผลิตภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง 2) ต้นทุนคงที่ที่ไม่เป็นเงินสด คือ ค่าเสื่อมราคาของชุดหมักน้ำส้มสายชู เครื่องพาสเจอร์ไรส์พัฒนา และพาสเจอร์ไรส์เครื่อง UHT/HTST (Microthermic) ต้องนำมาคิดคำนวณและนำไปรวมกับต้นทุนแปรผัน

3.6.2 ต้นทุนผันแปร (Running Cost)

ส่วนของต้นทุนที่รวมค่าต่าง ๆ ได้แก่ ค่าวัตถุดิบ ค่าบรรจุภัณฑ์ ค่าไฟฟ้า และค่าจ้างคนงาน ซึ่งมีต้นทุนที่แตกต่างกันในแต่ละสถานที่ประกอบการ ในงานวิจัยนี้เป็นทำในระดับโรงงานต้นแบบ (Pilot scale) เพื่อนำไปประยุกต์ใช้กับในระดับอุตสาหกรรม ดังนั้นในการประเมินต้นทุนในงานวิจัยชิ้นนี้พิจารณาเฉพาะต้นทุนผันแปรส่วนที่เกี่ยวกับกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากมะม่วงมหาชนกเท่านั้น ส่วนประกอบของการวิเคราะห์ต้นทุนแสดงใน ตารางที่ 3.2

ตารางที่ 3.2 การวิเคราะห์ต้นทุนการหมักน้ำส้มสายชูมหาชนกต่อ 1 ลิตร

ต้นทุนผันแปร			ต้นทุนคงที่		
วัตถุดิบ	บรรจุภัณฑ์	ค่าแรง	ค่าใช้จ่ายโรงงานและเครื่องจักร	ค่าใช้จ่ายบริการ	ค่าการตลาด
- ไวน์มะม่วงมหาชนก - น้ำกรอง - อาหารเลี้ยงเชื้อ	- แกลลอน	- ค่าแรงงานคน	- ค่าเครื่องชุดหมักน้ำส้มสายชู - ค่าเครื่อง Cooling - ค่าเครื่อง พาสเจอร์ไรซ์พัฒนา - ค่าเงินเดือนและบำรุงรักษา - ค่าไฟฟ้าและค่าน้ำ - พาสเจอร์ไรส์เครื่อง UHT/HTST (Microthermic)	- ค่าเช่าพื้นที่ผลิตภายในสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง	- โปรโมทสินค้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและการอภิปราย

4.1 ผลการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนก

กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกเริ่มต้นจากการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนก ใน การศึกษาที่ใช้มะม่วงมหาชนกจากบริษัท เชียงใหม่ เฟรช จำกัด และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* FER1 มะม่วงมีคุณภาพเบื้องต้นดังต่อไปนี้ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 14.73 ± 0.96 °Brix และค่าพีเอช 4.41 ± 0.01

จากผลการทดลองหมักไวน์มะม่วงมหาชนก 1,200 ลิตร ในถังหมักขนาด 100 ลิตร จำนวน 12 ถัง โดยทำการตรวจวัด ปริมาณของเอทานอล ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (TSS) ปริมาณกรดรวม (กรดแลกติก) และ ค่า pH โดยตรวจวัดทุก 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณ TSS วันที่ 0 และ 7 มีปริมาณ TSS อยู่ที่ 18.78 ± 0.49 °Brix และ 9.54 ± 1.42 °Brix ตามลำดับ ทำให้ได้เอทานอล 88.90 ± 0.45 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 พร้อมกับปริมาตรกรดรวมที่เพิ่มขึ้นร้อยละ 0.24 ± 0.04 จึงส่งผลทำให้ค่าพีเอชลดลง แสดงใน ตารางที่ 4.1 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Rankine และ คณะ [41] แสดงให้เห็นว่า การลดลงของค่าพีเอช และการเพิ่มขึ้นของปริมาณกรดรวมในการทดลองทั้งหมด 7 วัน เนื่องจากในกระบวนการหมักของยีสต์จะผลิตกรดอินทรีย์ต่าง ๆ ออกมา พร้อมกับสร้างคาร์บอนไดออกไซด์มากถึง 48.9 % มีบางส่วนละลายน้ำทำให้เกิดกรดคาร์บอนิคจึงทำให้ค่าพีเอชลดลง มากกว่านั้นปริมาณกรดรวมเพิ่มขึ้นอาจหมายถึงการปนเปื้อนของกลุ่มแบคทีเรียแลกติกซึ่งแบคทีเรียแลกติกนี้สามารถเปลี่ยน กลูโคส ซูโครส และมอลโตส เป็นกรดแลกติกได้ในสภาวะที่มีอากาศน้อย ซึ่งเป็นแบคทีเรียพบได้ตามธรรมชาติ ตัวอย่างเช่น *Lactobacillus delbrueckii*, *L. casei*, *L. acidophilus* เป็นต้น [42] ดังนั้นจึงจำเป็นต้องตรวจสอบปริมาณกรดแลกติกในการหมักไวน์

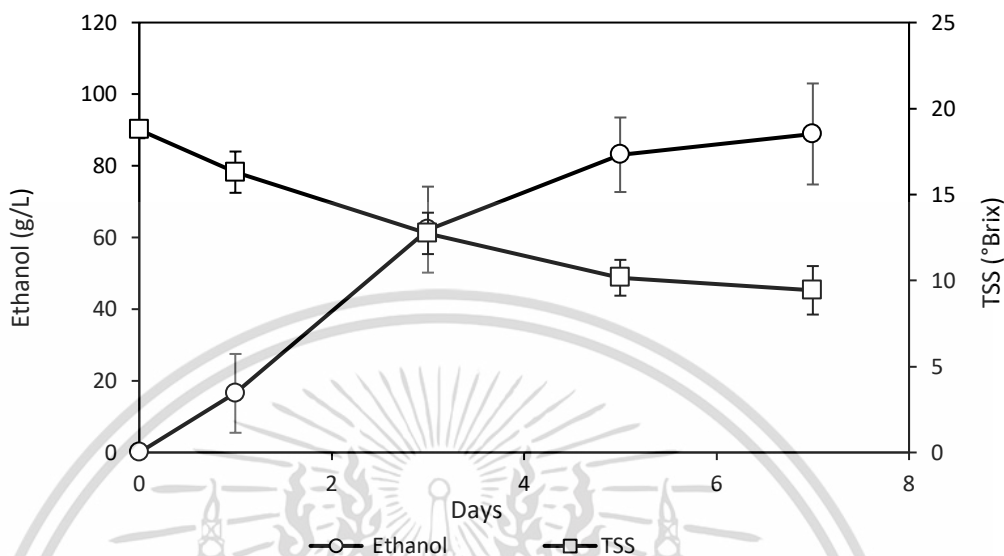
ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีของการผลิตไวน์มะม่วงมหาชนก

Day	TSS (°Brix)	Ethanol (g/l)	Total acid content (% V/V)	pH
0	18.76 ± 0.49 ^a	0 ± 0.00 ^e	0.04 ± 0.01 ^d	4.54 ± 0.37 ^a
1	16.63 ± 1.20 ^b	16.50 ± 11.00 ^d	0.24 ± 0.05 ^b	3.38 ± 0.39 ^b
3	12.74 ± 1.20 ^c	62.20 ± 12.00 ^c	0.26 ± 0.02 ^a	2.90 ± 0.07 ^c
5	10.16 ± 1.04 ^d	83.10 ± 10.00 ^b	0.26 ± 0.01 ^a	2.86 ± 0.13 ^c
7	9.43 ± 1.41 ^e	88.90 ± 14.10 ^a	0.22 ± 0.03 ^c	2.98 ± 0.12 ^c

หมายเหตุ: ตัวอักษร a b c d และ e ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบโดยวิธี Tukey และค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย ± ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จาก ภาพที่ 4.1 ช่วงแรกในการหมัก วันที่ 0-1 มีการผลิตเอทานอลอย่างช้า ๆ พร้อมกับลดลงของ TSS อย่างช้า ๆ แต่เมื่อวันที่ 1-2 เชื้อมีการผลิตเอทานอลอย่างรวดเร็วทำให้ TSS ลดอย่างรวดเร็ว และในช่วง 3-7 วัน มีปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้นช้าลง แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการใช้น้ำตาลอย่างไรซึ่งสอดคล้องกับผลการวิจัยของ ปณิตตา และคณะ [43] ของเชื้อได้ใช้น้ำตาลกลูโคส ในสภาวะปราศจากออกซิเจน โดยใช้กระบวนการทางชีวเคมีที่อาศัยปฏิกิริยาของเอนไซม์ เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นแอลกอฮอล์ โดยผ่าน Embden-Meyerhor-Panas pathway และยังคงสอดคล้องงานวิจัยของ สวรรยา และคณะ [44] ได้ทำการศึกษาการผลิตไวน์จากน้ำเชื่อมในเปลือกสับปะรด โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* Montache ในการหมัก โดย TSS เริ่มต้นมีค่าเท่ากับ 20-22 °Brix พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้ออย่างรวดเร็วในระยะเวลาช่วงแรกของการหมัก เนื่องจากเชื้อยีสต์มีการใช้ออกซิเจนในการเพิ่มจำนวน แต่เมื่อออกซิเจนได้หมดลงยีสต์จึงหยุดการเพิ่มจำนวน ส่งผลให้เชื้อทำการบริโภคน้ำตาลที่มีอยู่เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจึงลดลงตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ใช้เวลาในการหมัก 7 วัน ได้แอลกอฮอล์ 119.00 กรัมต่อลิตร และ TSS อยู่ที่ 8 °Brix

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้าไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.1 ความสัมพันธ์ระหว่างระยะเวลา ปริมาณเอทานอล และ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ในการผลิตไวน์มะม่วงหาวหงอกโดยเชื้อ *S. cerevisiae* FER1 ที่สภาวะไม่ควบคุมอุณหภูมิ เป็นเวลา 7 วัน

4.2 ผลของสภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมของ *A. aceti* WK ช่วง Start-Up โดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ

จากผลการศึกษาหาสภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมของ *A. aceti* WK ช่วง Start-Up ในถังหมัก ด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) โดยศึกษาการปรับความดันในการเติมอากาศที่ระดับ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 บาร์ ในความเข้มข้นเริ่มแรก TC 80 กรัมต่อลิตร (ปริมาตรกรดแอสซิติค 45 กรัมต่อลิตร และเอทานอล 35 กรัมต่อลิตร) ปริมาตร 250 ลิตร และทำการตรวจวัดทุก 2 วันของการหมัก โดยวัดปริมาณเอทานอล ปริมาณกรดรวม (กรดแอสซิติค) น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell Dry Weight (CDW)) และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen; DO) มีผลแสดงใน ตารางที่ 4.2 ในสภาวะการเติมอากาศที่ความดัน 0.5 bar มีการอัตราการเจริญของเชื้อดีที่สุด (0.020 ± 0.014 กรัมต่อลิตรต่อวัน) แต่เมื่อเปรียบเทียบกับปริมาณอากาศที่ความดัน 0.25 และ 1.00 bar ($p < 0.05$) พบว่าการเจริญของเชื้อที่สภาวะการให้อากาศที่ความดัน 1.00 บาร์ มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณ CDW อยู่ที่ 0.011 ± 0.003 กรัมต่อลิตรต่อวัน สูงกว่าในสภาวะ 0.02 บาร์ แต่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการเจริญเพิ่มจำนวนเมื่อปริมาณอากาศที่เหมาะสม

ในสภาวะการเติมอากาศที่ความดัน 0.25 บาร์ พบว่า มีปริมาณกรดสุดท้ายสูงที่สุด (71 ± 2 กรัมต่อลิตร) และอัตราเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพสูงสุด (83.5 ± 5.8 %) ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) กับ สภาวะการเติมอากาศที่ความดัน 1.0 บาร์ ปริมาณกรดสุดท้ายและอัตราเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ อยู่ที่ 65 ± 2 และ 65.4 ± 9.4 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณกรดสุดท้ายและอัตราเปลี่ยนแปลงทางชีวภาพ มีการสูญเสียเอทานอลในระหว่างกระบวนการหมัก ในทางทฤษฎี [29] ความเข้มข้นทั้งหมดควรคงที่ตลอดกระบวนการ เนื่องจากเอทานอลยังเป็นสารตั้งต้น (คาร์บอน) สำหรับการสังเคราะห์ส่วนประกอบต่างๆ ในเซลล์ จึงสามารถสูญเสียในไซโตพลาสซึม และอาจสูญเสียไปบางส่วนจากการระเหยเนื่องจากปริมาณอากาศที่มากเกินไป ดังนั้นผลผลิตจริงจึงต่ำกว่าตามทฤษฎี [45] ในกระบวนการหมัก Submerged มีข้อกำหนดพื้นฐานดังนี้ คือ 1) ความพร้อมของแอลกอฮอล์ที่เหมาะสม 2) การเติมอากาศอย่างต่อเนื่อง 3) แบคทีเรียแอสซิดิก ที่ทนต่อกรดแอสซิดิกและเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูง ซึ่งทำให้ไม่เกิดการปนเปื้อน เพื่อผลิตแอสซิดิกในปริมาณสูงและ 4) การควบคุมอุณหภูมิก็เป็นสิ่งสำคัญ [46] เนื่องจากการเกิดความร้อนระหว่างกระบวนการหมัก Submerged โดยการหมักกรดแอสซิดิกเป็นปฏิกิริยาคายความร้อน โดยผลิตประมาณ 8.4 MJ ต่อเอทานอลออกซิไดซ์ทุก 1 ลิตร

ระยะเวลาในการหมักเป็นอีกหนึ่งปัจจัยที่แสดงให้เห็นถึงประสิทธิภาพในการหมักโดยมีการกำหนดปริมาณสุดท้ายของเอทานอลต้องน้อยกว่าหรือเท่ากับ 5 กรัมต่อลิตร ถือว่าเป็นการสิ้นสุดกระบวนการหมัก ในสภาวะการหมักที่ 0.50 บาร์ นั้น มีระยะเวลาในการหมักที่น้อยที่สุด (8 ± 1 วัน) แต่ในสภาวะการเติมอากาศที่ 0.25 บาร์นั้น มีระยะเวลาในการหมักมากที่สุด (25 ± 2 วัน) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) และเมื่อสภาวะอากาศที่ความดันมากกว่า 0.5 บาร์ พบระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นตามลำดับ แสดงให้เห็นว่าปริมาณอากาศที่มากเกินไปมีผลต่อกระบวนการหมัก

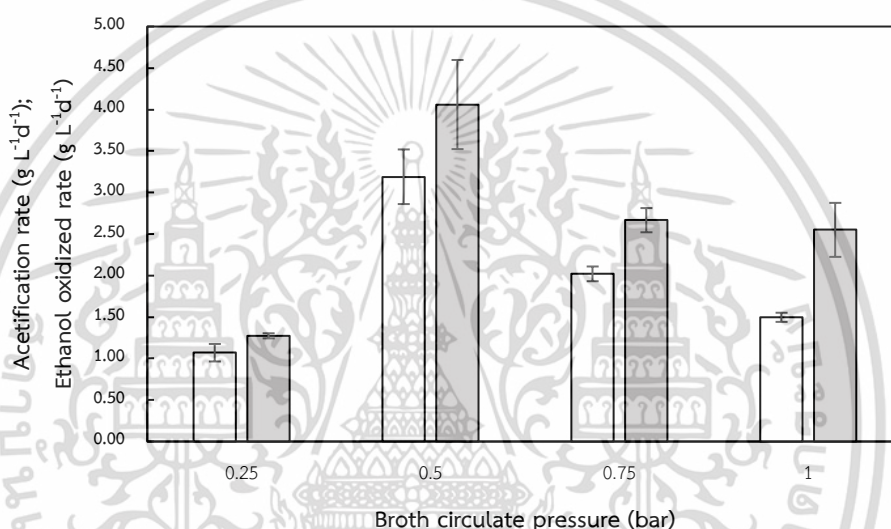
ตารางที่ 4.2 อิทธิพลของการเติมอากาศในช่วง Start-Up (ปริมาตร 250 ลิตร) โดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศของเชื้อ *A. aceti* WK ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส

	Broth circulates pressure (bar)			
	0.25	0.50	0.75	1.00
Final acidity (g/L)	71±2 ^a	70±2 ^{ab}	68±0 ^{bc}	65±2 ^c
Acid produced (g/L)	27±2 ^a	25±2 ^{bc}	23±1 ^{cd}	20±2 ^d
Biotransformation Yield (%)	83.5± 5.8 ^a	78.8±0.8 ^{ab}	75.7±0.9 ^{ab}	65.4±9.4 ^b
Average start up period (d)	25±2 ^a	8±1 ^c	11±1 ^{bc}	14±1 ^b
Cell dry weight rate (g /l /d)	0.007±0.002	0.020±0.014	0.005±0.001	0.011±0.003
Average dissolved oxygen (ppm)	2.61±0.22 ^a	2.90±0.17 ^a	3.53±0.35 ^a	4.33±0.65 ^{ac}

หมายเหตุ: ตัวอักษร a b c d และ e ที่แตกต่างกันในแนวตั้ง หมายถึง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p \leq 0.05$) และค่าที่แสดงในตาราง คือ ค่าเฉลี่ย±ค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน

จาก ตารางที่ 4.2 แสดงถึงอัตราการผลิตกรดต่อวัน (Acetification rate; ETA) และการออกซิไดซ์เอทานอล (Ethanol oxidized rate, ER) ต่อสถานะการให้อากาศที่เปลี่ยนไปพบว่าในช่วง 0.25 บาร์ มีค่า AR ต่ำที่สุด (1.90 กรัมต่อลิตรวัน) แต่สถานะการให้อากาศที่ความดัน 0.5 บาร์ มีค่า ETA ที่สูงที่สุด (3.19 กรัมต่อลิตรวัน) แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ในส่วนของ ER นั้น มีค่าสูงสุดไปจนถึงต่ำสุดเรียงลำดับดังต่อไปนี้ 0.5 0.75 0.25 และ 1 บาร์ ซึ่งมีลักษณะผลที่สอดคล้องกันกับผลของ ETA ผลทั้งหมดแสดงให้เห็นว่าสถานะการเติมอากาศที่ความดัน 0.5 บาร์ เป็นสถานะเหมาะสมในช่วง Start-Up ถึงหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) งานวิจัยอีกชิ้นของ วราวุฒิและคณะ [47] ได้ศึกษากระบวนการหมัก Quick acetification process (QAP) ระบบการหมักแบบ pack bed-external aerated fermenting medium system (PB-EAFM system) ปริมาณอากาศที่ให้แตกต่างกันในระหว่างกระบวนการ พบว่าเมื่อเพิ่มปริมาณอากาศจาก 0 3 6 และ 9 ลิตรต่ออนาที ส่งผลให้อัตราการผลิตกรดเพิ่มมากขึ้นตามปริมาณอากาศที่เพิ่มขึ้น ซึ่งปริมาณอากาศที่เหมาะสมส่งผลต่อการผลิตกรดด้วย และ [48] ปริมาณออกซิเจนที่ละลายในน้ำสูงสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของ AAB โดยมีส่วนทำให้เกิดความเครียดจากปฏิกิริยาออกซิเดชันและสร้างความเสียหายของโปรตีนภายในเซลล์ และ [49] พบว่าในระหว่างกระบวนการ Submerged เมื่อมีปริมาณออกซิเจนสูงกว่า 40% สามารถเพิ่มความเข้มข้นของอะซีตัลดีไฮด์ให้สูงขึ้นกับแต่ขณะเดียวกันมีการยับยั้ง ALDH ซึ่งในงานวิจัยของ Krusong และคณะ [33] ที่ได้ศึกษา

กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู ด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) ขนาด 100 ลิตร มีลักษณะการเติมอากาศเช่นเดียวกับงานวิจัยที่ศึกษา (ขนาด 1,000 ลิตร) โดยทำการผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวในสภาวะการเติมอากาศที่ 1 ลิตรต่อนาที่ ในช่วง Start-up ในความเข้มข้น TC 80 พบว่ามีระยะเวลาในการผลิต 10 วัน อนึ่งถึงหมักระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) แสดงให้เห็นว่าการเพิ่มขึ้นปริมาตร 100 ลิตร เป็น 1,000 ลิตร ซึ่งสามารถผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้จริงระดับอุตสาหกรรม



ภาพที่ 4.2 อัตราการผลิตกรดต่อวัน (Acetification rate; ETA) (□) และ การออกซิไดซ์เอทานอล (Ethanol oxidized rate; ER) (■) ของเชื้อ *A. aceti* WK ช่วงการ Start-Up (ปริมาตร 250 ลิตร) ในสภาวะการเติมอากาศที่แตกต่างกัน

4.3 ผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* WK ในช่วง operation phase (600 ลิตร) โดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ

จากการศึกษาในหัวข้อที่ 4.2 ผลการศึกษาหาสภาวะการเติมอากาศที่เหมาะสมของ *A. aceti* WK ช่วงการ Start-Up โดยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ สภาวะการเติมอากาศที่ 0.5 บาร์ เป็นสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในกระบวนการหมัก โดยความเข้มข้นรวมเริ่มต้น TC 8 มีปริมาตรเริ่มแรก 250 ลิตร ในหัวข้อนี้ได้ทำการศึกษาความเป็นไปได้การผลิตน้ำส้มสายชูในปริมาณ 600 ลิตร ในช่วง operation phase ทั้งหมด 3 รอบการหมัก ทำการตรวจวัดทุก 2 วันของการหมัก โดยวัดปริมาณเอ

ทานอล ปริมาณกรดรวม (กรดแอสติค) น้ำหนักเซลล์แห้ง และค่าออกซิเจนละลาย จากตารางที่ 4.3 ผลของ AR 1.29 กรัมต่อลิตรต่อวัน และผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารได้ร้อยละ 97 ในระยะเวลาการหมัก 19 21 และ 33 วัน แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *A. acetii* WK มีความสามารถทนต่อกรดได้ ผลการศึกษานี้สอดคล้องกับงานวิจัยของ Krusong [12] โดยได้ศึกษาผลของการเพิ่มระดับความเข้มข้นของกรดแอสติคเริ่มต้นที่ 45 55 และ 65 กรัมต่อลิตร มีความเข้มข้นของเอทานอลคงที่ 35 กรัมต่อลิตร มีอัตราการผลิตกรดที่สูง ซึ่งแสดงให้เห็นว่าเชื้อ *A. acetii* WK มีความทนต่อกรดที่สูง

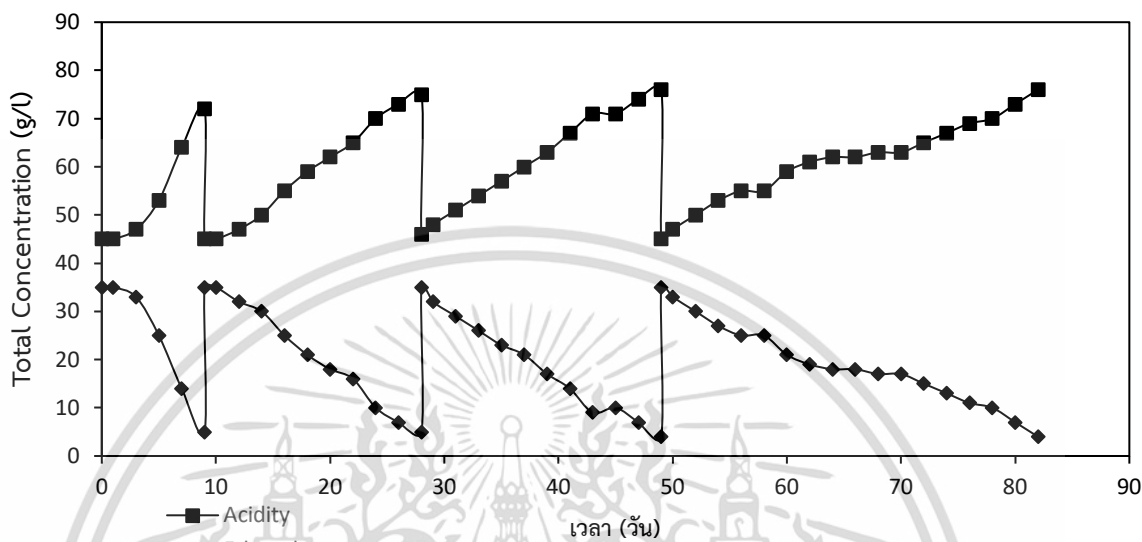
ตารางที่ 4.3 ประสิทธิภาพการผลิตกรดโดย *A. acetii* WK ที่สภาวะการให้อากาศ 0.5 บาร์ที่อุณหภูมิ 30±1 องศาเซลเซียส ในช่วง Operation

Cycle	Time (day)	Total acid content		AP (g/l)	ETA (g/l) d	Ethanol		Ethanol Oxidated	Biotransformation Yield (%)
		First (g/l)	Final (g/l)			First (g/l)	Final (g/l)		
Start-up	9	45	72	27	30.00	35	5	30	90.0
1	19	46	75	30	1.58	35	5	30	100.0
2	21	46	76	30	1.40	35	4	31	96.7
3	33	45	76	31	0.90	35	4	31	100.0
Average				30	1.29			31	97

จากภาพที่ 4.3 พบว่าช่วง Start-Up ในวันที่ 0 และ 1 แบคทีเรียมีการปรับตัว ไม่มีการผลิตกรด และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในระยะเวลา 9 วัน ปริมาณเอทานอลสุดท้ายอยู่ที่ 5 กรัมต่อลิตร ผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารร้อยละ 90 แสดงในตารางที่ 4.3 ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการสูญเสียในระหว่างการหมัก เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Kusong และคณะ [12] ได้ศึกษาความเข้มข้นรวม TC 100 กรัมต่อลิตร (กรดรวม 65 กรัมต่อลิตร และ เอทานอล 35 กรัมต่อลิตร) ที่ส่งผลต่อการผลิตกรดรวม โดยเชื้อ *A. acetii* WK พบการเพิ่มขึ้นของกรดรวมและเอทานอลอย่างรวดเร็ว ซึ่งค่าผลได้การเปลี่ยนแปลงรูปสารช่วง Start-Up อยู่ที่ร้อยละ 83.8 แต่เมื่อรอบการหมักอื่น ๆ มีค่าระหว่างร้อยละ 89.7 ถึง 98.3 และในตามทฤษฎีกระบวนการผลิตกรดแอสติคของ *Gluconobacter* พบโปรตีนคินัวในผนังเซลล์ (Membrane-bound quinoproteins) ทำหน้าที่เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นอัลดีไฮด์ อัลดีไฮด์เป็นกรดแอสติค และของเสียจากกระบวนการนี้คือ คาร์บอนไดออกไซด์ และ น้ำ ซึ่งของเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

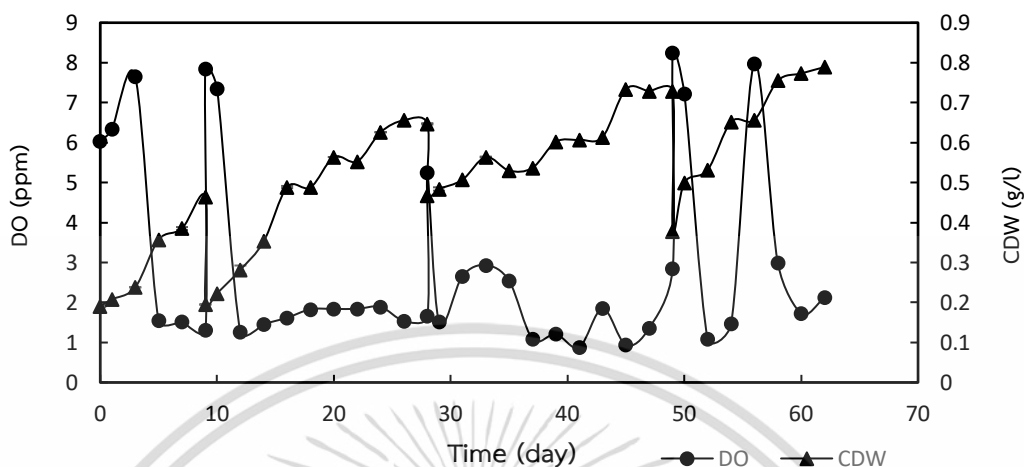
ดังกล่าวทำให้เกิดการออกซิเดชันของกรดแอสติก จึงจำเป็นต้องมีเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงและออกซิเจนอย่างต่อเนื่องในระบบการหมักแบบจุ่ม (Submerged fermentations) [29]



ภาพที่ 4.3 ความสัมพันธ์ระหว่าง ET (กรัมต่อลิตร) กับ กรดแอสติก (กรัมต่อลิตร) โดย *A. aceti* WK ที่สภาวะการให้อากาศ 0.5 บาร์ ในช่วง Operation ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส

จากภาพที่ 4.4 ในช่วงของ Start-Up ในวันที่ 0 1 และ 3 มีค่าออกซิเจนละลาย (Dissolved oxygen (DO)) อยู่ที่ 6.03 ± 0.08 ppm 6.33 ± 0.01 ppm และ 7.65 ± 0.00 ppm ตามลำดับและมีปริมาตร CDW อยู่ที่ 0.191 ± 0.003 กรัมต่อลิตร 0.208 ± 0.003 กรัมต่อลิตร และ 0.238 ± 0.003 กรัมต่อลิตร แสดงให้เห็นว่าเชื่อนั้นมีการปรับสภาพในระหว่างการหมักช่วงแรก ๆ แต่เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นค่า DO ลดลง พร้อมกับการเพิ่มขึ้นของปริมาตร CDW (Log phase) ซึ่งการเพิ่มขึ้นหรือลดลงของ CDW และ DO ลักษณะนี้เกิดขึ้นในทั้ง 3 รอบการหมัก และในวันสุดท้ายของทุกรอบการหมัก

ในการ Start-Up รอบที่ 1 รอบที่ 2 และรอบที่ 3 มีปริมาตร CDW อยู่ที่ 0.465 ± 0.05 กรัมต่อลิตร 0.647 ± 1.66 กรัมต่อลิตร 0.730 ± 0.002 กรัมต่อลิตร และ 0.790 ± 0.002 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ W. krusong และคณะ [3] ได้แสดงความสัมพันธ์ของ CDW



ภาพที่ 4.4 ความสัมพันธ์ระหว่าง DO (ppm) ระหว่าง CDW (กรัม/ลิตร) ที่สภาวะการเติมอากาศ 0.5 บาร์ ในช่วง Operation ปริมาตร 600 ลิตร ที่อุณหภูมิ 30 ± 1 องศาเซลเซียส

และ DO ในช่วง Start-Up มีปริมาณ CDW สูงสุด 0.0052 ± 0.0014 กรัมต่อลิตร หลังจากหมัก 7 วัน และรอบการหมักถัดไป ใช้ในการหมัก 8 วัน ปริมาณ CDW สูงสุด 0.036 ± 0.0015 กรัมต่อลิตร โดยที่ทั้งรอบการหมักนี้มีการลดของ DO ในวันแรกและวันสุดท้ายอย่างมีนัยสำคัญ ในทิศทางเดียวกัน การเจริญของ Acetic acid bacteria มีการเจริญที่ช้าลงเมื่อมีปริมาณกรดแอสติกสูงกว่า 40 กรัมต่อลิตร และถ้ามีปริมาณกรดแอสติกสูงกว่า 60 กรัมต่อลิตร ทำให้การเจริญยิ่งช้าลงกว่าเดิม

4.4 การประเมินค่าใช้จ่ายในการผลิต

การประเมินต้นทุนเบื้องต้นในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะม่วงมหาชนก สำหรับงานวิจัยชิ้นนี้ แบ่งการคำนวณออกเป็น 6 ส่วน 1) วัตถุดิบ 2) บรรจุภัณฑ์ 3) ค่าแรง 4) ค่าการตลาด 5) ค่าใช้จ่ายบริการ 6) ค่าใช้จ่ายโรงงานและเครื่องจักรต่าง ๆ ได้แก่ ค่าเครื่องชุดหมักน้ำส้มสายชู ค่าเครื่อง Cooling ค่าเครื่องพาสเจอร์ไรซ์พัฒนาผล และ พาสเจอร์ไรส์เครื่อง UHT/HTST (Microthermic) จากตารางที่ 4.4 แสดงต้นทุนค่าใช้จ่ายทั้งหมดในการผลิตซึ่งพบว่ามีค่าการตลาดสูงสุดถึง 75.54 บาท และราคาของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะม่วงมหาชนก รวม 234.03 บาทต่อลิตร

ตารางที่ 4.4 ต้นทุนเบื้องต้นในการผลิตน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนก

ต้นทุน	ราคา (บาท)
วัตถุดิบ	56.78
บรรจุภัณฑ์	2.40
ค่าแรง	27.78
ค่าใช้จ่ายโรงงานและเครื่องจักร	51.73
ค่าใช้จ่ายบริการ	20.80
ค่าการตลาด	74.54
รวม	234.03

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

งานวิจัยนี้เป็นการศึกษาและพัฒนากระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากมะม่วงมหาชนกโดยถังหมักมะม่วงมหาชนกมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด 14.73 ± 0.96 °Brix และค่าพีเอช 4.41 ± 0.01 ซึ่งเป็นมะม่วงที่ไม่ได้เป็นไปตามข้อกำหนดจากกระบวนการผลิต โดยเริ่มแรกผลิตไวน์มะม่วงมหาชนกได้ปริมาณเอทานอล 88.90 ± 4.50 กรัมต่อลิตร เพื่อนำไวน์ไปผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมักในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูถูกแบ่งออกเป็นสองช่วงดังนี้ ช่วง Start-Up (250 ลิตร) และช่วง Acetification operation (600 ลิตร) โดยในช่วง Start-Up มีตัวแปรที่ศึกษา คือ ความดันในการเติมอากาศ ประกอบไปด้วย 4 ความดัน ได้แก่ 0.25 0.50 0.75 และ 1.00 บาร์ โดยส่งผลให้ ปริมาณเอทานอล ปริมาณกรดรวม (กรดแอสซิดิก) น้ำหนักเซลล์แห้ง และ ค่าออกซิเจนละลาย ภายใต้สภาวะควบคุม อุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส พบว่ามีความดันในการเติมอากาศในช่วง 0.50 บาร์ อัตราการผลิตกรดที่ตีที่สุด ส่วนในช่วง Acetification operation ได้ทำการผลิตในระบบ 600 ลิตร ซึ่งเลือกความดันในการเติมอากาศ ที่ดีที่สุดของช่วง Start-Up

1) ความดันในการเติมอากาศ เป็นปัจจัยที่สำคัญส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *A. aceti* WK ซึ่งการผลิตกรดต่อวันของเชื้อเป็นตัวแปรสำคัญในการตัดสินใจ พบว่าในช่วงการหมัก Start-Up ความดันในการเติมอากาศที่ 0.5 บาร์ เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95 เปอร์เซ็นต์ รองลงมา คือ 0.75 1.00 และ 0.25 บาร์ ตามลำดับ มากไปกว่านั้น ความดันในการเติมอากาศที่เพิ่มขึ้นจาก 0.75 ถึง 1.00 ยังพบว่ามีอัตราการผลิตกรดที่ต่ำลง

2) ในการปรับปริมาตรจาก 250 ลิตร (Start-Up) เป็น 600 ลิตร (Acetification operation) แสดงให้เห็นว่า *A. aceti* WK มีการเจริญและอัตราการผลิตกรดเฉลี่ยอยู่ที่ 12.84 กรัมต่อลิตรต่อวัน ซึ่งความสามารถในการปรับสภาพในเปลี่ยนแปลงอย่างรวดเร็วของความเข้มข้น และมีการผสมน้ำหมักในเครื่องหมักด้วยระบบผสมกับอากาศได้อย่างมีประสิทธิภาพ ดังนั้นจึงทำให้สามารถผลิตน้ำส้มสายชูหมักในระดับโรงงานต้นแบบได้จริง

5.2 ข้อเสนอแนะ

เพื่อให้การศึกษากำหนดการผลิตน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกให้มีความสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ควรมีการศึกษาเพิ่มเติมดังนี้

5.2.1 จำเป็นศึกษาเพิ่มเติมเกี่ยวกับกระบวนการหมักในช่วง Acetification operation เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในช่วงการหมักนี้

5.2.2 จำเป็นต้องศึกษากระบวนการหมักไวน์เพิ่มเติมเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพให้มีการผลิตไวน์ได้ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีคุณภาพที่ดีและคงที่

5.2.3 เพิ่มความเข้มข้นเริ่มแรกให้สูงขึ้นจาก TC 80 กรัมต่อลิตร เป็น TC 90 กรัมต่อลิตร เพื่อให้เชื้อ *A. aceti* WK มีความทนทานต่อกรดมากขึ้น และตอบสนองความต้องการในระดับอุตสาหกรรม น้ำส้มสายชูที่ต้องการปริมาณกรดสุดท้ายที่สูง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

- [1] ประชาสัมพันธ์ กรมส่งเสริมการเกษตร. 2562. เครือข่ายมะม่วงเข้มแข็ง เดินหน้าลุยตลาดผลไม้ เมืองร้อนระดับโลก. [Online]. เข้าถึงจาก <https://es-la.facebook.com/pr.doae/posts/1143073129203981/>. 2566.
- [2] อุบล ชินวัง ทินน์, พรหมโชติ สาธิต พสุวิทย์กุล และวนัสสันต์ นันทะบรรณ. 2558. “ปริมาณผลผลิตและคุณภาพของมะม่วงพันธุ์มหาชนกในการผลิตนอกฤดู.” วารสารเกษตรพระจอมเกล้า. 33(1) : 72-83.
- [3] ผู้จัดการออนไลน์. 2563. ถูกมาก! เก็บเองถึงสวน มะม่วงมหาชนกเกรดส่งออก กก.ละ 5 บาท. [Online]. เข้าถึงจาก : <https://mgronline.com/local/detail>. 2566.
- [4] Harnkarnsujarit, N., and Charoenrein, S. 2011. Influence of collapsed structure on stability of β -carotene in freeze-dried mangoes. **Food Research International**. 44 : 3188-3194.
- [5] Pott, I., Marx, M., Neidhart, S., Mühlbauer, W., and Carle, R. 2003. Quantitative determination of β - carotene stereoisomers in fresh, dried, and solar-dried mangoes (*Mangifera indica* L.). **Journal of Agricultural and Food Chemistry**, 51 : 4527–4531.
- [6] จุฑามาศ มณีวงศ์. 2555. “การผลิตน้ำส้มสายชูจากสาโท.” รายงานผลการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. (รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์).
- [7] วิภาวรรณ วงศ์สุดาลักษณ์ และฐิติมาพร หนูเนียม. 2013. “การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกและกากส้มเหลือใช้. วารสารวิจัย มสศ สาขาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี.” 6(1) : 159-170.
- [8] Heitor O.S., M Wilson M.A.M. M., Guilherme, A.R.da S., Jonato P. and Brad, J.S. 2019. Vinegar (acetic acid) intake on glucose metabolism: A narrative review. **Clinical Nutrition ESPEN**. 32 : 1-7.
- [9] Samad, A., Azlan, A. and Ismail, A. 2016. Therapeutic effects of vinegar: a review. **Current Opinion in Food Science**. 8:56–61.
- [10] Tesfaye, W., Morales, M.L., García-Parrilla, M.C., and Troncoso, A.M. 2002. Wine vinegar: technology, authenticity and quality evaluation. **Trends in Food Science & Technology**. 13(1) : 12-21

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- [11] Krusong, W., Yaiyen, S., and Pornpukdeewatana, S. 2014. Impact of high initial concentrations of acetic acid and ethanol on acetification rate in an internal Venturi injector bioreactor. *Journal of Applied Microbiology*. 118(3) : 1-12.
- [12] Krusong, W., Pornpukdeewatana, S., Kerdpi boon, S., and Tantratian, S. 2014. Prediction of influence of stepwise increment of initial acetic acid concentration in charging medium on acetification rate of semicontinuous process by artificial neural network. *LWT - Food Science and Technology* 56, 383-389.
- [13] กิตติพงษ์ ห่วงรักษ. 2535. ผักและผลไม้. กรุงเทพฯ : ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [14] เฉลิมพล ภูมิไชย. 2543. “การศึกษาเปรียบเทียบพันธุกรรมของมะม่วงมหาชนก และมะม่วงพันธุ์ต่าง ๆ ที่สวนคุณประพัฒน์ สิทธิสังข์.” วิทยานิพนธ์วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการปรับปรุงพันธุ์พืชและเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาพืชสวน, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.
- [15] กฤษณ์ สงวนพวง. 2019. “กิจกรรมการต้านอนุมูลอิสระ ปริมาณเบต้าแคโรทีน ไลโคพีน และฟลาโวนอยด์ของมะม่วงรับประทานดิบสายพันธุ์พื้นบ้านในประเทศไทยหลังการเก็บเกี่ยว.” วารสารวิจัย UTK ราชชมงคลกรุงเทพ. 1: 68-81.
- [16] วิจิตร วังไ. 2529. “มะม่วง.” กรุงเทพฯ: บริษัท ศรีสมบัติกีพิมพ์ จำกัด 355/21 ถนน จรัญสนิทวงศ์.
- [17] สุมาลี วรรณชัชสิทธิ์, ภัคดี สุขพรสวรรค์และมิก้าเอล โลโซลา. โครงการการศึกษาการเสื่อมสภาพของยาเม็ดวิตามินซีโดยเคมีวิเคราะห์ร่วมกับการประมวลผลด้วยภาพดิจิทัล. โครงการวิจัยประเภทงบประมาณเงินรายได้จากเงินอุดหนุนรัฐบาล (งบประมาณแผ่นดิน). 2560.
- [18] วัฒนา วิรุฒิก. 2554. “ผลของอุณหภูมิที่มีต่อปริมาณวิตามินซีและไลโคปีนในผลิตภัณฑ์น้ำมะเขือเทศผสมน้ำส้มเขียวหวาน.” โครงการวิจัยได้รับเงินสนับสนุนจากงบประมาณรายได้ คณะเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.
- [19] ไอลดา ปิงสุแสน. 2558. “การผลิตสีผสมอาหารจากแคโรทีนอยด์ในเนื้อ ตาลสุก.” วิทยานิพนธ์ วิศวกรรมศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีอาหาร มหาวิทยาลัยศิลปากร.
- [20] ณัฐพร จันทร์ฉาย. 2560. “การศึกษาปริมาณแคโรทีนอยด์และฤทธิ์ในการยับยั้งอนุมูลอิสระจากผักสมุนไพรบางชนิดที่รับประทานกับลาบ.” การประชุมวิชาการและนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ “แม่โจ้-แพรววิจัย ครั้งที่ 2. 834-837.

- [21] ดวงพร ภู่มะกา. 2558. “การประเมินปริมาณสารพฤกษเคมีบางประเภทฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารกลุ่มฟีนอลิกของมะม่วงพื้นเมืองจังหวัดฉะเชิงเทรา.” วารสารวิทยาศาสตร์ มข. 2: 267-283.
- [22] Maoka, T. 2020. Carotenoids as natural functional pigments. **Journal of Natural Medicines volume. 74:** 1-16.
- [23] จุฑามาศ มณีวงศ์. 2555. “การผลิตน้ำส้มสายชูจากสาโท.” รายงานผลการวิจัย ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้. (รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์).
- [24] Chin W.H., Azwan M.L., Shazrul F., Umi K.H.H.Z., and Seng J.L. 2017. “Varieties, production, composition and health benefits of vinegars: A review.” **Food Chemistry. 15(221) :** 1621-1630.
- [25] Solieri, L. and Giudici, P. 2009. **Vinegars of the world.** Springer: Grafiche Porpora, Italy.
- [26] Slapack, G.E., Russell, I. and Stewart, G.G. 1988. **Thermophilic Bacteria and Thermotolerant Yeasts for Ethanol Production.** Chemical Rubber Company Press, Boca Raton, Florida.
- [27] รุจิรา ทองเหลืองดี. 2556. การแยกและการคัดเลือกแบคทีเรียอะซิติก และยีสต์จากการหมักน้ำส้มสายชูเพื่อปรับปรุงคุณภาพน้ำส้มสายชูหมัก. วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [28] Gullo, M., Verzelloni, E., and Canonico, M. 2014. Aerobic submerged fermentation by acetic acid bacteria for vinegar production: Process and biotechnological aspects. **Process Biochemistry. 49:** 1571-1579.
- [29] Batt, C., A. and Tortorello, M., L., 2014. **Encyclopedia of Food Microbiology. Second Edition.** UK: 32 Jamestown Road, London NW1 7BY. 3: 1-941.
- [30] สมุณฑา วัฒนสินธ์. 2545. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 2. กรุงเทพฯ : จามจุรีโปรดักท์.
- [31] บุษกร อุตรภิชชาติ. 2552. จุลชีววิทยาทางอาหาร. พิมพ์ครั้งที่ 4. สงขลา : ศูนย์หนังสือมหาวิทยาลัยทักษิณ.
- [32] ญ์ภูริสรัล สายชนะ. 2558. “แบคทีเรียอะซิติก : สรีรวิทยาและการประยุกต์ใช้ในอุตสาหกรรม.” วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ หัวเฉียวเฉลิมพระเกียรติ. 1(1) : 75-89.
- [33] Krusong, W., Yaiyen S., and Pornpukdeewatana. S. 2014. Impact of high initial concentrations of acetic acid and ethanol on acetification rate in an internal Venturi injector bioreactor. **Journal of Applied Microbiology. 118(3):** 1-12.

- [34] ธนขวัญ บุชบัน. 2553. ความหลากหลายทางชีวภาพของแบคทีเรียกรดน้ำส้มที่พบในอาหารหมักดองในเขตดุสิต กรุงเทพมหานคร. รายงานการวิจัยได้รับทุนอุดหนุนจากมหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา.
- [35] de ley, J., and Frateur, J. 1974. **The genus *Acetobacter*. 8nd ed.** Baltimore : The Williams and Wilkins Co.
- [36] Krusong, W. and Vichitraka, A. 2011. An Air-lift acetifier with mash recycling system for corn vinegar production by adsorbed cells of *Acetobacter aceti* WK on Surface of Loofa Sponge. ” **International Conference on Biotechnology and Food Science**. 7(2): 86-90.
- [37] Phanomsophon, T., Sirisomboon, P., Lapcharoensuk, R., Shresthaand, B., and Krusong, W., 2019. Evaluation of acetic acid and ethanol concentration in a rice vinegar internal venturi injector bioreactor using Fourier transform near infrared spectroscopy. **Journal of Near Infrared Spectroscopy**. 27(6) : 414-421.
- [38] Changsawake, K., Krusong, W., Laosinwattana, C., Shrestha B., and Teerarak, M. 2017. Retarding Changes of Postharvest Qualities of Sweet Basil (*Ocimum basilicum* Linn.) by Vapor-Phase Vinegar. **Journal of Herbs, Spices and Medicinal Plants**. 23(4) : 284-298.
- [39] Krusong, W., Kerdpi boon, S., Jindaprasert, A., Yaiyen, S., Pornpukdeewatana, S., and Tantratian, S. 2015. Influence of calcium chloride in the high temperature acetification by strain *Acetobacter aceti* WK for vinegar. **Journal of Applied Microbiology**. 119(5) : 1291-1300.
- [40] Krusong, W., Sriphochanarta, W., Suwapanicha, R., Mekkerdchooa, O., Sriroma, P., Wipatanawinb A., and Massa, S. 2020. Healthy dried baby corn silk vinegar production and determination of its main organic volatiles containing antimicrobial activity. **Food Science and Technology**. 117(1) : 1-9.
- [41] Rankine, B, C. 1993. Making Good Wine: A Manual of Winemaking Practice for Australia and New Zealand, Australia: **Plan Macmillan Publisher**. 374 p.
- [42] วรวรรณี บุญสมปอง. 2557. การคัดกรองแบคทีเรียกรดแลกติกที่มีประสิทธิภาพและการหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตกรดแลกติกจากมันเทศ. วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิตสาขาวิชาชีววิทยา ภาควิชาจุลชีววิทยาบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยศิลปากร.

- [43] ปณิตिता ถาดสรระน้อย, ภัทรารวรรณ ถนอมกลาง และอุสมาวะดี พิทักษ์. 2542. “การผลิตไวน์เสาวรส”. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.
- [44] สวรรยา ปัญญานันท์, ชนกภัทร ผดุงอรธ และวรรณรัตน์ เฉลิมแสนยากร. 2561. “การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์และน้ำส้มสายชูหมักสับประรดเหลือทิ้ง”. การประชุมวิชาการระดับชาติ ราชภัฏหมู่บ้านจอมบึงวิจัย. 6 :455-461
- [45] Ebner, H., Sellmer, S., and Follmann H. **Acetic acid. Biotechnology, vol. 6.** Weinheim: Wiley-VCH; 1996. p. 381–401.
- [46] Wood, B., JB. and Adams, M.R. **Microbiology of fermented foods, vol. 1.** London: Blackie Academic & Professional; 1998 p. 1-37.
- [47] วราวุฒิ ครูสง. 2560. การเพิ่มประสิทธิภาพการสร้างกรดใน Quick acetification process ด้วยการตั้งเซลล์แบคทีเรียอะซิติกด้วยใยบัวใน Packed-bed bioreactor. รายงานการวิจัยฉบับสมบูรณ์.
- [48] Schlepütz, T., Paul Gerhards, J. and Büchs. J. 2013. Ensuring constant oxygen supply during inoculation is essential to obtain reproducible results with obligatory aerobic acetic acid bacteria in vinegar production. 48: 389-405.
- [50] Rubio-Fernández, H., Desamparados, Salvador, M. and Fregapane., G. 2004. Influence of fermentation oxygen partial pressure on semicontinuous acetification for wine vinegar production. **European Food Research and Technology.** 219: 393–397.
- [51] พรพรรณ เลิศทวีสินธุ์. “จุลชีวะยาสาหรกรรม”. เอกสารประกอบการเรียน. ภาควิชาวิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาลัยศรีนครินทรวิโรฒ. 2546.
- [52] de Ory, I., Romero., L., E. and Cantero, D. 2002. Optimum starting-up protocol of a pilot plant scale acetifier for vinegar production. **Journal of Food Engineering.** 52: 31–37.
- [53] de Ory, I., Romero., L., E. and Cantero, D. 2004. Optimization of immobilization conditions for vinegar production. Siran, wood chips and polyurethane foam as carriers for *Acetobacter aceti*. **Process Biochemistry.** 39: 547-555.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก รายละเอียดเครื่องหมักกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

ภาคผนวก ข อาหารเลี้ยงเชื้อ

ภาคผนวก ค วิธีการวิเคราะห์คุณภาพ

ภาคผนวก ง ผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติ

ภาคผนวก จ งานวิจัยที่ได้รับการตีพิมพ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ก

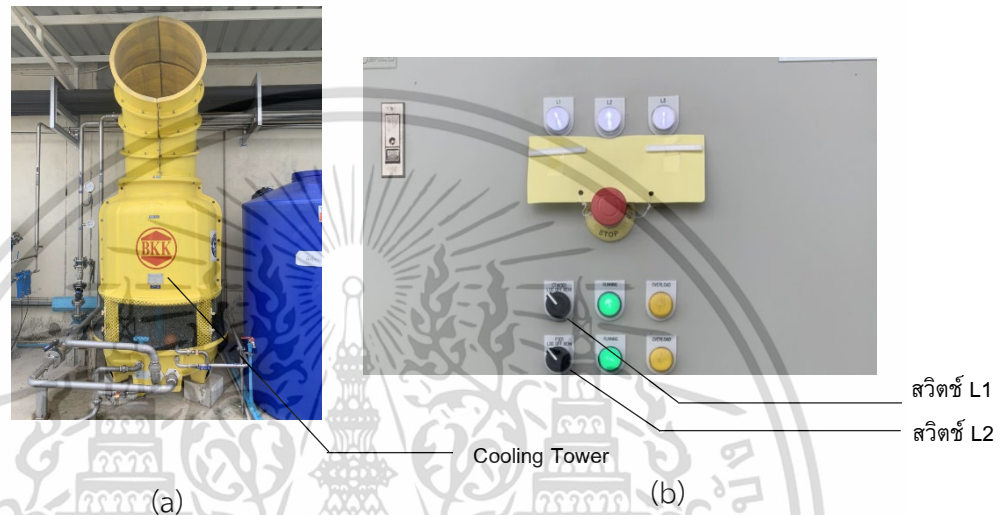
รายละเอียดเครื่องมือกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายละเอียดถึงหมักกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

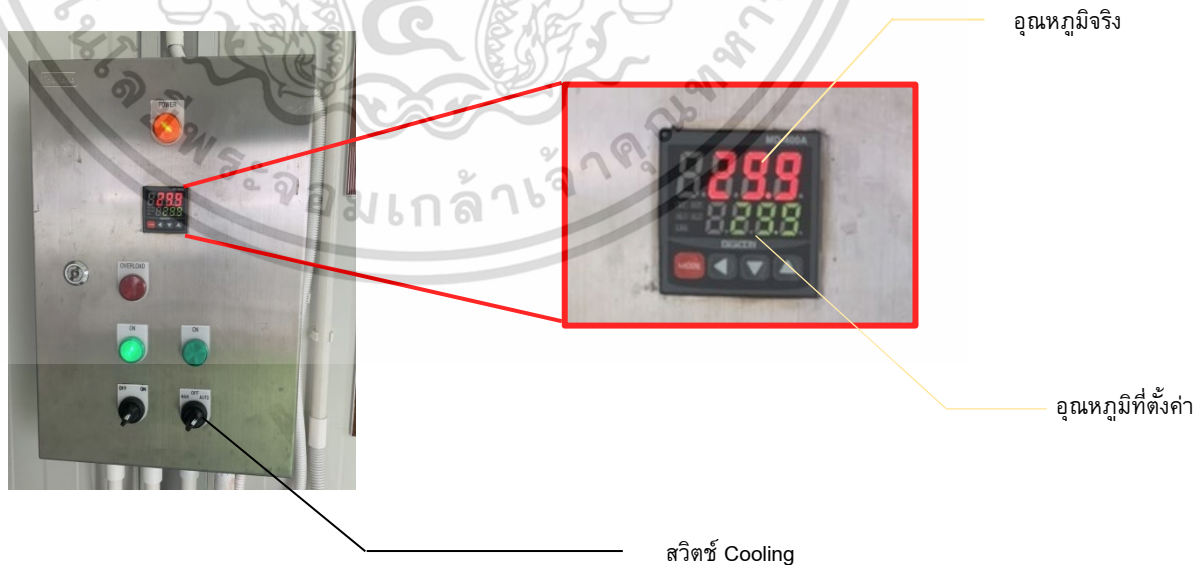
ถึงหมักกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก (Fermented Vinegar Production Process) ด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) เลขที่ทรัพย์สินทางปัญญา : 12907 ในนาม ศ.ดร.วราวุฒิ ครูสง และคณะ มีขั้นตอนการใช้งานดังต่อไปนี้

1. เปิดเครื่อง Cooling Tower ก่อนใช้เครื่องน้ำส้มสายชู 30 นาที โดยเปิดสวิตซ์จาก OFF เป็น LOC



ภาพที่ ก.1 (a) Cooling Tower (b) ตู้ควบคุม Cooling Tower

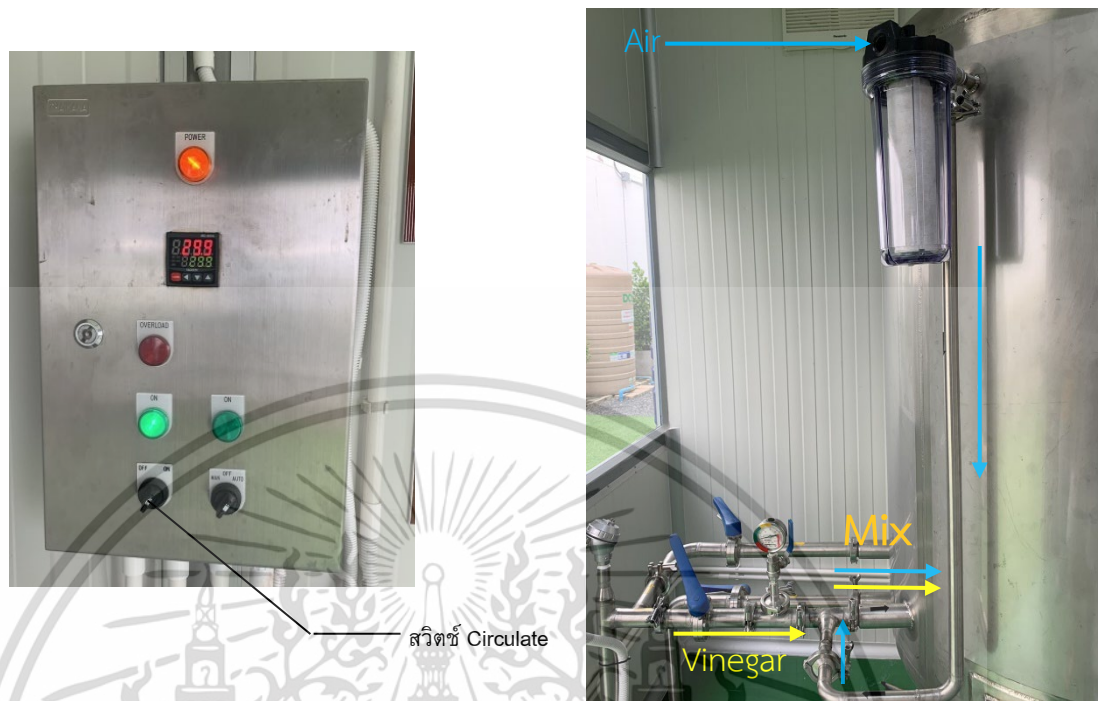
2. ตั้งค่าอุณหภูมิของเครื่องน้ำส้มสายชูที่ 29.9 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นเปิดสวิตซ์ Cooling จาก OFF เป็น AUTO



ภาพที่ ก.2 ตู้ควบคุมในระบบการหมัก (สวิตซ์ Cooling)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

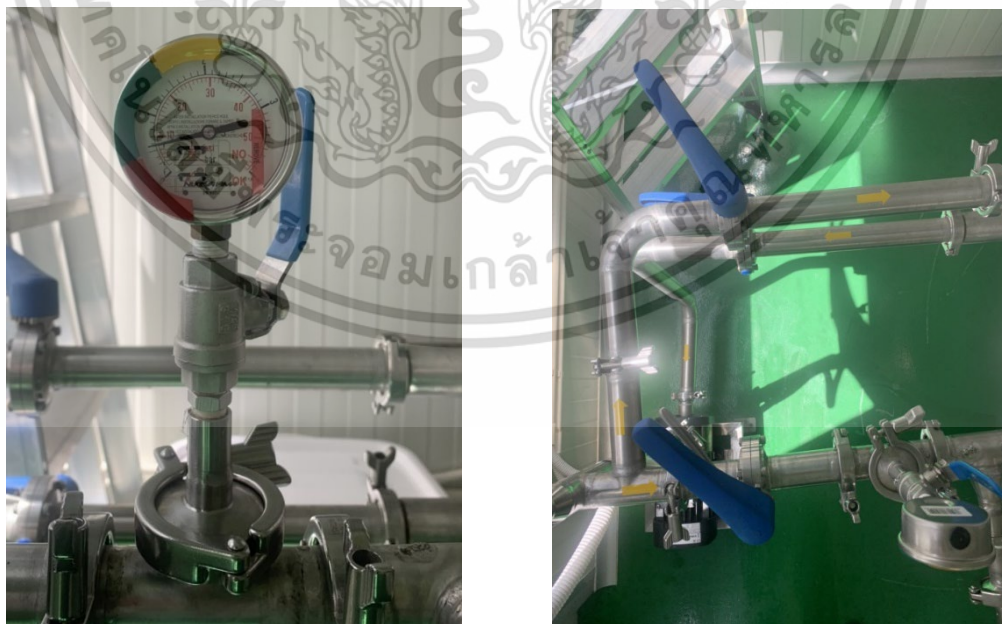
3.เปิดสวิตช์ ปุ่ม Circulate จาก OFF เป็น ON



สวิตช์ Circulate

ภาพที่ ก.3 (a) ตู้ควบคุมในระบบการหมัก (สวิตช์ Circulate) (b) การผสมอากาศภายในถังหมัก

4. หมุนวาล์วสี่ฟ้า 2 วาล์วไปมา ปรับค่าปริมาณอากาศให้อยู่ในช่วง 0.5-1.25 บาร์



ภาพที่ ก.4 (a) เกจวัดแรงดัน (b) วาล์วปรับความดันการเติมอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รายละเอียดและขอบเขตการทำงานของเครื่อง

- ปริมาณบรรจุสูงสุด : 1,000 ลิตร
- ปริมาณบรรจุการผลิตสูงสุด : 600 ลิตร
- ระยะเวลาในการผลิตต่ำสุด : 7 วัน
- ระบบการกรองอากาศ : ไส้กรองอากาศขนาด 5 ไมครอน
- ระบบการ Circulate : อัตราการไหล 31 ลูกบาศก์เมตร ต่อชั่วโมง
- ขนาดเครื่อง : Ø 950 × 1525 มิลลิเมตร
หนา 3 มิลลิเมตร
- ระบบการเปิดปิด Cooling : โซลินอยด์ วาล์ว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวก ข

อาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อาหารเลี้ยงเชื้อ

ข.1 PDA slant (Potato dextrose agar)

- PDA 39 กรัม
- น้ำกรอง 1 ลิตร

ผสมส่วนประกอบทุกอย่างเข้ากันและนำไปให้ความร้อนจนกว่าผสมเข้ากัน หลังจากนั้นเทใส่หลอดทดลองในปริมาตร 7 มิลลิลิตร นำ PDA ที่ได้ไปฆ่าเชื้อ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ข.2 YM (Yeast malt broth)

- Malt extract 3 กรัม
- D-Glucose 10 กรัม
- Yeast extract 5 กรัม
- Peptone 5 กรัม
- น้ำกรอง 1 ลิตร

ผสมทุกอย่างเข้ากันในโหลพลาสติกขนาด 2 ลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกรองให้ได้ 1 ลิตร หลังจากนั้นนำไปฆ่าเชื้อ Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

ข.3 สารอาหารสำหรับหมักไวน์ ปริมาตร 1 ลิตร

- $MgSO_4$ 0.2 กรัม
- DAP 0.5 กรัม
- Yeast extract 5 กรัม

ข.4 สารอาหารสำหรับหมักน้ำส้มสายชู ปริมาตร 1 ลิตร

- D-Glucose 1 กรัม
- Yeast extract 0.5 กรัม
- DAP 0.5 กรัม
- $MgSO_4$ 0.2 กรัม

* DAP =diammonium ammonium phosphate

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์คุณภาพ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (total soluble solid, TSS)

นำตัวอย่างไวน์ วัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดด้วยเครื่อง Refractometer (รุ่น PAL-1, ATAGO, Japan) โดยตรวจสอบในกระบวนการหมักไวน์และน้ำส้มสายชู ปรับมาตรฐานเครื่องมือเป็น 0 เปอร์เซ็นต์ บริกซ์ ด้วยน้ำกลั่น โดยรายงานผลเป็นเปอร์เซ็นต์บริกซ์



ภาพที่ ข.1 เครื่อง Refractometer (PAL-1, ATAGO, Japan)

ค.2 ค่าพีเอช (pH)

วัดพีเอชด้วยเครื่อง pH meter (Starter300, OHAUS, USA) ปรับมาตรฐานเครื่องมือวัดความเป็นพีเอชด้วยบัฟเฟอร์ที่มีพีเอช 7 และ 4 จากนั้นสู่มะม่วงพิวเร่สดและหลังการคั้นตัวปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาวัดค่าพีเอชที่อุณหภูมิห้อง โดยจะวัดตัวอย่างทั้งหมด 3 ซ้ำ อ่านค่าและบันทึกผล



ภาพที่ ข.2 เครื่อง pH meter (Starter300, OHAUS, USA)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

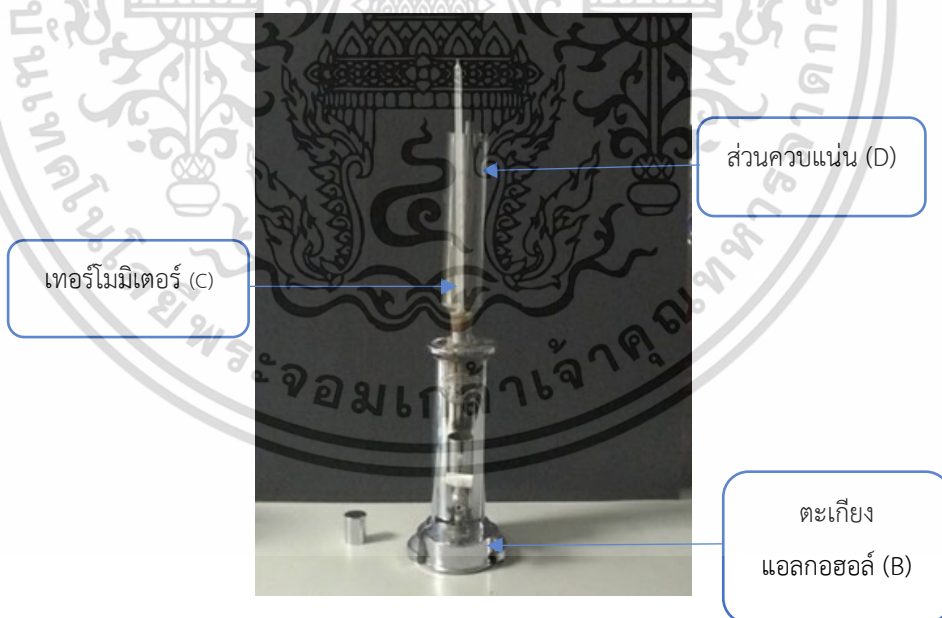
ค.3 เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

จุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์

ตวงน้ำบริสุทธิ์ 30 มิลลิลิตร หรือใช้หลอดที่มากับเครื่องมือ โดยตวงให้ถึง “EAU” ใส่ลงใน Boiling chamber (A) และใส่เทอร์โมมิเตอร์ (C) ให้ปลายอยู่เหนือน้ำใน Boiling chamber ต้มด้วย ตะเกียงแอลกอฮอล์จนกระทั่งเดือด (B) เมื่อถึงจุดเดือดอุณหภูมิจะคงที่อ่านอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์จากเทอร์โมมิเตอร์ นำค่าจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่อ่านได้ไปตั้งในแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์ แอลกอฮอล์ (Dosage de l’Alcool dans les Vins) โดยตั้งค่าจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่อ่านได้ (ดู สเกลด้านใน) ให้ตรงกับ 0.0 % แอลกอฮอล์ (ดูสเกลด้านนอก) หรือตำแหน่งที่มีเครื่องหมาย

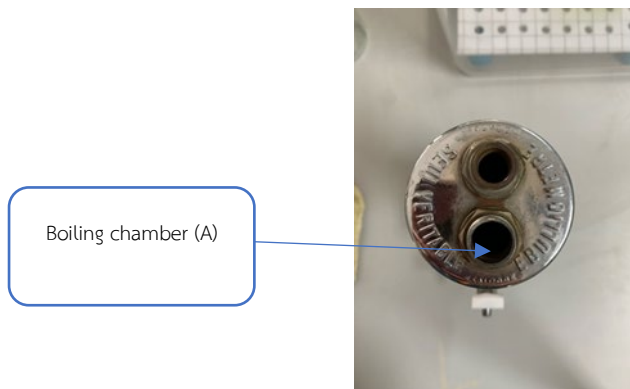
จุดเดือดของสารตัวอย่าง

ตวงสารตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร หรือใช้หลอดที่มากับเครื่องมือตวงให้ถึงขีด “VIN” ใส่ลงใน Boiling chamber เติมน้ำเย็น หรือน้ำแข็งลงไปในส่วนควบแน่น (D) ใส่เทอร์โมมิเตอร์ให้ปลายอยู่ เหนือน้ำใน Boiling chamber ต้มด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์จนกระทั่งเดือด เมื่อถึงจุดเดือดอุณหภูมิจะ คงที่ประมาณ 15-30 วินาที อ่านจุดเดือดของสารตัวอย่าง อ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของสาร ตัวอย่าง (ดูที่สเกลด้านนอก) ที่อยู่ตรงกับจุดเดือดของสารตัวอย่าง (ดูที่สเกลด้านใน) จากแผ่นอ่าน เปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์



ภาพที่ ค.1 เครื่อง Ebulliometer Dujadin-Salleron, France

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ค.2 Boiling chamber (A)



ภาพที่ ค.3 แผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

ค.4 น้ำหนักเซลล์แห้ง (cell dry weight, CDW) [39]

สร้างกราฟมาตรฐาน

ในการทำกราฟมาตรฐาน ตัวแปรต้นคือค่าการดูดกลืนแสง และตัวแปรตามคือน้ำหนักเซลล์แห้ง กรัมต่อลิตร ค่าที่ใช้ดูดกลืนแสงที่ 660 นาโนเมตร ให้อยู่ในช่วง 0.2 - 0.8 หลังจากนำน้ำส้มสายชูที่ได้ค่าที่กำหนด มาหาค่าน้ำหนักเซลล์แห้ง โดยปั่นเหวี่ยงด้วยเครื่อง Hi speed Centrifuge ความเร็วรอบ 6,000 rpm เป็นเวลา 40 นาที ที่อุณหภูมิ 5 องศาเซลเซียส เมื่อบั่นเหวี่ยงเสร็จจะพบว่าการแยกชั้นระหว่างน้ำกับตะกอน ให้เทส่วนใสทิ้ง การล้างเซลล์ด้วยน้ำกลั่น 2 ครั้ง แล้วใส่น้ำกลั่นลงในหลอดเซนตริฟิวจ์ที่มีตะกอนอยู่ปริมาตร 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันโดยใช้เครื่อง Vortex จากนั้นนำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นในหลอดทดลอง เขย่าให้เข้ากันอีกครั้ง จากนั้นเทใส่ foil ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 105 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 ชั่วโมง แล้วนำมาใส่โถดูดความชื้นเป็นเวลา 1 ชั่วโมง นำไปชั่งน้ำหนัก

$$\text{น้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)} = \frac{(\text{น้ำหนักก่อนอบ} - \text{น้ำหนักหลังอบ}) \times 1000}{\text{ปริมาตรที่ใช้ในการอบ}} \quad (\text{ค.2})$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การวิเคราะห์ตัวอย่าง

นำตัวอย่างมาวิเคราะห์ค่าคลอโรฟิลล์ที่ 660 นาโนเมตร ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน โดยใช้ส่วนผสมน้ำส้มสายชูที่ได้จาก บันเหียงด้วยเครื่อง Hi speed Centrifuge ความเร็วรอบ 6000 rpm เป็นเวลา 40 นาที ที่ 5 องศาเซลเซียส เป็นตัวปรับความเข้มข้นและ blank ทำทั้งหมด 3 ซ้ำ รายงานผลเป็นน้ำหนักเซลล์แห้ง (กรัมต่อลิตร)

ค.5 ปริมาณกรดทั้งหมดในอาหาร (total acid content)

การเตรียมสารเคมี

โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 M (NaOH)

ชั่งน้ำหนักโซเดียมไฮดรอกไซด์ 39.xxxx กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นในขวดปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร จะได้สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ ความเข้มข้น 1 โมลาร์

การหาแอมัลิตี (N) ของสารละลาย NaOH

1. Potassium Hydrogen Phthalate (KHP) ($\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_6$) ไปอบตู้อบลมร้อนที่ 105 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 2 ชม. และนำออกมาใส่ตู้ดูดความชื้นเป็นเวลา 30 นาที
2. นำ KHP อบแล้วชั่งน้ำหนัก 0.5000 – 0.5200 กรัม และเทใส่ขวดพลาสติก 125 มิลลิลิตร
3. ละลายด้วยน้ำกลั่น 25 มิลลิลิตร เขย่าขวดพลาสติก จนกว่าละลายเป็นเนื้อเดียวกัน
4. หยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด ไทเตรทสารละลาย KHP ด้วย NaOH 1 M จนถึงจุดสมมูล ปรากฏสีชมพูอ่อน บันทึกปริมาตร NaOH ที่ใช้ไป
5. คำนวณหาแอมัลิตีตามสมการที่ (ค.2)

$$\text{แอมัลิตี} (N) = \frac{\text{น้ำหนักของ KHP}}{204.23 \times \text{ปริมาตร NaOH}} \times 1000 \quad (\text{ค.2})$$

การไทเตรทตัวอย่าง

1. สารละลายตัวอย่าง 6 มิลลิลิตร ใส่ลงขวดพลาสติก ขนาด 125 มิลลิลิตร
2. หยดฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด
3. นำไปไทเตรทจนถึงจุดสมมูล ปรากฏสีชมพูอ่อน วิเคราะห์เปอร์เซ็นต์ความเป็นกรดแล็กติก ได้จากสมการดังนี้ (ค.2)

$$\% \text{Acid} = \frac{N \times V_1 \times \text{Eg. wt} \times 100}{V_2 \times 1000} \quad (\text{ค.3})$$

เมื่อ N = Normality ของ NaOH (นอร์มอล)

V_1 = ปริมาตรของ NaOH (มิลลิลิตร)

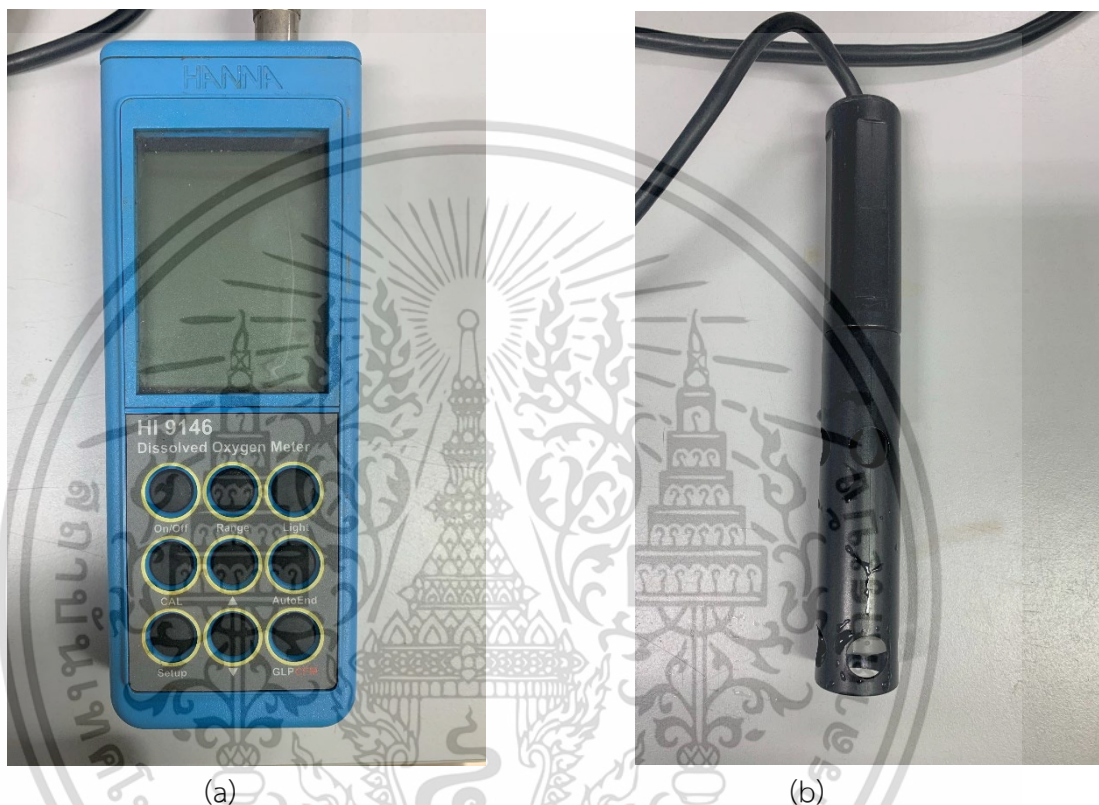
V_2 = ปริมาตรตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

Eg. wt = น้ำหนักกรัมสมมูลของกรดแล็กติก (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.6 ออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen meter)

วัดปริมาณออกซิเจนด้วยเครื่อง HANNA รุ่น HI9146 โดยการนำหัวโพรบไปจุ่มในตัวอย่างที่เตรียมไว้ รอจนค่านิ่ง เป็นเวลา 5 วินาที อ่านค่าเป็นหน่วย หนึ่งในล้านในล้านส่วน (ppm) ทำการวัดทั้งหมด 3 ซ้ำ ต่อ ตัวอย่าง



ภาพที่ ค.4 (a) เครื่อง HANNA รุ่น HI9146, (b) หัวโพรบของเครื่อง HANNA รุ่น HI9146

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติของไวน์

day		Alcohol	TSS	Acidity	pH
.00	Mean	.0000	18.7583	.0433	4.5275
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	.00000	.49582	.00778	.36710
	Minimum	.00	18.05	.03	3.45
	Maximum	.00	19.35	.05	4.85
	Median	.0000	18.8000	.0450	4.6250
	Std. Error of Mean	.00000	.14313	.00225	.10597
1.00	Mean	1.6458	16.6167	.2454	3.3767
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	1.39079	1.11342	.05119	.39617
	Minimum	.20	15.00	.15	3.05
	Maximum	3.55	18.80	.32	3.95
	Median	.8000	16.7000	.2500	3.1450
	Std. Error of Mean	.40149	.32142	.01478	.11436
3.00	Mean	6.1917	12.7250	.2596	2.9058
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	1.17412	1.24380	.01912	.06431
	Minimum	3.60	11.05	.25	2.76
	Maximum	8.00	15.10	.29	3.00
	Median	6.1500	12.6000	.2500	2.9100
	Std. Error of Mean	.33894	.35905	.00552	.01856
5.00	Mean	8.2958	10.1458	.2621	2.8600
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	.33942	1.07205	.00891	.09853
	Minimum	7.70	9.00	.25	2.60
	Maximum	9.00	12.15	.27	2.96
	Median	8.3500	9.6000	.2650	2.8950
	Std. Error of Mean	.09798	.30948	.00257	.02844

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.00	Mean	8.8875	9.4375	.2317	2.9792
	N	12	12	12	12
	Std. Deviation	.44319	1.43576	.03433	.12019
	Minimum	8.00	8.00	.20	2.82
	Maximum	9.40	12.55	.29	3.20
	Median	9.0000	9.1000	.2250	3.0100
	Std. Error of Mean	.12794	.41447	.00991	.03469
Total	Mean	5.0042	13.5367	.2084	3.3298
	N	60	60	60	60
	Std. Deviation	3.69061	3.81171	.08861	.67700
	Minimum	.00	8.00	.03	2.60
	Maximum	9.40	19.35	.32	4.85
	Median	6.1500	12.6750	.2500	3.0100
	Std. Error of Mean	.47646	.49209	.01144	.08740

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Alcohol	Between Groups	763.747	4	190.937	263.398	<.001
	Within Groups	39.869	55	.725		
	Total	803.616	59			
Acidity	Between Groups	.416	4	.104	120.775	<.001
	Within Groups	.047	55	.001		
	Total	.463	59			
TSS	Between Groups	788.543	4	197.136	157.878	<.001
	Within Groups	68.676	55	1.249		
	Total	857.219	59			
pH	Between Groups	23.521	4	5.880	91.877	<.001
	Within Groups	3.520	55	.064		
	Total	27.041	59			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Multiple Comparisons

Tukey

Dependent Variable	(I) day	(J) day	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
Alcohol	.00	1.00	-1.64583*	.34759	<.001	-2.6261	-.6655
		3.00	-6.19167*	.34759	<.001	-7.1720	-5.2114
		5.00	-8.29583*	.34759	<.001	-9.2761	-7.3155
		7.00	-8.88750*	.34759	<.001	-9.8678	-7.9072
	1.00	.00	1.64583*	.34759	<.001	.6655	2.6261
		3.00	-4.54583*	.34759	<.001	-5.5261	-3.5655
		5.00	-6.65000*	.34759	<.001	-7.6303	-5.6697
		7.00	-7.24167*	.34759	<.001	-8.2220	-6.2614
	3.00	.00	6.19167*	.34759	<.001	5.2114	7.1720
		1.00	4.54583*	.34759	<.001	3.5655	5.5261
		5.00	-2.10417*	.34759	<.001	-3.0845	-1.1239
		7.00	-2.69583*	.34759	<.001	-3.6761	-1.7155
	5.00	.00	8.29583*	.34759	<.001	7.3155	9.2761
		1.00	6.65000*	.34759	<.001	5.6697	7.6303
		3.00	2.10417*	.34759	<.001	1.1239	3.0845
		7.00	-.59167	.34759	.441	-1.5720	.3886
	7.00	.00	8.88750*	.34759	<.001	7.9072	9.8678
		1.00	7.24167*	.34759	<.001	6.2614	8.2220
		3.00	2.69583*	.34759	<.001	1.7155	3.6761
		5.00	.59167	.34759	.441	-3.886	1.5720
Acidity	.00	1.00	-.20208*	.01198	<.001	-.2359	-.1683
		3.00	-.21625*	.01198	<.001	-.2500	-.1825
		5.00	-.21875*	.01198	<.001	-.2525	-.1850
		7.00	-.18833*	.01198	<.001	-.2221	-.1545
	1.00	.00	.20208*	.01198	<.001	.1683	.2359
		3.00	-.01417	.01198	.761	-.0480	.0196

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		5.00		-0.01667	.01198	.636	-0.0505	.0171
		7.00		.01375	.01198	.780	-0.0200	.0475
	3.00	.00		.21625*	.01198	<.001	.1825	.2500
		1.00		.01417	.01198	.761	-0.0196	.0480
		5.00		-0.00250	.01198	1.000	-0.0363	.0313
		7.00		.02792	.01198	.151	-0.0059	.0617
	5.00	.00		.21875*	.01198	<.001	.1850	.2525
		1.00		.01667	.01198	.636	-0.0171	.0505
		3.00		.00250	.01198	1.000	-0.0313	.0363
		7.00		.03042	.01198	.097	-0.0034	.0642
	7.00	.00		.18833*	.01198	<.001	.1545	.2221
		1.00		-.01375	.01198	.780	-0.0475	.0200
		3.00		-.02792	.01198	.151	-0.0617	.0059
		5.00		-.03042	.01198	.097	-0.0642	.0034
TSS	.00	1.00		2.14167*	.45619	<.001	.8551	3.4283
		3.00		6.03333*	.45619	<.001	4.7467	7.3199
		5.00		8.61250*	.45619	<.001	7.3259	9.8991
		7.00		9.32083*	.45619	<.001	8.0342	10.6074
	1.00	.00		-2.14167*	.45619	<.001	-3.4283	-8.551
		3.00		3.89167*	.45619	<.001	2.6051	5.1783
		5.00		6.47083*	.45619	<.001	5.1842	7.7574
		7.00		7.17917*	.45619	<.001	5.8926	8.4658
	3.00	.00		-6.03333*	.45619	<.001	-7.3199	-4.7467
		1.00		-3.89167*	.45619	<.001	-5.1783	-2.6051
		5.00		2.57917*	.45619	<.001	1.2926	3.8658
		7.00		3.28750*	.45619	<.001	2.0009	4.5741
	5.00	.00		-8.61250*	.45619	<.001	-9.8991	-7.3259
		1.00		-6.47083*	.45619	<.001	-7.7574	-5.1842
		3.00		-2.57917*	.45619	<.001	-3.8658	-1.2926
		7.00		.70833	.45619	.533	-5.783	1.9949
	7.00	.00		-9.32083*	.45619	<.001	-10.6074	-8.0342

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		1.00	-7.17917*	.45619	<.001	-8.4658	-5.8926
		3.00	-3.28750*	.45619	<.001	-4.5741	-2.0009
		5.00	-.70833	.45619	.533	-1.9949	.5783
pH	.00	1.00	1.15083*	.10328	<.001	.8595	1.4421
		3.00	1.62167*	.10328	<.001	1.3304	1.9130
		5.00	1.66750*	.10328	<.001	1.3762	1.9588
		7.00	1.54833*	.10328	<.001	1.2570	1.8396
	1.00	.00	-1.15083*	.10328	<.001	-1.4421	-8595
		3.00	.47083*	.10328	<.001	.1795	.7621
		5.00	.51667*	.10328	<.001	.2254	.8080
		7.00	.39750*	.10328	.003	.1062	.6888
	3.00	.00	-1.62167*	.10328	<.001	-1.9130	-1.3304
		1.00	-.47083*	.10328	<.001	-.7621	-.1795
		5.00	.04583	.10328	.992	-.2455	.3371
		7.00	-.07333	.10328	.953	-.3646	.2180
	5.00	.00	-1.66750*	.10328	<.001	-1.9588	-1.3762
		1.00	-.51667*	.10328	<.001	-.8080	-.2254
		3.00	-.04583	.10328	.992	-.3371	.2455
		7.00	-.11917	.10328	.777	-.4105	.1721
7.00	.00	-1.54833*	.10328	<.001	-1.8396	-1.2570	
	1.00	-.39750*	.10328	.003	-.6888	-.1062	
	3.00	.07333	.10328	.953	-.2180	.3646	
	5.00	.11917	.10328	.777	-.1721	.4105	

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Alcohol

Tukey

day	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
.00	12	.0000			
1.00	12		1.6458		
3.00	12			6.1917	
5.00	12				8.2958
7.00	12				8.8875
Sig.		1.000	1.000	1.000	.441

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

Acidity

Tukey

day	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.00	12	.0433	
7.00	12		.2317
1.00	12		.2454
3.00	12		.2596
5.00	12		.2621
Sig.		1.000	.097

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

TSS

Tukey

day	N	Subset for alpha = 0.05			
		1	2	3	4
7.00	12	9.4375			
5.00	12	10.1458			
3.00	12		12.7250		
1.00	12			16.6167	
.00	12				18.7583
Sig.		.533	1.000	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

Tukey

day	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
5.00	12	2.8600		
3.00	12	2.9058		
7.00	12	2.9792		
1.00	12		3.3767	
.00	12			4.5275
Sig.		.777	1.000	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 12.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลองและการวิเคราะห์ทางสถิติของน้ำส้มสายชูในช่วง start-up

		ANOVA				
		Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
CDW	Between Groups	.000	3	.000	2.699	.116
	Within Groups	.000	8	.000		
	Total	.001	11			
AP	Between Groups	69.356	3	23.119	12.738	.002
	Within Groups	14.519	8	1.815		
	Total	83.875	11			
AR	Between Groups	6.637	3	2.212	29.451	<.001
	Within Groups	.601	8	.075		
	Total	7.238	11			
ET	Between Groups	9.843	3	3.281	31.526	<.001
	Within Groups	.833	8	.104		
	Total	10.676	11			
perET	Between Groups	532.596	3	177.532	3.809	.058
	Within Groups	372.824	8	46.603		
	Total	905.420	11			
DO	Between Groups	5.237	3	1.746	11.273	.003
	Within Groups	1.239	8	.155		
	Total	6.476	11			
finalAcid	Between Groups	70.563	3	23.521	13.282	.002
	Within Groups	14.167	8	1.771		
	Total	84.729	11			
day	Between Groups	489.667	3	163.222	97.933	<.001
	Within Groups	13.333	8	1.667		
	Total	503.000	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ANOVA Effect Sizes^{a,b}

		Point Estimate	95% Confidence Interval	
			Lower	Upper
CDW	Eta-squared	.503	.000	.670
	Epsilon-squared	.317	-.375	.547
	Omega-squared Fixed-effect	.298	-.333	.525
	Omega-squared Random-effect	.124	-.091	.269
AP	Eta-squared	.827	.290	.884
	Epsilon-squared	.762	.023	.841
	Omega-squared Fixed-effect	.746	.022	.829
	Omega-squared Random-effect	.494	.007	.618
AR	Eta-squared	.917	.599	.944
	Epsilon-squared	.886	.448	.923
	Omega-squared Fixed-effect	.877	.427	.916
	Omega-squared Random-effect	.703	.199	.785
ET	Eta-squared	.922	.620	.947
	Epsilon-squared	.893	.477	.928
	Omega-squared Fixed-effect	.884	.455	.921
	Omega-squared Random-effect	.718	.218	.796
perET	Eta-squared	.588	.000	.728
	Epsilon-squared	.434	-.375	.626
	Omega-squared Fixed-effect	.413	-.333	.605
	Omega-squared Random-effect	.190	-.091	.338
DO	Eta-squared	.809	.242	.872
	Epsilon-squared	.737	-.042	.825
	Omega-squared Fixed-effect	.720	-.039	.812

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	Omega-squared Random-effect	.461	-.013	.589
finalAcid	Eta-squared	.833	.306	.888
	Epsilon-squared	.770	.046	.846
	Omega-squared Fixed-effect	.754	.043	.835
	Omega-squared Random-effect	.506	.015	.627
day	Eta-squared	.973	.860	.982
	Epsilon-squared	.964	.807	.975
	Omega-squared Fixed-effect	.960	.793	.973
	Omega-squared Random-effect	.890	.561	.923

- a. Eta-squared and Epsilon-squared are estimated based on the fixed-effect model.
- b. Negative but less biased estimates are retained, not rounded to zero.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Multiple Comparisons

Tukey HSD

Dependent Variable	(I) bar	(J) bar	Mean Difference (I-J)	Std. Error	Sig.	95% Confidence Interval	
						Lower Bound	Upper Bound
CDW	.25000	.50000	-.01361000	.00585955	.172	-.0323743	.0051543
		.75000	.00119333	.00585955	.997	-.0175710	.0199577
		1.00000	-.00637000	.00585955	.707	-.0251343	.0123943
	.50000	.25000	.01361000	.00585955	.172	-.0051543	.0323743
		.75000	.01480333	.00585955	.130	-.0039610	.0335677
		1.00000	.00724000	.00585955	.624	-.0115243	.0260043
	.75000	.25000	-.00119333	.00585955	.997	-.0199577	.0175710
		.50000	-.01480333	.00585955	.130	-.0335677	.0039610
		1.00000	-.00756333	.00585955	.593	-.0263277	.0112010
	1.00000	.25000	.00637000	.00585955	.707	-.0123943	.0251343
		.50000	-.00724000	.00585955	.624	-.0260043	.0115243
		.75000	.00756333	.00585955	.593	-.0112010	.0263277
AP	.25000	.50000	1.33333	1.09997	.637	-2.1892	4.8558
		.75000	4.00000*	1.09997	.027	.4775	7.5225
		1.00000	6.22333*	1.09997	.002	2.7008	9.7458
	.50000	.25000	-1.33333	1.09997	.637	-4.8558	2.1892
		.75000	2.66667	1.09997	.149	-.8558	6.1892
		1.00000	4.89000*	1.09997	.009	1.3675	8.4125
	.75000	.25000	-4.00000*	1.09997	.027	-7.5225	-.4775
		.50000	-2.66667	1.09997	.149	-6.1892	.8558
		1.00000	2.22333	1.09997	.257	-1.2992	5.7458
	1.00000	.25000	-6.22333*	1.09997	.002	-9.7458	-2.7008
		.50000	-4.89000*	1.09997	.009	-8.4125	-1.3675
		.75000	-2.22333	1.09997	.257	-5.7458	1.2992
AR	.25000	.50000	-1.92667*	.22378	<.001	-2.6433	-1.2100
		.75000	-.75667*	.22378	.039	-1.4733	-.0400
		1.00000	-.23333	.22378	.731	-.9500	.4833

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	.50000	.25000	1.92667*	.22378	<.001	1.2100	2.6433
		.75000	1.17000*	.22378	.004	.4534	1.8866
		1.00000	1.69333*	.22378	<.001	.9767	2.4100
	.75000	.25000	.75667*	.22378	.039	.0400	1.4733
		.50000	-1.17000*	.22378	.004	-1.8866	-.4534
		1.00000	.52333	.22378	.168	-.1933	1.2400
	1.00000	.25000	.23333	.22378	.731	-.4833	.9500
		.50000	-1.69333*	.22378	<.001	-2.4100	-.9767
		.75000	-.52333	.22378	.168	-1.2400	.1933
ET	.25000	.50000	-2.53667*	.26341	<.001	-3.3802	-1.6931
		.75000	-1.39333*	.26341	.003	-2.2369	-.5498
		1.00000	-1.04333*	.26341	.018	-1.8869	-.1998
	.50000	.25000	2.53667*	.26341	<.001	1.6931	3.3802
		.75000	1.14333*	.26341	.011	.2998	1.9869
		1.00000	1.49333*	.26341	.002	.6498	2.3369
	.75000	.25000	1.39333*	.26341	.003	.5498	2.2369
		.50000	-1.14333*	.26341	.011	-1.9869	-.2998
		1.00000	.35000	.26341	.572	-.4935	1.1935
	1.00000	.25000	1.04333*	.26341	.018	.1998	1.8869
		.50000	-1.49333*	.26341	.002	-2.3369	-.6498
		.75000	-.35000	.26341	.572	-1.1935	.4935
perET	.25000	.50000	4.74333	5.57392	.829	-13.1063	22.5930
		.75000	7.84000	5.57392	.529	-10.0097	25.6897
		1.00000	18.16333*	5.57392	.046	.3137	36.0130
	.50000	.25000	-4.74333	5.57392	.829	-22.5930	13.1063
		.75000	3.09667	5.57392	.942	-14.7530	20.9463
		1.00000	13.42000	5.57392	.153	-4.4297	31.2697
	.75000	.25000	-7.84000	5.57392	.529	-25.6897	10.0097
		.50000	-3.09667	5.57392	.942	-20.9463	14.7530
		1.00000	10.32333	5.57392	.319	-7.5263	28.1730
	1.00000	.25000	-18.16333*	5.57392	.046	-36.0130	-.3137

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

		.50000	-13.42000	5.57392	.153	-31.2697	4.4297
		.75000	-10.32333	5.57392	.319	-28.1730	7.5263
DO	.25000	.50000	-.28667	.32130	.809	-1.3156	.7422
		.75000	-.92000	.32130	.081	-1.9489	.1089
		1.00000	-1.72000*	.32130	.003	-2.7489	-.6911
	.50000	.25000	.28667	.32130	.809	-.7422	1.3156
		.75000	-.63333	.32130	.274	-1.6622	.3956
		1.00000	-1.43333*	.32130	.009	-2.4622	-.4044
	.75000	.25000	.92000	.32130	.081	-.1089	1.9489
		.50000	.63333	.32130	.274	-.3956	1.6622
		1.00000	-.80000	.32130	.136	-1.8289	.2289
	1.00000	.25000	1.72000*	.32130	.003	.6911	2.7489
		.50000	1.43333*	.32130	.009	.4044	2.4622
		.75000	.80000	.32130	.136	-.2289	1.8289
finalAcid	.25000	.50000	1.33333	1.08653	.628	-2.1461	4.8128
		.75000	3.83333*	1.08653	.032	.3539	7.3128
		1.00000	6.33333*	1.08653	.002	2.8539	9.8128
	.50000	.25000	-1.33333	1.08653	.628	-4.8128	2.1461
		.75000	2.50000	1.08653	.177	-.9795	5.9795
		1.00000	5.00000*	1.08653	.008	1.5205	8.4795
	.75000	.25000	-3.83333*	1.08653	.032	-7.3128	-.3539
		.50000	-2.50000	1.08653	.177	-5.9795	.9795
		1.00000	2.50000	1.08653	.177	-.9795	5.9795
	1.00000	.25000	-6.33333*	1.08653	.002	-9.8128	-2.8539
		.50000	-5.00000*	1.08653	.008	-8.4795	-1.5205
		.75000	-2.50000	1.08653	.177	-5.9795	.9795
day	.25000	.50000	17.00000*	1.05409	<.001	13.6244	20.3756
		.75000	13.66667*	1.05409	<.001	10.2911	17.0422
		1.00000	11.33333*	1.05409	<.001	7.9578	14.7089
	.50000	.25000	-17.00000*	1.05409	<.001	-20.3756	-13.6244
		.75000	-3.33333	1.05409	.053	-6.7089	.0422

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	1.00000	-5.66667*	1.05409	.003	-9.0422	-2.2911
.75000	.25000	-13.66667*	1.05409	<.001	-17.0422	-10.2911
	.50000	3.33333	1.05409	.053	-.0422	6.7089
	1.00000	-2.33333	1.05409	.199	-5.7089	1.0422
1.00000	.25000	-11.33333*	1.05409	<.001	-14.7089	-7.9578
	.50000	5.66667*	1.05409	.003	2.2911	9.0422
	.75000	2.33333	1.05409	.199	-1.0422	5.7089

*. The mean difference is significant at the 0.05 level.

ET

Tukey HSD^a

Subset for alpha = 0.05

bar	N	1	2	3
.25000	3	1.2733		
1.00000	3		2.3167	
.75000	3		2.6667	
.50000	3			3.8100
Sig.		1.000	.572	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

perET

Tukey HSD^a

Subset for alpha = 0.05

bar	N	1	2
1.00000	3	65.3700	
.75000	3	75.6933	75.6933
.50000	3	78.7900	78.7900
.25000	3		83.5333
Sig.		.153	.529

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

DO

Tukey HSD^a

bar	N	Subset for alpha = 0.05	
		1	2
.25000	3	2.6133	
.50000	3	2.9000	
.75000	3	3.5333	3.5333
1.00000	3		4.3333
Sig.		.081	.136

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

finalAcid

Tukey HSD^a

bar	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
1.00000	3	65.3333		
.75000	3	67.8333	67.8333	
.50000	3		70.3333	70.3333
.25000	3			71.6667
Sig.		.177	.177	.628

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

day

Tukey HSD^a

bar	N	Subset for alpha = 0.05		
		1	2	3
.50000	3	8.0000		
.75000	3	11.3333	11.3333	
1.00000	3		13.6667	
.25000	3			25.0000
Sig.		.053	.199	1.000

Means for groups in homogeneous subsets are displayed.

a. Uses Harmonic Mean Sample Size = 3.000.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



TNIAC

2022

The 8th Thai-Nichi Institute of Technology
Academic Conference

May 19-20, 2022

Thai-Nichi Institute of Technology (TNI)
and Artificial Intelligence Association of Thailand (AIAT)
Bangkok, Thailand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ความเป็นไปได้ในการผลิตและคุณภาพของน้ำส้มสายชูมะม่วงมหาชนกในระดับ

SME

Processing Feasibility and Qualities of Mahachanok Mango Vinegar for SME

Scale

<p>1^๙ วรวิญญู โตชูวงศ์ Varanyu Tojuvong คณะวิศวกรรมศาสตร์/ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร / ประเทศไทย 60601013@kmitl.ac.th</p>	<p>2^๙ วรวิภา ชูวัฒนกุล Vareesa Chuwattanakul คณะวิศวกรรมศาสตร์/ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร / ประเทศไทย vareesa.ch@kmitl.ac.th</p>	<p>3^๙ พิมพ์พิชญ์ พรหมพิมพงศ์ Pimpen Pornohaloempong คณะวิศวกรรมศาสตร์/ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร / ประเทศไทย pimpen.po@kmitl.ac.th</p>
<p>4^๙ วรารุณี ศรีตั้ง Warawut Krusong คณะอุตสาหกรรมอาหาร/ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง กรุงเทพมหานคร / ประเทศไทย warawut.kr@kmitl.ac.th</p>		

บทคัดย่อ — การผลิตหมักน้ำส้มสายชูจากมะม่วงมหาชนกโดยใช้โรงหมักหมักที่มีไฮทานอลร้อยละ 83.10 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในระยะเวลาการหมัก 7 วัน ด้วยเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ซึ่งงานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตหมักน้ำส้มสายชูจากมะม่วงมหาชนกในระดับ SME ที่อัตราการเติมอากาศ 0.5 นาที อุณหภูมิ 30.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส มีปริมาณความเข้มข้นรวมเริ่มต้นอยู่ที่ 80 กรัมต่อลิตร (Total Solution Concentration 8 (TCS)) โดยตั้งหมักกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก (Fermented Vinegar Production Process) ด้วยระบบหมักน้ำหมักเข้าถังอากาศ (Internal Venturi Ejector System) ที่รอบการหมัก Start-Up phase (250 ลิตร) 1 รอบการหมัก และ Acetification operation phase (600 ลิตร) 3 รอบการหมัก ซึ่งมีผลการทดลองดังนี้ อัตราการผลิตกรดอะซิติกเฉลี่ยต่อวัน (Acetification rate (ETA)) เท่ากับ 12.84 กรัมต่อลิตร และผลิตภัณฑ์กรดอะซิติกเฉลี่ย (Acid products (AP)) เท่ากับ 30 กรัมต่อลิตร โดยใช้สายพันธุ์ *Acetobacter aceti* WK

คำสำคัญ — มะม่วงมหาชนก, น้ำส้มสายชูหมัก, กรดอะซิติก

ABSTRACT — Production of fermented vinegar from Mahachanok mango, raw material using Mahachanok mango wine containing ethanol 83.10 ± 0.00 g/l during the 7-day fermentation period with *Saccharomyces cerevisiae* FER1. The objective of this research is to produce fermented vinegar from Mahachanok mango for SME scale under 0.5 bar aeration at 30.0 ± 0.1 °C, the initial Total Solution Concentration 80 g/l (TCS) by fermented vinegar production process with Internal Venturi Ejector System. Fermentation was divided into 2 fermentation phases, Start-Up phase (250 L) one cycle and Acetification operation phase (600 L) three cycles. The results of the experiment are

as follows: acetification rate (ETA) was 12.84 g/l and average acid products (AP) was 30 g/l by strains of *Acetobacter aceti* WK.

Keywords—Mahachanok Mango, Fermented Vinegar, Acetic Acid

1. บทนำ
มะม่วงเป็นผลไม้ชนิดหนึ่งที่สำคัญทางเศรษฐกิจของประเทศไทย รองลงมาจาก ทุเรียน ลำไย และมังคุด ในช่วง 4 เดือนแรกของปี 2564 ไทยส่งออกมะม่วงสด 45,610 ตัน มูลค่ารวม 1,220.69 ล้านบาทโดยตลาดส่งออกที่สำคัญ ได้แก่ มาเลเซีย เกาหลีใต้ เวียดนาม ญี่ปุ่น ออสเตรเลีย จีน รัสเซีย แคร และเมียนมา พันธุ์มะม่วงที่นิยมปลูกเพื่อส่งออกไปยังต่างประเทศมีอยู่หลายพันธุ์ ได้แก่ มะม่วงน้ำดอกไม้สีทอง มะม่วงฟ้าลั่น มะม่วงมันชายศึก มะม่วงเขียวเสวย มะม่วงโชคนันท์ มะม่วงมหาชนก เป็นต้น [1]

น้ำส้มสายชู (vinegar) จัดเป็นเครื่องดื่มปรุงแต่งรสของอาหารที่นิยมใช้ในประเทศไทย โดยดื่มในอาหารเพื่อเพิ่มรสชาติให้เปรี้ยวเพิ่มขึ้น และยังถูกใช้ในการถนอมอาหารจำพวกของหมักดอง ประเภทของน้ำส้มสายชูที่บริโภคกันมีปริมาณกรดน้ำส้มอยู่ประมาณร้อยละ 4-7 ของน้ำหนักทั้งหมด น้ำส้มสายชูหมักสามารถผลิตได้จากผลไม้ ธัญพืช หรือแม้แต่การนำเมล็ดพืชที่เหลือใช้คุณภาพไม่ได้มาพรวน ตัวอย่างงานวิจัย การผลิตน้ำส้มสายชูจากเปลือกและแกนสับประรด และการผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยที่สุกจัด ขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก เริ่มจากการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์โดยกระบวนการหมักของยีสต์ จากนั้นนำไปหมักเพื่อเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก โดยเชื้อจำพวก Acetic Acid Bacteria (AAB) [2]

บทความที่เผยแพร่ระหว่าง 1995 และ 2018 มีการศึกษาลักษณะของการบริโภคน้ำส้มสายชูหมักต่อ glycemic profile ในเลือดของมนุษย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และ putative mechanistic cellular pathways ในทั้งแบบมนุษย์และสัตว์ [6] มีการศึกษาจำนวนมากแสดงให้เห็นว่าน้ำส้มสายชูหมักมีศักยภาพในการรักษาโรคอ้วน เบาหวาน โรคหัวใจ มะเร็งและการติดเชื้อจุลินทรีย์ และรวมถึงการดื่มเครื่องดื่มที่มีน้ำตาลสายชูหมัก 15 มิลลิตรต่อวัน (กรดแอซิก 750 มิลลิตร) เป็นประจำทุกวันช่วยลดความเสี่ยงต่อโรคความดันโลหิตสูง ไขมันในเลือด และโรคอ้วน [6] งานวิจัยของ W. Krusong และคณะ ทำการศึกษา ผลกระทบของความเข้มข้นเริ่มต้นของกรดแอซิกและเจลาตินอลภายในถังหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง (Semi-Continuous Acetification) โดยการปรับสภาพของ *A. aceti* WK ให้ความหนาแน่นต่อปริมาณกรดที่สูง และใช้เจลาตินอลเป็นสารอาหาร ผลที่ได้สามารถผลิตกรดแอซิกต่อวันโดยเฉลี่ย 9.12 กรัมต่อลิตร และค่าผลได้ร้อยละ 94.4 ซึ่งช่วยลดต้นทุนให้กับผู้ผลิตสินค้าที่ต้องใช้น้ำส้มสายชูหมักเป็นองค์ประกอบหลัก [7]

กระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเป็นกระบวนการหมักที่ได้รับความนิยมในอุตสาหกรรมผลิตน้ำส้มสายชูเนื่องจากประหยัดต้นทุนและการยับยั้งการขึ้นตะกอนและการสะสมของสารแคแทบอลิต์ ยิ่งไปกว่านั้น ยังช่วยให้สามารถนำกรดกลับมาใช้ซ้ำได้ในรอบถัดไป ซึ่งส่งผลให้การผลิตกรดแอซิกที่มีความเข้มข้นสูง เป็นความต้องการหลักของอุตสาหกรรมน้ำส้มสายชู [8-9]

งานวิจัยชิ้นนี้เป็นงานวิจัยแรกที่ผลิตน้ำส้มสายชูจากมะม่วงมหาชนก ในระดับ SME โดยศึกษากระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องกำลังการผลิต 600 ลิตร ในสภาวะการเติมอากาศอยู่ที่ 0.5 บาร์ กระบวนการหมักนี้อ้างอิงมาจาก Prediction of influence of stepwise increment of initial acetic acid concentration in charging medium on acetification rate of semicontinuous process by artificial neural network [10] ซึ่งมีถึงหมักกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก (Fermented Vinegar Production Process) ด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ (Internal Venturi Ejector System) เลขที่ทรัพย์สินทางปัญญา : 12907 ในนาม ศ. ดร.วราวุฒิ ศุภสร และคณะ

II. งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Warawut และ Assanee ได้ศึกษาระบบ ALMR (Novel Air-Lift Acetifier with Mash Recycling) สำหรับการผลิตแบบกึ่งต่อเนื่องที่ 30 องศาเซลเซียส สำหรับผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวโพด โดยใช้ห้องน้ำรีเจนเนอเรชัน 1 นิ้ว ชุดดับเซลล์ของเชื้อ *A. aceti* WK ในการทดลองนี้ ใช้อัตราการผลิตให้อากาศ 200 ลิตรต่อชั่วโมง เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตน้ำส้มสายชู ซึ่งมีปริมาณโปรตีนจากโพดที่ใช้ศึกษา ตั้งแต่ 40% ถึง 60% และ 80% พบว่า ปริมาณของโปรตีน 60% เป็นปริมาณที่เหมาะสมที่สุด โดยมีปริมาณกรดตกท้าย 6.8-7.2% ภายใน 4-5 วัน อัตราการผลิตอยู่ที่ 0.1033 เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง ถึง 0.0260 เปอร์เซ็นต์ต่อชั่วโมง และใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอนแบบตลับ (SEM) เพื่อยืนยันถึงโครงสร้างที่เหมาะสมสำหรับการดูดซับเซลล์ *A. aceti* WK บนฟองโปรตีน [11]

ในการศึกษากระบวนการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องของการหมักน้ำส้มสายชูจากข้าว โดย Thitima และ คณะ วัตถุประสงค์เพื่อหาปริมาณความเข้มข้นทั้งหมด (Total Concentration) ระหว่างความเข้มข้นของกรดแอซิกและความเข้มข้นของเจลาตินอล โดยใช้ Near-infrared spectroscopy เพื่อตรวจสอบความในระหว่าง 10 รอบของกระบวนการ

หมัก และแบบจำลอง partial least squares regression (PLS-regression) ในการทำนาย สำหรับการทำนายความเข้มข้นของกรดแอซิก มีตัวแปรตั้งต้นนี้ ค่าสัมประสิทธิ์การถดถอย (R2) ค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนายของกลุ่มตัวอย่างตรงตามการ (RMSEC) ค่าความคลาดเคลื่อนจากการทำนายด้วยตัวอย่างกลุ่มตรวจสอบความถูกต้อง (RMSECV) ค่าอัตราส่วนระหว่าง SEP กับ SD และ ความผิดพลาด (Bias) ซึ่งมีค่าตั้งต้น 0.96 2.30 กรัมต่อลิตร 2.44 กรัมต่อลิตร 1.11 กรัมต่อลิตร และ 5.56 ตามลำดับ ในส่วนเจลาตินอล มีตัวแปรเริ่มต้นด้วยกับกรดแอซิกค่าที่ได้ตั้งต้น 0.94, 3.15 กรัมต่อลิตร 2.73 กรัมต่อลิตร 0.40 กรัมต่อลิตร และ 4.04 ตามลำดับ จากค่าทั้งหมดแสดงถึงความสามารถในการตรวจวัดอย่างแม่นยำ [12]

จากศึกษาอิทธิพลของ CaCl₂ ในการผลิตกรดแอซิกที่อุณหภูมิสูง โดยเชื้อ *A. aceti* WK ของ W. Krusong และ คณะ อุณหภูมิสูงที่ใช้อยู่ที่ 36 ± 1 องศาเซลเซียส และอัตราส่วนของ CaCl₂ ในการวิจัยนี้อยู่ที่ 0.05 0.1 0.15 0.2 และ 0.25% พบว่า สามารถเพิ่มปริมาณของ ฟอสโฟลิพิด (phosphodilycholine และ phosphatidylglycero) ไขมันอิสระ (cis-vaccenic acid, palmitic acid และ myristic acid) และเจลาโนไมท์ชนิดหนึ่งเยื่อหุ้มเซลล์ที่เกี่ยวข้องกับการผลิตกรดแอซิก (alcohol dehydrogenase และ aldehyde dehydrogenase) ต่างจากตัวควบคุมที่ไม่ได้เติม CaCl₂ (0%) ในส่วนของการผลิตกรดแอซิกนั้นพบว่า การเติม CaCl₂ 0.15% มีการผลิตกรดแอซิกที่สูงสุด มีผลกว่าการผลิตกรดแอซิกตามรอบตั้งต้น 9.33±0.6 8.67±0.8 และ 9.97±0.7 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ในการศึกษานี้มีประโยชน์อย่างมากในการลดต้นทุนการผลิตของระบบควบคุมความเย็น [13]

โหมข้าวโพดอ่อนเป็นของเสียที่ได้จากอุตสาหกรรมแปรรูปข้าวโพด ซึ่งส่วนใหญ่ถูกทิ้งหรือเป็นอาหารสัตว์ มีส่วนประกอบของสารต่างสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพได้แก่ น้ำมันหอมระเหยของขี้เหล็ก สารโพนินและสารต้านอนุมูลอิสระตามธรรมชาติ มากกว่านั้นพบ โปรตีน คาร์โบไฮเดรต วิตามิน แร่ธาตุและเกลือแร่ ซึ่งเป็นสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของร่างกาย จึงทำให้นักวิจัย W. Krusong และคณะ ได้โหมข้าวโพด ออกมาอบแห้งเพื่อป้องกันเกิดเชื้อรา หลังจากนั้นก็ได้นำไปผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวโพดอ่อนอบแห้ง ซึ่งการวิเคราะห์ที่สำคัญในน้ำส้มสายชู 9 รอบ ในการหมักประกอบไปด้วยการวิเคราะห์ สารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด DPPH ABTH และ FIC มีผลการวิเคราะห์ดังนี้ .21± 0.05 มิลลิกรัม GAE ต่อ มิลลิตร 10.72± 0.3 % การยับยั้ง 4.08± 0.79 % การยับยั้ง และ 19.93± 0.17 % ตามลำดับ ซึ่งมีการกรดแอซิก 75 ± 1 กรัมต่อลิตร ในการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง [14]

III. วิธีดำเนินการวิจัย

III.1 การเตรียมตัวอย่าง

วัตถุดิบมะม่วงมหาชนก (*Mangifera indica* Linn. cv. 'Maha Chanok') จากบริษัทเชียงใหม่ เฟรช ฟู้ด ตั้งอยู่ที่อำเภอลำปาง จังหวัดเชียงใหม่ โดยคัดเลือกมะม่วงสุกที่มีเปลือกมะม่วงมหาชนกจะต้องมีสีเหลืองอมแดง เพื่อนำมาทำมะม่วงตัวแ้ง โดยเก็บรักษาที่ - 18 องศาเซลเซียส ก่อนทำการหมักต่อไป

III.2 การหมักโหม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำเมฆม่วงหัวแร้งแห้ง 10 กิโลกรัม ละลายโดยการแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และปรับปริมาตร 95 กิโลกรัม โดยน้ำเชื่อมและมีปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำไว้คืออยู่ที่ 18 °Brix – 19 °Brix นำไปฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* FER 1.5 ลิตร ใช้เวลาในการหมัก 7-9 วัน

III.III การหมักน้ำดื่มสาขุ

นำไวน์เมฆม่วงมาหมักจากหัวเชื้อ III.II มาหมักกับเชื้อ *A. aceti* WK ถูกแบ่งออกเป็น 2 ช่วงในการหมัก Start-Up phase (250 ลิตร) และ Acetification operation phase (600 ลิตร) มีความเข้มข้นรวมเริ่มต้นอยู่ที่ 80 กรัมต่อลิตร (TC8) ประกอบไปด้วยปริมาณกรดอะซิติก 45 กรัมต่อลิตร และแอลกอฮอล์ 35 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณการเติมอากาศอยู่ที่ 0.6 บาร์ อุณหภูมิ 30.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส ในทุกรอบของการหมักต้องเติมอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ yeast extract 5 กรัมต่อลิตร Glucose 5.0 กรัมต่อลิตร Magnesium Sulphate Heptahydrate 0.2 กรัมต่อลิตร และ Diammonium Phosphate 0.5 กรัมต่อลิตร [10]

III.VI วิธีการวิเคราะห์

ไวน์ถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณแอลกอฮอล์ (Ethanol (ET)) พิเศษ (pH) และ ปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำ (Total Soluble Solids (TSS))

น้ำดื่มสาขุถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ET น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell Dry Weight (CDW)) และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen (DO))

แอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยการการใช้ NaOH 0.1 N ฟีนอล์ฟทาเลอินเป็นอินดิเคเตอร์ [15] และปริมาณแอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยเครื่องอิมบูลมิเตอร์ (Dujadin-Salleron, France)

พิเศษถูกวิเคราะห์โดยเครื่อง pH meter (Lab855, SI Analytics, Germany) และ TSS โดยใช้ Refractometer (HI96800, Hanna, Romania) รายงานเป็น °Brix

DO โดยเครื่อง Dissolved Oxygen Meter (HANNA, HI9146) รายงานผลเป็นหน่วยไมล์ล้านส่วน (ppm) และ CDW โดยการนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ 6000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ได้สัดส่วนที่เป็นส่วนหนักตะกอนและตะกอน นำส่วนที่เป็นตะกอนแห้งมาเป็นกราฟมาตรฐานวัดความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร คัดแปลงจาก [10]

III.V การวิเคราะห์ทางสถิติ

งานวิจัยนี้ใช้การทดลองออกแบบแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) โดยใช้ IBM SPSS สำหรับ Windows (Armonk, NY: IBM Corp) เพื่อคำนวณการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้วิธีของ Duncan ระดับความเชื่อมั่น 95%

VI. ผลการวิจัย

VII ผลการสกัดไวน์เมฆม่วงมาหมัก

จากผลการทดลองหมักไวน์เมฆม่วงมาหมัก 1,200 ลิตร จำนวน 12 ครั้ง โดยทำการตรวจวัด ET TSS แอลกอฮอล์ (กรดแลกติก) และ ค่าพิเศษ โดยตรวจวัดทุก 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณ TSS วันที่ 0 และ 7 มีปริมาณ TSS อยู่ที่ 18.78 ± 0.49 °Brix และ 9.54 ± 1.42 °Brix ตามลำดับ ทำให้ได้แอลกอฮอล์ 83.10 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 พร้อมกับปริมาณกรด

รวมทั้งเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.63 ± 0.10 กรัมต่อลิตร จึงตั้งทำให้ค่าพิเศษ ลดลงแสดงในตารางที่ 1

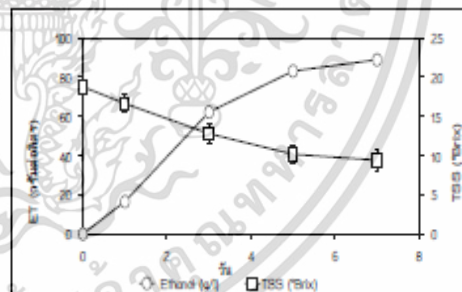
จากรูปที่ I ช่วงแรกในการหมัก วันที่ 0-1 แอลกอฮอล์อย่างช้าๆ พร้อมกับลดลงของ TSS อย่างช้า ๆ แต่เมื่อวันที่ 1-2 เชื้อมีการผลิตเอทานอลอย่างรวดเร็ว และในช่วงต่อ 3-7 วัน มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการใช้ไคตาล

ตารางที่ I การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักไวน์เมฆม่วงมาหมักเป็นเวลา 7 วัน

เวลา (วัน)	TSS (°Brix)	ET (กรัมต่อลิตร)	กรดแลกติก (กรัมต่อลิตร)	พิเศษ
0	18.78±0.49	0±0.00	0.40±0.80	4.54±0.37
1	16.63±1.13	16.50±0.00	2.40±0.50	3.38±0.40
3	12.79±1.20	62.20±0.00	2.80±0.20	2.91±0.06
5	10.18±1.04	83.10±0.00	2.63±0.10	2.86±0.10

VIII ผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* WK ในสภาวะการเติมอากาศ 0.5 บาร์

จากการศึกษาการผลิตน้ำดื่มสาขุจากไวน์เมฆม่วงมาหมักในความเข้มข้นรวมเริ่มต้น TC 8 โดยการเติมอากาศที่ 0.5 บาร์ ในช่วง start-up มีปริมาณเริ่มแรก 250 ลิตร และต่อมาทำการปรับปริมาณเป็น 600 ลิตร ในช่วง operation phase ทั้งหมด 3 รอบการหมัก ตรวจวัดทุก 2 วันของการหมัก โดยวัด ET ปริมาณกรดรวม (กรดแลกติก) น้ำหนักเซลล์แห้ง CDW และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ DO จากตารางที่ II ผลของ ETA 1.29 กรัมต่อลิตร และผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารได้ร้อยละ 98.9 ในระยะเวลาการหมัก 19 วัน 21 วัน และ 33 วัน



รูปที่ I ความสัมพันธ์ระหว่าง ET (กรัมต่อลิตร) กับ TSS (°Brix) ในระหว่างการหมักไวน์เมฆม่วงมาหมัก

จากรูปที่ II พบว่าช่วง start-up ในวันที่ 0 และ 1 แบคทีเรียมีการปรับตัวไม่มีการผลิตกรดและเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในระยะเวลา 9 วัน ปริมาณเอทานอลสุดท้ายอยู่ที่ 5 กรัมต่อลิตร โดยผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารร้อยละ 90 แสดงในตารางที่ II ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการสูญเสียในระหว่างการหมัก

จากรูปที่ III ในช่วงของ start-up ในวันที่ 0 1 และ 3 DO อยู่ที่ 6.03 ± 0.08 ppm 6.33 ± 0.01 ppm และ 7.65 ± 0.00 ppm ตามลำดับและมีปริมาณ CDW อยู่ที่ 0.191 ± 0.003 กรัมต่อลิตร 0.208 ± 0.003 กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำหมักยีสต์แห้งแข็ง 10 กิโลกรัม ละลายโดยการแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และปรับปริมาตร 95 กิโลกรัม โดยนำเชื่อมและมีปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำไว้คืออยู่ที่ 18 °Brix – 19 °Brix นำไปฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* FER 1 5 ลิตร ใช้เวลาในการหมัก 7-9 วัน

III.III การหมักน้ำส้มสายชู

นำไวน์หมักมาหมักจากหัวเชื้อ III.II มาหมักต่อกับเชื้อ *A. aceti* WK ถูกแบ่งออกเป็น 2 ช่วงในการหมัก Start-Up phase (250 ลิตร) และ Acetification operation phase (600 ลิตร) มีความเข้มข้นรวมเริ่มต้นอยู่ที่ 80 กรัมต่อลิตร (TC8) ประกอบไปด้วยปริมาณกรดอะซิติก 45 กรัมต่อลิตร และแอลกอฮอล์ 35 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณการเติมอากาศอยู่ที่ 0.5 บาร์ อุณหภูมิ 30.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส ในทุกรอบของการหมักต้องเติมอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ yeast extract 5 กรัมต่อลิตร Glucose 5.0 กรัมต่อลิตร Magnesium Sulphate Heptahydrate 0.2 กรัมต่อลิตร และ Diammonium Phosphate 0.5 กรัมต่อลิตร [10]

III.VI วิธีการวิเคราะห์

ไวน์ถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณแอลกอฮอล์ (Ethanol (ET)) ทีเอส (pH) และ ปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำ (Total Soluble Solids (TSS))

น้ำหนักสายชูถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ET น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell Dry Weight (CDW)) และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen (DO))

แอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยการกรอใช้ NaOH 0.1 N ที่อินดิฟิคาชันเป็นอินดิเคเตอร์ [15] และปริมาณแอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยเครื่องฮิบดูมิเตอร์ (Dujadin-Salleron, France)

ทีเอสถูกวิเคราะห์โดยเครื่อง pH meter (Lab885, SI Analytics, Germany) และ TSS โดย Refractometer (HI96800, Hanna, Romania) รายงานเป็น °Brix

DO โดยเครื่อง Dissolved Oxygen Meter (HANNA, HI9146) รายงานผลเป็นหนึ่งส่วนในล้านส่วน (ppm) และ CDW โดยการนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ได้ส่วนที่เป็นส่วนเหนียวตะกอนและตะกอน นำส่วนที่เป็นตะกอนมาเป็นกราฟมาตรฐานวัดความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร คัดแปลงจาก [10]

III.V การวิเคราะห์ทางสถิติ

งานวิจัยนี้ใช้การทดลองออกแบบแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) โดยใช้ IBM SPSS สำหรับ Windows (Armonk, NY: IBM Corp) เพื่อคำนวณการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้วิธีของ Duncan ระดับความเชื่อมั่น 95%

VI. ผลการวิจัย

VII ผลการหมักไวน์หมักมาหมัก

จากผลการทดลองหมักไวน์หมักมาหมัก 1,200 ลิตร จำนวน 12 ครั้ง โดยทำการตรวจวัด ET TSS แอลกอฮอล์(กรดแอลกอฮอล์) และ ค่าทีเอส โดยตรวจวัดทุก 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณ TSS วันที่ 0 และ 7 มีปริมาณ TSS อยู่ที่ 18.78 ± 0.49 °Brix และ 9.54 ± 1.42 °Brix ตามลำดับ ทำให้ได้เอทานอล 83.10 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 พร้อมกับปริมาณกรด

รวมทั้งเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.63 ± 0.10 กรัมต่อลิตร จึงส่งทำให้ค่าทีเอส ลดลงแสดงในตารางที่ 1

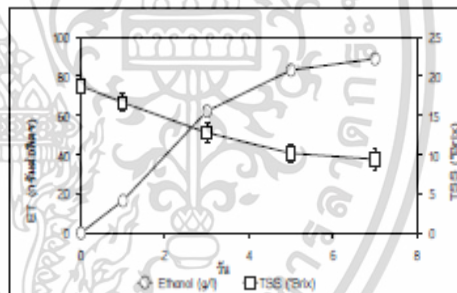
จากรูปที่ I ช่วงแรกในการหมัก วันที่ 0-1 เอทานอลอย่างช้าๆ พร้อมกับลดลงของ TSS อย่างช้า ๆ แต่เมื่อวันที่ 1-2 เริ่มมีการผลิตเอทานอลอย่างรวดเร็ว และในช่วงต่อ 3-7 วัน มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้น แสดงให้เห็นว่าเริ่มมีการใช้น้ำตาล

ตารางที่ I การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักไวน์หมักมาหมักเป็นเวลา 7 วัน

เวลา (วัน)	TSS (°Brix)	ET (กรัมต่อลิตร)	กรดแอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร)	ทีเอส
0	18.78±0.49	0±0.00	0.40±0.80	4.54±0.37
1	16.63±1.13	16.50±0.00	2.40±0.50	3.38±0.40
3	12.79±1.20	62.20±0.00	2.60±0.20	2.91±0.06
5	10.18±1.04	83.10±0.00	2.63±0.10	2.86±0.10

VII.II ผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* WK ในสภาวะการเติมอากาศ 0.5 บาร์

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์หมักมาหมักในความเข้มข้นรวมเริ่มต้น TC 8 โดยการเติมอากาศที่ 0.5 บาร์ ในช่วง start-up มีปริมาณเริ่มแรก 250 ลิตร และต่อมาทำการปรับปริมาณเป็น 600 ลิตร ในช่วง operation phase ทั้งหมด 3 รอบการหมัก ตรวจวัดทุก 2 วันของการหมัก โดยวัด ET ปริมาณกรดรวม (กรดอะซิติก) น้ำหนักเซลล์แห้ง CDW และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ DO จากตารางที่ II ผลของ ETA 1.29 กรัมต่อลิตร และผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารได้ร้อยละ 98.9 ในระยะเวลาการหมัก 19 วัน 21 วัน และ 33 วัน



รูปที่ I ความสัมพันธ์ระหว่าง ET (กรัมต่อลิตร) กับ TSS (°Brix) ในระหว่างการหมักไวน์หมักมาหมัก

จากรูปที่ II พบว่าช่วง start-up ในวันที่ 0 และ 1 แบคทีเรียมีการปรับตัวไม่มีการผลิตกรดและเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในระยะเวลา 9 วัน ปริมาณเอทานอลสุดท้ายอยู่ที่ 5 กรัมต่อลิตร โดยผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารร้อยละ 90 แสดงในตารางที่ II ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการสูญเสียในระหว่างการหมัก

จากรูปที่ III ในช่วงของ start-up ในวันที่ 0 1 และ 3 DO อยู่ที่ 6.03 ± 0.08 ppm 6.33 ± 0.01 ppm และ 7.65 ± 0.00 ppm ตามลำดับและมีปริมาณ CDW อยู่ที่ 0.191 ± 0.003 กรัมต่อลิตร 0.208 ± 0.003 กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำเมฆ่ม่วงหัวเร้นแข็ง 10 กิโลกรัม ละลายโดยการแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และปรับปริมาตร 95 กิโลกรัม โดยน้ำเชื่อมและมีปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำได้อยู่ที่ 18 °Brix – 19 °Brix นำไปฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* FER 1.5 ลิตร ใช้เวลาในการหมัก 7-9 วัน

III.III การหมักน้ำส้มสายชู

นำไวน์เมฆ่ม่วงมาหมักจากหัวเชื้อ III.II. มาหมักต่อกับเชื้อ *A. aceti* WK ถูกแบ่งออกเป็น 2 ช่วงในการหมัก Start-Up phase (250 ลิตร) และ Acetification operation phase (600 ลิตร) มีความเข้มข้นรวมเริ่มต้นอยู่ที่ 80 กรัมต่อลิตร (TCs) ประกอบไปด้วยปริมาณกรดแลคติก 45 กรัมต่อลิตร และแอลกอฮอล์ 35 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณการเติมอากาศอยู่ที่ 0.5 วัตต์ อุณหภูมิ 30.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส ในทุกรอบของการหมักต้องเติมอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ yeast extract 5 กรัมต่อลิตร Glucos 5.0 กรัมต่อลิตร Magnesium Sulphate Heptahydrate 0.2 กรัมต่อลิตร และ Diammonium Phosphate 0.5 กรัมต่อลิตร [10]

III.VI วิธีการวิเคราะห์

ไวน์ถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาตรแอลกอฮอล์ (Ethanol (ET)) พีเอช (pH) และ ปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำ (Total Soluble Solids (TSS))

นำส้มสายชูถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ET น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell Dry Weight (CDW)) และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen (DO))

แอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยการการใช้ NaOH 0.1 N ที่แอลกอฮอล์เป็นอินดิเคเตอร์ [15] และปริมาณแอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยเครื่องอับซอร์มิเตอร์ (Dujadin-Salleron, France)

พีเอชถูกวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง pH meter (Lab655, SI Analytics, Germany) และ TSS โดยใช้ Refractometer (HI96800, Hanna, Romania) รายงานเป็น °Brix

DO โดยใช้เครื่อง Dissolved Oxygen Meter (HANNA, HI9146) รายงานผลเป็นหนึ่งส่วนในล้านส่วน (ppm) และ CDW โดยการนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ใ้ส่วนที่เป็นส่วนเหนือจะกอนและตะกอน นำส่วนที่เป็นตะกอนมาเป็นการมาตรฐานวัดความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร คัดแปลงจาก [10]

III.V การวิเคราะห์ทางสถิติ

งานวิจัยนี้ใช้การทดลองออกแบบแบบศูนย์กลางสมบูรณ์ (CRD) โดยใช้ IBM SPSS สำหรับ Windows (Armonk, NY: IBM Corp) เพื่อคำนวณการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้วิธีของ Duncan ระดับความเชื่อมั่น 95%

VI. ผลการวิจัย

VII ผลการผลิตไวน์เมฆ่ม่วงพหุบาท

จากผลการทดลองหมักไวน์เมฆ่ม่วงพหุบาท 1,200 ลิตร จำนวน 12 ครั้ง โดยทำการตรวจวัด ET TSS แอลกอฮอล์ (กรดแลคติก) และ ค่าพีเอช โดยตรวจวัดทุก 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณ TSS วันที่ 0 และ 7 มีปริมาณ TSS อยู่ที่ 18.78 ± 0.49 °Brix และ 9.54 ± 1.42 °Brix ตามลำดับ ทำให้ได้เจลาตอส 83.10 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 พร้อมกับปริมาณกรด

รวมทั้งเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.63 ± 0.10 กรัมต่อลิตร จึงส่งทำให้ค่าพีเอช ลดลงแสดงในตารางที่ 1

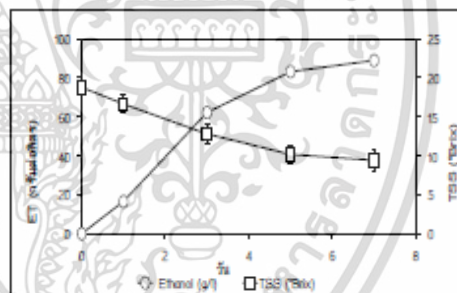
จากรูปที่ I ช่วงแรกในการหมัก วันที่ 0-1 เจลาตอสลดลงเรื่อยๆ พร้อมกับลดลงของ TSS อย่างช้า ๆ แต่เมื่อวันที่ 1-2 เริ่มมีการผลิตเจลาตอสอย่างรวดเร็ว และในช่วงต่อ 3-7 วัน มีการผลิตเจลาตอสเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่องซึ่งแสดงให้เห็นถึงการใช้น้ำตาล

ตารางที่ I การเปลี่ยนแปลงระหว่างการผลิตไวน์เมฆ่ม่วงพหุบาทเป็นเวลา 7 วัน

เวลา (วัน)	TSS (°Brix)	ET (กรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (กรัมต่อลิตร)	พีเอช
0	18.78±0.49	0±0.00	0.40±0.80	4.54±0.37
1	16.63±1.13	16.50±0.00	2.40±0.50	3.39±0.40
3	12.79±1.20	62.20±0.00	2.60±0.20	2.91±0.06
5	10.18±1.04	83.10±0.00	2.63±0.10	2.86±0.10

VII.II ผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* WK ในสภาวะการหมักอากาศ 0.5 วัตต์

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์เมฆ่ม่วงพหุบาทในความเข้มข้นรวมเริ่มต้น TC 8 โดยการเติมอากาศที่ 0.5 วัตต์ ในช่วง start-up มีปริมาตรเริ่มแรก 250 ลิตร และต่อมาทำการปรับปริมาณเป็น 600 ลิตร ในช่วง operation phase ทั้งหมด 3 รอบการหมัก ตรวจวัดทุก 2 วัน ของการหมัก โดยวัด ET ปริมาณกรดรวม (กรดแลคติก) น้ำหนักเซลล์แห้ง CDW และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ DO จากตารางที่ II ผลของ ETA 1.29 กรัมต่อลิตร และผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารได้ร้อยละ 98.9 ในระยะเวลาการหมัก 19 วัน 21 วัน และ 33 วัน



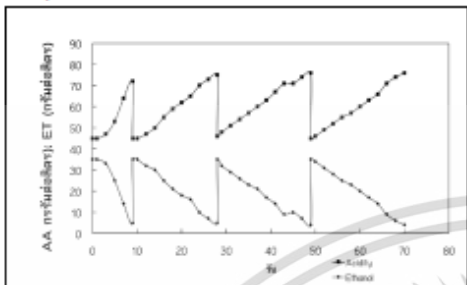
รูปที่ I ความสัมพันธ์ระหว่าง ET (กรัมต่อลิตร) กับ TSS (°Brix) ในระหว่างการหมักไวน์เมฆ่ม่วงพหุบาท

จากรูปที่ II พบว่าช่วง start-up ในวันที่ 0 และ 1 แบคทีเรียมีการปรับตัวไม่มีการผลิตกรดและเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในระยะเวลา 9 วัน ปริมาณเจลาตอสสุดท้ายอยู่ที่ 5 กรัมต่อลิตร โดยผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารร้อยละ 90 แสดงในตารางที่ II ซึ่งแสดงให้เห็นถึงการสูญเสียในระหว่างการหมัก

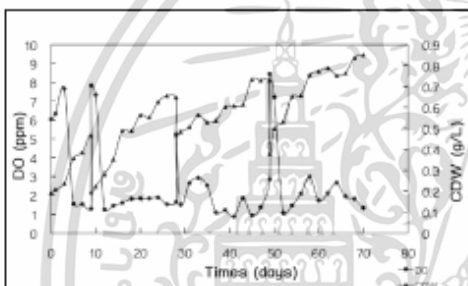
จากรูปที่ III ในช่วงของ start-up ในวันที่ 0 1 และ 3 DO อยู่ที่ 6.03 ± 0.08 ppm 6.33 ± 0.01 ppm และ 7.65 ± 0.00 ppm ตามลำดับและมีปริมาณ CDW อยู่ที่ 0.191 ± 0.003 กรัมต่อลิตร 0.208 ± 0.003 กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิตร์ และ 0.238 ± 0.003 กรัมต่อลิตร์ ซึ่งนั้นมีการปรับสภาพในระหว่างการหมักช่วงแรก ๆ แต่เมื่อระยะเวลาเพิ่มขึ้นค่า DO ลดลง พร้อมกับการเพิ่มขึ้นของปริมาณ CDW (Log phase) ซึ่งการเพิ่มขึ้นหรือลดลง ของ CDW และ DO ลักษณะนี้เกิดขึ้นในทั้ง 3 รอบการหมัก และในวันสุดท้ายของทุกรอบการหมัก



รูปที่ II ความสัมพันธ์ระหว่าง ET (กรัมต่อลิตร์) กับ TSS (Brix) ในระหว่างการหมักไวน์หมักม่วงหาวแรก



รูปที่ III ความสัมพันธ์ระหว่าง DO (ppm) ระหว่าง CDW (กรัม/ลิตร์) ที่สภาวะการเติมอากาศ 0.5 บาร์

VII. อภิปรายผล

ผลของการหมักไวน์ในตารางตารางที่ I ค่าที่เผลลดลงตลอดทั้งกับหนังสือของ Rankine et al [16] แสดงให้เห็นว่า การลดลงของค่าที่เผลและการเพิ่มขึ้นของ ปริมาณกรดรวม ในการทดลองทั้งหมด 7 วัน เนื่องจากในกระบวนการหมักของยีสต์จะผลิตกรดอินทรีย์ต่างๆ ออกมาพร้อมกับสร้างคาร์บอนไดออกไซด์มากถึง 48.9 % มีบางส่วนและสลายน้ำทำให้เกิดกรด ตารางที่ II ผลการทดลอง 3 รอบการหมักที่สภาวะการให้อากาศ 0.5 บาร์

คาร์บอนไดออกไซด์ทำให้ค่า pH ลดลง และ ปริมาณกรดรวม เพิ่มขึ้น

ผลการหมักไวน์ในรูปที่ I มีการเปลี่ยนแปลงของ TSS และ ET ลักษณะเหมือนในงาน บันตาคา และคณะ [9] เชื้อที่ใช้เป็นยีสต์กลูโคส ในสภาวะปราศจากออกซิเจน โดยใช้กระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนของยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลกลูโคสเป็นแอลกอฮอล์ โดยผ่าน Embden-Meyerhor-Panas pathway และยังคงต้องงานวิจัยของ สวรรยา และคณะ [4] ได้ทำการศึกษากาการผลิตไวน์จากน้ำเปลือกทับปรด โดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* Montsche ในการหมัก โดย TSS เริ่มแรกอยู่ที่ 20-22 °Brix พบการเพิ่มขึ้นของปริมาณเชื้ออย่างรวดเร็วในระยะเวลาช่วงแรกของการหมัก เนื่องจากยีสต์มีการใช้ออกซิเจนในการเพิ่มจำนวน แต่เมื่อออกซิเจนหมดยีสต์จึงหยุดการเพิ่มจำนวน ส่งผลให้เชื้อทำการบริโภคน้ำตาลที่มีอยู่เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายจึงลดลงตามปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้น ใช้เวลาในการหมัก 7 วัน ได้ ET 11.9 % และ TSS อยู่ที่ 8 °Brix

จากตารางที่ II แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *A. aceti* WK มีความสามารถทนต่อกรดได้ ในงานวิจัยของ W. Kusong และคณะ [10] ได้ทดลองผลของการทดลอง โดยในงานวิจัยนั้นได้ศึกษาผลของการเพิ่มระดับความเข้มข้นของกรดแลคติกเริ่มต้นที่ 45 SS และ 65 กรัมต่อลิตร์ โดยมีความเข้มข้นของเอทานอลอยู่ที่ 35 กรัมต่อลิตร์ ซึ่งมีอัตราการผลิตกรดที่สูง ในช่วง start-up ค่าผลได้การเปลี่ยนแปลงรูปมีค่าต่ำกว่าในช่วง Acetification operation ในงานวิจัยอีกชิ้นเป็นไปในทิศทางเช่นเดียวกับ W. kusong [7] โดย ศึกษาความเข้มข้นรวม TC 100 (กรดรวม 65 กรัมต่อลิตร์ และเอทานอล 35 กรัมต่อลิตร์) ที่ส่งผลต่อการผลิตกรดรวม โดยเชื้อ *A. aceti* WK พบการเพิ่มขึ้นของกรดรวมและเอทานอลอย่างรวดเร็ว ค่าผลได้การเปลี่ยนแปลงรูปสารช่วง start-up อยู่ที่ร้อยละ 83.8 แต่เมื่อรอบการหมักอื่นๆ มีค่าระหว่างร้อยละ 89.7 ถึง 98.3 และในคามทฤษฎีกระบวนการผลิตของ C. A. Batt and M. Tortomello [17] กรดแลคติกของ *Glucanobacter* พบโปรตีนคินัวโนเมมเบรนเชลล์ (Membrane-bound quinoproteins) ทำหน้าที่เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นอัลดีไฮด์ อัลดีไฮด์เป็นกรดแลคติกและของเสียจากกระบวนการนี้คือ คาร์บอนไดออกไซด์และน้ำทำให้เกิดการออกซิเดชันของกรดแลคติก จึงจำเป็นต้องมีเอทานอลที่มีความเข้มข้นสูงและออกซิเจนอย่างพอเพียงในระบบการหมักแบบจุ่ม (submerged fermentations) ด้วยเหตุผลนี้ผลได้การเปลี่ยนแปลงรูปสารร้อยละ 90 ถึง 98

ในรูปที่ III รอบการหมัก start-up รอบที่ 1 รอบที่ 2 และรอบที่ 3 มีปริมาณ CDW อยู่ที่ 0.465 ± 0.05 กรัมต่อลิตร์ 0.647 ± 1.66 กรัมต่อลิตร์ 0.730 ± 0.002 กรัมต่อลิตร์ และ 0.790 ± 0.002 กรัมต่อลิตร์ ตามลำดับ

รอบ	เวลา (วัน)	ปริมาณกรดรวม		AP (ลิตร/กกรัม)	ETA (ลิตร/กรัม)	ET		เอทานอลออกซิเดชัน	ผลได้การเปลี่ยนแปลงรูป (%)
		เริ่มต้น (ลิตร/กรัม)	สุดท้าย (ลิตร/กรัม)			เริ่มต้น (ลิตร/กรัม)	สุดท้าย (ลิตร/กรัม)		
Start-up	9	45	72	27	30.00	35	5	30	90.0
1	19	46	75	30	1.58	35	5	30	100.0
2	21	46	76	30	1.40	35	4	31	96.7
3	21	45	76	31	0.90	35	4	31	100.0
Average (1-3)	20.33			30.33	12.84			31	97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ได้ลดค่าของ W. krusong และคณะ [7] ได้แสดงความสัมพันธ์ของ CDW และ DO ในช่วง start-up มีปริมาตร CDW สูงสุด 0.0052 ± 0.0014 กรัม ต่อ ลิตร หลังจากหมัก 7 วัน และรอบการหมักถัดไปใช้ในการหมัก 8 วัน ปริมาตร CDW สูงสุด 0.036 ± 0.0015 กรัมต่อลิตร โดยที่ทั้งรอบการหมักนี้มีการลดลงของ DO ในวันแรกและวันสุดท้ายอย่างมีนัยสำคัญ ในทิศทางเดียวกันกับการเจริญเติบโตของ Acetic acid bacteria มีการเพิ่มโคที่ข้างเมื่อมีปริมาตรกรดอะซิติกสูงกว่า 40 กรัม ต่อ ลิตร และถ้ามีปริมาตรกรดอะซิติกสูงกว่า 60 กรัม ต่อ ลิตร ทำให้การเจริญยิ่งช้าลงกว่าเดิม

จากผลการทดลองในงานวิจัยชิ้นนี้แสดงให้เห็นว่าการผลิตน้ำส้มสายชูด้วยกระบวนการหมักแบบแบดกึ่งต่อเนื่องโดยความเข้มข้นเริ่มแรก TC 80 เป็นกระบวนการที่ได้รับการยอมรับเนื่องจากมีสภาพแวดล้อมในการหมักและกระบวนการที่เหมาะสม จึงสามารถผลิตได้จริงในระดับอุตสาหกรรมและ SME ได้จริง [7-14]

VIII. สรุปผล

น้ำส้มสายชูหมักจากหม่รวมหวานก โดยเครื่องตั้งหมักที่ใช้ระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ ในปริมาตรได้สูงสุดได้ 600 ลิตร และใช้เชื้อ A. aceti WK ที่มีความสามารถในการผลิตกรด โดยมีความ AP 30 ลิตรต่อกรัม ETA 12.84 ลิตรต่อกรัม ซึ่งผลิตน้ำส้มสายชูรวมหวานกได้ 1,080 ลิตร ในระยะเวลา 73 วัน ซึ่งสามารถผลิตได้จริงในระดับ SME แต่ยังมีจำเป็นต้องศึกษาวิจัยเพิ่มเติมต่อไปในอนาคต

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบคุณการสนับสนุนงานวิจัยนี้ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมักคณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง ที่ช่วยในการออกแบบเครื่องผลิตน้ำส้มสายชู และขอขอบคุณ ศ. ดร. วราวุฒิ ศุภสิงห์และคณะ ที่มอบองค์ความรู้ในการใช้ถังหมักผลิตน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ

เอกสารอ้างอิง

[1] สำนักงานนโยบายและยุทธศาสตร์การค้า, "วิเคราะห์สถานการณ์เศรษฐกิจการค้าไทยรายภูมิภาค ประจำปีเศรษฐกิจภาค 2564", [Online]. เข้าถึงจาก : <http://www.tpsa.moc.go.th/sites/default/files/wiekrhaasongthai2022/2564/sthikchkaerkaeragayyohuumi.pdf>, 2564.

[2] รุจามาต มณีวงศ์, "การผลิตน้ำส้มสายชูจากสาโท" รายงานผลการวิจัยภาควิชาชีพวิชา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้, (รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์), 2555.

[3] มิ่งพิลา ตาสระพันธ์, กั๊พราวรรณ ตันอัมกลาง และอุษณารัตน์ พิทักษ์, "การผลิตไวน์เสาวรส" มีนุทาพิเศษ, ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง, 64 หน้า 2542.

[4] สวรรยา มีนุญานันท์, ชนกันทร ผดุงอรุณ และวีรพรรัตน์ เจริญแสนอักษร, "การพัฒนาผลิตภัณฑ์ไวน์และน้ำส้มสายชูหมักกับโปรตีนเคซีน" การประชุมวิชาการระดับชาติ ราชภัฏเทพสตรีขอนแก่นครั้งที่ 6 :455-461, มีนาคม 2561.

[5] Heitor O.S., M Wilson M.A.M. M., Guilherme, A.R.da S., Jonato P. and Brad, J.S., "Vinegar (acetic acid) intake on glucose metabolism: A narrative review," *Clinical Nutrition ESPEN*, vol. 32, pp. 1-7, August 2019.

[6] A. Samad, A. Azlan, and A. Ismail, "Therapeutic effects of vinegar: a review," *Current Opinion in Food Science*, vol. 8, pp. 56-61, April, 2016.

[7] W., Krusong, S., Yaiyen and S., Pompukeewatana, "Impact of high initial concentrations of acetic acid and ethanol on acetication rate in an internal Venturi injector bioreactor," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 118, no. 3, pp. 1-12, Mar. 2015.

[8] M. Carmen, D. Inés María, H. Jorge E, G. Isidoro, "Optimization of the Acetication Stage in the Production of Wine Vinegar by Use of Two Serial Bioreactors" *Applied Science*, vol. 1217, no. 11, pp. 1-16, Jan. 2021.

[9] M. Carmen, D. Inés María, H. Jorge E, G. Isidoro, "Optimization of the Acetication Stage in the Production of Wine Vinegar by Use of Two Serial Bioreactors" *Applied Science*, vol. 1217, no. 11, pp. 1-16, Jan. 2021.

[10] W., Krusong, Pompukeewatana, S., Kerdpiroon, S., and Tantaratn, S. "Prediction of influence of stepwise increment of initial acetic acid concentration in charging medium on acetication rate of semicontinuous process by artificial neural network," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 56, pp. 383-389, May, 2014.

[11] W. Krusong and A. Vichitrakul, "An Air-lift Acetifier with Mash Recycling System for Corn Vinegar Production by Adsorbed Cells of Acetobacter aceti WK on Surface of Loofo Sponge," *International Conference on Biotechnology and Food Science*, vol. 7, pp. 88-90, 2011.

[12] T. Phanomsophon, P. Sirinomboon, R. Lapcharoenzuck, S. Bhrestha, and W. Krusong, "Evaluation of acetic acid and ethanol concentration in a rice vinegar internal venturi injector bioreactor using Fourier transform near infrared spectroscopy," *LWT*, vol. 27, no. 6, pp. 416-423, Aug. 2019.

[13] W. Krusong, S. Kerdpiroon, A. Jindaprasert, S. Yaiyen, S. Pompukeewatana, S. Tantaratn, "Influence of calcium chloride in the high temperature acetication by strain Acetobacter aceti WK for vinegar," *Journal of Applied Microbiology*, vol. 119, pp. 1291-1300, July, 2015.

[14] W. Krusong, W. Sriphochanart, R. Suwanpanich, D. Mekkerdchoo, P. Sriporom, A. Wipatanawin, S. Massa, "Healthy dried baby corn silk vinegar production and determination of its main organic volatiles containing antimicrobial activity," *LWT - Food Science and Technology*, vol. 177, pp. 1-9, 849, 2019.

[15] AOAC, *Official Methods of Analysis*, 17th ed., The Association of Official Analytical Chemists, Maryland, USA, C. 2000.

[16] Rankine, B. C., *Making Good Wine: A Manual of Winemaking Practice for Australia and New Zealand*, Australia: Plan Macmillan Publisher, pp. 374, 1993.

[17] C. A. Hett and M. Tortorello, "Encyclopedia of Food Microbiology," Edition 2, United Kingdom: Elsevier, vol. 2, no. 1, pp. 8, April, 2014.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำนมม่วงพืชม้วนแข็ง 10 กิโลกรัม ละลายโดยการแช่ในตู้เย็นที่อุณหภูมิประมาณ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 8 ชั่วโมง และปรับปริมาตร 95 กิโลกรัม โดยน้ำเชื่อมและมีปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำไว้คืออยู่ที่ 18 °Brix – 19 °Brix นำไปฆ่าเชื้อ หลังจากนั้นเติมหัวเชื้อ *S. cerevisiae* FER 1.5 ลิตร ใช้เวลาในการหมัก 7-9 วัน

III.III การหมักน้ำดื่มสายชู

นำไวน์มะม่วงหวานจากหัวข้อ III.II มาหมักต่อกับเชื้อ *A. aceti* WK ถูกแบ่งออกเป็น 2 ช่วงในการหมัก Start-Up phase (250 ลิตร) และ Acetification operation phase (600 ลิตร) มีความเข้มข้นรวมเริ่มต้นอยู่ที่ 80 กรัมต่อลิตร (TCS) ประกอบไปด้วยปริมาณกรดแลคติก 45 กรัมต่อลิตร และแอลกอฮอล์ 35 กรัมต่อลิตร โดยปริมาณการเติมอากาศอยู่ที่ 0.5 วัตต์ อุณหภูมิ 30.0 ± 0.1 องศาเซลเซียส ในทุกรอบของการหมักต้องเติมอาหารเลี้ยงเชื้อดังนี้ yeast extract 5 กรัมต่อลิตร Glucose 5.0 กรัมต่อลิตร Magnesium Sulphate Heptahydrate 0.2 กรัมต่อลิตร และ Diammonium Phosphate 0.5 กรัมต่อลิตร [10]

III.VI วิธีการวิเคราะห์

ไวน์ถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาตรแอลกอฮอล์ (Ethanol (ET)) ที่เอช (pH) และ ปริมาตรของแข็งที่ละลายน้ำ (Total Soluble Solids (TSS))

นำดื่มสายชูถูกวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ ET น้ำหนักเซลล์แห้ง (Cell Dry Weight (CDW)) และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ (Dissolved oxygen (DO))

แอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยการการใช้ NaOH 0.1 N ที่อินดิฟิเคชันเป็นอินดิเคเตอร์ [15] และปริมาณแอลกอฮอล์ (กรัมต่อลิตร) โดยเครื่องอิมบูมิเตอร์ (Dujadin-Salleron, France)

พีเอชถูกวิเคราะห์โดยใช้เครื่อง pH meter (Lab855, SI Analytics, Germany) และ TSS โดยใช้ Refractometer (HI96800, Hanna, Romania) รายงานเป็น °Brix

DO โดยเครื่อง Dissolved Oxygen Meter (HANNA, HI9146) รายงานผลเป็นหนึ่งส่วนในล้านส่วน (ppm) และ CDW โดยการนำตัวอย่างมาปั่นเหวี่ยงที่ 8000 รอบต่อนาที ที่ 4 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 40 นาที ได้ส่วนที่เป็นส่วนเหนือตะกอนและตะกอน นำส่วนที่เป็นตะกอนมาเป็นกราฟมาตรฐานวัดความยาวคลื่นที่ 600 นาโนเมตร คัดแปลงจาก [10]

III.V การวิเคราะห์ทางสถิติ

งานวิจัยนี้ใช้การทดลองออกแบบแบบสุ่มอย่างสมบูรณ์ (CRD) โดยใช้ IBM SPSS สำหรับ Windows (Armonk, NY: IBM Corp) เพื่อคำนวณการวิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) โดยใช้วิธีของ Duncan ระดับความเชื่อมั่น 95%

VI. ผลการวิจัย

VII ผลการผลิตไวน์มะม่วงหวาน

จากผลการทดลองหมักไวน์มะม่วงหวาน 1,200 ลิตร จำนวน 12 ครั้ง โดยทำการตรวจวัด ET TSS แอลกอฮอล์ (กรดแลคติก) และ ค่าพีเอช โดยตรวจวัดทุก 0 1 3 5 และ 7 วัน พบว่าปริมาณ TSS วันที่ 0 และ 7 มีปริมาณ TSS อยู่ที่ 18.78 ± 0.49 °Brix และ 9.54 ± 1.42 °Brix ตามลำดับ ทำให้ได้เอทานอล 83.10 ± 0.00 กรัมต่อลิตร ในวันที่ 7 พร้อมกับปริมาณกรด

รวมทั้งเพิ่มขึ้นร้อยละ 2.63 ± 0.10 กรัมต่อลิตร จึงส่งทำให้ค่าพีเอช ลดลงแสดงในตารางที่ 1

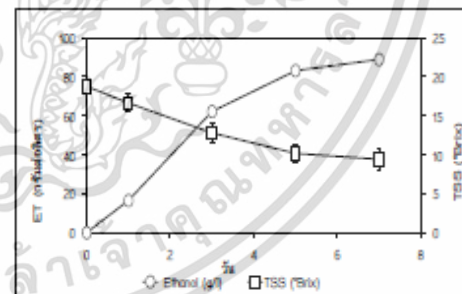
จากรูปที่ 1 ช่วงแรกในการหมัก วันที่ 0-1 เอทานอลอย่างช้าๆ พร้อมกับลดลงของ TSS อย่างช้าๆ แต่เมื่อวันที่ 1-2 เชื้อมีการผลิตเอทานอลอย่างรวดเร็ว และในช่วงต่อ 3-7 วัน มีการผลิตเอทานอลเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ แสดงให้เห็นว่าเชื้อมีการใช้น้ำตาล

ตารางที่ 1 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการผลิตไวน์มะม่วงหวานเป็นเวลา 7 วัน

เวลา (วัน)	TSS (°Brix)	ET (กรัม/ลิตร)	กรดแลคติก (กรัม/ลิตร)	พีเอช
0	18.78±0.49	0±0.00	0.40±0.80	4.54±0.37
1	16.63±1.13	16.50±0.00	2.40±0.50	3.38±0.40
3	12.79±1.20	62.20±0.00	2.60±0.20	2.91±0.06
5	10.18±1.04	83.10±0.00	2.63±0.10	2.85±0.10

VII.II ผลการเจริญของเชื้อแบคทีเรีย *A. aceti* WK ในสภาวะการผลิตไวน์มะม่วงหวาน

จากการศึกษาการผลิตไวน์สายชูจากไวน์มะม่วงหวานในความเข้มข้นเริ่มต้น TC 8 โดยการเติมอากาศที่ 0.5 วัตต์ ในช่วง start-up มีปริมาณเริ่มต้นแรก 250 ลิตร และต่อมาทำการปรับปริมาณเป็น 600 ลิตร ในช่วง operation phase ทั้งหมด 3 รอบการหมัก ตรวจวัดทุก 2 วันของการหมัก โดยวัด ET ปริมาตรกรดรวม (กรดแลคติก) น้ำหนักเซลล์แห้ง CDW และ ค่าออกซิเจนละลายน้ำ DO จากตารางที่ II ผลของ ETA 1.29 กรัมต่อลิตร และผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารได้ร้อยละ 98.9 ในระยะเวลาการหมัก 19 วัน 21 วัน และ 33 วัน



รูปที่ 1 ความสัมพันธ์ระหว่าง ET (กรัมต่อลิตร) กับ TSS (°Brix) ในระหว่างการหมักไวน์มะม่วงหวาน

จากรูปที่ II พบว่าช่วง start-up ในวันที่ 0 และ 1 แบคทีเรียมีการปรับตัวไม่มีการผลิตกรดและเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักในระยะเวลา 9 วัน ปริมาณเอทานอลสุดท้ายอยู่ที่ 5 กรัมต่อลิตร โดยผลได้ของการเปลี่ยนแปลงรูปสารร้อยละ 90 แสดงในตารางที่ II ซึ่งแสดงให้เห็นว่ามีการสูญเสียในระหว่างการหมัก

จากรูปที่ III ในช่วงของ start-up ในวันที่ 0 1 และ 3 DO อยู่ที่ 6.03 ± 0.08 ppm 6.33 ± 0.01 ppm และ 7.65 ± 0.00 ppm ตามลำดับและมีปริมาณ CDW อยู่ที่ 0.191 ± 0.003 กรัมต่อลิตร 0.208 ± 0.003 กรัมต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายวัลลภ โตช่วงค์
วัน เดือน ปีเกิด	25 กันยายน 2537
ที่อยู่	96/58 หมู่ที่ 2 แขวงลำผักชี เขตหนองจอกเมือง กรุงเทพฯ 10520 โทร.064-142-6697
ประวัติการศึกษา	2553 วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิศวกรรมแปรรูปอาหาร คณะอุตสาหกรรมอาหาร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้