การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดด้วยวิธีการหมักในถาดแบบรวดเร็ว
PRODUCTION OF PINEAPPLE VINEGAR BY RAPID-TRAY-CULTURE METHOD

กร ชูชัยศรี
พัชริยา อาจกล้า
ภูเบศ ไพศาลธรรม
สริต ปลิวมา

ปริญญานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดด้วยวิธีการหมักในถาดแบบรวดเร็ว

PRODUCTION OF PINEAPPLE VINEGAR BY RAPID-TRAY-CULTURE METHOD

กร ชูชัยศรี
พัชริยา อาจกล้า
ภูเบศ ไพศาลธรรม
สริต ปลิวมา

ปริญญานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต
สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร
คณะวิศวกรรมศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2560

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

PRODUCTION OF PINEAPPLE VINEGAR BY RAPID-TRAY-CULTURE METHOD

KORN CHUCHAISRI
PHATCHARIYA ADKLA
PHUBET PAISANTHAM
SARIT PLEWMA

THIS THESIS IS SUBMITTED IN PARTIAL FULLFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

BACHELOR OF ENGINEERING IN FOOD ENGINEERING

FACULTY OF ENGINEERING

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2017

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริญญานิพนธ์ ปีการศึกษา 2560

สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร

คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เรื่อง การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดด้วยวิธีการหมักในถาดแบบรวดเร็ว

Production of pineapple vinegar by Rapid-Tray-Culture Method

ผู้จัดทำ

1. นายกร	ชูชัยศรี	รหัสประจำตัว	57010012
2. นางสาวพัชริยา	อาจกล้า	รหัสประจำตัว	57010873
3. นายภูเบศ	ไพศาลธรรม	รหัสประจำตัว	57010995
4. นายสริต	ปลิวมา	รหัสประจำตัว	57011321

วรีสา ชูวัฒนกูล .... อาจารย์ปรึกษา

(ดร.วรีสา ชูวัฒนกูล)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงาน	การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดด้วยวิธีการหมักในถาดแบบรวดเร็ว	
นักศึกษา	นายกร	ชูชัยศรี
	นางสาวพัชริยา	อาจกล้า
	นายภูเบศ	ไพศาลธรรม
	นายสริต	ปลิวมา
อาจารย์ที่ปรึกษา	ดร. วรีสา ชูวัฒนกูล	
ปริญญา	วิศวกรรมศาสตร์บัณฑิต	
สาขาวิชา	วิศวกรรมอาหาร	
ปีการศึกษา	2560	

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์ตราดสีทอง พันธุ์ภูแล และพันธุ์ภูเก็ตกับเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ 1. เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae Montache* 2. เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* และ 3. สายพันธุ์ผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* กับ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* และเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 เพื่อผลิตกรดอะซิติก (กรดน้ำส้ม) ด้วยเทคนิค Rapid-Tray-Culture Method จากผลการทดลองพบว่าสับปะรดพันธุ์ภูแลที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* และ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* สามารถผลิตกรดน้ำส้มมากที่สุดถึง 4.8%v/v ถึงแม้ว่าสับปะรดพันธุ์ภูแลจะผลิตกรดน้ำส้มได้มากที่สุด แต่สับปะรดพันธุ์ภูเก็ตที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์เดียวกันก็สามารถผลิตกรดน้ำส้มได้ 4.49%v/v ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและใช้เวลาในการหมักน้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก ผู้วิจัยจึงเลือกพันธุ์ภูเก็ตมาใช้ในการทดลองโดยออกแบบภาชนะหมักที่เพิ่มปริมาณออกซิเจนให้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก Acetic acid bacteria ต้องการใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Project Title	Production of pineapple vinegar by Rapid-Tray-Culture Method	
Students	Mr. Korn	Chuchaisri
	Ms. Phatchariya	Adkla
	Mr. Phubet	Paisantham
	Mr. Sarit	Plewma
Project Advisor	Dr. Varesa Chuwattanakul	
Degree	Bachelor of Engineering	
Program	Food Engineering	
Academic year	2017	

ABSTRACT

The research aims to produce the vinegar by Rapid-Tray-Culture Method which fermented from 4 difference types of pineapple; Pattawia, Tradsrithong, Phulae and Phuket with 3 different types of yeast 1. *Saccharomyces cerevisiae Montache* 2. *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* and 3. The combined type of *Saccharomyces cerevisiae Montache* and *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* followed by fermented wine vinegar with *Acetobacter aceti* TISTR 354. As a result it was found that Phulae with the combined type of *Saccharomyces cerevisiae Montache* and *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* had the highest 4.8% v/v of acetic acid. Although Phulae had a highest percentage of acetic acid, Phuket which fermented by the combined type of *Saccharomyces cerevisiae Montache* and *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* had a shorter time of fermented period than other types of pineapple and had 4.49% v/v of acetic acid which was not significant differences. To further improve the efficiency of vinegar production, container was designed by adding extra oxygen which is one of an important factors for growth of acetic acid bacteria.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ปริญญานิพนธ์เล่มนี้สำเร็จลงได้ด้วยความอนุเคราะห์จาก ดร.วรีสา ชูวัฒนกูล อาจารย์ที่ปรึกษาโครงงานวิจัยที่ให้ความรู้ คำปรึกษา ความช่วยเหลือและแนะนำจนสามารถผ่านอุปสรรคต่างๆที่เกิดขึ้นในระหว่างการทำโครงงานวิจัยนี้ จนงานวิจัยสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี และขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์สาขาวิชาวิศวกรรมอาหาร คณะวิศวกรรมศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบังทุกท่านที่อบรมสั่งสอน ให้ความรู้ตลอดระยะเวลาที่ศึกษา

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภายในสาขาวิศวกรรมอาหารทุกคน ที่ได้อำนวยความสะดวกและความอนุเคราะห์ในการยืมอุปกรณ์และ ห้องปฏิบัติการเพื่อดำเนินงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณคุณประภาส ที่ให้ความรู้สำหรับการใช้งานเครื่อง High Performance Liquid Chromatography

สุดท้ายนี้ ผู้วิจัยขอขอบคุณพระคุณบิดา มารดา และทุกคนในครอบครัวที่ให้กำลังใจ ให้การสนับสนุนตลอดมา ขอบคุณเพื่อนๆนักศึกษาทุกคนที่คอยให้กำลังใจและช่วยเหลือจนโครงการวิจัยนี้ประสบผลสำเร็จ

คณะผู้จัดทำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VII
สารบัญรูปภาพ	VII
สารบัญกราฟ	VIII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 หลักการ เหตุผล และที่มาของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงาน	2
1.3 ขอบเขตการศึกษา	2
1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	2
บทที่ 2 ตรวจเอกสาร	3
2.1 สับปะรด	3
2.1.1 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย	3
2.1.2 สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต	3
2.1.3 สับปะรดพันธุ์ภูแล	3
2.1.4 สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง	3
2.2 น้ำส้มสายชู	4
2.3 กรดอะซิติก	5
2.4 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู	5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
2.5 เชื้อยีสต์	6
2.6 เชื้อแบคทีเรีย	7
2.7 Ebulliometer	8
2.7.1 การหาปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้อีบูลลิโอมิเตอร์	8
2.7.2 การหาจุดเดือดของแอลกอฮอล์	8
2.8 Refractometer	8
2.9 pH meter	11
2.10 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)	12
2.11 Gas chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)	14
2.12 ไทเทรต	14
2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	16
บทที่ 3 วัสดุ อุปกรณ์ และการทดลอง	18
3.1 วัสดุและอุปกรณ์ทดลอง	18
3.2 การเตรียมวัตถุดิบสำหรับทำการทดลอง	18
3.2.1 การเตรียมน้ำสับปะรด	18
3.2.2 เตรียมหัวเชื้อยีสต์สำหรับขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นแอลกอฮอล์	19
3.2.3 เตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียสำหรับขั้นตอนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดน้ำส้ม	21
3.3 วิธีการทดลอง	22
3.3.1 ขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์	22
3.3.2 ขั้นตอนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นน้ำส้มสายชู	22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารระเหย ในน้ำส้มสายชู	22
3.3.4 การออกแบบถาดสำหรับหมักน้ำส้มสายชู	23
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง	24
4.1 ผลการทดลองของกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์	24
4.2 ผลการทดลองของกระบวนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก	26
4.3 ผลการวิเคราะห์น้ำส้มสายชูด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry	27
4.4 การออกแบบถาดสำหรับหมักน้ำส้มสายชู	28
บทที่ 5 สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ	30
บรรณานุกรม	31
ภาคผนวก	34

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

4.1 ปริมาณกรดอะซิติก %v/v ที่ได้จากการหมักน้ำส้มสายชูที่วัดด้วยวิธีไทเทรตและการใช้เครื่อง HPLC 26

4.2 เปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติกและระยะเวลาที่ใช้ในการหมักน้ำส้มมสายชู 29

สารบัญรูปภาพ

รูปที่

2.1 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย 4

2.2 สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต 4

2.3 สับปะรดพันธุ์ภูแล 4

2.4 สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง 4

2.5 *Lactobacillus sp.* 7

2.6 *Acetobacter sp.* 8

2.7 หลักการทำงานของ Refractometer 10

2.8 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography 13

2.9 ขั้นตอนการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography 13

2.10 อุปกรณ์ชุดไทเทรต 15

3.1 หลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด YPD 19

3.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) 20

3.3 เขี่ยเชื้อยีสต์ทั้ง 3 ชนิดข้างต้นจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ลงไปในขวดรูปชมพู่ขวดละ 1 หลอด 20

3.4 นำไปหมักในขวดโหลแก้วปริมาตร 10 ลิตร และหม้อเหล็กกล้าไร้สนิมทรงสูง ขนาด 28x28 เซนติเมตร ปริมาตร 17.2 ลิตร 20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูปภาพ (ต่อ)

รูปที่	หน้า
3.5 หลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MRS	21
3.6 รูปแบบถาดปกติที่ไม่มีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ	23
3.7 รูปแบบถาดแบบปกติโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ	23
3.8 รูปแบบโหลแก้วแบบไม่มีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ	24
3.9 รูปแบบโหลแก้วแบบมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ	24

สารบัญกราฟ

กราฟที่	
4.1 ปริมาณกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาช่วงหมักน้ำส้มสายชู	25
4.2 ตัวอย่างกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติกด้วยเครื่อง HPLC ของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต	27
4.2 ปริมาณความเข้มข้นสัมพัทธ์โดยรวมของน้ำส้มสายชูจากสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต	28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 หลักการ เหตุผล และที่มาของปัญหา

สับปะรด (*Ananas comosus*) เป็นผลไม้เมืองร้อนที่มีถิ่นกำเนิดในแถบทวีปอเมริกาใต้ ทำให้ทนทานกับอากาศที่ร้อนชื้นได้เป็นอย่างดี โดยเฉพาะในประเทศไทยมีการนำเอาสับปะรดนี้มาปลูกกันในหลายพื้นที่ เช่น สับปะรดพันธุ์ภูแล สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต ปลูกในจังหวัดภูเก็ต, สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย ปลูกในจังหวัดประจวบคีรีขันธ์, สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง ปลูกในจังหวัดตราด สับปะรดเป็นผลไม้มีรสเปรี้ยวอมหวาน เต็มไปด้วยคุณค่าทางโภชนาการมากมาย เช่น วิตามิน A, B, C และแร่ธาตุ เช่น แคลเซียม, ฟอสฟอรัส และเหล็ก สามารถรับประทานสดหรือนำไปประกอบอาหารได้หลากหลาย ทั้งอาหารไทยและอาหารตะวันตก นอกจากนี้ยังสามารถนำน้ำสับปะรดมาเป็นวัตถุดิบตั้งต้นสำหรับการทำเครื่องปรุงรสอาหาร เช่น น้ำส้มสายชู ได้อีกด้วย

น้ำส้มสายชู (Vinegar) เป็นของเหลวที่ได้จากกระบวนการหมัก มีองค์ประกอบหลักคือกรดน้ำส้ม (กรดอะซิติก) ซึ่งมาจากคำว่า vin aigre ในภาษาฝรั่งเศสแปลว่า ไวน์เปรี้ยว เพราะน้ำส้มสายชูในสมัยเริ่มต้นได้จากการหมักเอทิลแอลกอฮอล์ในไวน์ด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobacter* หรือ *Gluconobacter* ทำให้ได้กรดน้ำส้มที่มีรสเปรี้ยวและไม่มีพิษต่อร่างกาย นิยมใช้เป็นเครื่องปรุงรสในอาหารและมีคุณสมบัติทางด้านการรักษาอีกด้วย เช่น ต้านอนุมูลอิสระ, ต้านเชื้อแบคทีเรีย, ช่วยลดอาการเหนื่อยล้าและควบคุมความดันโลหิต (Jonhston et al., 2013; Ohnami et al., 1985) วิธีการผลิตน้ำส้มสายชูแบ่งได้เป็น 2 วิธีหลักๆ คือ วิธีแบบดั้งเดิม (Traditional process หรือ Slow process) เป็นวิธีการหมักแบบธรรมชาติใช้ระยะเวลาในการหมักประมาณ 3-4 เดือน และมีปริมาณกรดน้ำส้มที่ผลิตได้ประมาณ 3-5%, วิธีหมักแบบรวดเร็ว (Trickling Method หรือ Quick process) (Tesfaye et al., 2006) ใช้ระยะเวลาในการหมักสั้น ได้ปริมาณกรดน้ำส้มที่ผลิตสูง 12 -14% แต่เนื่องจากค่าใช้จ่ายในการใช้วิธีนี้สูง ในปี 2549 มาลัยและคณะ ได้คิดค้นวิธีการหมักแบบวิธีการ “Rapid-Tray-Culture Method” หรือวิธีการหมักแบบรวดเร็วโดยใช้ถาด ซึ่งต่างจากการหมักแบบปกติคือ จะใช้ระยะเวลาในการหมักสั้น แต่ได้ปริมาณกรดน้ำส้มสูงกว่าการหมักแบบธรรมชาติ ซึ่งเหมาะสำหรับธุรกิจขนาดเล็กและภายในครัวเรือน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทางผู้วิจัยมีความสนใจในเทคนิคนี้ จึงนำสับปะรด 4 สายพันธุ์ ซึ่งมีลักษณะเด่นแตกต่างกันคือ 1) พันธุ์ปัตตาเวีย มีรสหวานอมเปรี้ยว เส้นใยน้อย เนื้อนุ่มฉ่ำน้ำ และมีกลิ่นหอม 2) พันธุ์ภูแล มีเนื้อสีเหลืองอ่อน กรอบ หวานไม่ฉ่ำน้ำ กลิ่นหอม 3) พันธุ์ภูเก็ต จะมีเนื้อละเอียด สีเหลืองเข้ม กรอบ รสหวาน กลิ่นหอม 4) พันธุ์ตราดสีทอง เนื้อมีสีเหลืองทอง มีรสชาติหวาน กรอบ กลิ่นหอม และฉ่ำน้ำมาหมักน้ำส้มสายชู โดยเริ่มจากการนำสับปะรด 4 สายพันธุ์มาหมักกับเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ *Saccharomyces cerevisiae Montache*, Saccharomyces *cerevisiae Burgundy* และการผสมสายพันธุ์ระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* และ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* เพื่อให้ได้ไวน์สับปะรดและหมักน้ำส้มสายชูต่อด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 ทั้งนี้เพื่อศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพ ทางเคมี และกลิ่นในแต่ละสายพันธุ์ เนื่องจากยังไม่มีการศึกษาดังกล่าว อีกทั้งจากการศึกษาของมาลัยและคณะ (2549) พบว่าการหมักน้ำส้มสายชูแบบรวดเร็วโดยใช้ถาด สามารถรองรับขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชูต่อครั้งได้ในปริมาณที่น้อย ทางผู้วิจัยจึงมีความคิดที่จะออกแบบถาด สำหรับการหมักน้ำส้มสายชูเพื่อเพิ่มปริมาณการผลิตให้ดียิ่งขึ้น

1.2 วัตถุประสงค์ของโครงงาน

1) ศึกษาและเปรียบเทียบคุณสมบัติของน้ำส้มสายชูหมักที่ได้จากสับปะรดทั้ง 4 สายพันธุ์

2) พัฒนาและออกแบบถาดสำหรับการหมักด้วยวิธี Rapid-Tray-Culture Method

1.3 ขอบเขตการศึกษา

1) ศึกษาสับปะรด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย, พันธุ์ภูเก็ต, พันธุ์ภูแล และพันธุ์ตราดสีทอง ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูด้วยวิธีการหมักแบบรวดเร็วโดยใช้ถาด

2) ศึกษาการเปลี่ยนแปลงของไวน์สับปะรดจากการหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache, Saccharomyces cerevisiae Burgundy* และการผสมสายพันธุ์ระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* และ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy*

3) กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti TISTR 354*

4) การออกแบบถาดที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู เพื่อใช้เป็นแนวทางในการเพิ่มประสิทธิภาพการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรดด้วยวิธี Rapid-Tray-Culture

1.4 ผลที่คาดว่าจะได้รับ

1) ทราบความเข้มข้นของกรดน้ำส้มจากสับปะรดทั้ง 4 สายพันธุ์ ที่ใช้ผลิตน้ำส้มสายชู

2) ทราบแนวทางการออกแบบถาดเพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำส้มสายชูจากวิธี Rapid-Tray-Culture

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ตรวจเอกสาร

2.1 สับปะรด

2.1.1 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

เป็นสับปะรดพันธุ์ที่แพร่หลายและมีหลายชื่อเรียก เช่น สามร้อยยอด ปราณบุรี เป็นที่นิยมปลูกในจังหวัดต่างๆ เช่น จังหวัดประจวบคีรีขันธ์ จังหวัดชลบุรี จังหวัดเพชรบุรี จังหวัดระยอง และจังหวัดลำปาง เพื่อป้อนสู่โรงงานอุตสาหกรรม ลักษณะของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย คือ มีใบสีเขียวเข้ม เป็นร่องตรงกลาง ผิวมันเงาตรงกลางใบด้านบน บริเวณใต้ใบเป็นสีออกเทาเงิน บริเวณปลายขอบใบมีหนามเล็กน้อย เนื้อหวานฉ่ำ มีน้ำมาก

2.1.2 สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต

เป็นสับปะรดที่นิยมปลูกกันมากในสวนยางบริเวณจังหวัดภูเก็ต จังหวัดชุมพร จังหวัดนครศรีธรรมราช และจังหวัดตราด นิยมปลูกระหว่างแถวยาวรุ่นที่ยังอายุน้อย เพื่อที่จะสามารถเก็บผลขายก่อนกรีดยาง ลักษณะใบยาวแคบ มีแถบสีแดงบริเวณกลางใบ ขอบใบมีหนามสีแดง ลักษณะผลเป็นทรงกระบอก มีตาลึกและขนาดผลเล็กกว่าพันธุ์อื่นๆเล็กน้อย มีความหอมและรสชาติหวานกรอบ เยื่อใยน้อย เหมาะสำหรับบริโภคสด

2.1.3 สับปะรดพันธุ์ภูแล

เป็นสับปะรดสายพันธุ์ในกลุ่มควีน ลูกเล็กและสามารถปลูกได้ตลอดปี ผล ขนาดเล็ก เนื้อสีทอง กลิ่นหอม แกนสับปะรดกรอบ รับประทานได้ รสชาติหวานปานกลาง แหล่งกำเนิดอยู่ที่ตำบลนางแล ตำบลท่าสุด และตำบลบ้านดู่ อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

2.1.4 สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง

เป็นสับปะรดที่นิยมปลูกในจังหวัดตราด สายพันธุ์เดิมมาจากสิงคโปร์และเกิดการกลายพันธุ์เป็นสายพันธุ์ใหม่ สำนักงานเกษตรจังหวัดตราดจึงตั้งชื่อพันธุ์ว่า ตราดสีทอง ลักษณะของสับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง คือ ใบแคบยาวสีเขียวอ่อน มีแถบสีแดงกลางใบ ขอบใบมีหนามสีแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปโค้ง ผลเป็นทรงกระบอก เปลือกบาง เนื้อไม่ฉ่ำน้ำ มีเส้นใยอ่อนนุ่ม ปลูกง่าย ปลูกได้ตลอดทั้งปี ทนทานต่อโรค

รูปที่ 2.1 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

รูปที่ 2.2 สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต

รูปที่ 2.3 สับปะรดพันธุ์ภูแล

รูปที่ 2.4 สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง

2.2 น้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูเป็นเครื่องปรุงรสอาหารที่นิยมติดไว้ในครัว ให้รสเปรี้ยว กลิ่นฉุน สีใส อีกทั้งนิยมใช้ในทางอุตสาหกรรมเป็นจำนวนมากในการผลิตซอสพริก ซอสมะเขือเทศ และนำไปใช้เกี่ยวกับการหมักดองผักผลไม้ การที่มีรสเปรี้ยวนั่นเกิดจากกรดอะซิติกที่เกิดจากหมักผักและผลไม้หรือเป็นของเหลือที่ได้ผักและผลไม้ เช่น เปลือก ก้าน หลักจากหมักไปแล้วสามารถนำมากลั่นเพื่อให้เป็นน้ำส้มสายชูบริสุทธิ์ การหมักจะเป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เช่นเดียวกับการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดต่างๆ

ประเภทของน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูสามารถแบ่งได้ตามกระบวนการผลิต รวมถึงประกาศของกระทรวงสาธารณสุข ซึ่งแบ่งเป็น 3 ประเภทดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. น้ำส้มสายชูหมัก เป็นน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักข้าว ผักหรือผลไม้ชนิดต่างๆ ด้วยยีสต์ให้เปลี่ยนแป้งเป็นแอลกอฮอล์ และเมื่อยู่ในรูปแอลกอฮอล์แล้วจึงเปลี่ยนเป็นกรดน้ำส้ม น้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามวัตถุดิบที่ใช้หมัก จะต้องมีกรดอะซิติกไม่ต่ำกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร จะมีกลิ่นที่หอม ปลอดภัย และมีการฆ่าเชื้อด้วยความร้อนเสียก่อนจึงสามารถเก็บไว้ได้นาน น้ำส้มสายชูที่ได้รับจากการหมักผลไม้ เช่น จากองุ่น ได้น้ำส้มสายชูจากไวน์ จากแอปเปิลเรียกว่าไซเดอร์ หรือเอาผลไม้ที่มีน้ำตาลอย่างน้อย 9% มาทำการหมักได้ทุกชนิด จะได้กรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร น้ำส้มสายชูชนิดนี้มีน้อยมาก ไม่พบเจอในท้องตลาดเนื่องจากมีราคาสูง มีความยุ่งยากและวัตถุดิบราคาแพง แต่ให้รสและกลิ่นที่ดี

2. น้ำส้มสายชูกลั่น เป็นการผ่านการหมักก่อนเป็นขั้นตอนแรก แล้วนำมากลั่นอีกรอบ จะมีความใสและไม่มีตะกอน ไม่ค่อยมีกลิ่น มีขายตามท้องตลาดทั่วไป จะต้องมีกรดอะซิติกไม่เกิน 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

3. น้ำส้มสายชูเทียม เป็นน้ำส้มสายชูที่ไม่ได้เกิดจากการหมักและการกลั่น แต่เกิดจากการผสมกรดอะซิติกเข้าไป โดยสารที่ได้เกิดจากกระบวนการทางเคมี ต้องมีกรดอะซิติกไม่ต่ำกว่า 4% หรือไม่เกิน 12% เป็นสีขาว ไม่มีกลิ่นและราคาถูก มีความปลอดภัยต่ำ

2.3 กรดอะซิติก

กรดอะซีติก (Acetic acid) หรือกรดน้ำส้ม เป็นกรดอินทรีย์ (Organic acid) ประเภทกรดคาร์บอกซิลิก (Carboxylic acid) มีสูตร CH_3COOH อาจเกิดจากกระบวนการหมัก (Fermentation) เอทิลแอลกอฮอล์ ด้วยแบคทีเรียแอซีโตแบคเตอร์ (*Acetobacter*) หรือจากการสังเคราะห์ทางเคมี ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขเรื่องน้ำส้มสายชู มีการใช้กรดอะซิติกในอาหารเพื่อปรุงแต่งกลิ่นรสของอาหารหรือเป็นวัตถุเจือปนอาหาร (Food additive) เช่น

- Acidity regulator เพื่อการปรับให้อาหารเป็นกรดเรียกว่า อาหารปรับกรด (Acidified food)

- เป็นสารกันเสีย (Preservative) โดยควบคุมการเจริญของจุลินทรีย์

2.4 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

ในปัจจุบันการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมี 3 วิธีดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. The Orleans Method เป็นวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูดั้งเดิมที่ใช้เวลานานในการผลิตให้มีคุณภาพสูง โดยการหมักน้ำตาลให้เกิดแอลกอฮอล์ (Alcoholic fermentation) โดยใช้ยีสต์ (Yeast) ตามด้วยการหมักแอลกอฮอล์ให้เกิดกรดอะซิติก (Acetic acid fermentation) ด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobacter* และ *Gluconobacter* ในภาวะที่มีออกซิเจน

2. The Trickling Method (Quick process) เนื่องจาก Orleans Method ใช้เวลานานในการผลิตน้ำส้มสายชูจึงได้มีการคิดค้นวิธีเพิ่มอัตราในการผลิตน้ำส้มสายชู โดยการพ่นสารตั้งต้นที่มีแอลกอฮอล์ในชั้นบนของห้องหมัก เพื่อที่แบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobacter* และ *Gluconobacter* จะสามารถทำปฏิกิริยากับพื้นผิวชั้นบนของห้องหมักและผลิตน้ำส้มสายชูได้เร็วขึ้น

3. The Submerged Fermentation Method วิธีนี้เป็นวิธีการใหม่ในการผลิตน้ำส้มสายชูที่ใหม่กว่า เร็วกว่า และมีประสิทธิภาพมากขึ้น ส่วนใหญ่ใช้ในโรงงานอุตสาหกรรม ซึ่งวิธีนี้จำเป็นต้องมีอุปกรณ์พิเศษ เช่น มอเตอร์ความเร็วสูง ช่วยแยกอากาศที่ลงถังหมักให้เป็นฟองอากาศขนาดเล็กๆ และถูกบีบให้ละลายสารละลายของแอลกอฮอล์ เพื่อที่แบคทีเรียจะเปลี่ยนเป็นกรดน้ำส้มเร็วขึ้น หลังจากนั้นนำมากรองและพาสเจอร์ไรส์ เพื่อยับยั้งการเติบโตของแบคทีเรียและการทำงานของเอนไซม์ กระบวนการนี้มักใช้เวลา 1-2 วันในการผลิตซึ่งเหมาะกับอุตสาหกรรมขนาดใหญ่

2.5 เชื้อยีสต์

Saccharomyces cerevisiae เขียนย่อว่า *S. cerevisiae* คือ ยีสต์ (Yeast) ชนิดหนึ่ง ที่ใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร เพื่อการหมักเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น เบียร์ ไวน์ ใช้เป็นสารให้ขึ้นฟูในขนมปัง และใช้ผลิตสารสกัดจากยีสต์ (Yeast extract)

2.5.1 ใช้ในการหมัก (Fermentation) ให้ได้ผลผลิตหลักคือเอธิลอัลกอฮอล์ ยีสต์ชนิดนี้จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอธิลอัลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ เพื่อใช้ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์หลายชนิดได้แก่

- เบียร์ (Beer) ซึ่งอาจเรียกว่า Brewer's yeast ใช้ผลิตเบียร์ชนิด เอล (Ale) อาจเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า Ale yeast มีลักษณะพิเศษคือ ผลิตแอลกอฮอล์สูง ที่อุณหภูมิ 16-24 °C หลังจากการหมักเซลล์ยีสต์ให้ลอยตัวเป็นกลุ่มอยู่ที่ผิวหน้าของเบียร์ทำให้เรียกได้อีกชื่อว่า Top fementing yeast หรือ Top yeast หรือ Surfaceyeast
- ไวน์ (Wine), สาเก (Sake), ปรั่นดี (Brandy), วิสกี้ (Whiskey) และรัม (Rum)

2.5.2.ใช้เป็นสารที่ทำให้ขึ้นฟู (Leavening agent) เพื่อผลิตผลิตภัณฑ์เบเกอรี่ (Bakery) อาจเรียกยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ว่า Baker's yeast เนื่องจากยีสต์จะใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

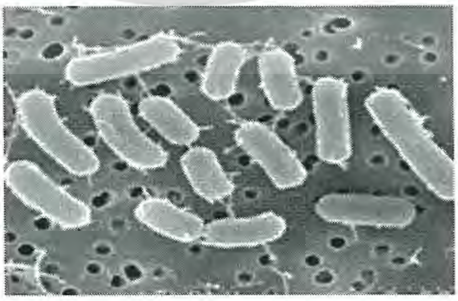
น้ำตาลเป็นอาหารแล้วผลิตก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ทำให้แป้งสาลี (Wheat flour) ซึ่งมีโปรตีนกลูเตน (Gluten) ที่มีลักษณะเหนียว ยืดหยุ่น ขยายตัวเกิดเป็นรูอากาศ (Air cell) เป็นช่องว่างเล็กๆ ในเนื้อของขนมปัง ทำให้เกิดโครงสร้างของขนมปังขึ้นฟู

2.6 เชื้อแบคทีเรีย

แบคทีเรียหลายชนิดถูกใช้ในกระบวนการถนอมอาหารและการแปรรูปอาหารโดยเฉพาะในรูปของการหมัก ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้เรียกว่า อาหารหมัก (Fermented Food) เช่น กะหล่ำปลีดอง แตงกวาดอง เป็นต้น และส่วนใหญ่จะใช้แบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติก ซึ่งแบคทีเรียเหล่านี้อาจมีอยู่แล้วตามธรรมชาติในอาหารหรือตั้งใจใส่ลงในอาหาร แบคทีเรียจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางเคมีหรือเกิดปฏิกิริยาเคมีในอาหารโดยการสร้างเอนไซม์แล้วส่งออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยอาหารต่างๆได้เป็นสารใหม่หรือสารผลิตภัณฑ์ที่มีขนาดโมเลกุลเล็กลง เช่น ย่อยคาร์โบไฮเดรตได้เป็นน้ำตาลโมเลกุลคู่หรือน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว ย่อยโปรตีนได้เป็นกรดอะมิโนชนิดต่างๆ และแอมโมเนียมหรือเอมีน ย่อยลิพิดให้เป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล จากนั้นจึงดูดซึมกลับเข้าสู่เซลล์ แล้วทำให้เกิดปฏิกิริยาเคมีได้สารผลิตภัณฑ์จำพวกกรดอินทรีย์ แอลกอฮอล์ แอลดีไฮด์ แก๊สต่างๆ และพลังงานสำหรับใช้ทำกิจกรรมทั้งหมดของเซลล์ ส่วนสารผลิตภัณฑ์ที่ได้นั้นก็นำมาใช้ประโยชน์ต่อไป

แบคทีเรียที่รู้จักกันดีและมีความสำคัญต่อการถนอมอาหารและแปรรูปอาหารตั้งแต่ในครัวเรือนจนถึงระดับอุตสาหกรรมอาหาร มี 2 กลุ่มใหญ่ๆ คือ

ก. แบคทีเรียที่สร้างกรดแลกติก (Lactic Acid Bacteria : LAB) มีหลายสกุลได้แก่ *Lactococcus sp., Pediococcus sp., Lactobacillus sp., Streptococcus sp.,* ฯลฯ



รูปที่ 2.5 *Lactobacillus sp.*
ที่มา: http://52010214120g013.blogspot.com/

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบคทีเรียกลุ่มนี้จะทำให้น้ำตาลเกิดปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยนเป็นกรดแลกติก ซึ่งทำให้อาหารมีรสเปรี้ยว ผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น แหนม ไส้กรอกเปรี้ยวหรือไส้กรอกอีสาน นมเปรี้ยว โยเกิร์ต ชีส เนยแข็ง ผักดอง ผลไม้ดอง กิมจิ (ผักดองของเกาหลี) ฯลฯ

ข. แบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก (Acetic Acid Bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มนี้ จะทำให้เอทิลแอลกอฮอล์หรือเอทานอล เกิดปฏิกิริยาเคมีเปลี่ยนเป็นกรดอะติก ได้แก่ *Gluconobacter sp., Acetobacter sp.*ฯลฯ

รูปที่ 2.6 *Acetobacter sp.*

ที่มา: http://52010214120g013.blogspot.com/

ผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้ เช่น น้ำส้มสายชู วุ้นมะพร้าว และยังใช้เป็นสารตั้งต้นในการผลิตพอลิเมอร์บางชนิดได้ด้วย

2.7 Ebulliometer

อีบูลลิโอมิเตอร์เป็นเครื่องวัดปริมาณสารในสารละลาย โดยอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิกับความดันของสมดุลไอของเหลวของสารละลาย เช่น แอลกอฮอล์ เป็นต้น อุปกรณ์นี้เป็นที่นิยมและรู้จักกว้างขวางในโรงงานผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยเฉพาะอย่างยิ่งไวน์ เนื่องจากสามารถใช้หาปริมาณแอลกอฮอล์ได้ง่าย สะดวก รวดเร็ว และให้ค่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่เชื่อถือได้โรงงานผลิตไวน์ 3 ใน 4 ของสหรัฐอเมริกาจะใช้อีบูลลิโอมิเตอร์เป็นเครื่องมือในการหาปริมาณแอลกอฮอล์ แต่ในประเทศไทยยังไม่เป็นที่รู้จักแพร่หลายเท่าไรนัก เนื่องจากราคาค่อนข้างสูง

2.7.1 การหาปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้อีบูลลิโอมิเตอร์

เนื่องจากการวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยอีบูลลิโอมิเตอร์ต้องอาศัยความสัมพันธ์ระหว่างอุณหภูมิและความดันของระบบของเหลว-แก๊ส ดังนั้นก่อนจะวัดอุณหภูมิของสมดุลระบบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

(จุดเดือด) เพื่อเทียบหาความเข้มข้นของสารละลาย จะต้องปรับเทียบอุณหภูมิของสมดุลที่ความดันห้องขณะนั้นเสียก่อนเพราะอุณหภูมิดังกล่าวจะแปรไปตามความดันเหนือสารละลายซึ่งในที่นี้คือ ความดันบรรยากาศขณะนั้น การปรับเทียบนี้จะกระทำที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์เป็น 0% เมื่อจะวัดปริมาณแอลกอฮอล์ในสารละลายตัวอย่างจะต้องปรับข้อมูลมาตรฐานให้ค่าความเข้มข้น 0% อยู่ที่อุณหภูมิที่วัดได้จริงเสียก่อน

2.7.2 การหาจุดเดือดของแอลกอฮอล์

ตวงน้ำกลั่น 20 ml ใส่ลงในอีบูลลิโอมิเตอร์ ใส่เทอร์โมมิเตอร์พร้อมจุกยาง จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ต้มจนอุณหภูมิคงที่ อ่านค่าอุณหภูมิแล้วนำไปเทียบแผ่นปรับเทียบและอ่านค่าดีกรีโดยอ่านเทียบอุณหภูมิที่อ่านได้เท่ากับเปอร์เซ็นต์ศูนย์ดีกรีของแอลกอฮอล์

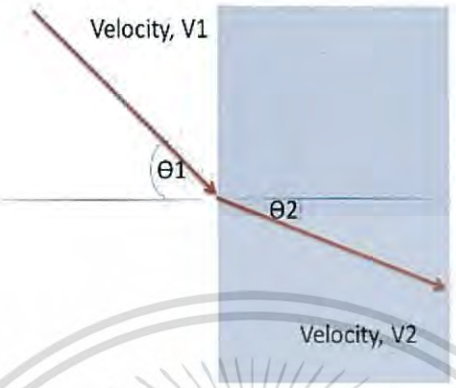
2.8 Refractometer

Refractometer เป็นเครื่องมือวัดที่ใช้อย่างกว้างขวางในอุตสาหกรรมอาหาร มีประโยชน์ในการใช้วัดค่าความเข้มข้นของสารละลาย เช่น

- ปริมาณน้ำตาล ที่ได้จากน้ำคั้นผลไม้สด น้ำเชื่อม เครื่องดื่ม มีหน่วยเป็น องศาบริกซ์ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนัก)
- การใช้ refractometer วัดน้ำคั้นจากผัก ผลไม้ หรือน้ำผลไม้ เป็นการวัดค่า total soluble solids หรือปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด มีหน่วยเป็นเปอร์เซ็นต์ (เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อปริมาตร) เพราะในน้ำผลไม้ ประกอบด้วยน้ำตาลชนิดต่างๆ ซึ่งละลายได้ในน้ำ เช่น กลูโคส (Glucose) ฟรักโทส (Fructose) ซูโครส (Sucrose) นอกจากน้ำตาลแล้ว ในน้ำผลไม้ยังมีกรดอินทรีย์ ที่ละลายในน้ำได้ดี เช่น กรดซิตริก (Citric acid) กรดมาลิก (Malic acid) กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) กรดอะมิโน และวิตามินซี ซึ่งค่าที่วัดได้ เป็นค่ารวมของความเข้มข้นน้ำตาลทุกชนิด และกรดอินทรีย์ที่ละลายได้ในน้ำผลไม้นั้น
- ปริมาณเกลือ มีชื่อรียกว่า Salinity Refractometer มีหน่วยเป็น ความเข้มข้น ppt (part per thousand, ถ้าต้องการค่าเป็นเปอร์เซ็นต์ ให้เอาค่า ptt/10) หรือ ความถ่วงจำเพาะของสารละลายเกลือ ใ ช้เตรียมน้ำเกลือในอาหารหมักเกลือ (Salt curing) วัดความเข้มข้นของเกลือในซีอิ้ว น้ำปลา ปูเค็ม
- ปริมาณแอลกอฮอล์ ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (alcoholic beverage) มีหน่วยเป็น Alcohol by Volume หรือ % ABV
- ความหนาแน่นของของเหลว (Liquid density) และ ความถ่วงจำเพาะของสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลักการทำงานของ Refractometer



รูปที่ 2.7 หลักการทำงานของ Refractometer

Refractometer ถูกประดิษฐ์ขึ้นมาโดย Dr. Ernst Abbe นักวิทยาศาสตร์ชาวเยอรมัน/ออสเตรีย ในต้นศตวรรษที่ 20 โดยการทำงานของ refractometer เป็นการวัดดัชนีหักเหของแสง (Refractive index) เมื่อเคลื่อนที่ผ่านตัวกลางหนึ่งสู่อีกตัวกลางหนึ่ง เช่น จากอากาศสู่น้ำ จากน้ำสู่คริสตัล (Crystal) ทำให้มุม ความเร็ว (Velocity, v) ของแสงแตกต่างกัน

สารละลายที่มีความเข้มข้นแตกต่างกัน เมื่อแสงส่องผ่านจะเกิดการหักเห และให้ค่าดัชนีหักเหของแสงต่างกันซึ่งจากความสัมพันธ์ดังกล่าว จึงนำมาประยุกต์ใช้วัดค่าความเข้มข้นของสารละลายได้

การวัดค่าดัชนีหักเหของแสง (Refractive index) สามารถทำได้ 2 ระบบ คือ

- วัดด้วยการส่องผ่านของแสง (Transparent system)
- วัดด้วยการสะท้อนของแสง (Reflection system)
- ประเภทของ Refractometer ที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหาร
- Hand-held refractometer
- Hand held refractometer เป็น refractometer ที่มีขนาดกะทัดรัด น้ำหนักเบา พกพาได้ ใช้งานง่าย สะดวก รวดเร็ว การทำงานของ Hand-held refractometer อาศัยหลักการหักเหของแสงใช้วัดความเข้มข้นของสารละลาย

วิธีการวัดค่า ทำได้โดยการหยดสารละลายที่ต้องการทราบค่าบนแผ่นปริซึม ปิดด้วยแผ่นปิด แล้วส่องมองผ่านช่องในที่มีแสง จะมองเห็นเป็นแถบสี ที่อ่านค่าตัวเลขได้ตามสเกลที่เครื่องกำหนดไว้ เช่น เป็นเปอร์เซ็นต์ความเข้มข้น ความเข้มข้นของน้ำตาล น้ำเชื่อม น้ำผลไม้ ที่วัดได้มี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หน่วยเป็น องศาบริกซ์ (Brix) หรืออาจเป็นค่าความหนาแน่นของเหลว หรือทั้งสองอย่าง

- ก่อนและหลังการใช้ Hand refractometer ควรทำความสะอาดแผ่นปริซึม ซึ่งเป็นบริเวณที่ใช้หยดสารละลายตัวอย่าง ด้วยกระดาษเช็ดเลนส์ ฝุ่นละออง คราบสกปรกบนแผ่นปริซึมมีผลต่อความถูกต้องของค่าที่อ่านได้

- สารละลายที่หยดไม่ควรมีฟองอากาศปน ซึ่งอาจจะมีผลต่อค่าที่อ่านได้

- ค่าที่อ่านได้เป็นค่าที่สัมพันธ์กับความเข้มข้นที่อุณหภูมิที่ระบุไว้ในเครื่องคือ 20 องศาเซลเซียส

2.9 pH meter

หลักการการวัด pH คือ การวัดสภาพความเป็นกรดหรือเป็นด่างของสารละลายที่มีน้ำเป็นตัวทำลาย (Aqueous solution) โดยใช้หลักการ Electrochemistry วัดความต่างศักย์ที่เกิดขึ้น (Potential) ระหว่างอิเลคโทรดอ้างอิง (Reference electrode) กับอิเลคโทรดตรวจวัด (Sensing Electrode) ความต่างศักย์ที่ได้เกิดจากจำนวนของไฮโดรเจนอิออน (H^+) ความต่างศักย์ที่เกิดจากอิออน (Ionic potential) จะถูกเปลี่ยนให้เป็นความต่างศักย์ทางไฟฟ้า (Electronic potential) แล้วขยายให้มีความต่างศักย์สูงขึ้นด้วยเครื่อง pH Meter

pH Meter คือ เครื่องมือทางไฟฟ้าที่ใช้วัด pH ของสารละลาย โดยหลักการวัดความต่างศักย์ (Potentiometer) ประกอบด้วย ส่วนสำคัญ 2 ส่วน ที่ทำให้เครื่องสามารถทำงานได้ครบวงจรส่วนประกอบทั้ง 2 คือ อิเลคโทรด และตัวเครื่อง

2.9.1. อิเลคโทรด ทำหน้าที่เป็นภาคตรวจรับความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนในสารละลายที่ pH 7 (Standard pH Buffer) ความต่างศักย์ระหวางอิเลคโทรดทั้ง 2 คืออิเลคโทรดอ้างอิงกับอิเลคโทรดตรวจวัด จะมีค่าความต่างศักย์เท่ากับศูนย์มิลลิโวลท์ (0 MV) ถ้าความเข้มข้นของไฮโดรเจน อิออนเพิ่มขึ้นหรือลดลง ความต่างศักย์ก็จะเพิ่มขึ้นหรือลดลงตามความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออนในสารละลายนั้น โดยมีอิเลคโทรดเป็นตัวทำหน้าที่รับสัญญาณ

2.9.2. ตัวเครื่อง pH Meter คือ Potentiometer หรือ Volt Meter ทำหน้าที่สำคัญ 3 ประการ คือ

- ปรับความต่างศักย์ให้กับอิเลคโทรดอ้างอิงให้มีค่าความต่างศักย์เป็นศูนย์และคงที่

- แปลงสัญญาณจากความต่างศักย์ของอิออนของอิเลคโทรดให้เป็นความต่างศักย์ทางไฟฟ้า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ขยายสัญญาณค่าความต่างศักย์ทางไฟฟ้าให้เพิ่มมากขึ้นอย่างเพียงพอ และมีการแสดงผลที่มิเตอร์แบบเข็มหรือตัวเลข

2.10 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

HPLC เป็นเครื่องมือใช้สำหรับแยกสารประกอบที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง โดยกระบวนการแยกสารประกอบจะเกิดขึ้นระหว่างเฟส 2 เฟส คือ เฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) หรือคอลัมน์ (Column) กับเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) ซึ่งจะถูกแยกออกมาในเวลาที่ต่างกัน สารผสมที่อยู่ในตัวอย่าง สามารถถูกแยกออกจากกันได้นั้น ขึ้นอยู่กับความสามารถในการเข้ากันได้ดีของสารนั้นกับเฟสที่เคลื่อนที่ หรือเฟสที่อยู่กับที่โดยสารประกอบตัวไหนที่สามารถเข้ากันได้ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่สารก็จะถูกแยกออกมาก่อน ส่วนสารที่เข้ากันได้ไม่ดีกับเฟสที่เคลื่อนที่ หรือเข้ากันได้ดีกับเฟสอยู่กับที่ก็จะถูกแยกออกมาทีหลัง โดยสารที่ถูกแยกออกมาได้นี้จะถูกตรวจวัดสัญญาณด้วยตัวตรวจวัดสัญญาณ (Detector) และสัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งจะเรียกว่าโครมาโตแกรม (Chromatogram)

1. Mobile phase คือ ตัวทำละลายที่ใช้ในการชะและแยกตัวอย่าง เป็นเฟสเคลื่อนที่มีลักษณะเป็นของเหลว ทำหน้าที่ในการนำสารตัวอย่างและตัวทำละลายเข้าสู่ Stationary phase (ในที่นี้คือ คอลัมน์) เพื่อให้เกิดกระบวนการแยกภายในคอลัมน์

2. Degaser ทำหน้าที่กำจัดฟองอากาศที่มีอยู่ใน mobile phase เพื่อไม่ให้ฟองอากาศเข้าสู่ column และ detector

3. Pump ทำหน้าที่ดึงตัวทำละลาย (Mobile phase) เข้าสู่ระบบ HPLC เนื่องจากในการแยกสารผสมในเทคนิค HPLC จะอาศัยหลักการไหลของเฟสเคลื่อนที่ผ่านเฟสอยู่กับที่ ที่มีขนาดอนุภาคเล็กมาก จึงทำให้เกิดความต้านทานการไหล ระบบปั๊มจึงมีความสำคัญมากในการที่จะทำให้เกิดความดันสูงเพื่อที่จะเอาชนะแรงต้านทาน

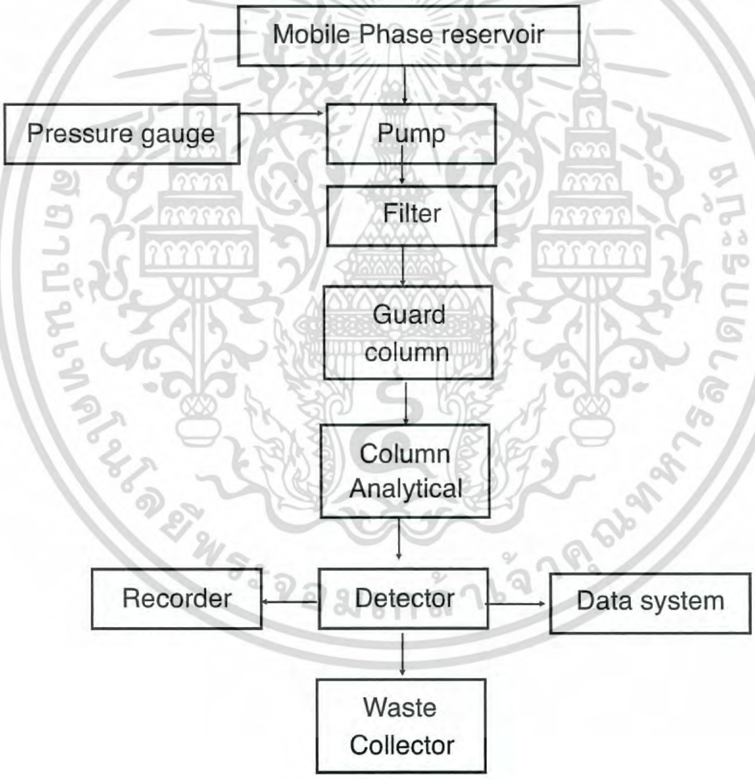
4. Injector/Autosampler ทำหน้าที่ในการฉีดสารตัวอย่างเข้าระบบ HPLC

5. Column หรือจะเรียกว่า Stationary phase มีลักษณะเป็นของแข็งหรือเจล เป็นเฟสอยู่กับที่ ทำหน้าที่ให้เกิดกระบวนการแยกของสารที่สนใจโดยกระบวนการแยกเกิดขึ้นระหว่าง mobile phase กับ stationary phase

6. Detector คือตัวตรวจวัดสัญญาณ ทำหน้าที่ในการตรวจวัดสัญญาณของสารที่สนใจที่ได้จากกระบวนการแยกมีหลายชนิดด้วยกัน การเลือกใช้ขึ้นกับตัวอย่างที่สนใจว่าสามารถตอบสนองกับ Detector ชนิดใดได้ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 2.8 เครื่อง High Performance Liquid Chromatography



รูปที่ 2.9 ขั้นตอนการทำงานของเครื่อง High Performance Liquid Chromatography

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 Gas Chromatrography - Mass Spectrometry (GC-MS)

หลักการทำงานในส่วนของเครื่อง GC อาศัยเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสม โดยอาศัยความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับเครื่อง GC เฟสคงที่ คือสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่ คือแก๊สฮีเลียม เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง GC สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลว (Liquid) เป็นแก๊ส (Gas) และส่วนแก๊สของสารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สฮีเลียม ซึ่งภายในคอลัมน์จะเกิดการแยกสารผสม (Separation) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา (Interaction) ระหว่างสารที่อยู่ภายในคอลัมน์ (Stationary phase) และสารผสม จากนั้นโมเลกุลของสารเชิงเดี่ยวจะถูกพาเข้าสู่เครื่อง Mass Spectrometer

Mass Spectrometer เป็น detector ที่ใช้ตรวจวัดองค์ประกอบที่มีอยู่ในสารตัวอย่าง โดยอาศัยกลไกคือโมเลกุลขององค์ประกอบที่ถูกแยกออกมาจากสารตัวอย่างโดยเครื่อง GC นั้นจะถูก Ionize ใ นสภาวะที่เป็นสุญญากาศ แล้วตรวจวัดออกมาเป็นเลขมวล (Mass number) เทียบกับข้อมูลอ้างอิงที่เรียกว่า Library แล้วแปลผลออกมาเป็นชื่อขององค์ประกอบนั้นๆ

2.12 ไทเทรต

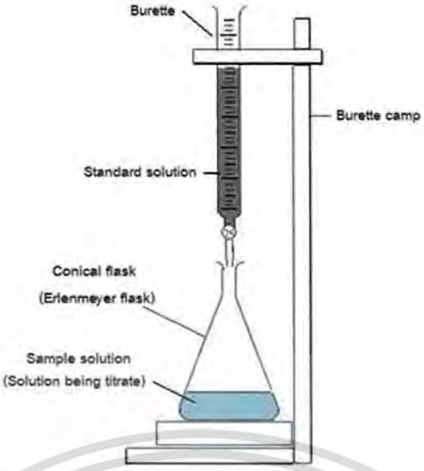
การไทเทรต (Titration) เป็นการวิเคราะห์หาปริมาณของสารที่ไม่ทราบความเข้มข้น (Unknown) ด้วยการวัดปริมาตรของสารละลาย ซึ่งปริมาตรของสารละลายจะมีความสัมพันธ์กับปริมาณสาร โดยทำปฏิกิริยากับสารที่ทราบปริมาณหรือความเข้มข้นที่แน่นอน โดย

- สารที่ไม่ทราบความเข้มข้นจะบรรจุในขวดรูปชมพู่ สมมุติให้เป็นสาร A
- ส่วนสารที่ทราบความเข้มข้นแล้วหรือเรียกว่าสารมาตรฐานจะถูกบรรจุในบิวเรตต์

สำหรับการไทเทรตทุกชนิด จุดที่ทำปฏิกิริยากันพอดี เรียกว่าจุดสมมูลหรือจุดสะเทิน (Equivalence point) จุดที่กรดทำปฏิกิริยาพอดีหรือสะเทินพอดีกับเบส และอินดิเคเตอร์ (Indicator) เปลี่ยนสี เรียกว่าจุดยุติ (End point) ในการไทเทรต หากเราใช้อินดิเคเตอร์ที่เหมาะสมจะทำให้จุดยุติตรงกับจุดสมมูลหรือใกล้เคียงกับจุดสมมูลมาก แต่ถ้าเราใช้อินดิเคเตอร์ไม่เหมาะสมอาจจะทำให้จุดยุติอยู่ห่างจากจุดสมมูลมาก ทำให้ผลการทดลองคลาดเคลื่อนได้

วัสดุและอุปกรณ์ที่เกี่ยวข้อง ซึ่งพบได้ทั่วไปในห้องปฏิบัติการ (ดังรูปที่ 2.10) ประกอบด้วย ขาตั้งเหล็ก (Stand) ที่ยึดบิวเรตต์ (Buret clamp) บิวเรตต์ (Burette) ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) และกระเบื้องสีขาว (Tile)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.10 อุปกรณ์ชุดไทเทรต

<u>ขั้นตอนของการไทเทรต</u>

1. บรรจุสารละลายมาตรฐานลงในบิวเร็ต ไ ล่ฟองอากาศบริเวณส่วนปลายด้านล่างออกให้หมด

2. ใ ช้ปิเปตดูดสารละลายตัวอย่างแล้วใส่ลงในขวดรูปชมพู่ (จดปริมาตรของสารละลายตัวอย่างเอาไว้ด้วย)

3. หยดอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ลงในสารละลายตัวอย่าง

4.เปิดก๊อกที่บิวเร็ตเพื่อปล่อยให้สารละลายมาตรฐานหยดลงไปทำปฏิกิริยากับสารละลายตัวอย่าง แนะนำให้ใช้มือข้างที่ถนัดจับขวดรูปชมพู่เพราะต้องเขย่าอยู่ตลอดเวลา มือที่ไม่ถนัดใช้จับเพื่อเปิด-ปิดก๊อกที่บิวเร็ต ขั้นตอนนี้สำคัญมากควรวางกระดาษขาวเอาไว้บนโต๊ะด้วยเพื่อช่วยให้สังเกตการเปลี่ยนสีของอินดิเคเตอร์ได้ง่ายขึ้น การเปลี่ยนสีในตอนแรกจะไม่ถาวร คือเมื่อเปลี่ยนสีไปแล้วชั่วครู่ก็กลับไปเป็นอย่างเดิมอีก แสดงว่ายังไม่ถึงจุดยุติแต่ก็ใกล้มากแล้ว เมื่อถึงขั้นตอนนี้ต้องระวังมากยิ่งขึ้นในการเปิดก๊อกให้สารละลายมาตรฐานหยดลงมา ถ้ามากไปจะเลยจุดยุติได้ง่าย

5. ควรไทเทรตซ้ำอย่างน้อย 3 ครั้ง แล้วนำค่าเฉลี่ยมาคำนวณหาปริมาณสารตัวอย่าง การใช้ค่าเฉลี่ยจะช่วยให้ความคลาดเคลื่อนน้อยลง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.13 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Gullo และคณะ (2007) พบว่า Acetic acid bacteria ในกลุ่ม *Acetobacter spp.* มีคุณสมบัติทนต่อความเข้มข้นของปริมาณแอลกอฮอล์ได้ที่ 5% (v/v) และมีบางสายพันธุ์ที่สามารถทนต่อแอลกอฮอล์ได้สูงถึง 10% (v/v) และที่ความเข้มข้น 40% (v/v) ของน้ำตาลจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของ Acetic acid bacteria

มัลลิกา (2549) รายงานผลการทดสอบของการเจริญจุลินทรีย์และการผลิตกรดน้ำส้มเบื้องต้น โดย ใช้ Acetic acid bacteria สายพันธุ์ *Acetobacter pasteurianus* TISTR 520 ในระดับขวดแบบเขย่า (Flask) พบว่า ความเข้มข้นของเอทานอลเริ่มต้น 6% มีความเหมาะสมที่จะใช้ในการผลิตกรดน้ำส้ม เนื่องจากให้ความเข้มข้นของกรดน้ำส้มสูงกว่าที่ความเข้มข้นอื่นๆ กล่าวคือ ได้ปริมาณกรดอะซิติก 44 กรัมต่อลิตร ส่วนความเข้มข้นของเอทานอลที่สูงกว่า 6% นั้นมีความสามารถในการเปลี่ยนเอทานอลให้เป็นกรดน้ำส้มลดลงและที่ความเข้มข้นเอทานอลตั้งแต่ 10% ขึ้นไปไม่พบการผลิตกรดน้ำส้มโดยแบคทีเรียชนิดดังกล่าว นอกจากนี้เมื่อใช้อาหารเลี้ยงเชื้อที่มีความเข้มข้นของเอทานอลเริ่มต้นเท่ากับ 6% ในการเพาะเลี้ยง Acetic acid bacteria ในกลุ่ม *Acetobacter spp.* 7 สายพันธุ์ พบว่า 3 สายพันธุ์ คือ *A. aceti* TISTR 401, *A. pasteurianus* TISTR 520 และ *A. pasteurianus* TISTR 52 สามารถใช้เอทานอลได้หมดและผลิตกรดอะซิติกได้เฉลี่ย 44 กรัมต่อลิตร คิดเป็นประสิทธิผลได้ถึง 74% ของค่าทางทฤษฎี และยังพบว่าอุณหภูมิก็มีผลกระทบต่อการเจริญเติบโตและการผลิตกรดน้ำส้มของ Acetic acid bacteria กลุ่ม *Acetobacter spp.* โดยจากการศึกษาพบว่าที่อุณหภูมิต่ำกว่า 23 องศาเซลเซียสจะทำให้การผลิตกรดน้ำส้มได้ช้า

De Ley และคณะ (1984) พบว่าสภาวะในถังปฏิกรณ์ชีวภาพที่เหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ Acetic acid bacteria สายพันธุ์ *Acetobacter aceti* มีค่า pH 5.4 - 6.3 อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส จะผลิตเอทานอลที่มีความเข้มข้นและผลิตกรดน้ำส้มได้ 50-60กรัมต่อลิตร

จุฑามาศ มณีวงศ์. (2551) ได้ทำการศึกษาจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูจากสาโท พบว่าจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูส่วนใหญ่จัดอยู่ในกลุ่มของอะซิติกแอซิดแบคทีเรีย จากการคัดเลือกพบว่า OR_2 ผลิตกรดได้สูงสุด เมื่อจำแนกลักษณะทางสัณฐานวิทยาและทางพันธุศาสตร์พบว่าเป็นแบคทีเรีย Acetobacter tropicalis จากการศึกษาคุณสมบัติบางประการพบว่า *A. tropicalis* เจริญได้ในแอลกอฮอล์ 5% และกรด 1% นอกจากนียังทนต่อความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ได้ถึง 14% และทนต่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกได้ถึง 15% เมื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดของ *A. tropicalis* พบว่าเมื่อเลี้ยงในสาโทที่ประกอบด้วยแอลกอฮอล์ 8% กรดอะซิติก 3% และเลียงแบบเขย่าให้ความเร็วรอบ 140 รอบต่อนาที ที่ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตกรดได้ถึง 2.71% ถ้าเลี้ยง *A. tropicalis* ในสาโทกลั่น ซึ่งประกอบด้วย แอลกอฮอล์ 3% กรดอะซิติก 3% และให้อากาศที่มีความเข้มข้นของออกซิเจน 7.7 mg/l ผลิตกรดได้ 3.69%

นิภา พวงทอง (2551) ได้ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้ในท้องถิ่นจำนวนสามชนิด คือ ลิ้นจี่ กระท้อน และกระเจี๊ยบ โดยใช้แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* ใช้เวลาในการหมัก 43 วัน โดยหมักไวน์เป็นเวลา 15 วัน และทำการหมักน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 4 สัปดาห์ และเปรียบเทียบคุณภาพน้ำส้มสายชู จากผลการวิเคราะห์พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากลิ้นจี่ กระท้อน และกระเจี๊ยบ มีปริมาณกรดอะซิติกอยู่ในช่วง 1.79 –2.90% มีปริมาณแอลกอฮอล์โดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 4.23–6.44% โ ดยปริมาณกรดอะซิติกและปริมาณของแอลกอฮอล์จากน้ำส้มสายชูหมักจากลิ้นจี่มีปริมาณสูงที่สุดในผลไม้ทั้ง 3 ชนิด เมื่อนำไปเปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำส้มสายชู พบว่าน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้ทั้งสามชนิดมีปริมาณกรดอะซิติกและปริมาณของแอลกอฮอล์ค่าต่ำกว่ามาตรฐานกำหนด

ศุภกาญจน์ พรหมขันธ์และคณะ (2553) ได้ทำการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเม่าแดงที่เหลือจากการคัดในอุตสาหกรรมเครื่องดื่มโดยศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอทานอลของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* และสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกของเชื้อ *Acetobacter aceti* (TISTR 102) จากการศึกษาพบว่าอัตราส่วนเหมาะสมระหว่างเม่าแดงต่อน้ำคือผลเม่าแดง 1 ส่วนต่อน้ำ 4 ส่วนซึ่งให้ค่าใกล้เคียงกับปริมาณกรดที่เหมาะสมในการหมักไวน์คือร้อยละ 0.4 ส่วนสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติกคือ ใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำหมักและน้ำเม่าแดงที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วร้อยละ 30 และ 70 ตามลำดับ โดยมีร้อยละของแอลกอฮอล์เริ่มต้นการหมักที่เหมาะสมคือร้อยละ 5 จากนั้นเติมเชื้อ *Acetobacter aceti* (TISTR 102) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสนาน 6 วัน พบว่ามีกรดอะซิติกร้อยละ 4.14 ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนน้ำส้มสายชูหมัก (มผช.362/2547) และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่องน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

Bartolome V. Casuga Jr. (2008) ได้ทำการศึกษาคุณสมบัติทางกายภาพและทางเคมีของกรดอะซิติกที่ได้จากการหมักน้ำส้มสายชูจากกล้วยโดยใช้น้ำตาล และยีสต์ หมักกล้วยให้เป็นแอลกอฮอล์ และเป็นกรดอะซิติกตามลำดับ จากนั้นทำการศึกษาค่า pH , TSS, สีของน้ำส้มสายชูและปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูจากกล้วย พบว่า 11 วัน หลังการหมักน้ำส้มสายชูจากกล้วยมีค่า pH 3.28, ค่า TSS 4.2, น้ำส้มสายชูจากกล้วยมีสีเหลืองและมีปริมาณกรดอะซิติก 3.66% จากผลการทดลองพบว่าน้ำส้มสายชูที่ได้ไม่สามารถนำมาทำเป็นน้ำส้มสายชูตามมาตรฐานได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และการทดลอง

3.1วัสดุและอุปกรณ์ทดลอง

1) สับปะรดพันธุ์ตราดสีทอง พันธุ์ภูแล พันธุ์ภูเก็ต และพันธุ์ปัตตาเวีย
2) หม้อเหล็กกล้าไร้สนิมทรงสูง ขนาด 28x28 เซนติเมตร ปริมาตร 17.2 ลิตร
3) ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร 125 มิลลิลิตร 75 และมิลลิลิตร 50 มิลลิลิตร
4) บีกเกอร์ ขนาด 250 มิลลิลิตร 125 มิลลิลิตร 75 และมิลลิลิตร 50 มิลลิลิตร
5) หลอดทดลอง
6) อาหารเลี้ยงเชื้อยีสต์และแบคทีเรีย
7) ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache*, *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* และการผสมสารพันธุ์ระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* กับ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy*
8) แบคทีเรีย *Acetobacter aceti sub. aceti* TISTR354
9) เครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC)
10) หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)
11) ชุดไทเทรตสาร
12) เครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS)
13) ถาดเหล็กกล้าไร้สนิม
14) ปั๊มเพิ่มอากาศอัตราการไหลของอากาศ 2 ลิตรต่อนาที
15) ขวดโหลปริมาตร 10 ลิตร

3.2 การเตรียมวัตถุดิบสำหรับทำการทดลอง

3.2.1 การเตรียมน้ำสับปะรด

เริ่มการเตรียมวัตถุดิบด้วยการนำสับปะรดทั้ง 4 สายพันธุ์ มาคั้นน้ำและแบ่งออกเป็น 2 ส่วนคือ ส่วนที่เป็นน้ำและส่วนที่เป็นน้ำผสมกับเนื้อสับปะรด จากนั้นหมักส่วนน้ำสับปะรดทั้งน้ำและเนื้อโดยปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายให้ได้ 24 องศาบริกซ์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยวิธีการต้มจนมีอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียสและคงไว้เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งให้เย็น จากนั้นหมักด้วยยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อให้ได้เป็นแอลกอฮอล์ ใช้เวลาประมาณ 1 เดือน โดยใช้ยีสต์ 3 ชนิดคือ

- *Saccharomyces cerevisiae Montache*
- *Saccharomyces cerevisiae Burgundy*
- การผสมสายพันธุ์ระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* และ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy*

โดยก่อนที่จะนำน้ำสับปะรดจากสับปะรดทั้ง 4 สายพันธุ์ ไปหมักด้วยยีสต์ต้องทำหัวเชื้อของเชื้อยีสต์สำหรับขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำสับปะรดให้กลายเป็นแอลกอฮอล์

3.2.2 เตรียมหัวเชื้อยีสต์สำหรับขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นแอลกอฮอล์

บรรจุน้ำและเนื้อสับปะรดเข้มข้น 24 องศาบริกซ์ ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร และปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งจนเย็นสนิทและเขี่ยเชื้อยีสต์ซึ่งเป็นหัวเชื้อทั้ง 3 ชนิดข้างต้นจากอาหารเลี้ยงเชื้อ (YPD) ลงไปในขวดรูปชมพู่ขวดละ 1 หลอด ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง เพื่อหมักจากน้ำและเนื้อสัปปะรดเป็นไวน์สัปปะรด วัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebulliometer จนมีปริมาณแอลกอฮอล์คงที่ จากนั้นแยกส่วนใสออกจากส่วนที่ขุ่นโดยใช้วิธีกาลักน้ำ (Rack wine)

รูปที่ 3.1 หลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด YPD

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปที่ 3.2 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave)

รูปที่ 3.3 เขี่ยเชื้อยีสต์ทั้ง 3 ชนิดข้างต้นจากอาหารเลี้ยงเชื้อ ลงไปในขวดรูปชมพู่ขวดละ 1 หลอด

รูปที่ 3.4 นำไปหมักในขวดโหลแก้วปริมาตร 10 ลิตรและหม้อเหล็กกล้าไร้สนิมทรงสูงขนาด 28x28 เซนติเมตร ปริมาตร 17.2 ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 เตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียสำหรับขั้นตอนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดน้ำส้ม

การเตรียมหัวเชื้อแบคทีเรียสำหรับขั้นตอนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดน้ำส้มจะถูกแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอนคือ

1) บรรจุน้ำและเนื้อสับปะรดที่มีความเข้มข้น 24 องศาบริกซ์ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งจนเย็นสนิทแล้วจึงเขี่ยเชื้อน้ำส้ม
(*Acetobacter aceti sub. aceti TISTR354*) จากวุ้นแข็งเอียงลงไปในขวดรูปชมพู่ ขวดละ 1 หลอด จากนั้นเติมแอลกอฮล์ 95% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร ลงไปตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมงและนำไปใช้เป็นหัวเชื้อน้ำส้มสายชู

รูปที่ 3.5 หลอดทดลองที่บรรจุอาหารเลี้ยงเชื้อชนิด MRS

2) บรรจุน้ำและเนื้อสับปะรดที่มีความเข้มข้น 24 องศาบริกซ์ลงในฟลาสก์ขนาด 500 มิลลิลิตร ปริมาตร 300 มิลลิลิตร จากนั้นนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 110 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที ทิ้งจนเย็นสนิท จากนั้นเติมแอลกฮอล์ 95% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำหัวเชื้อที่ได้จากการเตรียมในส่วนที่ 1 เติมลงไปในปริมาณ 10% ของปริมาตรทั้งหมดเท่ากับ 10 มิลลิลิตร จากนั้นตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 48 ชั่วโมง จะพบฟิล์มบางๆบนผิวหน้าและมีกรดน้ำส้มประมาณ 3% ใช้เป็นหัวเชื้อในการผลิตน้ำส้มสายชูจากสับปะรด นำหัวเชื้อที่ได้จากการเตรียมมาผสมกับน้ำสับปะรดและไวน์สับปะรดตามอัตราส่วนที่แตกต่างกันดังนี้

- หัวเชื้อ 100 มิลลิลิตร

- ไวน์สับปะรด 300 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- น้ำสับปะรดที่มีความเข้มข้น 4 องศาบริกซ์ 600 มิลลิลิตร

ต่อปริมาณไวน์สับปะรด 1 ลิตร, 2 ลิตร, 3 ลิตร และ 4 ลิตร และรอจนมีปริมาณกรดน้ำส้มที่ได้จากการไทเทรตโดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์คงที่ และทำการฆ่าเชื้อด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรซ์โดยการต้มด้วยเตาแก๊สอุณหภูมิ 85 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

3.3 วิธีการทดลอง

3.3.1 ขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

หมักไวน์สับปะรดด้วยสายพันธุ์สับปะรดและยีสต์ที่แตกต่างกัน ทำการเก็บตัวอย่างทุกๆ 24 ชั่วโมง เพื่อวัดปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์และวัดปริมาณกรดแลคติกเพื่อให้แน่ใจว่าในระหว่างการหมักไวน์สับปะรดด้วยยีสต์จะไม่มีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ชนิดอื่นด้วยวิธีการไทเทรตโดยใช้ฟีนอล์ทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์จนมีปริมาณกรดแลคติกคงที่

3.3.2 ขั้นตอนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นน้ำส้มสายชู

หมักแอลกอฮอล์ที่ได้ด้วยแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วัดปริมาณกรดอะซิติกด้วยวิธีการไทเทรตโดยใช้ฟีนอล์ทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์จนมีปริมาณคงที่และวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติกด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) เพื่อแยกสารประกอบที่ผสมอยู่ในตัวอย่าง

โดยกระบวนการแยกกรดอะซิติกนี้จะเกิดขึ้นระหว่างเฟสอยู่กับที่ (Stationary phase) หรือคอลัมน์ (Column) กับเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) โดยสารผสมแต่ละชนิดที่อยู่ในตัวอย่างจะใช้เวลาในการเคลื่อนที่ผ่านคอลัมน์แตกต่างกัน ส่งผลให้สารตัวอย่างถูกแยกเป็นสารประกอบผ่านตัว Detector ในระยะเวลาที่แตกต่างกัน สัญญาณที่บันทึกได้จากตัวตรวจวัดจะมีลักษณะเป็นพีค ซึ่งเรียกว่าโครมาโตแกรม (Chromatogram)

3.3.3 ขั้นตอนการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารระเหยในน้ำส้มสายชู

การทำงานของเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry อาศัยเทคนิคการแยกองค์ประกอบของสารผสมโดยใช้ความแตกต่างของอัตราการเคลื่อนที่ของแต่ละองค์ประกอบของสารผสมบนเฟสคงที่ (Stationary phase) ภายใต้การพาของเฟสเคลื่อนที่ (Mobile phase) สำหรับเครื่อง GC เฟสคงที่คือ สารที่อยู่ภายในคอลัมน์ ส่วนเฟสเคลื่อนที่คือ แก๊สฮีเลียม เมื่อสารที่ต้องการวิเคราะห์ผ่านเข้าสู่เครื่อง GC สารดังกล่าวจะถูกเปลี่ยนสถานะจากของเหลว (Liquid) เป็นแก๊ส (Gas) และส่วนแก๊สของสารผสมจะถูกพาเข้าสู่คอลัมน์โดยแก๊สฮีเลียม ซึ่งภายในคอลัมน์จะเกิดการแยกสารผสม (Separation) โดยอาศัยการทำปฏิกิริยา (Interaction) ระหว่างสารที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

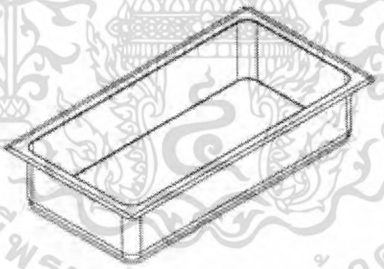
อยู่ภายในคอลัมน์ (Stationary phase) กับสารผสมจากโมเลกุลของสารเชิงเดี่ยวจะถูกพาเข้าสู่เครื่อง Mass Spectrometer เพื่อเปรียบเทียบเลขมวลของสารประกอบที่ระเหยจากที่มีอยู่ในสารตัวอย่างโดยเทียบจากฐานข้อมูล

3.3.4 การออกแบบถาดสำหรับหมักน้ำส้มสายชู

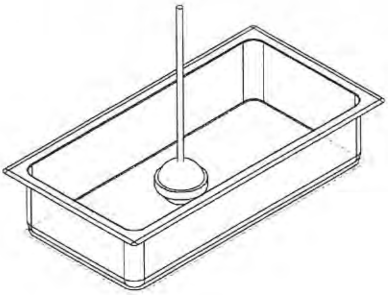
เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 ที่ใช้ในการหมักเป็นเชื้อแบคทีเรียที่ต้องการออกซิเจนในการเจริญเติบโต ดังนั้นผู้วิจัยจึงออกแบบรูปแบบของการหมักและภาชนะที่ใช้ในการหมัก เพื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติกที่สามารถผลิตได้ โ ดยแบ่งการทดลองสำหรับการออกแบบถาดเป็น 4 แบบ ดังนี้

- การหมักในถาดแบบปกติ
- การหมักในถาดแบบปกติโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ
- การหมักในโหลแก้ว
- การหมักในโหลแก้วโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ

โดยปั๊มเพิ่มอากาศที่ใช้มีอัตราการไหลของอากาศที่ 2 ลิตร/นาที และให้อากาศตลอดระยะเวลาการหมัก

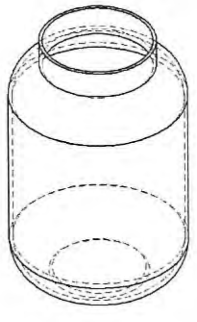


รูปที่ 3.6 รูปแบบถาดปกติที่ไม่มีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ

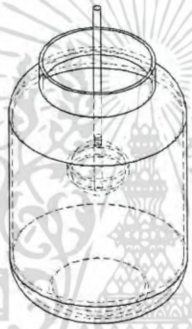


รูปที่ 3.7 รูปแบบถาดแบบปกติโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 3.8 รูปแบบโหลแก้วแบบไม่มีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ



รูปที่ 3.9 รูปแบบโหลแก้วแบบมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ

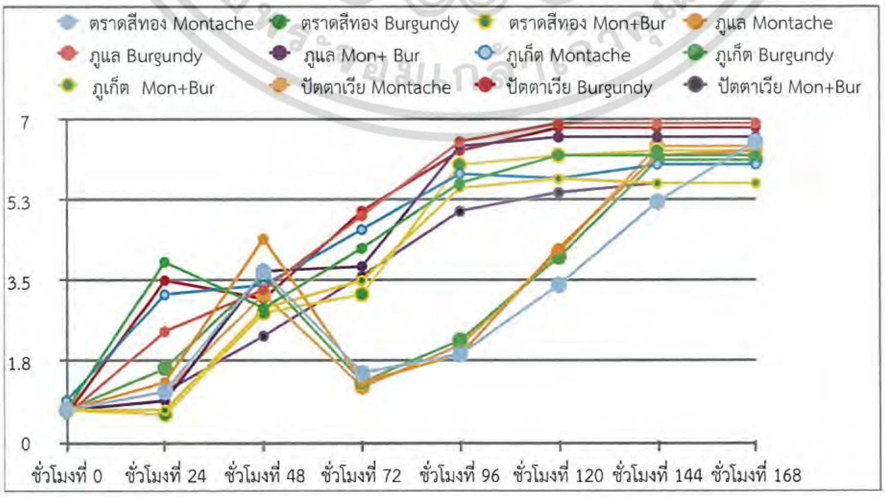
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 ผลการทดลองของกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์จากสับปะรด 4 สายพันธุ์ ซึ่งได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์ตราดสีทอง พันธุ์ภูแล และพันธุ์ภูเก็ต ด้วยเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae Montache, Saccharomyces cerevisiae Burgundy* และพันธุ์ผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* และ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* จากการทดลองและการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix) ค่า pH และปริมาณกรดแลคติก พบว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ของสับปะรดทั้ง 4 สายพันธุ์ จากการหมักด้วยเชื้อยีสต์ทั้ง 3 สายพันธุ์ มีปริมาณของแอลกอฮอล์ที่ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ โดยจะมีปริมาณโดยเฉลี่ยอยู่ในช่วง 11-13% v/v ในขณะที่ค่า °Brix หรือปริมาณของของแข็งที่ละลายจะมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการหมักและคงที่อยู่ในช่วง 7-9 °Brix เนื่องจากยีสต์ย่อยสลายน้ำตาลและให้ผลผลิตออกมาเป็นแอลกอฮอล์ ส่วนค่า pH และกรดแลคติก พบว่าค่า pH จะมีการลดลงเพียงเล็กน้อยใน 24 ชั่วโมงแรกหลังเริ่มกระบวนการหมัก และคงที่อยู่ในช่วงค่า pH ประมาณ 3.45 จนกระทั่งสิ้นสุดกระบวนการหมัก เช่นเดียวกันกับปริมาณกรดแลคติกที่มีการเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการหมักและเริ่มคงที่อยู่ในช่วง 5-7% v/v หลังจากเริ่มกระบวนการหมักไป 96 ชั่วโมง โดยค่า pH และปริมาณกรดแลคติกข้างต้น บ่งบอกได้ว่ากระบวนการหมักแอลกอฮอล์นี้ไม่มีการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียอื่นๆ



กราฟที่ 4.1 ปริมาณกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นตลอดระยะเวลาช่วงหมักน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2 ผลการทดลองของกระบวนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก

ผลการทดลองนี้เป็นกระบวนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นน้ำส้มสายชูด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter aceti TISTR 354* เพื่อให้ได้กรดอะซิติกด้วยเทคนิค Rapid-Tray-Cullure Method โดยใช้วิธีการไตเตรดและเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ในการตรวจสอบกรดอะซิติก ตามตารางที่ 4.1

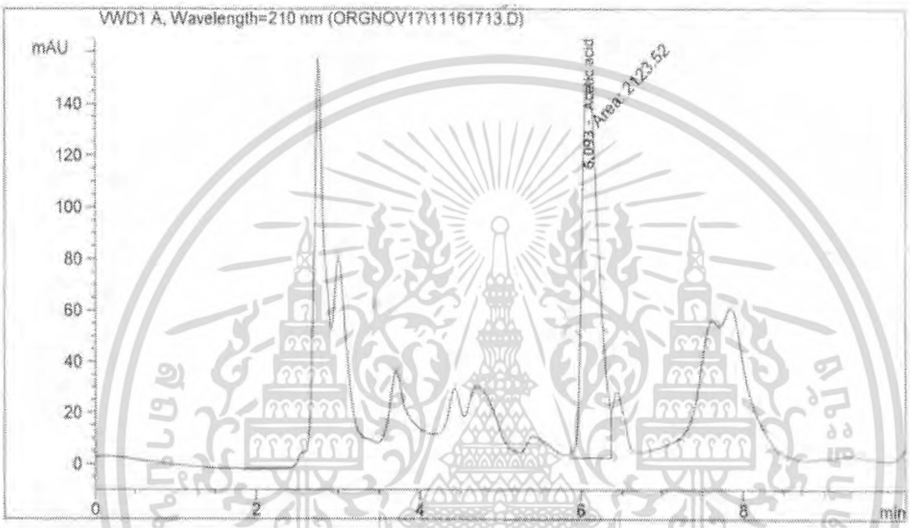
ตารางที่ 4.1 ปริมาณกรดอะซิติก %v/v ที่ได้จากการหมักน้ำส้มสายชูที่วัดด้วยวิธีการไตเตรดและการใช้เครื่อง HPLC

พันธุ์สับปะรดที่ใช้ทดสอบ	ปริมาณกรดอะซิติก (%v/v) จากการไตเตรต	ปริมาณกรดอะซิติก (%v/v) จากการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง HPLC
ตราดสีทอง	5.6	4.31
ภูแล	6.6	4.80
ภูเก็ต	6.3	4.49
ปัตตาเวีย	6.1	4.43

จากตารางพบว่าปริมาณกรดอะซิติก %v/v ของการวิเคราะห์ด้วยการไทเทรทและการวิเคราะห์ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) มีค่าแตกต่างกัน โดยการวัดกรดอะซิติกด้วยวิธีการไทเทรตนั้นมีความแม่นยำน้อยกว่า เนื่องจากการวัดกรดอะซิติกด้วยวิธีการไทเทรตไม่สามารถเจาะจงชนิดของสารที่วัดเพียงปริมาณกรดอะซิติก แต่จะวัดกรดทั้งหมดในตัวอย่าง ซึ่งเมื่อเปรียบเทียบกับข้อมูลของการวัดกลิ่นด้วย GC-MS จะพบว่านอกจากกรดอะซิติกแล้วในสารประกอบยังมีกรดอื่นอีก 5 ชนิด แต่การวิเคราะห์ด้วยเครื่องมือ HPLC จะเป็นการแยกสารด้วยคอลัมน์ ทำให้สารถูกแยกและออกจากคอลัมน์ด้วยเวลาที่แตกต่างกัน แล้วจึงเข้าสู่กระบวนการวิเคราะห์ ได้ผลออกมาเป็นกราฟดังตัวอย่างกราฟที่ 1 แล้วจึงนำพื้นที่ใต้กราฟไปคำนวณเพื่อหาปริมาณกรดอะซิติก โ ดยผลจากการวัดปริมาณกรดอะซิติกด้วยเครื่อง HPLC พบว่าสับปะรดพันธุ์ภูแลสามารถให้ปริมาณกรดอะซิติกได้มากที่สุดที่ 4.80%v/v รองลงมาคือสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต มีปริมาณกรดอะซิติก 4.49%v/v พันธุ์ปัตตาเวียมีปริมาณกรดอะซิติก 4.43%v/v และพันธุ์ตราดสีทองที่ปริมาณกรดอะซิติก 4.31%v/v เมื่อพิจารณาทางสถิติแล้วพบว่าปริมาณกรดอะซิติกจากน้ำส้มสายชูของสับปะรดแต่ละพันธุ์ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ แต่เมื่อคำนึงถึงด้านความเหมาะสมแล้ว สับปะรดพันธุ์ภูแลที่ให้ปริมาณกรดอะซิติกหลัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หมักมากที่สุดมีราคาเฉลี่ยอยู่ที่กิโลกรัมละ 100 บาท ในขณะที่พันธุ์อื่นๆที่สามารถให้ปริมาณกรดอะซิติกได้ไม่แตกต่างกันมีราคาอยู่ในช่วงกิโลกรัมละ 17 - 22 บาท นอกจากนี้สับปะรดพันธุ์ภูแลยังมีขนาดผลที่เล็ก ทำให้ปริมาณของน้ำสับปะรดที่คั้นได้มีปริมาณน้อยกว่าสับปะรดอื่นที่น้ำหนักเท่ากันเนื่องจากมีเปลือกมากกว่าสายพันธุ์ผสมสามารถให้สีที่สวยและกลิ่นที่หอมกว่าน้ำส้มสายชูที่ใช้ยีสต์เพียงสายพันธุ์ใดสายพันธุ์หนึ่ง ทำให้ทางผู้ทดลองตัดสินใจใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ตที่สามารถผลิตปริมาณกรดอะซิติกได้มากรองลงมาจากพันธุ์ภูแล และยีสต์ทั้งสองสายพันธุ์ในการทดลองต่อไป

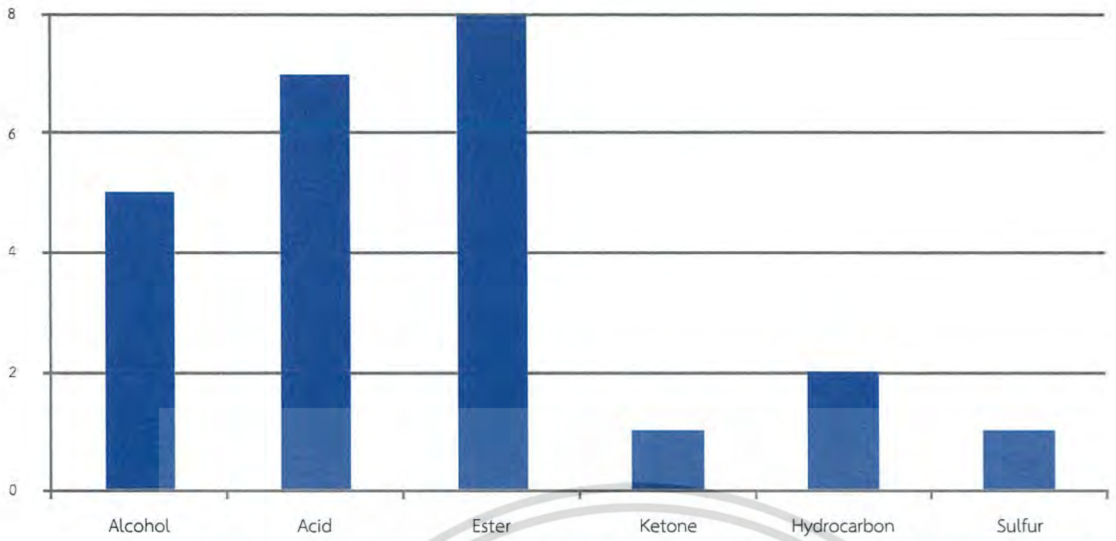


กราฟที่ 4.2 ตัวอย่างกราฟที่ได้จากการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติกด้วยเครื่อง HPLC ของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต

4.3 ผลการวิเคราะห์น้ำส้มสายชูด้วยเครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry

จากการวิเคราะห์ชนิดและปริมาณของสารระเหยในน้ำส้มสายชูที่หมักจากสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตด้วยเชื้อยีสต์พันธุ์ผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* กับ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* โดยใช้เครื่อง Gas Chromatography-Mass Spectrometry พบว่ามีสารระเหยทั้งหมด 24 ชนิด สามารถจำแนกเป็น 6 กลุ่ม คือ เอสเทอร์ กรด แอลกอฮอล์ เอสเทอร์ สารประกอบอินทรีย์ ซัลเฟอร์ และคีโตน โ ดยสารระเหยที่พบในน้ำส้มสายชูจากสับปะรด พบว่าสารส่วนใหญ่เป็นพวกสารกลุ่มเอสเทอร์ ซึ่งให้กลิ่นผลไม้เป็นส่วนใหญ่ สารกลุ่มกรด มีคุณสมบัติเป็นกรดให้กลิ่นเปรี้ยว และจะเห็นได้ว่ากลิ่นเปรี้ยวจากน้ำส้มสายชูนั้นไม่ได้มีแค่กลิ่นของกรดอะซิติกเท่านั้น แต่จะมีกรดอีกหลายชนิดแต่ในปริมาณที่น้อยกว่า น้ำส้มสายชูจากสับปะรดจะให้กลิ่นไปทางผลไม้มากกว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟที่ 4.3 ปริมาณความเข้มข้นสัมพัทธ์โดยรวมของน้ำส้มสายชูจากสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต

4.4 การออกแบบถาดสำหรับหมักน้ำส้มสายชู

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้ด้วยเครื่อง High Performance Liquid Chromatography (HPLC) ตามตารางที่ 4.2 พบว่ากระบวนการหมักในถาดตามรูปแบบปกติ สามารถผลิตปริมาณกรดอะซิติกได้ 5.44% v/v โดยใช้ระยะเวลาในการหมัก 6 วัน กระบวนการหมักภายในโหลแก้วแบบไม่มีการติดตั้งปั๊มอากาศสามารถผลิตปริมาณกรดอะซิติกได้ 5.65% v/v แต่ใช้ระยะเวลาในการหมักสูงถึง 21 วัน ในขณะที่กระบวนการหมักทั้งแบบถาดและแบบโหลแก้วที่มีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ สามารถผลิตปริมาณกรดอะซิติกได้เพียง 3.07%v/v และ 3.10% v/v ตามลำดับ ซึ่งน้อยกว่าปริมาณกรดอะซิติกขั้นต่ำที่ประกาศโดยกระทรวงสาธารณสุขว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูต้องมีปริมาณกรดอะซิติกอย่างน้อย 4%v/v เราจึงสามารถสรุปได้ว่าการหมักในถาดแบบปกติโดยไม่มีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศเป็นวิธีการหมักที่ดีที่สุด ซึ่งตรงตามงานวิจัยที่มีการศึกษามาก่อนหน้านี้ (มาลัย et al. (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูปแบบภาชนะ	ปริมาณกรดน้ำส้ม %v/v	ระยะเวลาที่ใช้ในการหมัก (วัน)
การหมักในถาดแบบปกติ	5.44	6
การหมักในถาดแบบปกติโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ	3.07	7
การหมักในโหลแก้ว	5.65	21
การหมักในโหลแก้วโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ	3.10	17

ตารางที่ 4.2 เปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติกและระยะเวลาที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด 4 สายพันธุ์ อันได้แก่ พันธุ์ปัตตาเวีย พันธุ์ตราดสีทอง พันธุ์ภูแล และพันธุ์ภูเก็ตนี้ เกิดจากการหมักน้ำสับปะรดด้วยเชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ คือ 1. เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae Montache* 2. เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* และ 3. สายพันธุ์ผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* กับ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* เพื่อให้ได้ไวน์สับปะรดและหมักต่อด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 เพื่อให้ได้กรดอะซิติก (กรดน้ำส้ม) ด้วยเทคนิค Rapid-Tray-Culture Method จากผลการทดลองพบว่าสับปะรดพันธุ์ภูแลที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์ผสมระหว่าง *Saccharomyces cerevisiae Montache* และ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* สามารถผลิตกรดน้ำส้มมากที่สุดถึง 4.8%v/v ถึงแม้ว่าสับปะรดพันธุ์ภูแลจะผลิตกรดน้ำส้มได้มากที่สุด แต่สับปะรดพันธุ์ภูเก็ตที่หมักด้วยยีสต์สายพันธุ์เดียวกันก็สามารถผลิตกรดน้ำส้มได้ 4.49%v/v ซึ่งไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญและใช้เวลาในการหมักน้อยกว่าสายพันธุ์อื่นๆ เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก ผู้วิจัยจึงเลือกพันธุ์ภูเก็ตมาใช้ในการทดลองโดยออกแบบภาชนะหมักที่เพิ่มปริมาณออกซิเจนให้มากขึ้น ทั้งนี้เนื่องจาก Acetic acid bacteria ต้องการใช้ออกซิเจนในการเจริญเติบโต และพบว่าถาดแบบปกติสามารถผลิตกรดน้ำส้มได้มากที่สุดซึ่งตรงกับงานวิจัยของมาลัยและคณะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กองโภชนาการกรมอนามัยกระทรวงสาธารณสุข. 2553.คุณค่าโภชนาการจากกล้วยน้ำว้า [ออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.scimath.org/index.php/biologyarticle/ item/ 516-cultivated-banana สรรพคุณกล้วยน้ำว้า [17 พฤศจิกายน 2555].

จุฑามาศ มณีวงศ์. 2551. การผลิตน้ำส้มสายชูจากสาโท. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยแม่โจ้.

จำรัส เซ็นนิล. 2554. น้ำส้มกล้วยเพื่อสุขภาพ: "หมอพืชกับสุดยอดยาบำรุงกำลัง." [ออนไลน์]. แหล่งที่มา http://www.jamrat.net/jamrathealth.aspx?blogid=7 [10 พฤศจิกายน 2555].

ณัจนันท์ แก้วศรี "พันธุ์สับปะรดของประเทศไทย"คณะสาธารณสุขศาสตร์ สาขาโภชนาการและการจัดการความปลอดภัยในอาหาร

นิตยา แจ่มใส และ นิตยา ชาโรจน์. 2544.การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำตาลโตนด. ปัญหาพิเศษ คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันราชภัฏเพชรบุรี.

นฤมล จันทิมา ศศิธร แท่นทอง และเบญจพร ศรีสุวรรมาศ "การผลิตและการตรวจสอบคุณภาพของน้ำส้มสายชูจากกล้วย". 2558. ศูนย์วิทยาศาสตร์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์

นิภา พวงทอง. 2551. การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากลิ้นจี่ (Litchi chinensis Somn.) กระท้อนพันธุ์พื้นบ้าน (Sandoricum koetjape (Burm.f.)Merr.) และกระเจี๊ยบ (Hibiscus sabdariffa Linn.): กรณีศึกษา ตำบลห้วยสัก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย. การศึกษาอิสระ วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาวิชาการสอน วิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยราชภัฏเชียงราย.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ 6 ง. ลงวันที่ 24 มกราคม พ.ศ.2544.

ประเภทของน้ำส้มสายชู. 2550. [ออนไลน์]. แหล่งข้อมูล: http://www.rdi.ku.ac.th/kasetfair 49/Technology/t

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์. 2555. 2554."น้ำส้มสายชู."[ออนไลน์].แหล่งที่มา http://www.food networksolution.com /wiki/word/1183/vinegar-น้ำส้มสายชู [25พฤศจิกายน 2555].

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มัลลิกา บุญมี. 2549. การศึกษาการผลิตกรดอะซิติกจากเอทานอลโดยวิธีทางชีวภาพและความเป็นไปได้ในการผลิตเชิงอุตสาหกรรม. โครงการวิจัยการส่งเสริมการผลิตและจำหน่ายเอทานอล (ภายใต้โครงการเพิ่มขีดความสามารถในการแข่งขันของอุตสาหกรรมอ้อยและน้ำตาลทราย) ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยขอนแก่น

มาลัยบุญ รัตนกรกิจ และฉกามาศ วงศ์ขาหลวง. 2552.การผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม.เอกสารประกอบการฝึกอบรม. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหารมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ศิริธร ศิริอมรพรรณ และ นเรศ มีโส. 2552. การวิเคราะห์สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในมะม่วงกล้วย มะละกอ สำนักกองทุนสนับสนุนการวิจัย (สกว.) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม

ศุภกาญจน์ พรหมขันธ์ และคณะ. 2553. การผลิตน้ำส้มสายชูจากเม่าแดง. สำนักงานคณะกรรมการการอุดมศึกษา (สกอ.).

A.O.A.C. 2000.Official Method of Analysis. The Association of Official Analytical Chemists Gaithersburg, Maryland.

Baltimore: William and Wilkins Co.Gardner, P. T., White, T. A. C., McPhail, D. B. and Duthie, G. G. (2000). The relative contribution of vitamin C, carotenoids and phenolics to the antioxidant potential of fruit juices. Food, 68, 471–474.

De Ley, J., Gills, M.and Swings, J. (1984). Acetobacteraeae. In N.R. Krineg and J.G. Holt (eds), Bergey's manual of systematic bacteriology (pp. 275-284).

Gullo and Giudici P. (2007). Acetic acid bacteria in traditional balsamic vinegar: phenotypic traits relevant for starter cultures selection.

Johnston, G. S., Quagliano, S. and White, S. (2013). Vinegar ingestion at mealtime reduced fasting blood glucose concentrations in healthy adult at risk for type2 diabetes. Journal of Functional Foods, 5(4), 2007-2011.

Lipp, M., B.S, Radovic., and E, Anklam. 1998. Characterization of vinegar by pyrolysis-mass spectrometry. Food Control. 9:349-355

Ohnami, K., Matsuoka, E., and Okuda, T. (1985). Effects of Kurosu on the blood pressure of the spontaneously hypertension rats. Kisoto Rinsho, 19, 237-241. (In Japanese)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saeki, A., Theeragul, G., Matsushita, K., Toyama, H., Lotong, N. and Adachi, O. (1977). Development of thermotolerant acid bacteria useful for vinegar production

Scimat "*Acetobacter Aceti Bacteria*" 2016. https://fineartamerica.com/featured/2-acetobacter-aceti-bacteria-scimat.html

Scimat "*Saccharomyces cerevisiae*" 2014. https://fineartamerica.com/featured/yeast-saccharomyces-cerevisiae-power-and-syred.html

Tesfaye, W., Morales , M. L., Garcia-Perilla, M. C. and Troncoso, A. M. (2006). Wine vinegar : Technology, authenticity and quality evaluation. Trends in Food Science & Technology 13, 12-21.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากสับปะรดแบ่งออกเป็น 2 กระบวนการ คือ

1. **กระบวนการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นแอลกอฮอล์** มีการบันทึกผลการทดลอง 4 ค่า คือ ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลาย และปริมาณกรดแลคติก ตลอดระยะเวลาที่หมัก

ตารางที่ ก.1 ปริมาณแอลกอฮอล์ในช่วงการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นไวน์สับปะรด

พันธุ์สับปะรด	ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ตราดสีทอง *Montache*	0	2.3	6.7	9.7	11.1	12.3	13.0	13.1	12.9
ตราดสีทอง *Burgundy*	0	3.2	6.5	9.5	11	11.5	11.9	12.1	12.1
ตราดสีทอง สายพันธุ์ผสม	0	3.2	6.5	9.4	10.5	11.7	11.9	11.9	11.9
ภูแล *Montache*	0	1.7	5.3	8.6	10.6	11.7	12.3	11.8	12.1
ภูแล *Burgundy*	0	2.4	5.3	8.2	10.2	11.3	11.9	12.0	11.9
ภูแล สายพันธุ์ผสม	0	2.6	5.5	8.7	10.4	11.5	11.8	12.0	12.0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.1 ปริมาณแอลกอฮอล์ในช่วงการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นไวน์สับปะรด (ต่อ)

พันธุ์สับปะรด	ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ภูเก็ต *Montache*	0	2.3	6.5	9.5	10.7	11.9	12.1	12.3	12.3
ภูเก็ต *Burgundy*	0	3.2	6.7	9.6	11.0	11.5	11.9	12.0	11.7
ภูเก็ต สายพันธุ์ผสม	0	3.3	6.7	9.2	10.8	11.7	12.0	12.0	11.9
ปัตตาเวีย *Montache*	0	3.55	7	10.25	11.1	12	11.9	11.9	11.7
ปัตตาเวีย *Burgundy*	0	3.4	6.7	10.1	10.9	11.15	11.7	11.7	11.5
ปัตตาเวีย สายพันธุ์ผสม	0	3.2	6.7	9.7	10.6	11	11.5	11.5	11.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 ค่า pH ในช่วงการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นไวน์สับปะรด

พันธุ์สับปะรด	ค่า pH								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ตราดสีทอง *Montache*	4.21	3.16	3.04	3.16	3.19	3.28	3.28	3.31	3.30
ตราดสีทอง *Burgundy*	4.09	3.04	3.04	3.13	3.17	3.25	3.23	3.28	3.27
ตราดสีทอง สายพันธุ์ผสม	4.04	3.10	3.08	3.17	3.21	3.27	3.25	3.30	3.30
ภูแล *Montache*	4.42	3.64	3.59	3.65	3.67	3.79	3.75	3.76	3.82
ภูแล *Burgundy*	4.34	3.68	3.59	3.63	3.64	3.74	3.78	3.78	3.78
ภูแล สายพันธุ์ผสม	4.32	3.59	3.57	3.60	3.62	3.72	3.74	3.83	3.76
ภูเก็ต *Montache*	4.60	3.33	3.26	3.35	3.41	3.52	3.5	3.52	3.53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.2 ค่า pH ในช่วงการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นไวน์สับปะรด (ต่อ)

พันธุ์สับปะรด	ค่า pH								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ภูเก็ต *Burgundy*	4.46	3.25	3.25	3.4	3.39	3.51	3.51	3.56	3.53
ภูเก็ต สายพันธุ์ผสม	4.46	3.22	3.22	3.33	3.36	3.49	3.47	3.55	3.50
ปัตตาเวีย *Montache*	4.56	3.49	3.47	3.56	3.68	3.68	3.64	3.67	3.69
ปัตตาเวีย *Burgundy*	4.46	3.45	3.47	3.51	3.64	3,64	3.62	3.64	3.65
ปัตตาเวีย สายพันธุ์ผสม	4.39	3.44	3.43	3.47	3.58	3.60	3.58	3.60	3.63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายในช่วงการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นไวน์สับปะรด

พันธุ์สับปะรด	ค่าปริมาณของแข็งที่ละลาย (องศาบริกซ์)								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ตราดสีทอง *Montache*	22.5	20	15.1	12.3	11	9.6	9	9.5	8.5
ตราดสีทอง *Burgundy*	21.5	18.2	14.3	12	11	9.2	9	9.9	9
ตราดสีทอง สายพันธุ์ผสม	21.1	17	14	11	10	8.7	8	8	8.2
ภูแล *Montache*	20.4	18.3	15	11.4	10	7.9	7.5	8.5	8
ภูแล *Burgundy*	20.5	17.8	15	11.9	9	8.4	8	8.9	8.5
ภูแล สายพันธุ์ผสม	20.2	17.7	14.7	11.6	10	8.5	8	8.7	8
ภูเก็ต *Montache*	21.1	19	14.7	11.6	10	9	8.6	9.5	8
ภูเก็ต *Burgundy*	20.8	18.1	14.3	11.9	10.2	9.3	9.4	10	8.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายในช่วงการเปลี่ยนน้ำสับปะรดเป็นไวน์สับปะรด (ต่อ)

พันธุ์สับปะรด	ค่าปริมาณของแข็งที่ละลาย (องศาบริกซ์)								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ภูเก็ต สายพันธุ์ผสม	20.8	17.2	13.8	10.8	9.5	8.8	8	9	8
ปัตตาเวีย *Montache*	20	17.1	12.9	9	9.4	8.6	7.8	7.1	7.2
ปัตตาเวีย *Burgundy*	20	16.9	13.1	9.2	10	8.6	8	7.7	7.1
ปัตตาเวีย สายพันธุ์ผสม	19.6	16.9	13	9	9.5	8.6	7.5	7.2	7.1

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 ปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการไทเทรตโดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์

พันธุ์สับปะรด	ปริมาณกรด (มิลลิลิตร)								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ตราดสีทอง *Montache*	0.21	0.37	0.45	0.42	0.44	0.46	0.47	0.45	0.49
ตราดสีทอง *Burgundy*	0.22	0.33	0.39	0.38	0.43	0.43	0.43	0.43	0.43
ตราดสีทอง สายพันธุ์ผสม	0.25	3.4	0.45	0.4	0.41	0.44	0.46	0.45	0.49
ภูแล *Montache*	0.20	0.19	0.33	0.27	0.32	0.38	0.40	0.38	0.48
ภูแล *Burgundy*	0.21	0.27	0.32	0.29	0.32	0.35	0.36	0.36	0.41
ภูแล สายพันธุ์ผสม	0.2	0.28	0.33	0.31	0.35	0.36	0.38	0.37	0.44
ภูเก็ต *Montache*	0.17	0.29	0.39	0.31	0.31	0.36	0.38	0.34	0.38
ภูเก็ต *Burgundy*	0.17	0.30	0.36	0.32	0.31	0/36	0.37	0.35	0.38

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.4 ปริมาณกรดแลคติกที่ได้จากการไทเทรตโดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ (ต่อ)

พันธุ์สับปะรด	ปริมาณกรด (มิลลิลิตร)								
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 192	ชั่วโมงที่ 240	ชั่วโมงที่ 288	ชั่วโมงที่ 336
ภูเก็ต สายพันธุ์ผสม	0.17	0.31	0.32	0.33	0.30	0.33	0.34	0.37	0.36
ปัตตาเวีย *Montache*	0.22	0.36	12.9	0.42	0.42	0.46	0.54	0.49	0.53
ปัตตาเวีย *Burgundy*	0.27	0.40	13.1	0.41	0.43	0.47	0.52	0.50	0.30
ปัตตาเวีย สายพันธุ์ผสม	0.26	0.38	13	0.47	0.43	0.47	0.53	0.46	0.56

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. **กระบวนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นน้ำส้มสายชู** มีการบันทึกผลการทดลอง 1 ค่า คือ ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากวิธีการไทเทรตโดยใช้ฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ ตลอดระยะเวลาที่หมักและวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

2.1 ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากการไทเทรต

ตารางที่ ก.5 ปริมาณกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู

พันธุ์สับปะรด	ปริมาณกรดอะซิติก (%v/v)							
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 168
ตราดสีทอง *Montache*	0.7	1.1	3.7	1.5	1.9	3.4	5.2	6.5
ตราดสีทอง *Burgundy*	0.7	3.9	2.9	4.2	5.6	6.2	6.2	6.2
ตราดสีทอง สายพันธุ์ผสม	0.7	0.7	2.9	3.5	5.5	5.7	5.6	5.6
ภูแล *Montache*	0.7	1.3	4.4	1.3	1.9	4.2	6.2	6.3
ภูแล *Burgundy*	0.6	2.4	3.3	4.9	6.5	6.9	6.9	6.9
ภูแล สายพันธุ์ผสม	0.7	0.9	3.7	3.8	6.4	6.6	6.6	6.6
ภูเก็ต *Montache*	0.9	3.2	3.04	4.6	5.8	2.7	6.0	6.0
ภูเก็ต *Burgundy*	0.7	1.6	3.6	1.3	2.2	4.0	6.1	6.1
ภูเก็ต สายพันธุ์ผสม	0.7	0.6	2.8	3.2	6	6.2	6.3	6.3

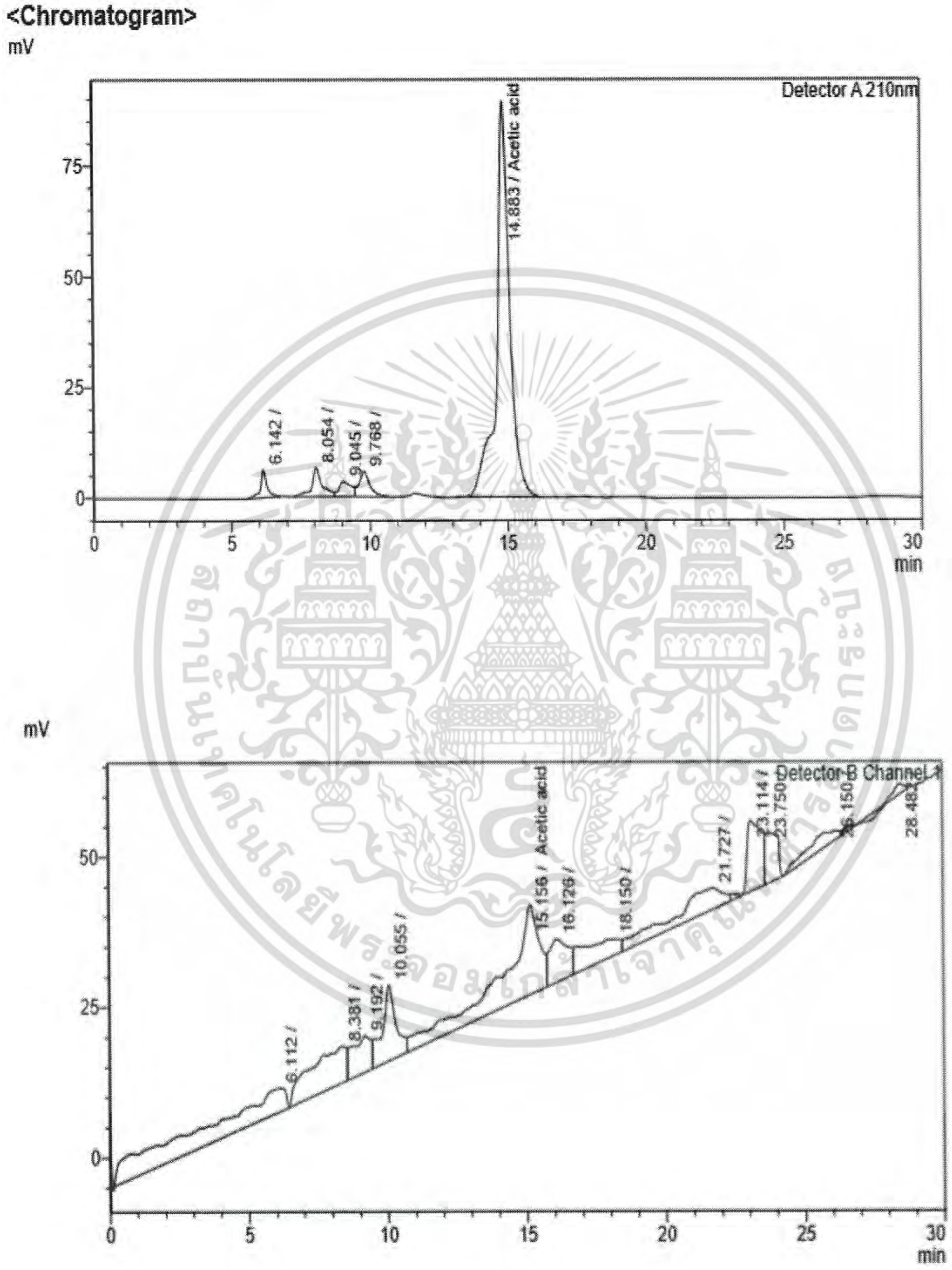
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.5 ปริมาณกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู (ต่อ)

พันธุ์สับปะรด	ปริมาณกรดอะซิติก (%v/v)							
	ชั่วโมงที่ 0	ชั่วโมงที่ 24	ชั่วโมงที่ 48	ชั่วโมงที่ 72	ชั่วโมงที่ 96	ชั่วโมงที่ 120	ชั่วโมงที่ 144	ชั่วโมงที่ 168
ปัตตาเวีย *Montache*	0.7	1.1	3.2	1.2	2.1	4.1	6.4	6.4
ปัตตาเวีย *Burgundy*	0.6	3.5	3.1	5.0	6.3	6.8	6.8	6.8
ปัตตาเวีย สายพันธุ์ผสม	0.7	1.1	2.3	3.6	5.0	5.4	5.6	5.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

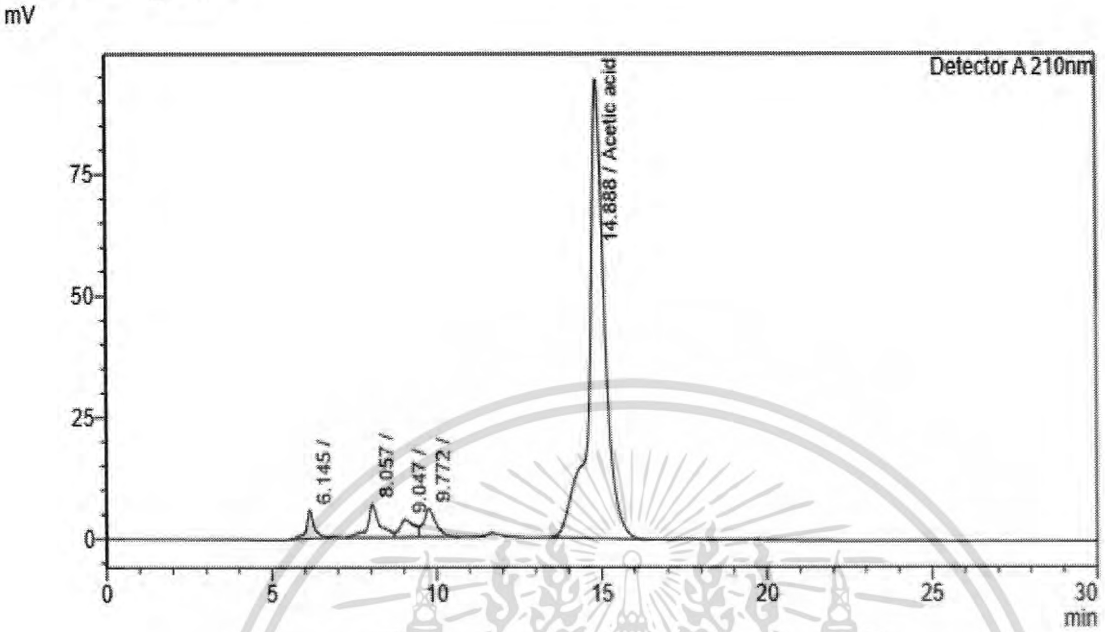
2.2 ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้จากวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติกด้วย High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

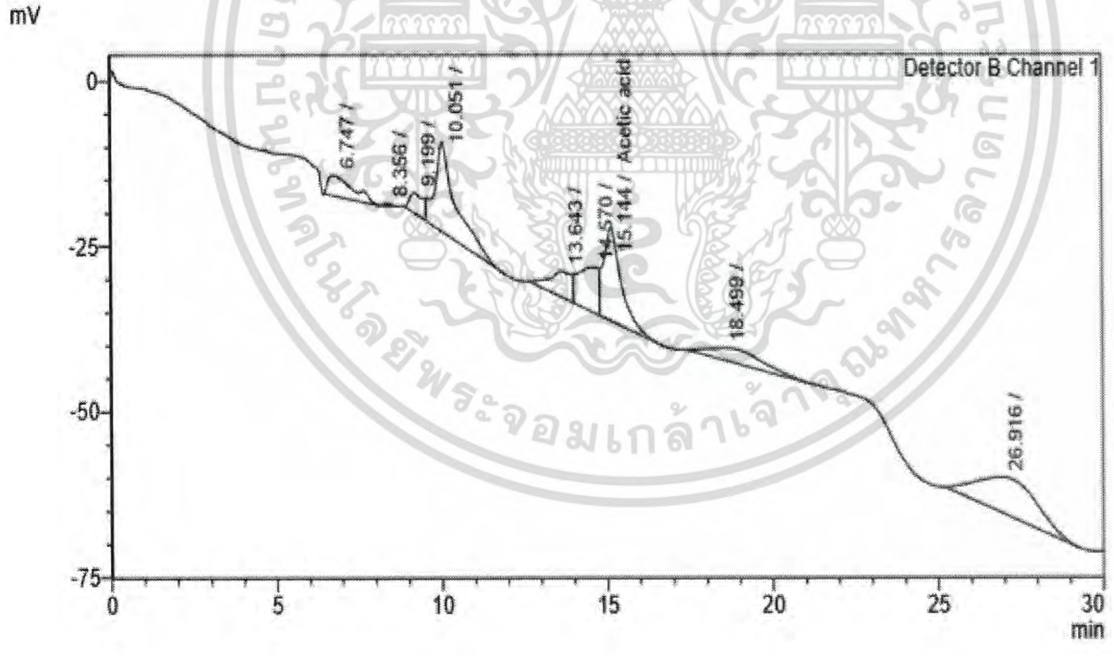


กราฟที่ ก.1 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองตัวอย่างที่ 1 ที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

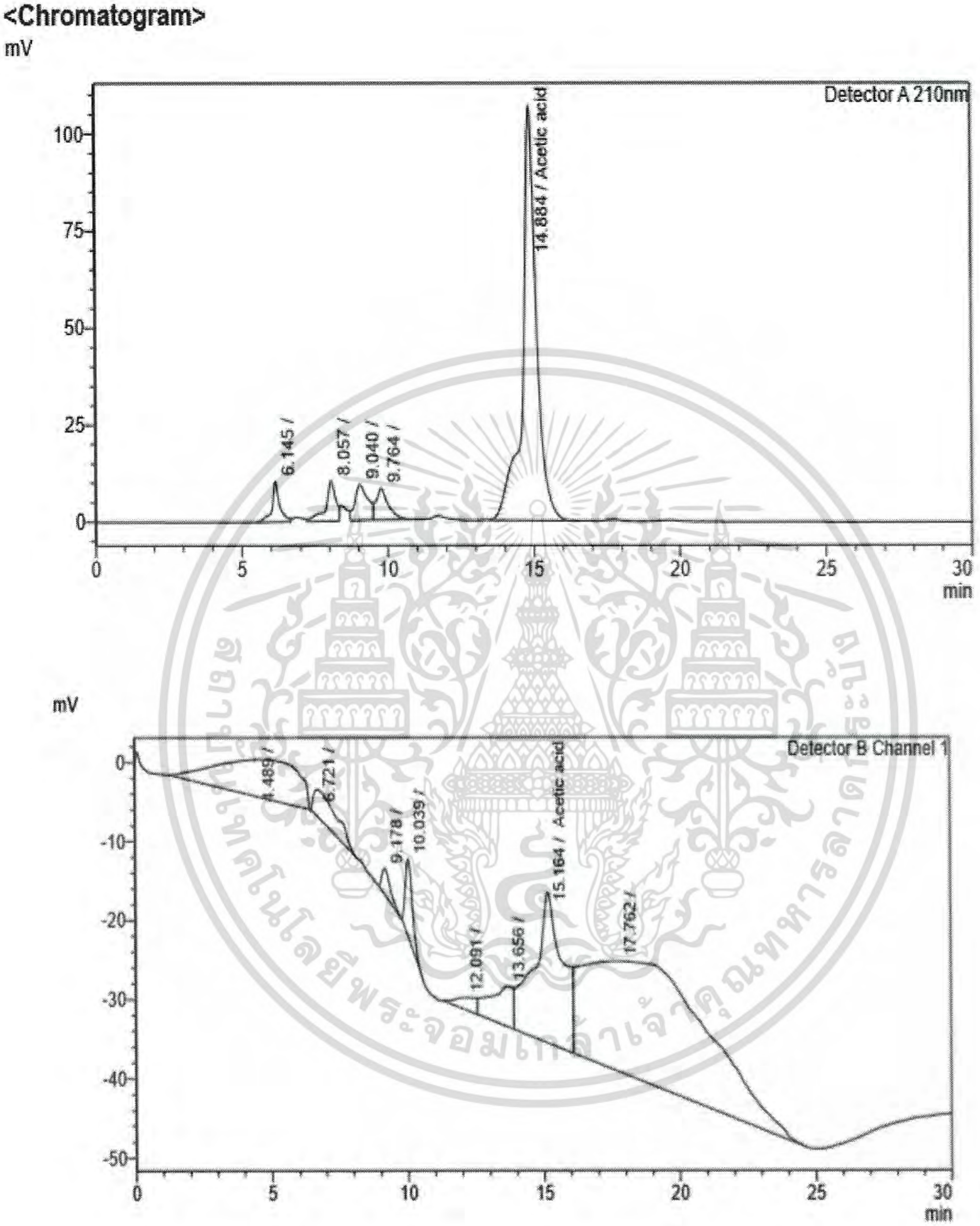
<Chromatogram>





กราฟที่ ก.2 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองตัวอย่างที่ 2 ที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache* ด้วยเครื่อง HPLC

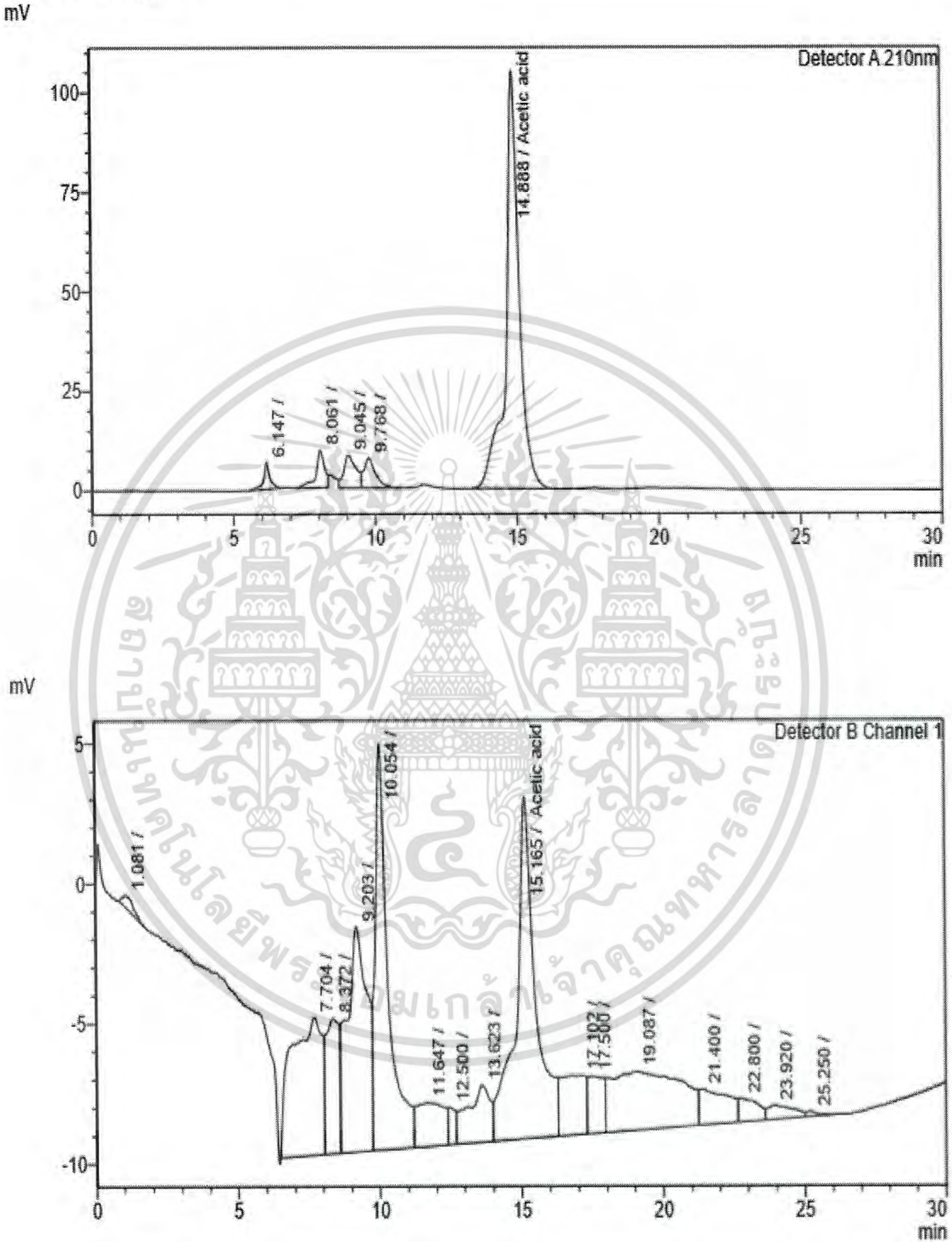
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟที่ ก.3 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ภูแลตัวอย่างที่ 1 ที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

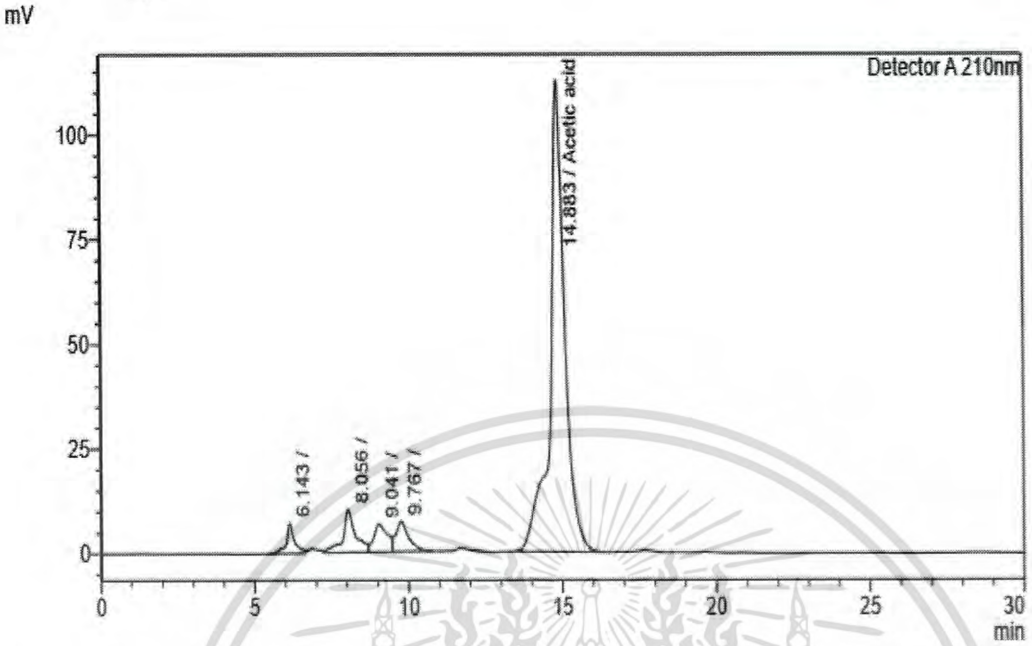
<Chromatogram>

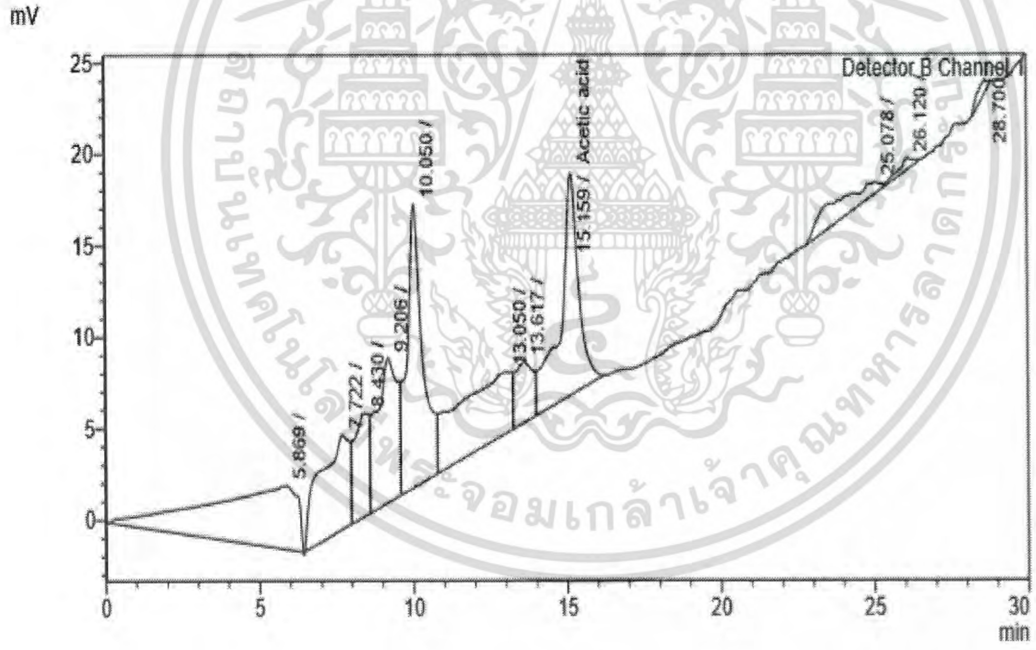


กราฟที่ ก.4 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ภูแลตัวอย่างที่ 2 ที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

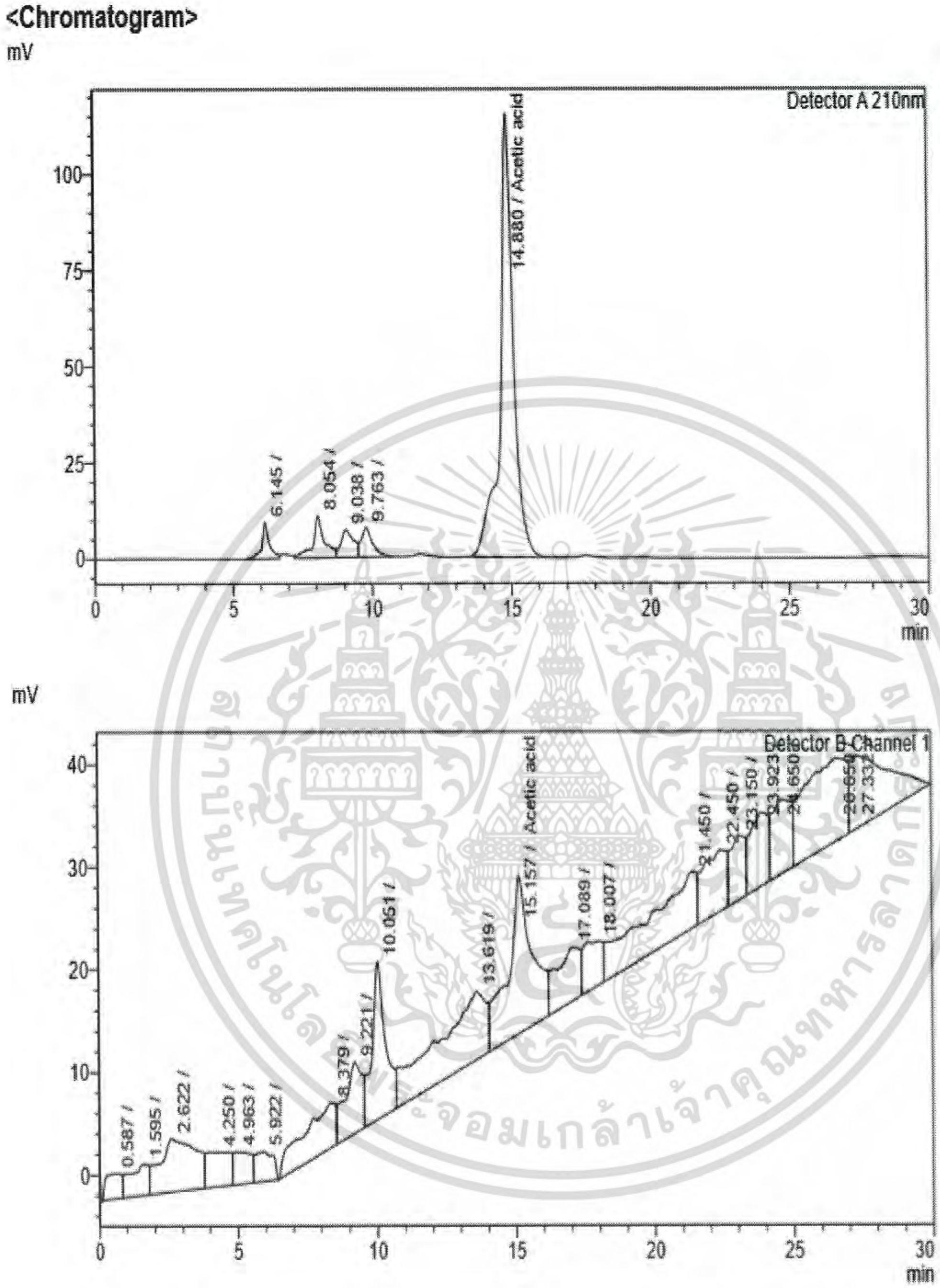
<Chromatogram>





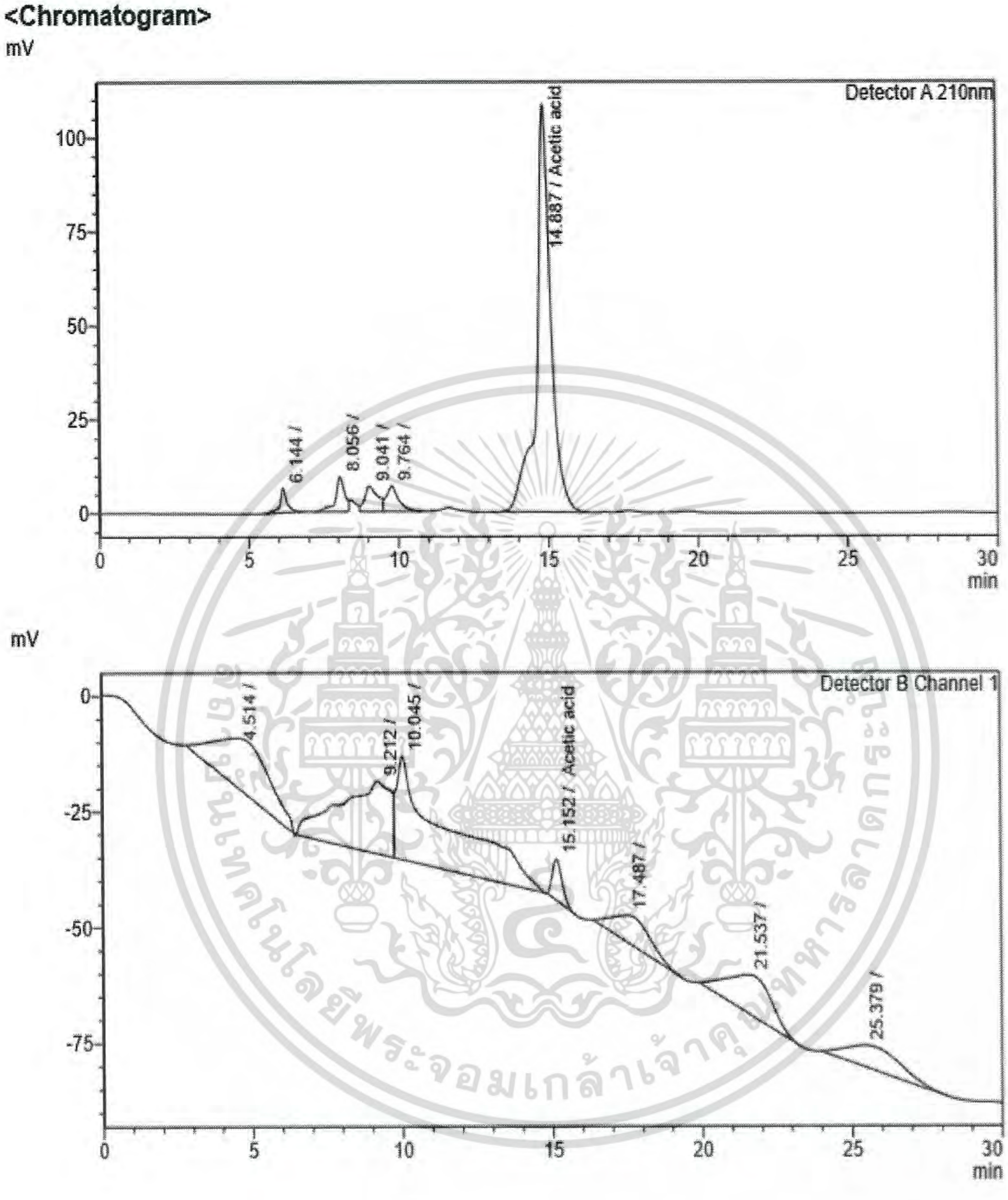
กราฟที่ ก.5 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



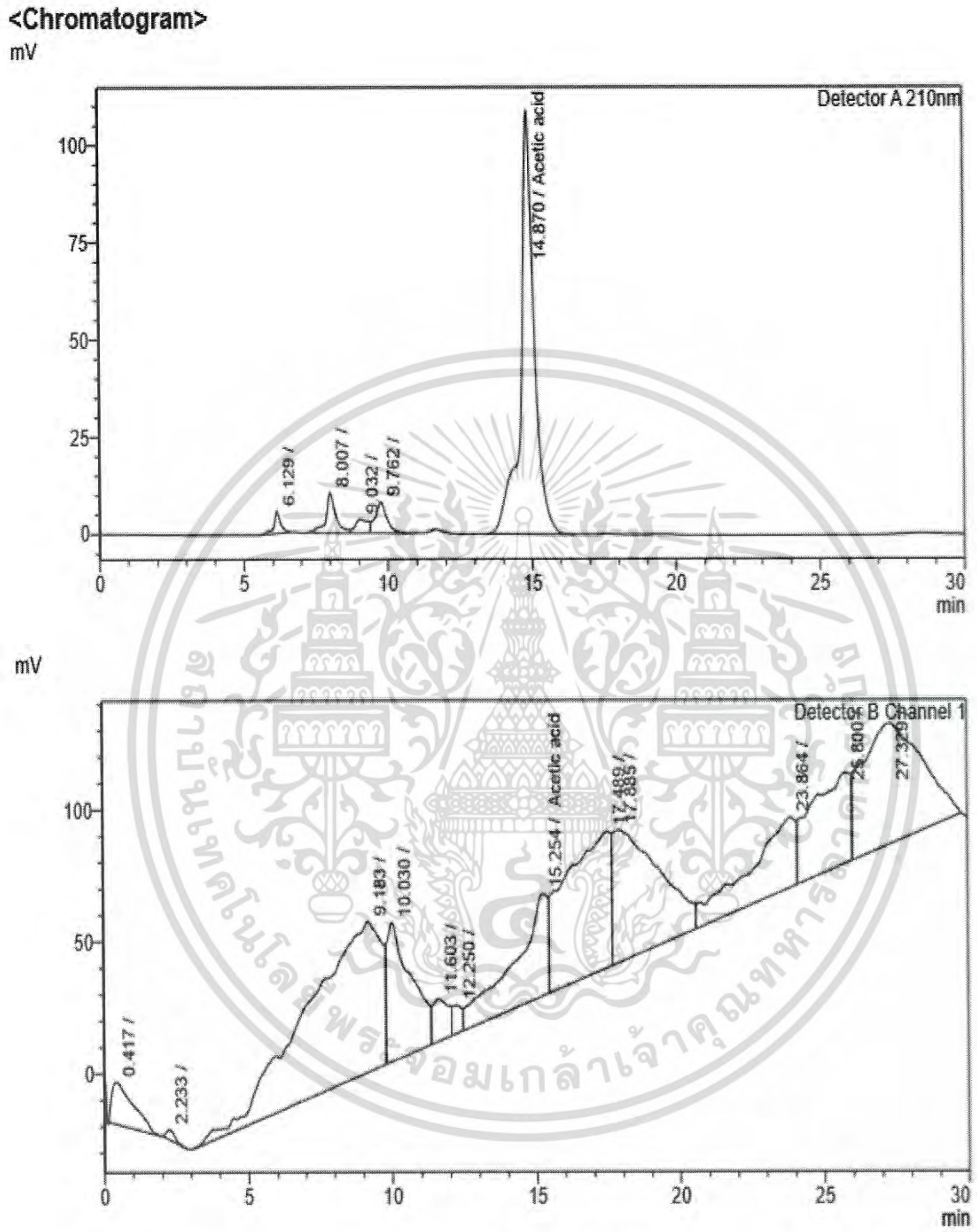
กราฟที่ ก.6 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Montache* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



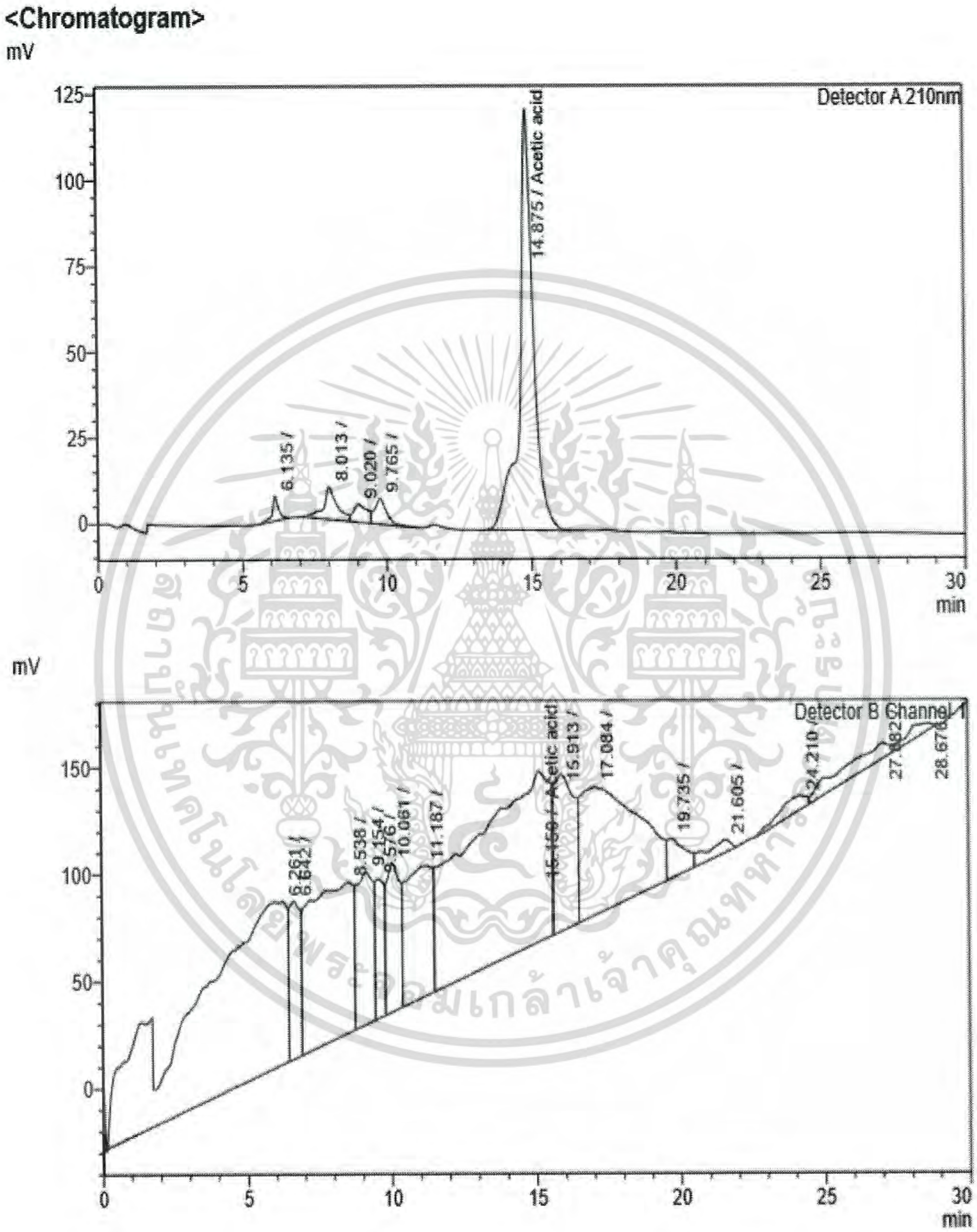
กราฟที่ ก.7 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองตัวอย่างที่ 1 ที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomces cerevisiae Burgundy* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



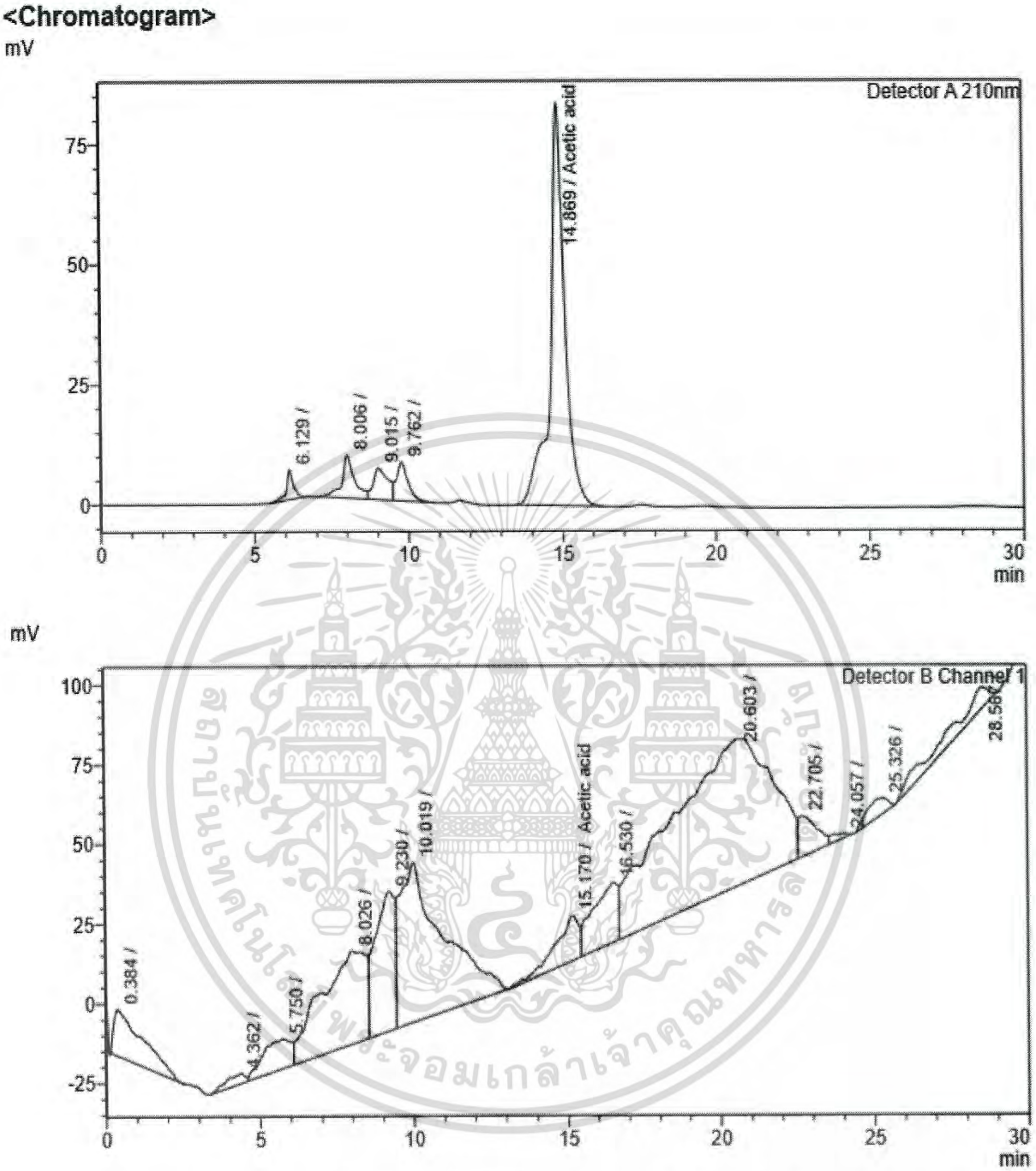
กราฟที่ ก.8 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ตราดสีทองตัวอย่างที่ 2 ที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



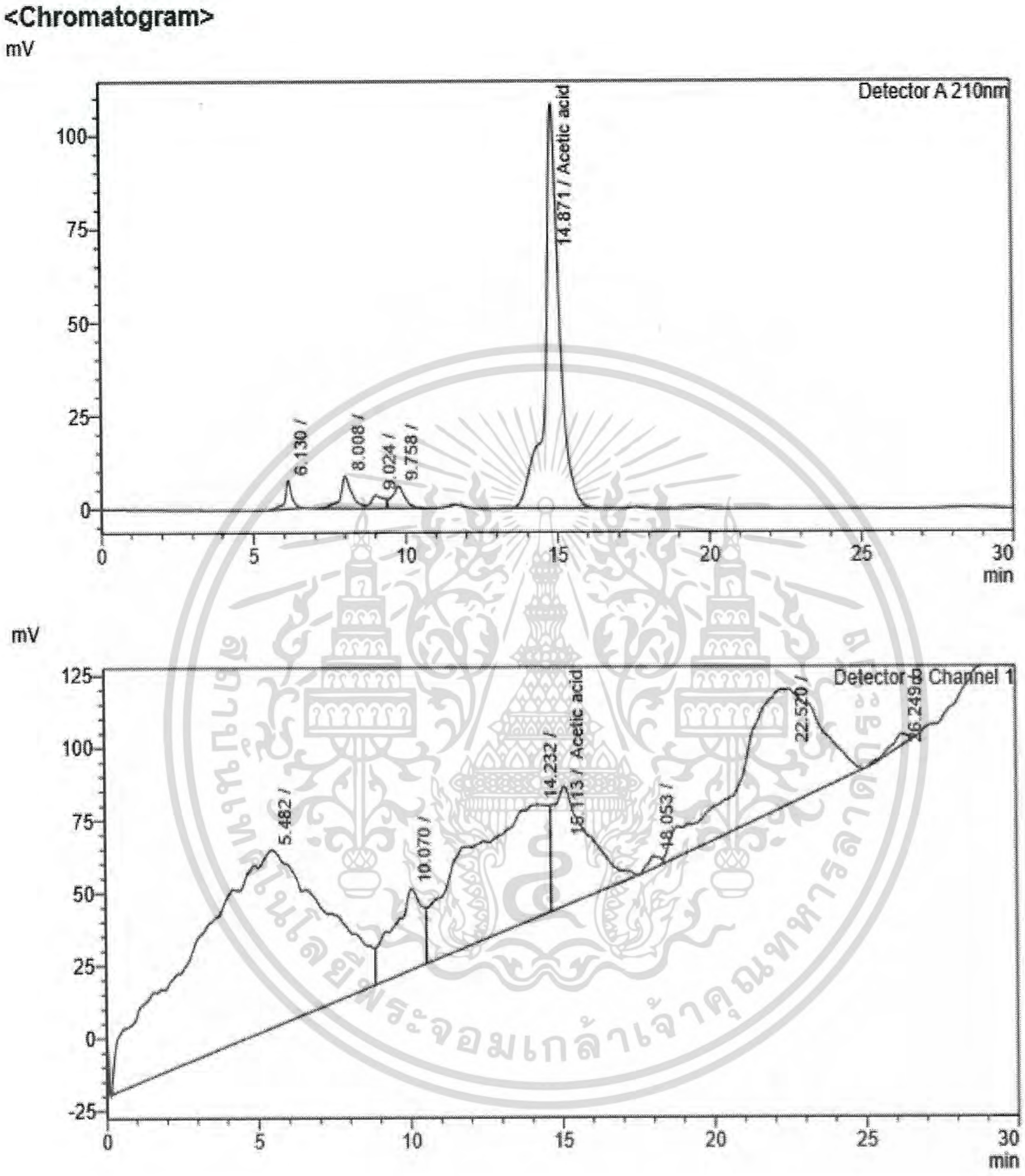
กราฟที่ ก.9 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ภูแลที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟที่ ก.10 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



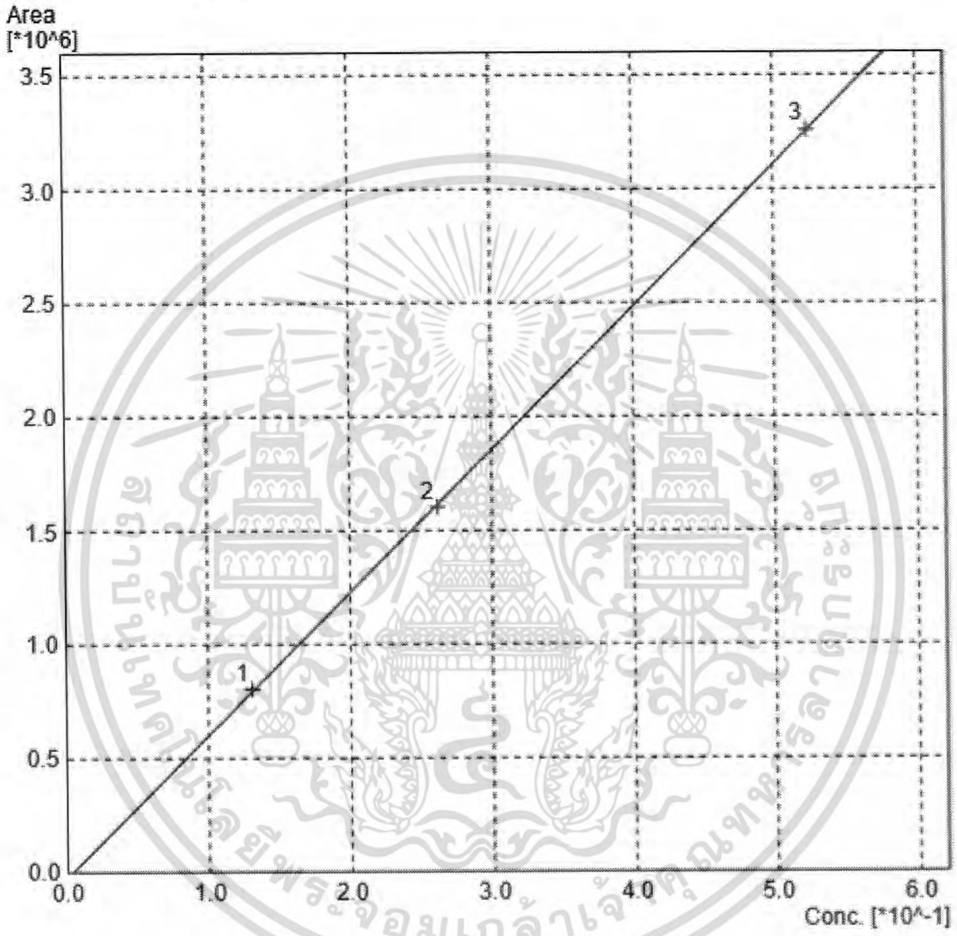
กราฟที่ ก.11 ผลการวัดปริมาณกรดอะซิติกจากสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียที่หมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae Burgundy* ด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ID#	: 1
Name	: Acetic acid
Quantitative Method	: External Standard
Function	: f(x)=6.26293e+006*x-24606.4

Rr1=0.9999706 Rr2=0.9999413 RSS=1.840871e+008
MeanRF: 6.160183e+006 RFSD: 5.428891e+004 RFRSD: 0.881287

FitType	: Linear
ZeroThrough	: Not Through
Weighted Regression	: None
Detector Name	: Detector A



Level	Data File Name	Conc.(Ratio)	MeanArea	Area%RSD	Area
1	1250.lcd	0.1309	802465	0.000000	802465
2	2500.lcd	0.2617	1603525	0.000000	1603525
3	5000.lcd	0.5234	3257037	0.000000	3257037

กราฟที่ ก.12 Calibration curve ที่ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกด้วยเครื่อง HPLC

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากทราบปริมาณกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูที่หมักด้วยสับปะรดที่แตกต่างกัน 4 สายพันธุ์ หมักโดยยีสต์ที่แตกต่างกัน 3 สายพันธุ์ ผู้วิจัยออกแบบรูปแบบของการหมัก และภาชนะที่ใช้ในการหมัก เพื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดอะซิติกที่สามารถผลิตได้โดยแบ่งการทดลองการออกแบบถาดเป็น 4 แบบ ดังนี้

- การหมักในถาดแบบปกติ
- การหมักในถาดแบบปกติโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ
- การหมักในโหลแก้ว
- การหมักในโหลแก้วโดยมีการติดตั้งปั๊มเพิ่มอากาศ

โดยมีการบันทึกผลการทดลอง คือ ปริมาณกรดอะซิติกในช่วงกระบวนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก ค่า pH และการนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Colony) ตลอดระยะเวลาการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. ปริมาณกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักภายใต้เงื่อนไขของภาชนะและปั๊มเพิ่มอากาศที่แตกต่างกัน

ตารางที่ ก.6 ปริมาณกรดอะซิติกที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักภายใต้เงื่อนไขของภาชนะและปั๊มเพิ่มอากาศที่แตกต่างกัน

วิธีการหมัก	ปริมาณกรดน้ำส้มสายชู(เปอร์เซ็นต์/ชั่วโมง)																					
	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312	336	360	384	408	432	456	480	504	528	552
หมักแบบถาด	0.7	3.3	3.3	4.9	6.2	6.5	6.4																
หมักแบบถาด	0.7	3.4	3.2	5	5.9	5.9	5.9	5.8	5.8														
หมักแบบถาด	0.7	3.2	3	4.8	6.1	6.1	5.7																
หมักแบบถาด มีหัวทราย	0.4	2.6	1.9	1.5	2	2.5	3	3.5	3.6														
หมักแบบถาด มีหัวทราย	0.6	2.4	1	1.5	3.2	4.6	4.1	3.9	3.9	3.7													
หมักแบบถาด มีหัวทราย	0.7	2.7	1.4	2.1	4.1	5.2	4.5	3.8	3.7														
หมักแบบโหล	0.5	0.5	1.1	1.4	1.9	1.3	1.4	1.4	1.7	2.1	2.6	2.9	3.6	3.9	4.4	4.9	5.3	5.6	5.7	6	6.3	6.3	6.2
หมักแบบโหล	0.6	0.7	1.1	2.2	2.6	1.6	1.9	2	2.3	2.6	2.8	3.1	3.8	4	4.7	5	5.4	5.6	5.7	5.9	6.2	6.3	
หมักแบบโหล	0.6	0.9	0.9	2.2	2.8	1.7	2.1	2.6	2.5	2.7	3	2.8	3.9	4	4.6	4.8	5.1	5.3	5.4	5.8	6	6	
หมักแบบโหล มีหัวทราย	0.5	0.8	0.9	2.1	3.2	1.8	2.2	2.3	2.5	2.8	3.2	3.2	3.1	3.2	3.5	3.5	3.4	3.3	3.6				
หมักแบบโหล มีหัวทราย	0.6	0.7	0.8	2.4	3.5	2	2.2	2.5	2.7	3.1	3.5	3.6	3.5	3.6	3.9	4.1	4.1	4.1					
หมักแบบโหล มีหัวทราย	0.5	0.7	1.1	2.3	3.5	2.1	2.1	2.5	2.7	3	3.3	3.5	3.1	3.3	3.8	4	3.8	3.6					

ตารางที่ ก.7 ค่า pH ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักภายใต้เงื่อนไขของภาชนะและปั๊มเพิ่มอากาศที่แตกต่างกัน

วิธีการหมัก	pH(pH/ชั่วโมง)																						
	24	48	72	96	120	144	168	192	216	240	264	288	312	336	360	384	408	432	456	480	504	528	552
หมักแบบถาด	3.77	3.04	2.99	2.82	2.74	2.72	2.74																
หมักแบบถาด	3.76	3.03	2.99	2.81	2.77	2.76	2.8																
หมักแบบถาด	3.72	3.07	3.04	2.83	2.76	2.74	2.75																
หมักแบบถาด มีหัวทราย	4.01	3.14	3.11	3.18	3.1	3.03	2.95																
หมักแบบถาด มีหัวทราย	3.8	3.11	3.26	3.15	2.92	2.79	2.81																
หมักแบบถาด มีหัวทราย	3.69	3.12	3.15	3.08	2.86	2.77	2.81																
หมักแบบโหล	3.7	3.62	3.43	3.37	3.35	3.36	3.3	3.26	3.24	3.2	3.08	3.59		2.88		2.79	2.77	2.75	2.73	2.72	2.71	2.68	
หมักแบบโหล	3.68	3.62	3.39	3.21	3.27	3.24	3.19	3.17	3.15	3.1	3.03	3.56	2.9	2.88	2.82	2.86	2.78	2.75	2.73	2.72	2.74	2.69	
หมักแบบโหล	3.7	3.46	3.38	3.2	3.28	3.22	3.13	3.12	3.12	3.08	3.01	3.62		2.89		2.87	2.79	2.78	2.74	2.74	2.73	2.71	
หมักแบบโหล มีหัวทราย	3.73	3.6	3.37	3.17	3.18	3.19	3.12	3.1	3.1	3.05	2.91	3.56		2.87		2.91	2.94	2.99					
หมักแบบโหล มีหัวทราย	3.72	3.69	3.36	3.12	3.16	3.17	3.1	3.09	3.08	3.04	2.96	3.6	2.95	2.94	2.92	2.88	2.89	2.99					
หมักแบบโหล มีหัวทราย	3.7	3.64	3.41	3.13	3.15	3.18	3.13	3.1	3.09	3.03	2.97	3.69		2.94		2.88	2.88	2.89					

2. การนับจำนวนเชื้อแบคทีเรีย (Colony) ตลอดระยะเวลาการหมัก

ตารางที่ ก.8 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 16 มีนาคม 2558

Streak: 16/March/2018 Collect: 19/March/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}
หมักในถาด	>300	153
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	33
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	11
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	110
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	55
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	91
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	34
หมักในโหล	261	<30
หมักในโหล	136	<30
หมักในโหล	252	<30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.9 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 17 มีนาคม 2558

Streak: 17/March/2018 Collect: 19/March/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}
หมักในถาด	>300	53
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	12
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	78
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	48
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	254
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	152
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	115
หมักในโหล	>300	81
หมักในโหล	>300	>300
หมักในโหล	>300	214

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.10 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 18 มีนาคม 2558

Streak : 18/March/2018 Collect : -/March/2018 Error

Colony	10	10
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักในโหล	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.11 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 19 มีนาคม 2558

Streak : 19/March/2018 Collect : 22/March/2018

Colony	10^{-5}	10^{-6}
หมักในถาด	7	5
หมักแบบถาดมีหัวทราย	21	13
หมักแบบถาดมีหัวทราย	9	1
หมักแบบถาดมีหัวทราย	53	27
หมักแบบโหลมีหัวทราย	55	8
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	43
หมักแบบโหลมีหัวทราย	53	46
หมักในโหล	8	>300
หมักในโหล	5	>300
หมักในโหล	16	3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.12 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 20 มีนาคม 2558

Streak : 20/March/2018 Collect : 19/March/2018

Colony	10^{-5}	10^{-6}
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในโหล	<30	<30
หมักในโหล	8	
หมักในโหล	96	35
หมักแบบโหลมีหัวทราย	106	10
หมักแบบโหลมีหัวทราย	36	3
หมักแบบโหลมีหัวทราย	21	196

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.13 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 21 มีนาคม 2558

Streak : 21/March/2018 Collect : 23/March/2018

Colony	10^{-4}	10^{-5}
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในโหล	296	>300
หมักในโหล	13	20
หมักในโหล	283	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	196	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	163	12
หมักแบบโหลมีหัวทราย	120	>300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.14 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 22 มีนาคม 2558

Streak : 22/March/2018 Collect : 26/March/2018

Colony	10^{-5}	10^{-6}
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในโหล	6	1
หมักในโหล	12	20
หมักในโหล	10	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	29	26
หมักแบบโหลมีหัวทราย	21	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	20	9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.15 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 23 มีนาคม 2558

Streak : 23/March/2018 Collect : 26/March/2018

Colony	10^{-4}	10^{-5}
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	29
หมักในโหล	>300	81
หมักในโหล	>300	81
หมักในโหล	223	42
หมักแบบโหลมีหัวทราย	29	3
หมักแบบโหลมีหัวทราย	59	12
หมักแบบโหลมีหัวทราย	39	15

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.16 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 24 มีนาคม 2558

Streak : 24/March/2018 Collect : -/March/2018 Error

Colony	10^{-4}	10^{-5}
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.17 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 25 มีนาคม 2558

Streak : 25/March/2018 Collect : -/March/2018 Error

Colony	10^{-4}	10^{-5}
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักในโหล	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.18 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 26 มีนาคม 2558

Streak : 26/March/2018 Collect : 28/March/2018

Colony	10^{-3}	10^{-4}
หมักในถาด	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในโหล	>300	96
หมักในโหล	62	28
หมักในโหล	47	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.19 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 27 มีนาคม 2558

Streak : 27/March/2018 Collect : 29/March/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}
หมักในถาด	>300	153
หมักในถาด	>300	96
หมักในถาด	>300	84
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	110
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	55
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	91
หมักในโหล	>300	>300
หมักในโหล	>300	>300
หมักในโหล	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.20 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 28 มีนาคม 2558

Streak : 28/March/2018 Collect : 30/March/2018

Colony	10^{-3}	10^{-4}
หมักในโหล	>300	55
หมักในโหล	>300	55
หมักในโหล	>300	55
หมักแบบโหลมีหัวทราย	23	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	23	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	23	>300
หมักแบบถาดมีหัวทราย	95	22
หมักแบบถาดมีหัวทราย	95	22
หมักแบบถาดมีหัวทราย	95	22
หมักในถาด	>300	109
หมักในถาด	>300	109
หมักในถาด	>300	109

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.21 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 29 มีนาคม 2558

Streak : 29/March/2018 Collect : 01/April/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}
หมักในโหล	56	6
หมักในโหล	147	7
หมักในโหล	53	2
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในถาด	-	-
หมักในถาด	-	-
หมักในถาด	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.22 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 30 มีนาคม 2558

Streak : 30/March/2018 Collect : 02/April/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}
หมักในโหล	236	<30
หมักในโหล	>300	<30
หมักในโหล	278	<30
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	<30
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	<30
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	<30
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในถาด	>300	>300
หมักในถาด	>300	>300
หมักในถาด	>300	231

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.23 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 31 มีนาคม 2558

Streak : 31/March/2018 Collect : 02/April/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}
หมักในโหล	227	17
หมักในโหล		
หมักในโหล		
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย		
หมักแบบโหลมีหัวทราย		
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-
หมักในถาด	-	-
หมักในถาด	-	-
หมักในถาด	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.24 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 1 เมษายน 2558

Streak : 01/April/2018 Collect : 03/April/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
หมักในโหล	236	<30	-	-
หมักในโหล	>300	<30	47	7
หมักในโหล	278	<30	106	40
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	289	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300	-	-
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	>300	-	-
หมักในถาด	>300	>300	-	-
หมักในถาด	>300	>300	-	-
หมักในถาด	>300	>300	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	61	3	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	132	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	125	11	-	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.25 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 2 เมษายน 2558

Streak : 02/April/2018 Collect : 05/April/2018

Colony	10^{-3}	10^{-4}
หมักในโหล	>300	>300
หมักในโหล	1	>300
หมักในโหล	1	>300
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	12
หมักแบบโหลมีหัวทราย	>300	354
หมักแบบโหลมีหัวทราย	201	99
หมักในถาด	169	9
หมักในถาด	222	19
หมักในถาด	230	5
หมักแบบถาดมีหัวทราย	248	48
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	107
หมักแบบถาดมีหัวทราย	307	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.26 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 3 เมษายน 2558

Streak : 03/April/2018 Collect : 05/April/2018

Colony	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}
หมักในโหล	>300	>300	>300
หมักในโหล	>300	3	>300
หมักในโหล	>300	>300	>300
หมักในถาด	>300	35	7
หมักในถาด	>300	65	8
หมักในถาด	>300	124	26
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	138	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	>300	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	>300	109	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.27 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 4 เมษายน 2558

Streak : 04/April/2018 Collect : 06/April/2018

Colony	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
หมักในโหล	250	58	-	-	-
หมักในโหล	>300	30	-	-	-
หมักในโหล	>300	49	-	-	-
หมักในถาด	-	-	>300	0	0
หมักในถาด	-	-	>300	7	6
หมักในถาด	-	-	>300	23	5
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	>300	264	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	>300	250	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	224	25	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.28 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 5 เมษายน 2558

Streak : 05/April/2018 Collect : 07/April/2018

Colony	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
หมักในโหล	133	19	-	-	-
หมักในโหล	118	20	-	-	-
หมักในโหล	296	3	-	-	-
หมักในถาด	-	-	-	0	0
หมักในถาด	-	-	-	1	0
หมักในถาด	-	-	-	0	0
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	>300	>300	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	-	0	2
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	15	0	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.29 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobactor aceti* TISTR 354 วันที่ 6 เมษายน 2558

Streak : 06/April/2018 Collect : 08/April/2018

Colony	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
หมักในโหล	35	6	-	-	-
หมักในโหล	161	0	-	-	-
หมักในโหล	16	4	-	-	-
หมักในถาด	-	0	0	-	-
หมักในถาด	-	-	-	-	-
หมักในถาด	-	-	-	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	-	0	0
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	-	0	0
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	-	0	0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ก.30 จำนวนเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 354 วันที่ 7 เมษายน 2558

Streak : 07/April/2018 Collect : 09/April/2018

Colony	10^{-1}	10^{-2}	10^{-3}	10^{-4}	10^{-5}
หมักในโหล	0	1	-	-	-
หมักในโหล	6	0	-	-	-
หมักในโหล	4	0	-	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	-	-	307	62
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	38	3	-	-
หมักแบบถาดมีหัวทราย	-	2	0	-	-

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Between-Subjects Factors

		N
method	BUR	8
	MIX	8
	MON	8
type	E	6
	J	6
	K	6
	P	6

Descriptive Statistics

Dependent Variable: acid

method	type	Mean	Std. Deviation	N
BUR	E	4.3000	2.68701	2
	J	6.8500	.07071	2
	K	6.3000	.42426	2
	P	6.8000	.00000	2
	Total	6.0625	1.51463	8
MIX	E	3.8500	2.47487	2
	J	4.4000	3.11127	2
	K	4.5000	2.40416	2
	P	6.1000	.00000	2
	Total	4.7125	1.97154	8
MON	E	6.2000	.00000	2
	J	6.2500	.07071	2
	K	6.8000	.00000	2
	P	6.3000	.00000	2
	Total	6.3875	.25877	8
Total	E	4.7833	1.97830	6
	J	5.8333	1.80074	6
	K	5.8667	1.53710	6
	P	6.4000	.32249	6
	Total	5.7208	1.56538	24

ตาราง ข.1-2 ข้อมูลปริมาณกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูที่นำมาวิเคราะห์เชิงสถิติด้วยโปรแกรม SPSS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Levene's Test of Equality of Error Variances[a,b]

		Levene Statistic	df1	df2	Sig.
acid	Based on Mean	2.042E+31	11	12	.000
	Based on Median	2.042E+31	11	12	.000
	Based on Median and with adjusted df	2.042E+31	11	2.941	.000
	Based on trimmed mean	2.042E+31	11	12	.000

Tests the null hypothesis that the error variance of the dependent variable is equal across groups.

a. Dependent variable: acid

b. Design: Intercept + method + type + method * type

Tests of Between-Subjects Effects

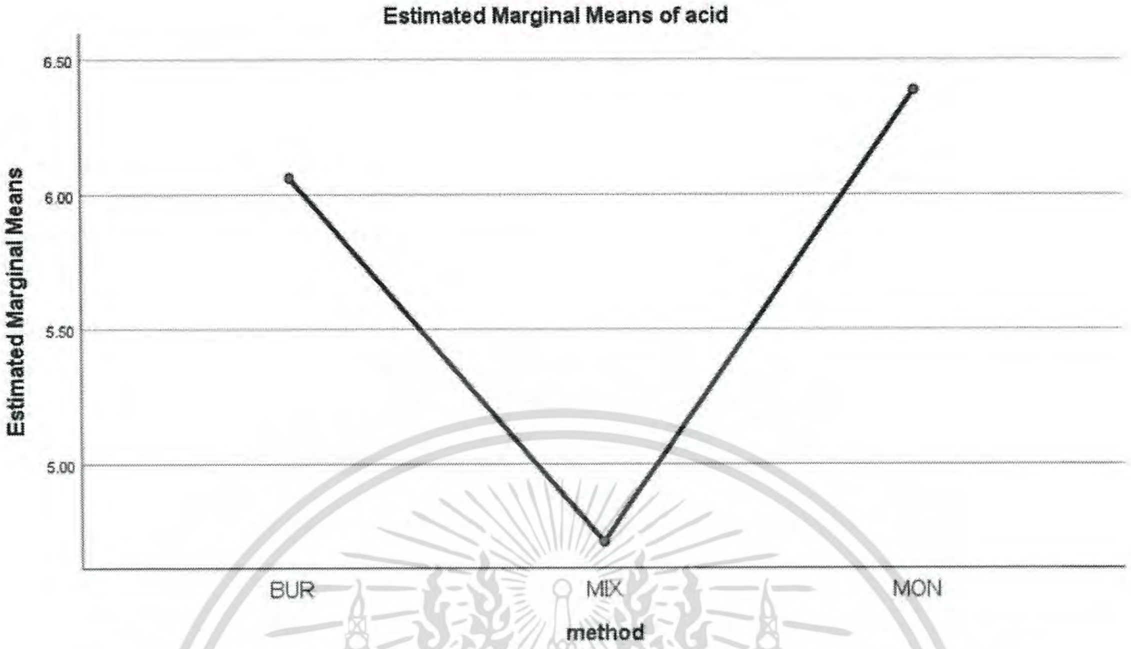
Dependent Variable: acid

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.	Partial Eta Squared
Corrected Model	27.365[a]	11	2.488	1.030	.477	.486
Intercept	785.470	1	785.470	325.078	.000	.964
method	12.623	2	6.312	2.612	.114	.303
type	8.245	3	2.748	1.137	.373	.221
method * type	6.497	6	1.083	.448	.833	.183
Error	28.995	12	2.416			
Total	841.830	24				
Corrected Total	56.360	23				

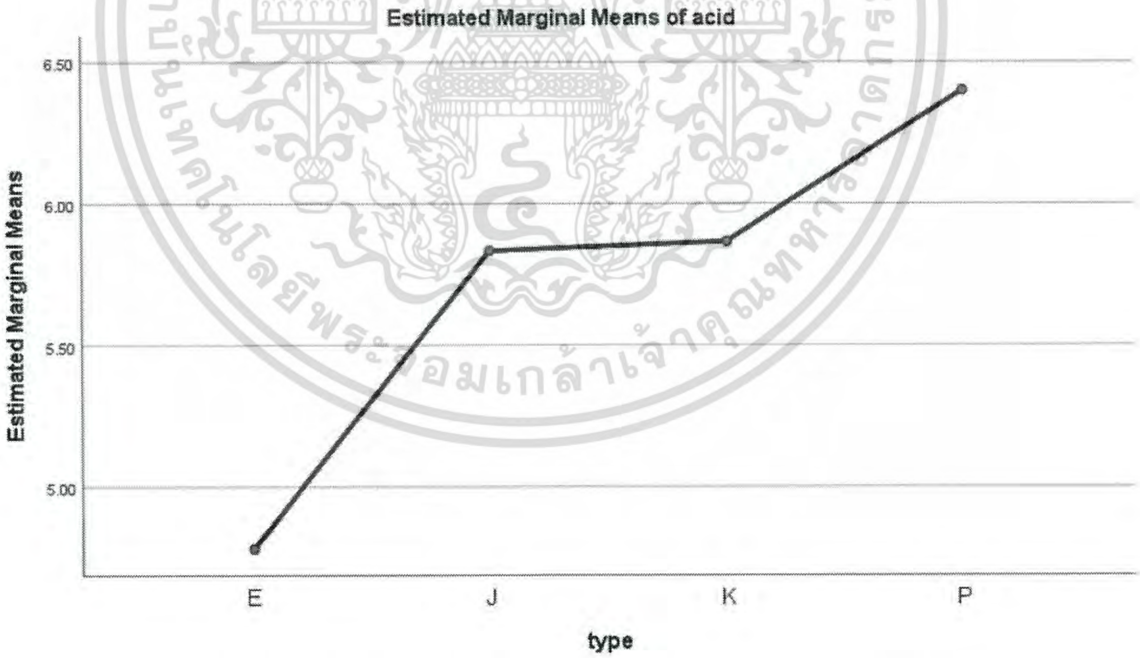
a. R Squared = .486 (Adjusted R Squared = .014)

ตาราง ข.3-4 การวิเคราะห์เชิงสถิติของปริมาณกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูด้วยโปรแกรม SPSS

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

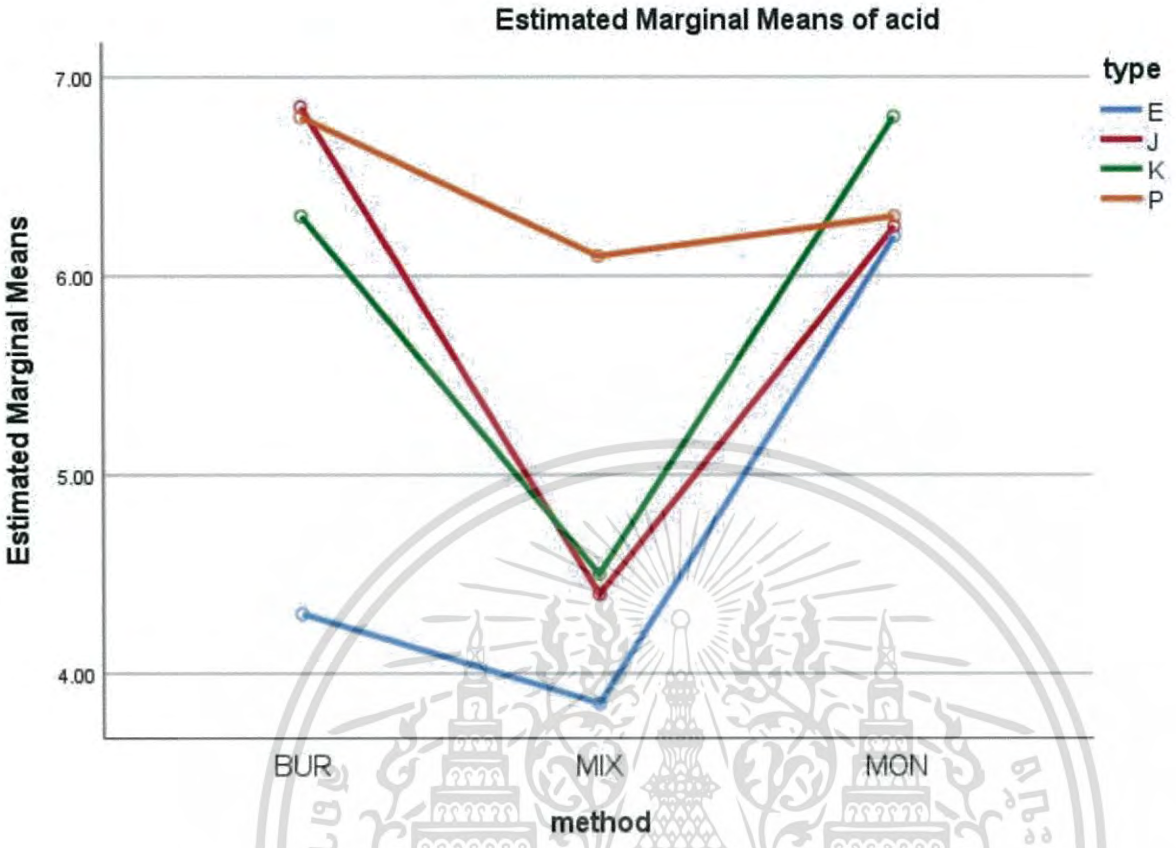


กราฟ ข.1 ปริมาณกรดอะซิติกโดยเฉลี่ยของน้ำส้มสายชูที่หมักจากเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์



กราฟ ข.2 ปริมาณกรดอะซิติกโดยเฉลี่ยของน้ำส้มสายชูที่หมักจากสับปะรดแต่ละสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



กราฟ ข.3 กราฟแสดงปริมาณกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูที่หมักจากสับปะรดและเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้