รายงานการวิจัย

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์

Development of Fermented Vinegar form Tammarind (*Tamarindus indica* L.) and Guideline for Added Value to Commercial.

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม และคณะ

สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2559

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์

Development of Fermented Vinegar form Tammarind (*Tamarindus indica* L.) and Guideline for Added Value to Commercial.

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม	**สาขาวิชาชีววิทยา**
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นายกาญจน์ คุ้มทรัพย์	**สาขาวิชาชีววิทยา**
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นายสุรเชษฐ์ เอี่ยมสำอาง	**สาขาวิชาชีววิทยา**
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางรุจิรา คุ้มทรัพย์	**สาขาวิชาเคมี**
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวสมเพียร ฟักทอง	**สาขาวิชาชีววิทยา**
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวแสงจันทร์ สอนสว่าง	**สาขาวิชาชีววิทยา**
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนโดย งบประมาณแผ่นดินที่พิจารณาจากโดยผ่านความเห็นชอบจากสำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ

ประจำปีงบประมาณ 2559

กิตติกรรมประกาศ

รายงานวิจัยฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยคำแนะนำต่าง ๆ จากคณาจารย์ในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ และความร่วมมือช่วยเหลืออย่างดียิ่งจากบุคคลหลายที่สละเวลาให้คำแนะนำ คำปรึกษา รวมถึงข้อเสนอแนะต่าง ๆ อันเป็นประโยชน์อย่างยิ่งต่อการดำเนินการวิจัยในครั้งนี้

ผู้วิจัยขอขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ที่ให้กำลังใจในการทำวิจัย ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และพี่ ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา และนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยาที่ช่วยเหลือในระหว่างทำงานวิจัยเป็นอย่างสูง ที่ได้ให้ความกรุณาให้คำปรึกษาแนะนำให้แก่ผู้วิจัย จึงขอขอบพระคุณสถาบันวิจัยและพัฒนา มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่ได้ให้ทุนอุดหนุนการวิจัยครั้งนี้มา ณ ที่นี้ด้วย

ธนาวรรณ สุขเกษม และคณะ

กันยายน ๒๕๕๙

ชื่อเรื่อง **การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์**

ผู้วิจัย ธนาวรรณ สุขเกษม

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อทำการศึกษากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์ โดยทำการหมักน้ำส้มสายชูจากมะขามทั้งหมด 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ประกายทอง พันธุ์สีทอง พันธุ์ศรีชมพู และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ โดยทำการศึกษาลักษณะกระบวนการผลิตในอัตราส่วนเนื้อมะขามต่อน้ำ ในอัตราส่วน 1 : 2 แล้วนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี จุลชีววิทยา สารประกอบฟีนอลิก ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ สารปนเปื้อน และนำมาเพิ่มมูลค่าทางพาณิชย์โดยนำมาผลิตเป็นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มโดยใช้สารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ ซูโครส ฟรุกโตสไซรัป และกลูโคสไซรัป พบว่าน้ำส้มสายชูจากมะขามพันธุ์ประกายทองให้คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และทางจุลชีววิทยาดีกว่ามะขามสายพันธุ์อื่น ๆ โดยจะมีค่า L* สูง และค่า a* และ b* มีค่าเป็นบวกบ่งบอกถึงน้ำส้มสายชูที่ผลิตได้มีสีน้ำตาลแดงเข้ม มีความใส ปริมาณกรดอะซิตริก 1.54 – 2.87 % ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 6.37 – 8.23 $^{\circ}$Brix ปริมาณแอลกอฮอล์ 10.47 – 3.43 %

จากนั้นนำมาผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 โดยใช้เวลาในการหมัก 30 วัน จากนั้นนำมาทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทางด้านสี กลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9 point hedonic scale พบว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามพันธุ์ประกายทองผสมฟรุกโทสเข้มข้น 3 ได้รับความพึงพอใจจากผู้บริโภคมากที่สุดมีคะแนนความชอบโดยรวม 7.00 เนื่องจากน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มมีลักษณะเปรี้ยว และมีกลิ่นหมักอ่อน ๆ มีปริมาณวิตามินซี 6.93มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ปริมาณสารประกอบฟีนอลิก 0.62 มิลลิกรัมแกลลิคต่อมิลลิลิตร ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ 20.78 % จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด 20 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และไม่พบยีสต์ และราในน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม ส่วนใหญ่คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู และผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม (มผช.275/2547) ยกเว้นปริมาณกรดอะซิตริก และปริมาณแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือที่ไม่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐาน

คำสำคัญ **น้ำส้มสายชูหมัก / มะขาม / การเพิ่มมูลค่า / เชิงพาณิชย์**

Title **Development of Fermented Vinegar form Tammarind (*Tamarindus indica* L.) and Guideline for Added Value to Commercial.**

Author Tanawan Sukkasem

ABSTRACT

This research aims to study Fermented Vinegar form Tammarind (*Tamarindus indica* L.) and Guideline for Added Value to Commercial.s. Then that study vinegar fermentation from 4 tammarinds ie. Pra Kai Thong , Sri Thong , Sri Chomphru and Priaw yak. To analyzed physical , chemical microbiological , phenolic compound antioxidant and sensory evaluation formula of drinking vinegar to mixed with sweetener 3 type as sucrose 3% , fructose syrup 3% and glucose syrup 3%. Fermented vinegar have highest L* a* and b* to have a clear like brown sugar liquid , sweet and sour flavors and soft ferment odor in formula mixed with sucrose 3%. Chemical properties of drinking vinegar mixed with fructose syrup 3% have the highest acetic acid content about 1.54 - 287% , total soluble solid 6.37 – 8.23 ^{0}Brix 10.47 - 3.43%

Therefrom the sensory evaluation of consumer in color , taste , flavor , texture and overall likeness with 9 point hedonic scale method used by 30 panelists found that the formula has been the most accepted was Fermented vinegar from Pra Kai Thong and to produce drinking vinegar fermented with *Acetobacter aceti* TISTR 102 and mixed with fructose syrup 3% to have 8.7 overall likeness and drinking vinegar mixed with sucrose 3% have a minimum of 5.5 overall likeness, which was significantly different at the 0.05 level. Fermented vinegar have clear not have semediation. Vitamin C have 6.93 mg , Phenolic content .0.62 mgGAE/ml , DPPH scavenging activity 20.78 (%) , total viable bacterial count and not found yeast and mold. Fermentation vinegar from Pra Kai Thong which to followed the community standard of vinegar and drinking orange juice (275/2547)

Keywords **Fermented** Vinegar / *Tamarindus indica* L. / Add value / Commercial

สารบัญเรื่อง

		หน้าที่
กิตติกรรมประกาศ		ก
บทคัดย่อไทย		ข
บทคัดย่ออังกฤษ		ค
สารบัญเรื่อง		ง
สารบัญตาราง		ช
สารบัญภาพ		ซ
บทที่ 1	**บทนำ**	
	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	สมมติฐานการวิจัย	2
	ขอบเขตของการวิจัย	3
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	4
	นิยามศัพท์เฉพาะ	4
บทที่ 2	**การทบทวนวรรณกรรม**	
	มะขาม	6
	กระบวนการหมัก	15
	น้ำส้มสายชู	18
	สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ	34
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	39
บทที่ 3	**วิธีการดำเนินการวิจัย**	
	วัตถุดิบ และสารเคมี	46
	วัสดุ และอุปกรณ์	47
	วิธีการทดลอง	48
	ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย	60

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

		หน้าที่
บทที่ 4	**ผลการวิจัยและวิจารณ์**	
	ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical Qualities)	61
	ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical Qualities)	66
	ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณภาพทางชีววิทยา (Microbiological Qualities)	78
	ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)	80
	ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Total phenolic and antioxidant activity)	82
	ผลการตรวจสอบคุณภาพของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม	83
บทที่ 5	**สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ**	
	การศึกษาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ (Physical Qualities)	85
	การศึกษาวิเคราะห์คุณภาพทางเคมี (Chemical Qualities)	86
	การศึกษาวิเคราะห์คุณภาพทางชีววิทยา (Microbiological Properties)	86
	การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)	87
	การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Total phenolic and antioxidant activity)	87
	การศึกษาคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม	88
	ข้อเสนอแนะ	88
บรรณานุกรม		89
ภาคผนวก	ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Quantities)	97
	ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Quantities)	100
	ภาคผนวก ค วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีววิทยา (Microbiological Properties)	113
	ภาคผนวก ง แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส 9-Point Hedonic Scale	115
	ภาคผนวก จ วิธีการหาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Total phenolic and antioxidant activity)	118
	ภาคผนวก ฉ วิธีการทดสอบสารปนเปื้อน (Contaminate analysis)	125

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

	หน้าที่
ภาคผนวก ช ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง น้ำส้มสายชูหมัก	129
ภาคผนวก ซ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง น้ำส้มสายชูหมัก	133
ภาคผนวก ฌ ภาพประกอบการทำวิจัย	139
ภาคผนวก ฎ มคอ.3 รายวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	149
ภาคผนวก ฐ การรับรองการนำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ไปใช้ประโยชน์	161
ประวัติผู้วิจัย	164

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
2.1	พื้นที่การปลูกมะขามหวานจังหวัดเพชรบูรณ์ ปี 2552	8
2.2	ผลผลิตโดยรวมแต่ละอำเภอในการผลิตมะขามหวานจังหวัดเพชรบูรณ์ ปี 2552	9
2.3	คุณค่าทางโภชนาการส่วนของยอดอ่อนของมะขามในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม	13
2.4	คุณค่าทางโภชนาการของมะขามดิบ	14
2.5	องค์ประกอบของน้ำส้มสายชูชนิดต่าง ๆ	21
2.6	แบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู	22
2.7	ผลของการทำลายเซลล์ *Acetobacter* sp. จากการขาดออกซิเจนควบคู่กับปัจจัยต่าง ๆ ของการหมัก	31
2.8	ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำส้มสายชูแต่ละชนิด	33
3.1	สูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากมะขาม 4 สายพันธุ์ที่หมักด้วยเชื้อ Acetrobacter aceti TISTR 102 โดยวิธี Rapid tray method	58
4.1	สูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขาม 12 สูตร	61
4.2	ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetrobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis*	62
4.3	เปรียบเทียบค่าสี L* a* และ b* ของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 โดยการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray	64
4.4	เปรียบเทียบค่าสี L* a* และ b* ของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ด้วยเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis* โดยการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray	65
4.5	ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ในกระบวนการหมักแบบต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 30 วัน	67
4.6	ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูหมักแบบต่าง ๆ	77
4.7	ปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมด และปริมาณยีสต์ ราของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม	78
4.8	การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102	80
4.9	ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูหมักแบบต่าง ๆ	82
4.10	คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองผสมน้ำตาลฟรุกโตส 3%	84

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
ข-1	การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส	107
ข-2	ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส	109
จ.1	การเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid	120
จ.2	การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานของ gallic acid	120

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้าที่
1.1	กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย	2
2.1	ลักษณะทั่วไปของมะขามหวาน	6
2.2	ลักษณะมะขามหวานพันธุ์สีทอง	10
2.3	ลักษณะมะขามหวานพันธุ์ศรีชมภู	11
2.4	ลักษณะมะขามหวานพันธุ์ประกายทอง	11
2.5	ลักษณะมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์	12
2.6	มะขามหวานแปรรูป	13
2.7	สูตรโครงสร้างของกรดอะซิตริก	18
2.8	ปฏิกิริยาการออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิตริก	19
2.9	สัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*	23
2.10	สัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Gluconobacter oxydans*	23
2.11	กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู	28
2.12	โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิกที่พบในพืชทั่วไป	34
2.13	ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลที่พบตามธรรมชาติในพืชทั่วไป	35
2.14	โครงสร้างของกรดแกลลิก	36
2.15	การเกิดปฏิกิริยาหลังจากการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ	38
3.1	กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู	52
4.1	ปริมาณกรดอะซิตริก และแอลกอออล์ที่หลงเหลือจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask	70
4.2	ปริมาณกรดอะซิตริก และแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือจากกระบวนการหมักแบบ Rapid tray	72
4.3	pH ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102	73
4.4	ค่า pH ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*	74
4.5	ค่า TSS ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102	75

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้าที่
4.6	ค่า TSS ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ Gluconobacter krungthepensis	76
4.7	การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้ง 12 สูตร	81
ข-1	ลักษณะของเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์	105
ข-2	แผ่นอ่านแอลกอฮอล์	105
ข-3	กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Fructose	109
ข-4	สเกลที่ทำการ calibrate กับน้ำกลั่น	111
ข-5	วิธีการอ่านค่า Hand held refractometer	111
ข-6	สเกลของ Hand held refractometer	112
จ-1	กราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid	121
ฌ-1	ตัวอย่างมะขามสายพันธุ์ต่าง ๆ	140
ฌ-2	การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) การผลิตไวน์มะขามในตู้ Laminar flow	140
ฌ-3	ตัวอย่างการผลิตไวน์มะขามในถังหมักขนาด 10 ลิตร	141
ฌ-4	ไวน์มะขาม 4 สายพันธุ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว	141
ฌ-5	การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) การผลิตน้ำส้มสายชูมะขามในตู้ Laminar flow	142
ฌ-6	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองจากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102	142
ฌ-7	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีทองจากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102	142
ฌ-8	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีชมภูจากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102	143
ฌ-9	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์จากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102	143
ฌ-10	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองจากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*	143
ฌ-11	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีทองจากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*	144
ฌ-12	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีชมภูจากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*	144
ฌ-13	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์จากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*	144
ฌ-14	การหมักน้ำส้มสายชูจากมะขามทั้ง 2 แบบ	145
ฌ-15	การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิตริกในน้ำส้มสายชูหมักด้วยวิธีการไตเตรท	145

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้าที่
ฌ-16	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)	146
ฌ-17	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีทองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)	146
ฌ-18	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีชมภูที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)	147
ฌ-19	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)	147
ฌ-20	น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)	148

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

มะขามหวาน (*Tamarindus indica* L.) จัดว่าเป็นพืชเศรษฐกิจที่มีความสำคัญเป็นอันดับหนึ่งของจังหวัดเพชรบูรณ์ ซึ่งมีการเพาะปลูกในพื้นที่ทั่วไปในจังหวัดเพชรบูรณ์ โดยมีปริมาณพื้นที่ปลูก 74,400 ไร่ และให้ผลผลิตเฉลี่ยปีละ 15,000 ตัน คิดเป็นมูลค่า 1,000 ล้านบาท (สำนักงานเกษตรจังหวัดเพชรบูรณ์ ,2550) และเนื่องจากมะขามหวานเป็นของขึ้นชื่อของจังหวัดเพชรบูรณ์ซึ่งมีความโดดเด่นทางด้านคุณภาพรสชาติหวานอร่อย ความสด และมีความเหนียวนุ่ม มีกลิ่นหอมน่ารับประทาน รวมถึงสามารถรับประทานได้ทุกเพศ ทุกวัยทั้งเป็นได้ทั้งอาหารคาว หวาน และของว่าง จึงได้รับการยอมรับจากนักท่องเที่ยวเป็นจำนวนมากในการเลือกซื้อหาเพื่อเป็นของฝากประจำจังหวัด แต่เนื่องจากผลผลิตมะขามหวานในแต่ละฤดูกาลออกมาเป็นจำนวนมากจึงมีผลทำให้ผลผลิตที่เก็บเกี่ยวได้มีมากเกินความต้องการของผู้บริโภค อีกทั้งประกอบกับถ้าเก็บรักษามะขามหวานในรูปผลสดจะส่งผลต่อคุณภาพของผลผลิตให้มีคุณภาพที่ลดลง จึงเป็นปัญหาของเกษตรกรทำให้ราคาตกต่ำตามไปด้วย ดังนั้นจึงมีการพยายามคิดค้นหาผลิตภัณฑ์ใหม่ ๆ ที่ได้จากการนำมะขามหวานที่ล้นตลาดมาแปรรูปให้สามารถยืดอายุเก็บรักษาให้เป็นเวลานานเพื่อให้นักท่องเที่ยวสามารถหาซื้อเป็นของฝากที่มีความหลากหลายมากขึ้นซึ่งในปัจจุบันมะขามหวานมีการแปรรูปได้หลากหลายรูปแบบอาทิเช่น มะขามกวน มะขามคลุกเกลือ มะขามคลุกบ๊วย มะขามหยี่ แยมมะขาม ลูกอมมะขาม กัมมี่มะขาม มะขามเส้น กล้วยอบไส้มะขาม มะขามแช่อิ่ม เป็นต้น

น้ำส้มสายชูหมักเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักแอลกอฮอล์ด้วยเชื้อแบคทีเรียตระกูล *Acetobacter aceti* ซึ่งมนุษย์นำมาใช้ในการบริโภคด้วยวิธีการที่หลากหลายกันมาเป็นเวลานาน เช่น การใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งรสชาติ เป็นสารเติมแต่งในอาหาร รวมถึงน้ำส้มสายชูยังช่วยในการถนอมอาหารอีกด้วย ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักมีกลิ่นหอมและรสชาติที่ดี มีสีสวย ซึ่งกลิ่นหอมของน้ำส้มสายชูเกิดจากกระบวนการหมักและกลิ่นรสจะดียิ่งขึ้นเมื่อเก็บเป็นเวลานานขึ้น (สมใจ ศิริโภค, 2537) และมีคุณประโยชน์หลากหลายสามารถนำมาบริโภคเพื่อส่งเสริมในแง่สุขภาพด้านต่าง ๆ เช่น ช่วยลดค่าดัชนีไกลซิมิก ลดระดับน้ำตาลกลูโคสในเลือด ทำให้ความเสี่ยงต่อการเกิดโรคเบาหวาน (Johnston *et al*.,2004) ช่วยลดระดับคอเลสเตอรอลในเลือด มีผลต่อการลดความยากอาหารส่งผลต่อการลดน้ำหนักได้

มะขามหวานสามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบหลักในท้องถิ่นที่สามารถนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักได้อีกทั้งมะขามยังเป็นแหล่งของสารต้านอนุมูลอิสระ และกรดที่จำเป็นหลายชนิดที่ส่งผลต่อสุขภาพของผู้บริโภคทั้งทางตรงและทางอ้อม ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในการเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบทางการเกษตรมาใช้ให้เกิดประโยชน์และพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีเอกลักษณะเฉพาะตัวประจำท้องถิ่น โดยนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามหวานสายพันธุ์ที่นิยมปลูกในจังหวัดเพชรบูรณ์ 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สีทอง พันธุ์สีชมภู พันธุ์ประกายทอง พันธุ์หมื่นจง และมะขาม

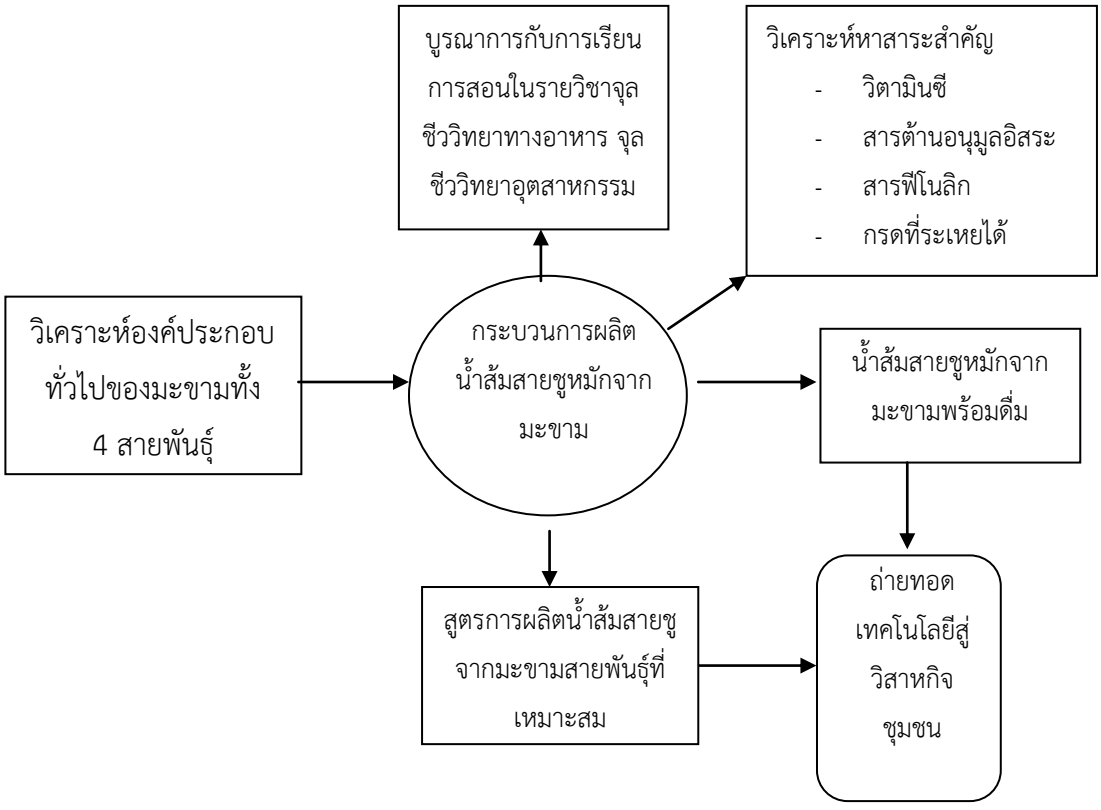
เปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ รวมถึงศึกษาแนวทางในการพัฒนาต่อยอดเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กับน้ำส้มสายชูเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ในเชิงพาณิชย์ เป็นน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มซึ่งจัดเป็นเครื่องดื่มที่ส่งเสริมสุขภาพจึงเป็นทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภคและยังช่วยเพิ่มรายได้ให้กับชุมชนให้มากขึ้นอีกด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามโดยวิธีการต่าง ๆ
2. เพื่อพัฒนาสูตรการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามหวานและมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์
3. เพื่อเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารที่ระเหยได้ของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามสูตรต่าง ๆ
4. เพื่อศึกษาแนวทางในการต่อยอดผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเพื่อต่อยอดในเชิงพาณิชย์

1.3 สมมติฐานการวิจัย

จากทฤษฎีและสมมติฐานดังกล่าวสามารถกำหนดเป็นกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัยได้ดังนี้



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สีทอง พันธุ์สีชมพู พันธุ์ประกายทอง และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ ที่มีอายุหลังการเก็บเกี่ยว 30 – 45 วัน น้ำหนักเฉลี่ยต่อฝักใกล้เคียงกัน ที่เพาะปลูกในพื้นที่อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

2. ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย คือ เดือนพฤศจิกายน 2557 – เดือนกันยายน 2558

3. ตัวแปรที่ใช้ในการค้นคว้า ได้แก่

3.1 ตัวแปรต้น

3.1.1 สายพันธุ์แบคทีเรียน้ำส้ม 2 สายพันธุ์ คือ *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* (Yukphan *et al.*, 2004) ที่มีอายุการเพาะเลี้ยง 24 ชั่วโมง

3.1.2 สายพันธุ์มะขาม 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สีทอง พันธุ์สีชมพู พันธุ์ประกายทอง และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ โดยใช้อัตราส่วนระหว่างเนื้อมะขามต่อน้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 2

3.1.3 กระบวนการหมักน้ำส้มสายชู 2 วิธี ได้แก่ Rapid Tray Culture Method และ Shake flask Method

3.2 ตัวแปรตาม ได้แก่

3.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ลักษณะทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ลักษณะที่สังเกตได้ด้วยตา และการวัดค่าความขุ่น

3.2.2 คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (Total soluble solids ; TSS) ปริมาณกรดอะซิตริก ค่า pH ปริมาณแอลกอฮอล์ ปริมาณวิตามินซี และปริมาณร้อยละของน้ำตาลรีดิวซิ่ง (Reducing sugar)

3.2.3 คุณสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา

3.2.4 ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic) และฤทธิ์ต้านสารอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

3.2.5 ปริมาณสารปนเปื้อน และโลหะหนัก ได้แก่ สารหนู (As) ตะกั่ว (Pb) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) เหล็ก (Fe) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (SO_2) และปริมาณกรดกำมะถัน หรือกรดแร่อิสระ ตามวิธี (A.O.A.C., 2000)

3.2.6 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ด้านสี กลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม

3.3 ตัวแปรควบคุม ได้แก่

ความเข้มข้นของมะขาม อุณหภูมิ ปริมาณน้ำตาล ความเข้มข้นของหัวเชื้อ เป็นต้น

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการวิจัยประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ มีดังนี้

1. ทราบศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์
2. สามารถเปรียบเทียบปริมาณสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และสารที่ระเหยได้ของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามสูตรต่าง ๆ
3. ช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตทางการเกษตรของท้องถิ่น และพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ได้
4. เพื่อเผยแพร่งานวิจัยในวารสารงานวิจัยระดับชาติ/ระดับนานาชาติ
5. สามารถนำไปถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสู่ชุมชนเพื่อสร้างรายได้เสริม
6. สามารถนำมาบูรณาการร่วมกับการเรียนการสอนในรายวิชา จุลชีววิทยา และจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมต่อนักศึกษาหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. **น้ำส้มสายชูหมัก (Vineagar)** หมายถึง เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำวัตถุดิบจากธรรมชาติ เช่น ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาล หรือกากน้ำตาล มาหมักกับแหล่งอาหารที่มีแอลกอฮอล์เป็นองค์ประกอบ แล้วนำมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ

2. มะขาม **(Tamarind)** หมายถึง ส่วนของเนื้อมะขามที่เอาเปลือกและเมล็ดออกแล้ว มีลักษณะเป็นเนื้อนิ่ม สีน้ำตาลอ่อน ถึงเข้ม โดยทำการคั้นน้ำมะขามในอัตราส่วนระหว่างเนื้อมะขาม : น้ำกลั่น เท่ากับ 1 : 2

3. การเพิ่มมูลค่า (Add value) หมายถึง มูลค่าหรือราคาของผลผลิตที่เพิ่มขึ้นในแต่ละขั้นตอนการผลิต หรือเป็นผลลัพธ์ที่ได้รับเกินจากสิ่งที่คาดหวังไว้ในตอนต้น โดยเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ผ่านขั้นตอนต่าง ๆ ตั้งแต่กระบวนการผลิต จนถึงขั้นตอนการจัดจำหน่ายก่อนถึงมือผู้บริโภค ทำให้สามารถยกระดับคุณค่า สร้างความโดดเด่น สร้างสรรค์ สร้างความพึงพอใจและตอบสนองความต้องการของกลุ่มเป้าหมายทั้งความต้องการพื้นฐานและความต้องการเฉพาะที่ยังไม่เคยได้รับการตอบสนอง (Unmet Demand)

4. กระบวนการหมัก (Fermentation) หมายถึง กระบวนการแปลงสภาพทางชีวเคมีภายในเซลล์เพื่อให้วัตถุดิบเปลี่ยนเป็นผลิตภัณฑ์ที่ต้องการ โดยอาศัยการทำงานของเอนไซม์ของจุลินทรีย์ ซึ่งถือว่าเป็นการถนอมอาหารอย่างหนึ่ง

5. คุณค่าทางโภชนาการ (Nutrition Value) หมายถึง ชนิดและปริมาณของสารอาหารที่เป็นส่วนประกอบทางเคมี ซึ่งมีผลต่อคุณค่าทางโภชนาการ เช่น ปริมาณน้ำ สารอาหารหลักที่ให้พลังงาน เช่น คาร์โบไฮเดรต ใยอาหาร ไขมัน โปรตีน กรดอะมิโนที่จำเป็น และกรดไขมันที่จำเป็น รวมถึงสารอาหารที่ไม่ให้พลังงาน ได้แก่ เกลือแร่ วิตามิน รงควัตถุ และสารให้กลิ่นรส

6. คุณภาพทางประสาทสัมผัส (Sensory Quality) หมายถึง เป็นคุณภาพการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภค โดยใช้เกณฑ์การประเมินทางประสาทสัมผัส เช่น ลักษณะปรากฏที่ประเมินด้วยสายตา สี กลิ่น รส เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม

7. **สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) หรือสารประกอบฟีนอล** หมายถึง สารที่สามารถพบได้ในทั่วไปตามธรรมชาติโดยเฉพาะพืช เช่น ผัก ผลไม้ เครื่องเทศ สมุนไพร ถั่ว เมล็ดธัญพืช ซึ่งถูกสร้างขึ้นมาเพื่อประโยชน์ในการส่งเสริมการเจริญเติบโต โดยสารประกอบฟีนอลจะมีคุณสมบัติเฉพาะตัว ได้แก่ สมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) และสามารถละลายในน้ำน้ำได้

8. **สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)** หมายถึง สารที่มีความสามารถในการยับยั้งหรือชะลอการเกิดปฏิกิริยาการออกซิเดชัน (Oxidation) ซึ่งเป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดอนุมูลอิสระ (free radical) ที่ทำให้เกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ มีส่วนทำลายโครงสร้างของเซลล์ร่างกาย

9. สารปนเปื้อน (Contaminants) หมายถึง สารที่ปนเปื้อนมากับอาหารโดยอาจจะมาจากกระบวนการผลิต หรือกรรมวิธีการผลิต ตลอดจนการขนส่งและการเก็บรักษา หรืออาจเกิดจากการปนเปื้อนจากสิ่งแวดล้อม ซึ่งถ้าผู้บริโภครับประทานเข้าไปในปริมาณมากอาจถึงแก่ชีวิตได้

10. น้ำผึ้ง (Honey) หมายถึง เป็นของเหลวที่มีลักษณะข้นหนืดที่มีความหวานได้จากการที่แมลงหรือผึ้งเก็บสะสมเอามาจากดอกไม้ชนิดต่าง ๆ หรือเลี้ยงผึ้งเพื่อทำการเก็บน้ำผึ้งเพื่อไว้ในการบริโภคหรือใช้ปรุงแต่งกลิ่น และรสชาติอาหารรวมถึงใช้สำหรับปรับปรุงยาอีกด้วย

บทที่ 2
เอกสารและรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษา เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์ ผู้วิจัยได้รวบรวมแนวคิด และหลักการต่าง ๆ จากเอกสารที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

2.1 มะขาม

2.2 กระบวนการหมัก

2.3 น้ำส้มสายชู

2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 มะขาม (*Tamarindus indica* L.)

มะขามเป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางจนถึงใหญ่ และเป็นพืชเศรษฐกิจได้รับพระราชทานเป็นพันธุ์ไม้มงคลประจำจังหวัดเพชรบูรณ์ มะขามในไทยมี 2 ชนิด คือ มะขามเปรี้ยว และมะขามหวาน โดยมะขามหวานมีหลายพันธุ์ เช่น พันธุ์น้ำผึ้ง อินทผลัม หมื่นจง สีทอง ในบางครั้งจะเรียกมะขามตามลักษณะของฝัก เช่น มะขามขี้แมว คือ มะขามฝักกลม มะขามกระดาน คือ มะขามฝักแบน มะขามข้อเดียว คือ มะขามที่ฝักมีข้อเดียวออกกลมป้อม (มะขาม, วีกีพีเดีย)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของมะขาม

ภาพที่ 2.1 ลักษณะทั่วไปของมะขามหวาน
ที่มา : http://www.rspg.or.th/plants_data/herbs/herbs_16_3.htm

ชื่อสามัญ : Tamarind
ชื่อวิทยาศาสตร์ : *Tamarindus indica* Linn.
วงศ์ : FABACEAE หรือ LEGUMINOSAE
วงศ์ย่อย : CAESALPINIACEAE หรือ CAESALPINIACEAE

ชื่ออื่น ๆ : ส่ามอเกล (กะเหรี่ยง-แม่ฮ่องสอน), หมากแกง (ฉาน-แม่ฮ่องสอน), มะขาม, มะขามไทย (ภาคกลาง), ขาม (ภาคใต้), ตะลูบ(นครศรีธรรมราช), อำเปียล (เขมร-สุรินทร์), มะขามกะดาน, มะขามขี้แมว , ม่วงโคล้ง (กะเหรี่ยง-กาญจนบุรี)

ลักษณะทางพฤกษศาสตร์: เป็นไม้ยืนต้นขนาดกลางจนถึงขนาดใหญ่แตกกิ่งก้านสาขามาก เปลือกต้นขรุขระและหนา สีน้ำตาลอ่อน ใบ เป็นใบประกอบแบบขนนก (Pinnatly compound leaves) ใบเล็กออกตามกิ่งก้านใบเป็นคู่ ใบย่อยเป็นรูปขอบขนาน ปลายใบและโคนใบมนคล้ายขนนก ปลายใบมี 2 ใบ เรียก แบบขนนกคู่ (Even pinnate) ดอก ออกเป็นช่อเล็กๆ ตามปลายกิ่ง หนึ่งช่อมี 10 - 15 ดอก ดอกย่อย ขนาดเล็ก กลีบดอกสีเหลืองและมีจุดประสีแดงอยู่กลางดอก ผล เป็นฝักยาว รูปร่างยาวหรือโค้ง ยาว 3 - 20 เซนติเมตร ฝักอ่อนมีเปลือกสีเขียวอมเทา สีน้ำตาลเกรียม เนื้อในติดกับเปลือก เมื่อแก่ฝักเปลี่ยนเป็นเปลือกแข็งกรอบหักง่าย สีน้ำตาล เนื้อในกลายเป็นสีน้ำตาลหุ้มเมล็ด เนื้อมีรสเปรี้ยว และหวาน (วิกีพีเดีย สารานุกรมเสรี, สืบค้นเมื่อวันที่ 24 กันยายน พ.ศ. 2559)

2.1.2 ชนิดของพันธุ์มะขาม (เพ็ญจันทร์, 2551)

จังหวัดเพชรบูรณ์เป็นแหล่งกำเนิดมะขามหวานพันธุ์ดีและมีคุณภาพ มีชื่อเสียงเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค ชนิดของพันธุ์มะขามที่นิยมปลูกและมีความสำคัญทางเศรษฐกิจในจังหวัดเพชรบูรณ์ มีดังนี้

1. พันธุ์ที่นิยมบริโภค

1.1 พันธุ์ประกายทอง ฝักตรงโค้งเล็กน้อย ฝักใหญ่ เปลือกผิวสีทอง เนื้อเหลืองทองหนา เนื้อฉ่ำ เมล็ดเล็ก รสหวานจัด กลิ่นหอม สาแหรกน้อย ติดฝักดก อายุการเก็บเกี่ยวเดือนธันวาคม

1.2 พันธุ์สีทอง มีรูปร่างฝักโค้งน้อยกว่าพันธุ์หมื่นจง ขนาดฝักใหญ่ เปลือกหนา เมื่อสุกแก่เนื้อมะขามมีลักษณะเป็นสีทอง เนื้อบางกว่าพันธุ์หมื่นจงเล็กน้อย เมล็ดค่อนข้างใหญ่ อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนมกราคม–กุมภาพันธ์

1.3 พันธุ์ศรีชมพู มีรูปร่างที่เด่นชัด มีลักษณะฝักตรง มีทั้งขนาดฝักใหญ่และปานกลาง เปลือง ฝักบาง เนื้อหนา เมล็ดเล็กและอ่อน รสชาติหวาน เป็นพันธุ์ที่บรรจุหีบห่อได้ง่าย และบรรจุได้ปริมาณมาก อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนพฤศจิกายน-ธันวาคม

1.4 พันธุ์หมื่นจง มีรูปร่างฝักโค้งเกือบวงกลม ขนาดฝักปานกลาง เปลือกหนา เนื้อบาง รสชาติหวานสนิท เมล็ดเล็ก อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนมกราคม

2. พันธุ์ที่เป็นสินค้าอุตสาหกรรม

2.1 พันธุ์ขันตี มีรูปร่างโค้งเล็กน้อย ขนาดฝักปานกลางถึงค่อนข้างใหญ่ ฝักกลม รสชาติหอมหวาน เนื้อหนา เปลือกบางอายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนมกราคม

2.2 พันธุ์สายน้ำผึ้ง มีรูปร่างโค้งจนปลายฝักและขั้วฝักติดกัน หรือเกือบติดกัน แต่มีขนาดของฝักเล็กกว่าพันธุ์หมื่นจง บางฝักมีลักษณะแบนเล็กน้อย เปลือกฝักหนาปานกลาง เนื้อนุ่มฉ่ำ หวานแบบน้ำผึ้ง เมล็ดเล็ก เป็นพันธุ์เบา อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนพฤศจิกายน – เดือนธันวาคม

2.3 พันธุ์อินทผาลัม มีรูปร่างฝักโค้งใหญ่ ฝักแบนเล็กน้อย เปลือกฝักบาง เนื้อหาปานกลาง รสชุ่มฉ่ำ อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนมกราคม

2.4 พันธุ์ปากดุก มีรูปร่างแบนเป็นเหลี่ยม มีขนาดฝักปานกลางและขนาดใหญ่ รูปร่างโค้งเล็กน้อย เปลือกฝักบาง เนื้อหนา อายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนธันวาคม

2.5 พันธุ์ฝักดาบ มีรูปร่างโค้งเป็นรูปดาบ ฝักแบนและบาง เนื้อหาชุ่ม เมล็ดค่อนข้างใหญ่ มีอายุการเก็บเกี่ยวประมาณเดือนมกราคม

2.6 พันธุ์เจ้าเนื้อเศรษฐกิจ รูปร่างฝักตรง บางฝักโค้งเล็กน้อย แต่ขนาดฝักเล็กเปลือกฝักหนา เนื้อหนา เมล็ดลีบเล็ก เก็บเกี่ยวช่วงเดือนพฤศจิกายนถึงเดือนกุมภาพันธ์

ตารางที่ 2.1 แสดงพื้นที่การปลูกมะขามหวานจังหวัดเพชรบูรณ์ ปี 2552

อำเภอ	พันธุ์ปลูก (ไร่)								รวม (ไร่)
	ขันตี	น้ำผึ้ง	ประกายทอง	ศรีชมภู	สีทอง	อินทผาลัม	หมื่นจง	อื่น ๆ	
1.เมือง	1,128	75	5,170	4,879	3,923	614	125	-	15,914
2.หล่มสัก	200	-	-	6,840	363	1,100	-	-	8,503
3.หล่มเก่า	1,093	-	-	3,551	14,278	753	20	-	19,695
4.เขาค้อ	357	-	53	476	238	24	10	32	1,190
5.น้ำหนาว	80	43	401	553	698	45	65	-	1,885
6.ชนแดน	437	-	1,753	696	2,944	-	-	-	5,830
7.วังโป่ง	919	15	1,790	1,601	998	205	-	-	5,528
8.หนองไผ่	241	-	1,253	1,981	2,400	218	218	-	6,311
9.บึงสามพัน	-	32	185	65	205	-	-	-	487
10.วิเชียรบุรี	-	-	15	15	664	-	-	-	694
11.ศรีเทพ	14	-	-	34	35	4	22	-	109
รวม	4,469	165	10,620	20,691	26,746	2,963	460	32	66,146

ที่มา : สำนักงานเกษตรจังหวัดเพชรบูรณ์, 2552

3. พันธุ์มะขามเปรี้ยว

3.1 พันธุ์ขี้แมว เป็นพันธุ์ที่พบได้ทุกภาค ฝักมีลักษณะกลม ขนาดเล็ก และสั้น มีคอคอดตามข้อฝักอย่างชัดเจน เปลือกค่อนข้างหนา เมล็ดมีขนาดใหญ่ เนื้อผลมีน้อย ประมาณ 25 – 30%

3.2 พันธุ์กระดาน เป็นพันธุ์ที่พบมากในภาคใต้ ภาคกลาง และภาคตะวันออก ฝักมีลักษณะแบน ขนาดผลยาว เปลือกค่อนข้างบางเมื่อเทียบกับพันธุ์ขี้แมว ไม่มีคอคอดที่เด่นชัด เนื้อหนา มีปริมาณเนื้อมาก เมล็ดค่อนข้างเล็ก ปัจจุบันนิยมปลูกกันมาก ได้แก่ มะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์

ตารางที่ 2.2 แสดงผลผลิตโดยรวมแต่ละอำเภอในการผลิตมะขามหวานจังหวัดเพชรบูรณ์ ปี 2552

อำเภอ	พันธุ์ปลูก (ตัน)								รวม (ไร่)
	ขันตี	น้ำผึ้ง	ประกายทอง	ศรีชมภู	สีทอง	อินทผาลัม	หมื่นจง	อื่น ๆ	
1.เมือง	676.42	10.00	3,160	2,668.72	2,077.29	207.50	81.75	-	15,914
2.หล่มสัก	123.45	-	-	1,512.55	44.20	184.96	1.12	-	19,695
3.หล่มเก่า	280.24	-	21	5	3,066.69	7.20	2.50	9.60	1,190
4.เขาค้อ	142.80	-	32	1,032.34	83.30	9.00	14.00	-	1,885
5.น้ำหนาว	13.30	7.56	436	4	123.48	76.87	-	-	5,830
6.ชนแดน	152.07	-	335	186.80	578.84	84	-	-	5,528
7.วังโป่ง	344.62	5.62	275	111.98	324.35	18.72	65.40	-	6,311
8.หนองไผ่	32.35	-	73	318.76	628.35	-	-	-	487
9.บึงสามพัน	-	20.70	7	619.58	97.70	-	-	-	694
10.วิเชียรบุรี	-	-	-	523.21	298.80	-	5.4	-	109
11.ศรีเทพ	4.8	-	-	38.70	11.25	-			
				7.35					
				9.55					
รวม	1,766	43.88	4,339	7,029.54	7,334.25	619.25	170.17	9.60	21,319

ที่มา : สำนักงานเกษตรจังหวัดเพชรบูรณ์, 2552

2.1.3 พันธุ์มะขามที่ใช้ในการทดลอง

มะขามจัดเป็นพรรณไม้ยืนต้นที่มีถิ่นกำเนิดในทวีปแอฟริกา มีการนำเข้ามาปลูกในเอเชีย โดยเฉพาะปลูกในจังหวัดเพชรบูรณ์ จัดเป็นต้นไม้ประจำจังหวัดเพชรบูรณ์ มะขามที่นำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู มี 4 สายพันธุ์ ดังนี้

1. มะขามหวานพันธุ์สีทอง (Sri Thong Species)

ภาพที่ 2.2 ลักษณะมะขามหวานพันธุ์สีทอง

เป็นพันธุ์ที่กลายมาจากพันธุ์หมื่นจง หรือเรียกอีกชื่อหนึ่งว่า พันธุ์นายหยัด เนื่องจากนายหยัด กองมูล ได้นำมะขามพันธุ์หมื่นจงไปปลูก ลักษณะใบมะขามจะใหญ่หนา ยอดอ่อนออกใหม่จะมีศรีชมภูออกแดง ฝักมะขามมีลักษณะกลมขนาดใหญ่มาก มีความโค้งมากจนเป็นครึ่งวงกลม และอาจจะโค้งเล็กน้อย เปลือกค่อนข้างหนา เนื้อมะขามมีลักษณะค่อนข้างสีเหลืองออกไปทางน้ำตาลทอง รกหุ้มเนื้อมากและเหนียว เนื้อหนาร่อน เมล็ดใหญ่ รสหวานสนิท (สถาบันมะขาม มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์) มีปริมาณน้ำตาล 42 – 44 % น้ำหนักฝักประมาณ 28 -35 กรัมต่อฝัก

ถิ่นกำเนิด ตำบลหล่มเก่า อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์

2. มะขามหวานพันธุ์ศรีชมภู (Sri Chomphu Species)

ภาพที่ 2.3 ลักษณะมะขามหวานพันธุ์ศรีชมภู

มะขามพันธุ์นี้ตั้งชื่อโดยนายอุดม ศรีชมพู ลักษณะเด่นของมะขามพันธุ์นี้ คือ ฝักมีลักษณะฝักกลมใหญ่ และเหยียดตรงสะดวกต่อการหีบห่อ ฝักออกเป็นพวง เรียกว่า ศรีชมพูพวง (สถาบันมะขามหวาน มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์) ฝักแบนเหมือนรูปท้องปลิง เรียกว่า ศรีชมภูปลิง เป็นพันธุ์ฝักเบา ฝักสุกมีสีน้ำตาล เปลือกบาง เนื้อมะขามมีเนื้อหาสีน้ำตาลอมเหลือง รกหุ้มเนื้อมีน้อย เยื่อหุ้มเมล็ดบางไม่เหนียว เมล็ดเล็กและล่อน รสชาติหวานอมเปรี้ยวออกเปรี้ยวนำ

ถิ่นกำเนิด บ้านน้ำร้อน ตำบลน้ำร้อน อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

3. มะขามหวานพันธุ์ประกายทอง

ภาพที่ 2.4 ลักษณะมะขามหวานพันธุ์ประกายทอง

เป็นพันธุ์ที่ปลูกครั้งแรกที่อำเภอชนแดน จังหวัดเพชรบูรณ์ แต่เดิมมะขามพันธุ์นี้มีชื่อเรียกว่า “พันธุ์ตาแป๊ะ” ลักษณะเด่นของมะขามพันธุ์นี้ ฝักมีลักษณะยาว ใหญ่ โค้งงอ ไม่มีเหลี่ยม เมื่อฝักสุกเปลือกจะบาง เนื้อมะขามมีน้ำตาล เนื้อฉ่ำและตกทราย มีสีน้ำผึ้ง เมล็ดเล็กร่อน รสหวานสนิท

ถิ่นกำเนิด บ้านโป่งตาเบ้า ตำบลชนแดน อำเภอชนแดน จังหวัดเพชรบูรณ์

4. มะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์

ภาพที่ 2.5 ลักษณะมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์

เป็นไม้ผลยืนต้น เป็นทรงพุ่มเตี้ย ลักษณะของฝักจะมีลักษณะแบนบางเห็นเมล็ดนูนขึ้นมา ฝักมีลักษณะโค้งเล็กน้อยคล้ายดาบ เปลือกฝักบาง เมื่อฝักดิบเนื้อจะติดกับฝัก แต่เมื่อสุกเต็มที่เนื้อจะแยกออกจากกัน มีลักษณะเปราะหักง่าย เนื้อมีสีน้ำตาลเข้มเมื่อสุกเต็มที่ มีความเปรี้ยวมากกว่ามะขามทั่วไป 2 – 3 เท่า เมล็ดมีลักษณะแบน

2.1.4 การแปรรูปมะขาม

เมื่อก่อนชาวบ้านจะนิยมเอามะขามมากวนใส่กับกะทิแล้วใส่ขวดโหลไว้รับประทานเป็นอาหารหวาน เมื่อมีการซื้อ - ขายมะขามหวานกันมากขึ้น ฝักแตกจะถูกคัดออก แม่ค้าจึงนำมากวนแล้วชั่งขายเป็นกิโล เมื่อผู้บริโภคเริ่มนิยมซื้อรับประทานและนำไปเป็นของฝาก จึงได้พัฒนาบรรจุภัณฑ์เพื่อสะดวกต่อการรับประทานจึงทำเป็นแท่งยาวประมาณ 20 เซนติเมตรห่อด้วยพลาสติกใสมัดด้วยหนังยางหัวและท้าย

ปัจจุบันมะขามแปรรูปมีหลายหลายชนิด เช่น มะขามแช่อิ่ม มะขามแกะเมล็ด มะขามกวน มะขาม 3 รส มะขามอัดเม็ด ท๊อฟฟี่มะขาม และมะขามคลุกหลากรส เช่น รสคลุกบ๊วย คลุกน้ำตาลไอซ์ซิ่ง คลุกน้ำตาลทราย และรสจี๊ดจ๊าด มะขามแปรรูปได้กลายเป็นสินค้า OTOP ของจังหวัดเพชรบูรณ์ที่มียอดขายสูง เป็นรายได้หลักของคนในชุมชนหลายพื้นที่ในจังหวัดเพชรบูรณ์

ภาพที่ 2.6 มะขามหวานแปรรูป
ที่มา : ธานี กุลแพทย์, 2014

2.1.5 คุณค่าทางโภชนาการของมะขาม

มะขามมีประโยชน์ และสรรพคุณเป็นยารักษาโรคมากมาย นอกจากนี้ยังมีคุณค่าสารอาหารทางโภชนาการสูง โดยส่วนที่นำมาใช้ในการผลิตยาจะเป็นส่วนที่เป็นเนื้อฝักแก่ หรือที่เรียกกันว่ามะขามเปียก ที่มีองค์ประกอบของกรดอินทรีย์หลายชนิด เช่น กรดทาร์ทาริก (Tartaric acid) กรดซิตริก (Citric acid) เป็นต้น เปลือกของต้นมะขาม และเนื้อในเมล็ด ช่วยรักษาอาการของโรคต่าง ๆ ได้ เช่น ยาขับเสมหะ แก้อาการท้องเดิน ท้องผูก และเป็นยาถ่ายพยาธิ เป็นต้น (เมดไทย, 2555)

มะขามมีวิตามินและแร่ธาตุที่มีประโยชน์ต่อร่างกาย โดยมะขามหวาน 100 กรัม จะมีพลังงานเท่ากับ 314 kcal นอกจานี้ยอดอ่อนและฝักอ่อนของมะขามจะมีวิตามินเอปริมาณสูง ดังตารางที่ 2.3

ตารางที่ 2.3 คุณค่าทางโภชนาการส่วนของยอดอ่อนของมะขามในส่วนที่รับประทานได้ 100 กรัม

องค์ประกอบ	ยอดอ่อนมะขาม (100 กรัม)
พลังงาน	55 กิโลแคลอรี่
คาร์โบไฮเดรต	9.4 กรัม
โปรตีน	3.6 กรัม
ไขมัน	0.3 กรัม
แคลเซียม	19 มิลลิกรัม
ฟอสฟอรัส	38 มิลลิกรัม
วิตามินซี	53 มิลลิกรัม
เบต้าแคโรทีน	38.07 ไมโครกรัม

ที่มา : กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข, 2535

ส่วนประกอบทางโภชนาการของมะขามฝักดิบ คิดเป็นเปอร์เซ็นต์ทางวัตถุแห้ง 96.28% ดังตารางที่ 2.4

ตารางที่ 2.4 คุณค่าทางโภชนาการของมะขามดิบ

องค์ประกอบ	**มะขามดิบ (100 กรัม)**
พลังงาน	239 กิโลแคลอรี่
คาร์โบไฮเดรต	62.5 กรัม
น้ำตาล	57.4 กรัม
โปรตีน	2.8 กรัม
ไขมัน	0.6 กรัม
วิตามิน	
วิตามิน B_1	0.428 มิลลิกรัม (37%)
วิตามิน B_2	0.152 มิลลิกรัม (13%)
วิตามิน B_3	1.938 มิลลิกรัม (13%)
วิตามิน B_5	0.143 มิลลิกรัม (3%)
วิตามิน B_6	0.066 มิลลิกรัม (5%)
วิตามิน B_9	14 ไมโครกรัม (4%)
โคลีน	8.6 มิลลิกรัม (2%)
วิตามิน C	3.5 มิลลิกรัม (4%)
วิตามิน E	0.1 มิลลิกรัม (1%)
วิตามิน K	2.8 ไมโครกรัม (3%)
แร่ธาตุ	
แคลเซียม	74 มิลลิกรัม (7%)
เหล็ก	2.8 มิลลิกรัม (22%)
แมกนีเซียม	92 มิลลิกรัม (26%)
ฟอสฟอรัส	113 มิลลิกรัม (16%)
โพแทสเซียม	628 มิลลิกรัม (13%)
โซเดียม	28 มิลลิกรัม (10%)
สังกะสี	0.1 มิลลิกรัม (1%)
NFE	65.28
ADF	25.67

ที่มา : USDA Nutrient database, 2016

2.1.6 ประโยชน์ของมะขาม

มะขามนิยมนำมาใช้ในการบริโภคโดยตรงเนื่องจากมีคุณประโยชน์มากมาย ดังนี้

1. ช่วยเสริมสร้างภูมิต้านทานโรคให้แก่ร่างกาย
2. ช่วยบำรุงผิวพรรณให้สดใส ลดรอยคล้ำ ทำให้ผิวหนังชุ่มชื่น เนื่องจากมีกรดอินทรีย์
3. ช่วยชะวัย ป้องกันการเกิดริ้วรอยแห่งวัย นิยมนำมาทำเป็นกรดผลไม้ (AHA)
4. ช่วยในการสร้างเม็ดเลือด สร้างภูมิคุ้มกันต้านทานโรค ป้องกันการเกิดโรคเลือดออกตามไรฟัน
5. นำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่าง ๆ เช่น มะขามแก้ว มะขามกวน มะขามอบไร้เมล็ด มะขามแช่อิ่ม มะขามคลุก มะขามจิ๊ดจ๊าด เป็นต้น
6. ช่วยบำรุงและรักษาสายตามเพราะมะขามมีวิตามินเอ
7. แก้อาการท้องผูก ท้องเดิน ท้องร่วง ช่วยถ่ายพยาธิชนิดต่าง ๆ
8. ช่วยแก้อาการขับเสมหะ ละลายเสมหะ
9. รกมะขามช่วยในการสมานแผล รักษาโรคเริม โรคงูสวัด
10. เปลือกลำต้นมะขามช่วยแก้ไขตัวร้อน
11. แก่นของมะขามช่วยรักษาฝีกในมดลูก ขับโลหิต เป็นยาชักมดลูก
12. ใบสดมะขามใช้เป็นยาถ่าย ยาระบาย ขับลมในลำไส้ รักษาอาการหวัด ไอ รักษาโรคบิด
13. ใบมีคุณสมบัติใช้ในการฟอกโลหิต ยาหยอดตารักษาเยื่อตามอักเสบ แก้อาการตามัว
14. เยื่อหุ้มเมล็ดใช้เป็นยาสวยล้างท้อง
15. ฝักดิบใช้ในการฟอกโลหิต ยาระบาย ช่วยลดความอ้วน
16. เปลือกมะขามช่วยรักษาแผลสด แผลไฟลวก แผลเบาหวาน ถอนพิษ ช่วยสมานแผลที่ช่องปาก คอ ลิ้น
17. ดอกสดของมะขามใช้เป็นยาลดความดันโลหิตสูง

2.2 กระบวนการหมัก (Fermentation Process)

2.2.1 ความหมายและความสำคัญ

เทคโนโลยีการหมัก (Fermentation Technology) เป็นรายวิชาหนึ่งที่อยู่ภายใต้ขอบเขตของเทคโนโลยีชีวภาพ (Biotechnology) เป็นวิทยาศาสตร์ประยุกต์สาขาหนึ่งที่มีการนำเอาเชื้อจุลินทรีย์มาปรับใช้เพื่อให้เกิดประโยชน์ในทางอุตสาหกรรม โดยมีการจัดการสภาพแวดล้อมให้มีความเหมาะสมเพื่อกระตุ้นการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการเพื่อให้จุลินทรีย์สามารถสร้างผลิตภัณฑ์ที่มีประโยชน์ออกมา เช่น น้ำย่อยหรือเอ็นไซม์เพื่อใช้ในการเปลี่ยนแปลงวัตถุดิบให้เป็นผลิตภัณฑ์ในรูปแบบต่าง ๆ ได้แก่ เซลล์จุลินทรีย์ เช่น โปรตีนเซลล์เดี่ยวที่ใช้เป็นแหล่งโปรตีน หรือ Single Cell Protein (SCP) หรือเอ็นไซม์ที่จุลินทรีย์สร้างขึ้น เช่น เอ็นไซม์ที่ใช้ผสมกับผงซักฟอกเพื่อกำจัดคราบไขมัน คราบโปรตีน หรือกรดอินทรีย์ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้น

และมีความสำคัญในเชิงอุตสาหกรรมทางด้านอุปโภคบริโภค เช่น กรดซิตริกหรือกรดมะนาว กรดอะซิตริกหรือกรดน้ำส้ม (สมใจ ศิริโภค,2537)

สมใจ ศิริโภค (2555) กล่าวว่า การหมัก (Fermentation) เป็นคำที่มีรากศัพท์จากคำว่า “Fervere” ซึ่งเป็นภาษาละติน แปลว่า “การเดือด” มีความหมายว่าเป็นกระบวนการหรือวิธีการที่มีลักษณะที่เกิดจากการกระทำของเชื้อจุลินทรีย์โดยเฉพาะเชื้อยีสต์ในน้ำผลไม้ หรือจากเมล็ดธัญพืชต่าง ๆ เช่น ข้าวมอลท์ ภายใต้การย่อยสลายน้ำตาลในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Anaerobic fermentation) จากยีสต์ ทำให้เกิดฟองแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ผุดขึ้นมาคล้ายกับการเดือดของน้ำ

ในทางชีวเคมี การหมัก หมายถึง เป็นปฏิกิริยาที่ใช้สำหรับสร้างพลังงานจากกระบวนการย่อยสลายสารประกอบอินทรีย์ (Metabolism) หรืออาจจะกล่าวอีกนัยหนึ่งว่าเป็นการเปลี่ยนแปลงทางด้านเคมีของสารประกอบอินทรีย์เนื่องจากเอนไซม์ โดยตัวให้และตัวรับอิเล็กตอนจากปฏิกิริยา คือ สารอินทรีย์

ในทางจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม การหมัก หมายถึง กระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ใด ๆ ก็ตามที่ต้องอาศัยวิธีการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ให้มีจำนวนมาก (Mass culture) ซึ่งจะต้องมีการควบคุมกระบวนการผลิตทั้งแบบที่ใช้ออกซิเจน (Aerobic fermentation) และไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic fermentation)

2.2.2 ชนิดของการหมัก

กระบวนการหมักที่มีความสำคัญทางการค้า สามารถแบ่งได้เป็น 4 ชนิด ได้แก่

1. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นตัวเซลล์ (Microbial cell or biomass) การผลิตเซลล์จุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางการค้า ได้แก่ การผลิตเซลล์ยีสต์เพื่อใช้ในอุตสาหกรรมขนมปัง (baker ‘s yeast) และการผลิตเซลล์จุลินทรีย์เพื่อใช้เป็นอาหารมนุษย์หรือสัตว์ (Single Cell Protein, SCP)

2. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นเอ็นไซม์ (Microbial enzyme) เป็นกระบวนการหมักเพื่อผลิตเอ็นไซม์ชนิดต่าง ๆ ที่มีประโยชน์ในทางอุตสาหกรรมเคมีและอุตสาหกรรมที่เกี่ยวข้องกับอาหารสามารถผลิตได้จากทั้งพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ อย่างไรก็ตามแหล่งผลิตเอ็นไซม์ที่มีความสำคัญที่สุดและได้รับการยอมรับ คือ การหมักจากเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากผลิตได้จำนวนมาก ใช้เวลาในการหมักสั้น และสามารถปรับปรุงทางด้านพันธุวิศวกรรมเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีความสามารถให้ผลผลิตสูงขึ้นได้ง่ายกว่าการผลิตจากพืชหรือสัตว์

เอนไซม์ที่มีการผลิตในเชิงการค้าระดับอุตสาหกรรม สามารถนำมาใช้ประโยชน์มากมาย ดังตารางที่ 2.4 ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร และยา นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ อาทิ เช่น อุตสาหกรรมการย้อม อุตสาหกรรมการผลิตผงซักฟอก อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ อุตสาหกรรมการฟอกหนัง และใช้ในการวิจัยทดลอง เป็นต้น

3. การหมักที่ให้ผลผลิตเป็นสารเมแทบอไลท์ (Microbial metabolite) เป็นผลผลิตที่ได้จากกระบวนการหมักจากเชื้อจุลินทรีย์แบ่งได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ ๆ ได้แก่

ก. **สารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ (Primary metabolite)** เป็นสารที่มีความจำเป็นต่อการเจริญของจุลินทรีย์ ตัวอย่างเช่น โปรตีน กรดอะมิโน กรดนิวคลิอิก ลิปิด และคาร์โบไฮเดรต สามารถผลิตได้ในช่วง log phase ของการเจริญ สารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิที่สามารถผลิตได้จากกระบวนการหมักในเชิงการค้า เช่น เอธานอล กรดซิตริก กรดกลูตามิก อะซิโตน โพลีแซคคาไรด์ และวิตามิน เป็นต้น

ข. **สารเมแทบอไลท์ทุติยภูมิ (Secondary metabolite)** เป็นสารที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารตัวกลางหรือผลผลิตที่ได้จากระบวนการผลิตสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ ซึ่งจะพบอยู่ในช่วงการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในช่วง stationary phase สารเมแทบอไลท์เหล่านี้มีความสำคัญในเชิงอุตสาหกรรมการหมักมากเนื่องจากมีผลต่อจุลินทรีย์ เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ ยับยั้งการทำงานของเอนไซม์บางชนิด เป็นสารช่วยส่งเสริมการเจริญเติบโต หรือมีคุณสมบัติเป็นยารักษาโรค เป็นต้น

4. การหมักเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบ (Transformation process) เป็นกระบวนการเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบให้อยู่ในรูปที่คล้ายกัน แต่มีราคาสูงขึ้น อาจได้จากการทำโดยใช้เอนไซม์จากจุลินทรีย์ หรือใช้สารเคมีเป็นตันเร่งปฏิกิริยา การหมักเพื่อเปลี่ยนแปลงโครงสร้างของสารประกอบที่ใช้จุลินทรีย์ที่รู้จักกันดี ได้แก่ กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู (การเปลี่ยนเอธานอลไปเป็นกรดอะซิตริก) อย่างไรก็ตาม Transformation process ส่วนใหญ่เกี่ยวข้องกับกระบวนการผลิตสารที่มูลค่าสูง เช่น ยาปฏิชีวนะ steroid และ prostaglandin เป็นต้น

นอกจากนี้ *Milic et. al*. (2007) ได้แบ่งกระบวนการหมักตามความต้องการอากาศหรือออกซิเจนได้ 2 ชนิด ได้แก่

(1) Aerobic fermentation เป็นการหมักที่ต้องการปริมาณออกซิเจนในระบบ เช่น การหมักกรดซิตริก และกรดอะซิตริก

(2) Anaerobic fermentation เป็นการหมักที่ไม่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักอะซิโตน และบิวทานอล

หรือการหมักถ้าแบ่งตามลักษณะหรือปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อได้เป็น 2 ชนิด คือ

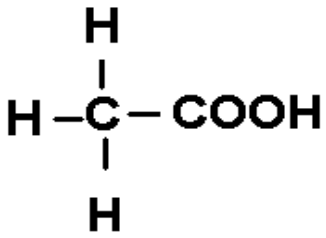
(1) Solid state fermentation เป็นการหมักบนอาหารแข็ง ซึ่งมีการเติมน้ำเล็กน้อยเพียงเพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ เช่น การหมักกรดซิตริกโดยใช้เชื้อรา

(2) Submerged fermentation เป็นการหมักที่ทำได้โดยการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ลงในอาหารที่มีลักษณะเหลว เช่น การหมักแอลกอฮอล์ และน้ำส้มสายชู

2.3 น้ำส้มสายชู (Vinegar)

2.3.1 กรดอะซิตริก (Acetic acid)

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์ (ม.ป.ป.) ได้กล่าวไว้ว่า กรดอะซิติก (acetic acid) หรือกรดน้ำส้ม เป็นกรดอินทรีย์ (organic acid) ประเภทกรดคาร์-บอกซิลิก (carboxylic acid) มีสุตรเคมี คือ CH_3COOH และมีสูตรโครงสร้างเป็น



กรดอะซิติก

Acetic Acid

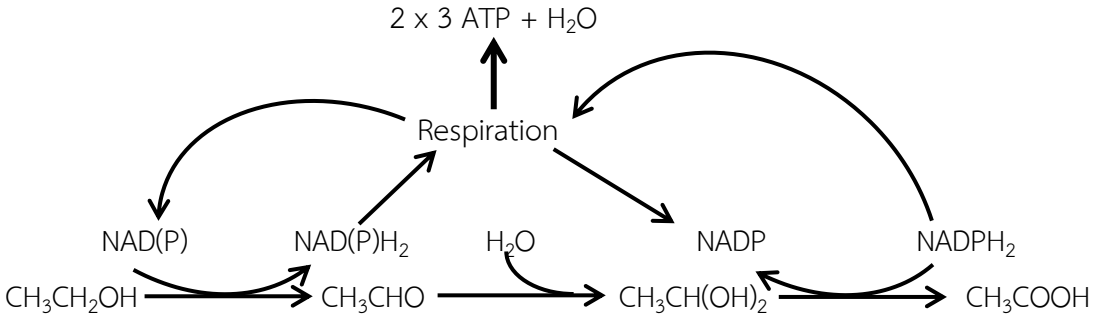
ภาพที่ 2.7 สูตรโครงสร้างของกรดอะซิตริก (Acetic acid)
ที่มา : นิธิยา, 2545

กรดอะซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของน้ำส้มสายชู มีลักษณะเป็นของเหลว ใสไม่มีสีและสิ่งเจือปน ซึ่งใช้เป็นสารปรุงรสในอาหารและเป็นวัตถุกันเสียที่นิยมใช้ และมีสถานะเป็นของแข็งที่อุณหภูมิ 16.67 องศาเซลเซียส สามารถรวมตัวกับน้ำ แอลกอฮอล์ และกลีเซอรีนได้ดี ซึ่งน้ำส้มสายชูจะต้องมีส่วนประกอบของกรดอะซิตริกไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 4 เปอร์เซ็นต์ ส่วนเอทานอลไม่ควรมีมากกว่า 0.5 เปอร์เซ็นต์ และมีค่า pH ควรอยู่ระหว่าง 2.0 – 3.5 (นภา, 2537)

การผลิตกรดอะซิตริกสามารถทำได้ทั้งโดยวิธีการทางเคมี และโดยวิธีการหมัก การผลิตกรดอะซิตริกในแต่ละปีจะมีการผลิตปริมาณสูงถึง 2.5 ล้านตัน การผลิตกรดอะซิติกที่ใช้ในอุตสาหกรรมอาหารจะผลิตได้โดยใช้วิธีการหมัก ในปี ค.ศ. 1980 มีการผลิตน้ำส้มสายชูประมาณ 1,600 ล้านลิตร หรือเท่ากับกรดอะซิตริก 160,000 ตัน ดังนั้นการผลิตกรดอะซิตริกโดยวิธีการอื่นรวมทั้งวิธีการหมักจึงอาจจะมีบทบาทสำคัญในการผลิตกรดอะซิตริกเพื่อใช้ในอุตสาหกรรมต่าง ๆ มากขึ้นในอนาคต

2.3.2 กระบวนการสังเคราะห์กรดอะซิตริก

กรดอะซิตริกเกิดจากกระบวนการหมักที่มีลักษณะแบบ transformation process ซึ่งเกิดจากปฏิกิริยาออกซิเดชั่น โดยจะไปออกซิไดส์เอทานอลให้กลายเป็น acetaldehyde จากปฏิกิริยานี้จำเป็นต้องอาศัยเอนไซม์ alcohol dehydrogenase หลังจากนั้น acetaldehyde จะรวมตัวกับน้ำได้เป็น acetaldehyde hydrate และออกซิไดส์ต่อไปเป็นกรดอะซิตริก ดังภาพที่ 2.4



ภาพที่ 2.8 ปฏิกิริยาการออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิตริก
ที่มา : Creuger and Creuger, 1998.

ในการออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิตริกจะทำให้เกิด $NADPH_2$ ขึ้น 2 โมเลกุล ซึ่งจะถูกนำไปออกซิไดส์กับออกซิเจนในกระบวนการหายใจ ทำให้ได้พลังงานทั้งหมด 6 ATP สำหรับการออกซิไดส์เอทานอลจำนวน 1 โมลจะทำให้เกิดผลผลิตเป็นกรดอะซิตริกจำนวน 1 โมล ดังนั้นถ้าใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ 1 ลิตรที่มีปริมาณเอทานอลร้อยละ 12 (v/v) จะทำให้ได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำส้มสายชูปริมาตร 1 ลิตรที่มีปริมาณกรดอะซิตริกร้อยละ 12.4 (w/v)

2.3.3 น้ำส้มสายชู (Vinegar)

น้ำส้มสายชู (Vinegar) เป็นเครื่องปรุงรสอาหาร (seasoning) ที่ใช้กันอย่างแพร่หลายในชีวิตประจำวัน เกิดจากกระบวนการหมัก โดยน้ำตาลในอาหารจะถูกทำให้เกิดการสลายโมเลกุลแตกตัวโดยเชื้อแบคทีเรีย และยีสต์ แบ่งเป็น 2 ขั้นตอน

ขั้นแรก น้ำตาลจะถูกเปลี่ยนให้กลายเป็นแอลกอฮอล์

ขั้นที่สอง การหมักแอลกอฮอล์ต่อไปให้กลายเป็นน้ำส้มสายชู

ซึ่งสอดคล้องกับคำว่า “vinegar” มาจากคำว่า vin + aigre เป็นภาษาฝรั่งเศษ แปลว่า “ไวน์เปรี้ยว”เพราะน้ำส้มสายชู ในสมัยเริ่มต้นได้จากการหมัก (fermentation) เอทธิลแอลกอฮอล์ในไวน์ด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobacter aceti* และ *Gluconobacter oxydans* ให้ได้กรดน้ำส้ม (actetic acid) ซึ่งมีรสเปรี้ยว และได้อธิบายถึงประเภทของน้ำส้มสายชูไว้ด้วย

วราวุฒิ และรุ่งนภา (2532) ได้ให้ความหมายของน้ำส้มสายชู (vinegar) หรือกระอะซิตริก (acetic acid) เป็นผลิตภัณฑ์หนึ่งที่ได้จากกระบวนการหมักเช่นเดียวกับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มหมักประเภทไวน์ พบว่าน้ำส้มสายชูเกิดจากการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์ไวน์นั่นเอง โดยเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Acetobacter* sp. ซึ่งสามารถเจริญเติบโตในเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์และสามารถเปลี่ยนแอลกอฮอล์ในไวน์ให้เป็นกรดน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิตริกในสภาพที่มีออกซิเจนซึ่งจะทำให้ไวน์มีรสชาติเปรี้ยว จึงเรียกผลิตภัณฑ์ที่มีลักษณะเช่นนี้ว่า “น้ำส้มสายชู”

2.3.4 ประเภทของน้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชูจัดเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ประเภทของน้ำส้มสายชูนั้นแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

(1) น้ำส้มสายชูหมัก (Fermented vinegar) คือ น้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักจากวัตถุดิบที่เหมาะสมโดยส่วนใหญ่สามารถผลิตได้จากวัตถุดิบทางการเกษตร ได้แก่ เมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพด หรือผลไม้ต่าง ๆ เช่น สับปะรด แอปเปิ้ล หรือ น้ำตาล กากน้ำตาล (molass) ซึ่งเป็นวัตถุดิบที่มีน้ำตาล (sugar) ใช้เป็นแหล่งอาหารของยีสต์ได้โดยตรงโดยนำมาหมักกับส่าเหล้า แล้วนำมาหมักกับหัวเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีการผลิต (มาลัย และพิสมัย, 2555) ส่วนวัตถุดิบที่มีสตาร์ช (starch) เช่น ข้าวจะต้องเปลี่ยนเป็นโมเลกุลของน้ำตาลก่อนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก เป็นการหมักสองขั้นตอน คือ การหมักน้ำตาลให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) โดยใช้ยีสต์ (yeast) ตามด้วยการหมักแอลกอฮอล์ให้เกิดกรดอะซิตริก (acetic acid fermentation) ด้วยแบคทีเรียในกลุ่ม *Acetobacter aceti* และ *Gluconobacter oxydans* ในภาวะที่มีออกซิเจน น้ำส้มสายชูที่หมักจะใส ไม่มีตะกอน ยกเว้นตะกอนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ มีกลิ่นหอมตามกลิ่นของวัตถุดิบ มี รสชาติดี มีรสหวานของน้ำตาลที่ตกค้างมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก ความเข้มข้นขึ้นอยู่กับชนิดและปริมาณน้ำตาลของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก และมีปริมาณกรดน้ำส้ม (acetic acid) ไม่น้อยกว่า 4%

(2) น้ำส้มสายชูกลั่น (Distilled vinegar or spirit vinegar) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอทธิลแอลกอฮอล์กลั่นเจือจาง (Dilute Distilled Alcohol) มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู หรือเมื่อหมักแล้วนำไปกลั่น (distillation) หรือได้จากการนำน้ำส้มสายชูหมักมากลั่น น้ำส้มสายชูกลั่นจะต้องมีลักษณะใส ไม่มีตะกอนและมีปริมาณกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4% ซึ่งแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ได้แก่

2.1 น้ำส้มสายชูที่เรียกว่า distilled vinegar คือ น้ำส้มสายชูที่ได้จากกระบวนการนำเอาน้ำส้มสายชูหมักมากลั่นให้มีเปอร์เซ็นต์กรดอะซิตริกตามต้องการ

2.2 น้ำส้มสายชูที่เรียกว่า spirit vinegar คือ น้ำส้มสายชูที่ได้จากการนำเอทธิลแอลกอฮอล์เจือจางมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีการผลิต แล้วนำไปกลั่นหรือกรอง

(3) น้ำส้มสายชูเทียม เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้ม (Acetic acid) ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นทางเคมี เป็นกรดอินทรีย์มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนมีความเข้มข้นประมาณ 95% มาทำให้เจือจางจนได้ปริมาณกรด 4-7% ลักษณะใส ไม่มีสี กรดน้ำส้มที่นำมาเจือจางจะต้องมีความบริสุทธิ์สูงเหมาะสมที่จะนำมาเป็นอาหารได้และน้ำที่ใช้เจือจางต้องเหมาะสมที่จะใช้ดื่มได้

ตารางที่ 2.5 องค์ประกอบของน้ำส้มสายชูชนิดต่าง ๆ

	Rice vinegar	Alcohol slop vinegar	Apple vinegar	Malt vinegar	Grape vinegar	Alcohol vinegar	Lemon vinegar
Specific gravity	1.018	1.016	1.021	1.024	1.020	1.012	1.033
Total acidity	4.510	4.520	5.040	5.060	5.030	4.210	5.83
Volatile acid	4.290	4.374	4.914	4.938	4.866	4.170	1.096
Non-volatile acid	0.330	0.204	0.141	0.183	0.205	0.060	5.05
Total nitrogen	0.025	0.020	0.010	0.021	0.014	0.009	-
Amino nitrogen	0.016	0.013	0.005	0.006	0.011	0.005	-
Total sugar	1.808	1.269	2.888	3.369	3.231	0.295	2.909
Reducing sugar	1.770	1.265	2.865	2.812	3.124	0.278	2.847

ที่มา : Brian , 1998

2.3.5 เชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชู

เชื้อที่ใช้ในการหมักน้ำส้มสายชูส่วนใหญ่จะอยู่ในกลุ่มของ *Acetobacter aceti* และ *Gluconobacter oxydans* ซึ่งจะสามารถออกซิไดซ์เอทานอลให้เป็นกรดอะซิติกได้โดยภายใต้สภาวะที่มีอากาศ (วราวุฒิ ครูส่ง, 2538) ดังจะเห็นได้จากตารางที่ 2.6

ตารางที่ 2.6 แสดงถึงแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดน้ำส้มสายชูที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู

แบคทีเรีย	ผู้ที่ทำการศึกษา(ที่มา)
Acetobacter aceti	Ory *et al.*, 2004
Acetobacter rancens	Nanba *et al*., 1985
Acetobacter europaeus , *Acetobacter xylinum* *Acetobacter diazotrophicus* , *Acetobacter hansenii* *Acetobacter liquefaciens*	Sokollek *et al.,* 1998
Acetobacter pasteurianus , *Acetobacter peroxydans*	วราวุฒิ, 2538
Gluconobacter sp.	สุมณฑา, 2545

ที่มา : จุฑามาศ มณีวงศ์ (2551)

2.3.6 แบคทีเรียผลิตกรดอะซิติก

จุลินทรีย์ที่ออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิติก เรียกทั่วๆไปว่าแบคทีเรียผลิตอะซิติก (acetic acid bacteria) จุลินทรีย์ดังกล่าวแตกต่างจากแบคทีเรียอื่นที่เกิดการเมตาโบลิซึมในตัวกลางที่มีค่าความเป็นกรดเป็นด่างต่ำได้ดี เนื่องจากการใช้สายพันธุ์บริสุทธิ์ของแบคทีเรียผลิตกรดอะซิติกนั้นไม่เป็นที่นิยมในอุตสาหกรรมในการผลิตน้ำส้มสายชู ส่วนใหญ่การใช้สายพันธุ์ (undefined cultures) ไม่ใช่ปัญหาสำคัญ เนื่องจากกระบวนการหมักสามารถดำเนินต่อไปได้และให้ผลที่น่าพอใจ โดยไม่ต้องควบคุมให้ปลอดเชื้ออย่างเด็ดขาด โดยทั่วโรงงานผลิตน้ำส้มสายชู มักสนใจการใช้สายพันธุ์ที่ทนทานต่อความเข้มข้นของกรดอะซิติก ต้องการสารอาหารปริมาณน้อยๆ ไม่เกิดออกซิเดชันมากเกินไป

ก. *Acetobacter aceti*

เป็นแบคที่เรีย (Bacteria) ในสกุล *Acetobacter* ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่ไม่ทำให้เกิดโรค (non pathogen) ย้อมติดสีแกรมลบ (Gram negative bacteria) รูปร่างเป็นท่อน (rod shape) ไม่สร้างสปอร์ (non spore forming bacteria) เจริญได้ในที่มีอากาศ (aerobic bacteria) ใช้ในการหมัก (fermentation) โดยออกซิไดส์เอทิลแอลกอฮอล์ ให้เป็นกรดแอซีติก (acetic acid) ใช้ผลิตน้ำส้มสายชู (vinegar) แต่เป็นเชื้อที่ทำให้เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ เสื่อมเสีย

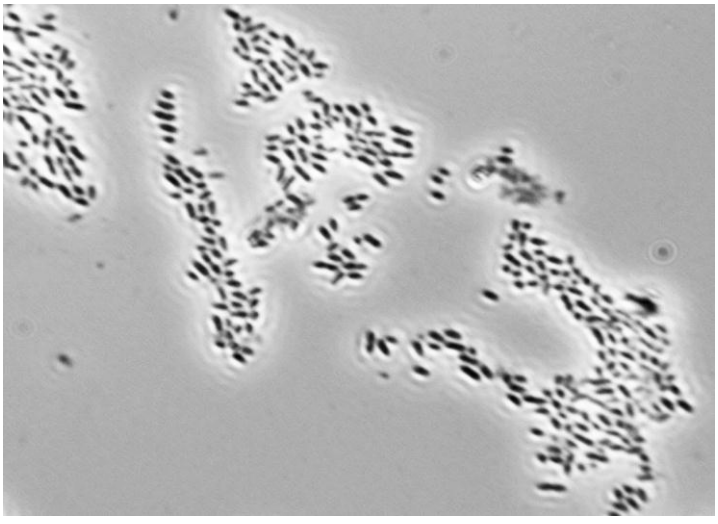
ภาพที่ 2.9 สัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*
ที่มา : Vinegar Connoisseurs International, 2003

ข. *Gluconobacter* sp.

เป็นชื่อสกุลของแบคทีเรียแกรมลบ อยู่ในกลุ่มแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิกติก (acetic acid bacteria) ซึ่งใช้ในการหมักให้เกิดกรดอะซิติก (acetic acid fermentation) บทบาทของ *Gluconobacter* ในอุตสาหกรรมอาหาร

1. *Gluconobacter oxydans* ใช้เพื่อการหมัก (fermentation) น้ำส้มสายชู สามารถเป็นน้ำตาลให้เป็นกรดอะซิติก (acetic acid) ในภาวะที่มีออกซิเจน

2. ใช้ในการผลิต น้ำตาลแอลกอฮอล์ (sugar alcohol) เช่น *Gluconobacter oxydans* ใช้ผลิต D-Mannitol และ D-sorbitol



ภาพที่ 2.10 สัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Gluconobacter oxydans*
ที่มา : http://enologyaccess.org/EA2

2.3.7 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูเกิดจากการทำให้โมเลกุลของน้ำตาลเกิดการแตกตัวโดยแบคทีเรียและยีสต์ โดยในขั้นตอนที่เปลี่ยนวัตถุดิบเพื่อใช้ในการผลิตเอทานอล แล้วเกิดกระบวนการเปลี่ยนเอทานอลเป็นกรดอะซิตริกต่อไป

วัตถุดิบสำหรับผลิตเอทานอล

ในปัจจุบันการผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรมทั่วโลกประมาณ 93% จะใช้กระบวนการหมัก ซึ่งวัตถุดิบที่สามารถนำมาใช้ในการผลิตเอทานอลจะเป็นสารประกอบจำพวกคาร์โบไฮเดรตที่มีน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวอยู่ในโครงสร้างโมเลกุล สามารถแบ่งออกได้เป็น 3 ประเภท ดังนี้

(1) วัตถุดิบประเภทน้ำตาล ได้แก่ น้ำอ้อย กากน้ำตาล และบีทน้ำตาล เชื้อยีสต์สามารถใช้วัตถุดิบประเภทน้ำตาลชนิดนี้ได้โดยตรง โดยไม่ต้องผ่านกระบวนการใด ๆ

(2) วัตถุดิบประเภทแป้ง ได้แก่ ธัญพืช ข้าวโพด มันสำปะหลัง และมันฝรั่ง เป็นต้น ในการผลิตเอทานอลนั้น วัตถุดิบประเภทแป้งจะต้องถูกนำมาย่อยเพื่อให้ได้โมเลกุลของน้ำตาลกลูโคสซึ่งเป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวก่อนแล้วจึงจะใช้เชื้อยีสต์ในกระบวนการหมักเพื่อเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทานอลได้ ซึ่งการย่อยแป้งจะประกอบด้วย 2 ขั้นตอน คือ

ก. การย่อยครั้งแรก เรียกขั้นตอนนี้ว่า การทำให้เหลว (Liquefaction) ซึ่งขั้นตอนนี้จะใช้กรดหรือเอนไซม์กลุ่มแอลฟาอะมิเลส (α-amylase) ที่มีกิจกรรมการย่อยแป้งที่อุณหภูมิสูงประมาณ 80 - 95 องศาเซลเซียส ให้ได้โมเลกุลขนาดเล็กลงและมีความหนืดลดลง ของเหลวที่ได้จะมีค่าสมมูลเด็กซ์โตรส (Dextrose Equivalent, DE) อยู่ในช่วง 10 – 15 เรียกว่า เด็กซ์ตริน

ข. การย่อยครั้งสุดท้าย เรียกขั้นตอนนี้ว่า การทำให้หวาน (Saccharification) ซึ่งในขั้นตอนนี้มีการใช้เอ็นไซม์ Glucoamylase เพื่อทำการย่อยเด็กซ์ตรินให้ได้น้ำตาลที่มีขนาดโมเลกุลเดี่ยวที่ยีสต์สามารถนำเอาไปใช้ในกระบวนการหมักได้ โดยทั่วไปเอ็นไซม์ในกลุ่มนี้จะมีอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักที่อุณหภูมิปานกลาง คือ 55 – 65 องศาเซลเซียส

(3) วัตถุดิบประเภทลิกโนเซลลูโลส ส่วนมากจะเป็นวัตถุดิบที่ได้จากผลิตผลพลอยได้จากการเกษตรและอุตสาหกรรมเกษตร ได้แก่ ฟางข้าว กากอ้อย ซังข้าวโพด และของเสียจากอุตสาหกรรมการผลิตเยื่อกระดาษ เป็นต้น ซึ่งวัตถุดิบประเภทนี้จะมีส่วนประกอบที่สำคัญ 4 ชนิด คือ เซลลูโลส (Cellulose) เฮมิเซลลูโลส (Hemicellulose) ลิกนิน (Lignin) และสารประกอบอื่น ๆ

2.3.8 กลไกการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

กลไกการการหมักน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาลเป็นขบวนการทางชีวเคมีที่มีการเปลี่ยนแปลงการหมักแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน

(1) การหมักน้ำตาลให้กลายเป็นเอทธิลแอลกอฮอล์

ขั้นตอนนี้มีการเปลี่ยนน้ำตาลในน้ำผลไม้ที่ถูกไฮโดรไลซ์แล้ว เปลี่ยนเป็นเอทธิลแอลกอฮอล์และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยอาศัยการทำงานของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในระบบหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ดังสมการ

$$\underset{\text{น้ำตาล}}{C_6H_{12}O_6} \xrightarrow[\text{ยีสต์}]{} \underset{\text{เอทธิลแอลกอฮอล์}}{2C_2H_5OH} + \underset{\text{คาร์บอนไดออกไซด์}}{2CO_2}$$

การเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นเอทธิลแอลกอฮอล์มีลักษณะเหมือนกับการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นจากการผลิตไวน์จากการหมักด้วยเชื้อยีสต์ โดยใช้น้ำตาลในน้ำผลไม้ และน้ำตาลที่เติมลงไปเพื่อเปลี่ยนเป็นเอทธิลแอลกอฮอล์ ในสภาวะหมักที่ไม่ต้องการอากาศจึงควรหมักในภาชนะปากแคบ เนื่องจากขั้นตอนนี้จะมี by product คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เกิดขึ้นจึงจำเป็นต้องมีการระบายก๊าซนี้ออกไปจากถังหมัก อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักประมาณ 23 – 27 องศาเซลเซียส

(2) การเปลี่ยนเอทธิลแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิตริก

เป็นขั้นตอนที่มีการออกซิไดซ์พวกแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิตริกหรือกรดน้ำส้ม โดยการทำงานของพวกแบคทีเรียที่ผลิตกรดน้ำส้มในกลุ่ม Acetic acid bacteria โดยเกิดการส่งโปรตอน 2 ตัวของ hydrated acetaldehyde ไปยังอะตอมของออกซิเจนจนกลายเป็นกรดอะซิติกออกมาโดยอาศัยเอ็นไซม์ aldehyde dehydrogenase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังปฏิกิริยาทางด้านเคมีเขียนได้ดังนี้

$$\underset{\text{เอทธิลแอลกอฮอล์}}{C_2H_5OH} \xrightarrow[\text{แบคทีเรีย (}\textit{Acetobacter}\text{)}]{} \underset{\text{กรดน้ำส้มสายชู}}{CH_3COOH} + \underset{\text{น้ำ}}{H_3O}$$

การเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้จำเป็นต้องการออกซิเจนจำนวนมากเพื่อที่จะนำไปใช้ในการออกซิไดซ์เอทธิลแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิตริกหรือกรดน้ำส้มโดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในสภาวะการหมักแบบใช้ออกซิเจน จึงจำเป็นต้องหมักในภาชนะปากกว้างเพื่อให้มีพื้นที่สัมผัสกับอากาศให้มากหรืออาจจะมีการกวนบ่อย ๆ เพื่อให้อากาศผ่านเข้าไปในถังหมัก อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักนั้นขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้และกรรมวิธีการผลิตโดยทั่ว ๆ ไปใช้อุณหภูมิประมาณ 26 – 29 องศาเซลเซียส

2.3.9 กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชู

การผลิตน้ำส้มสายชูถ้าแบ่งตามกรรมวิธีการผลิตสามารถแบ่งได้เป็น 3 วิธี คือ

(1) วิธีการหมักน้ำส้มสายชูอย่างช้า เป็นวิธีการหมักตามธรรมชาติที่มีการนำน้ำผลไม้ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่พอสมควร แล้วปล่อยให้เกิดกระบวนการหมักโดยเชื้อยีสต์ที่ปะปนมากับผลไม้หรืออาจจะใช้เชื้อยีสต์บริสุทธิ์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลในวัตถุดิบเป็นแอลกอฮอล์ จากนั้นเชื้อน้ำส้มสายชูที่มีอยู่ตาม

ธรรมชาติจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดน้ำส้มอีกทีหนึ่ง วิธีนี้จะต้องใช้เวลาในการหมักเป็นเวลานานประมาณ 2 – 3 เดือน ประสิทธิภาพของเชื้อและคุณภาพของน้ำส้มสายชูที่ได้จะมีคุณภาพที่ไม่แน่นอนขึ้นอยู่กับปริมาณและชนิดของเชื้อธรรมชาติที่ได้ แต่สามารถปรับปรุงให้การหมักเกิดได้ดีขึ้นและเร็วขึ้นได้โดยการเติมหัวเชื้อน้ำส้มที่ได้จากการหมักในรุ่นก่อน ๆ ลงไปประมาณ 33% ของปริมาตรทั้งหมดที่จะหมัก

(2) วิธีการหมักน้ำสายชูอย่างเร็ว วิธีการหมักวิธีนี้จำเป็นต้องใช้เครื่องมือที่มีราคาค่อนข้างแพงโดยออกแบบให้มีการควบคุมสภาพแวดล้อมต่าง ๆ ในกระบวนการหมักให้มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียเพื่อใช้ในการออกซิไดส์แอลกอฮอล์ให้เป็นกรดน้ำส้ม เครื่องมือที่นำมาใช้ในกระบวนการหมักมีส่วนประกอบได้หลายแบบ เช่น อาจจะมีการกวนพร้อมกับการให้อากาศ หรือการปล่อยให้ส่วนผสมของสารละลายแอลกอฮอล์กับเชื้อน้ำส้มสามารถไหลผ่าน supporting medium เช่น พวกเศษไม้ชิ้นเล็ก ๆ ขี้เลื่อย หรือซังข้าวโพด ให้เกิดการไหลผ่านช้า ๆ หมุนเวียนหลาย ๆ ครั้งจนได้น้ำส้มสายชูที่มีเปอร์เซ็นต์กรดเข้มข้นตามที่ต้องการ ซึ่งต้องมีการให้อากาศผ่านเข้าไปทางก้นถังด้วยและจำเป็นต้องมีการควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 15 – 34 องศาเซลเซียส ข้อดีของวิธีนี้ คือ ความเป็นกรดจะเพิ่มขึ้นประมาณ 0.5 – 0.7 % ในเวลา 24 ชั่วโมง

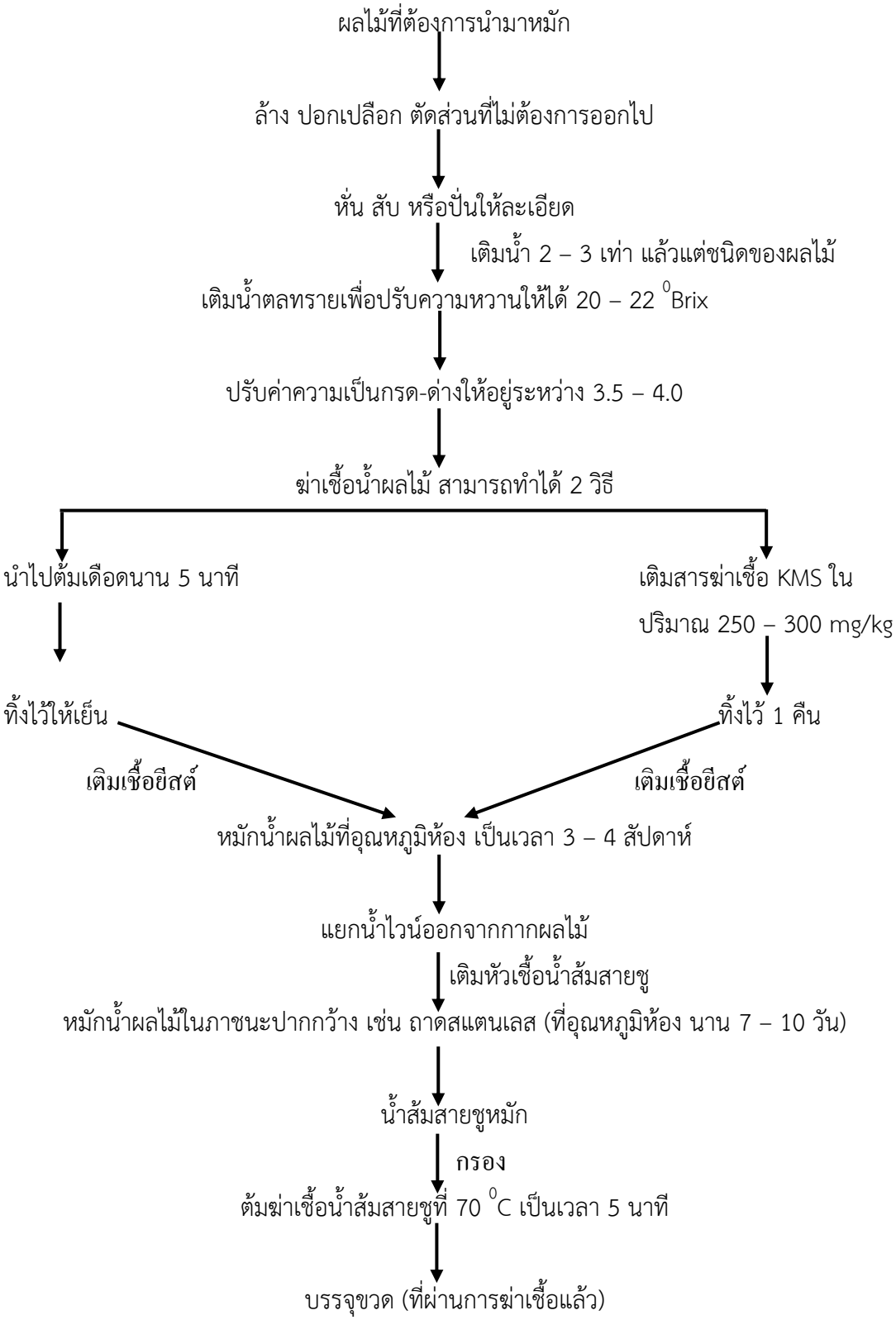
(3) การหมักโดยใช้เครื่องที่เรียกว่า Acetator การหมักวิธีนี้เป็นการจัดระบบการหมักในถังหมักทรงสูง มีลักษณะเป็นถังปิด และมีการให้อากาศเข้าสู่น้ำหมักได้อย่างเพียงพอในสภาพที่เป็นฟองละเอียด ทำให้แบคทีเรียสามารถกระจายตัวอยู่ในน้ำหมักได้อย่างทั่วถึง และสามารถใช้สารอาหารกับแอลกอฮอล์ และออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักเพื่อการเจริญเติบโตและทำให้การผลิตกรดอะซิตริกมีปริมาณเพิ่มขึ้น 3 – 4 % ในเวลา 24 ชั่วโมง หัวเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter* spp.) บางชนิดไม่เพียงแต่ใช้แอลกอฮอล์เท่านั้น แต่ยังมีความสามารถในการใช้กรดน้ำส้มที่ผลิตขึ้นได้ ฉะนั้นเมื่อมีการหมักจนมีปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำผลไม้หมดไปแล้วก็จะผลิตเป็นกรดน้ำส้มเป็นอาหารต่อไป ของที่เหลือจากการใช้กรดน้ำส้ม คือ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ (CO_2) และน้ำ (H_2O)

$$\underset{\text{กรดอะซิตริก}}{CH_3COOH} + 2\,O_2 \longrightarrow \underset{\text{กรดน้ำส้มสายชู}}{2\,CO_2} + \underset{\text{น้ำ}}{2\,H_3O}$$

ส่วนการหมักน้ำส้มสายชูนั้นก็จะมีการหมักหลายแบบ เช่น การหมักแบบครั้งเดียว เป็นการหมักที่จะไม่มีการเติมอาหารหรือวัตถุดิบและจะทำการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมัก (Arnold et al., 2002 and Horiuchi et al., 1999) การหมักแบบต่อเนื่องเป็นการหมักที่มีการเติมอาหารหรือวัตถุดิบระหว่างกระบวนการหมักและมีการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์ไปพร้อมๆกับการเติมอาหารใหม่โดยที่จะมีอัตราการเก็บเกี่ยวเท่ากับอัตราการเติมอาหารใหม่ลงไป แต่ส่วนใหญ่จะนิยมใช้การหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง เนื่องจากการหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง จะเป็นการหมักที่เลี้ยงโดยมีการเติมอาหารหรือวัตถุดิบระหว่างกระบวนการหมัก เพื่อปรับความเข้มข้นของอาหารที่ใช้เลี้ยงให้คงที่และมีสภาวะที่เหมาะสมต่อ

กระบวนการหมัก และจะมีการเก็บเกี่ยวผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก ซึ่งการหมักแบบกึ่งต่อเนื่องเป็นการประยุกต์การหมักแบบครั้งเดียวกับการหมักแบบต่อเนื่องเข้าด้วยกัน โดยการหมักน้ำส้มสายชูนั้นจะต้องคำนึงถึงวัตถุดิบตั้งต้น ที่ใช้ว่ามีความเข้มข้นของเอทานอลและความเข้มข้นของกรดอะซิติกนั้นเหมาะสมหรือไม่ ซึ่งโดยปกติแล้วเนื่องจากความเข้มข้นของเอทานอลและกรดอะซิติกที่สูงจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียซึ่งความเหมาะสมของความเข้มข้นของเอทานอลที่ใช้จะอยู่ในช่วงระหว่าง 13 กรัมต่อลิตร และความเข้มข้นของกรดอะซิติกจะอยู่ในช่วงระหว่าง 10 กรัมต่อลิตร ซึ่งในการหมักน้ำส้มสายชูเป็นปฏิกิริยา ที่ต้องการออกซิเจน เนื่องจากแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกจะทำการออกซิไดซ์เอทานอลเปลี่ยนไปเป็นกรดอะซิติกในสภาวะที่มีอากาศ ซึ่งโดยปกติแล้วอัตราการไหลของอากาศจะใช้ที่ 0.2 vvm หรืออัตราการไหลของอากาศ 150 ลิตรต่อนาที โดยมีความเข้มข้นของออกซิเจนอยู่ที่ 2 มิลลิกรัมต่อลิตร ส่วนอุณหภูมิที่ใช้ในการหมักที่เหมาะสมกับแบคทีเรียผลิตกรดน้ำส้มสายชูจะอยู่ในช่วง 30-31 องศาเซลเซียส ส่วนการเก็บผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูนั้น จะเก็บในช่วงที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิติกอยู่ ที่ 70 - 80 กรัมต่อลิตร และ ความเข้มข้นของเอทานอลไม่เกิน 8 กรัมต่อลิตร (Ory et al., 2002 ; 2004)

สรุปกระบวนการและขั้นตอนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก มีดังนี้ (มาลัย และพิสมัย, 2555)



ภาพที่ 2.11 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

ที่มา : มาลัย และพิสมัย, 2555

2.3.10 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำส้มสายชู (ศุภาวิชญ์ฐา ,2551)

ก. อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมในการเจริญเติบโตจะแตกต่างกันตามสายพันธุ์ โดยทั่วไปเจริญเติบโตได้ดีที่สุดที่อุณหภูมิ 25 – 30 องศาเซลเซียส จากการแยกเชื้อ *Acetobacter aceti* สายพันธุ์ 1023 พบว่าสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส และมีประสิทธิภาพในการผลิตกรดอะซิตริกได้ดี และเมื่ออุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 38 องศาเซลเซียส จะสูญเสียกิจกรรมไป 55 เปอร์เซ็นต์ (Ohmori *et al.*, 1982) นอกจากนี้น้ำส้มสายชูที่มีประสิทธิภาพในการผลิตกรดอะซิตริกได้ดีส่วนมากจะสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 30 – 32 องศาเซลเซียส แต่ก็ยังคงมีบางสายพันธุ์ที่สามารถเจริญได้ทีอุณหภูมิ 37 – 40 องศาเซลเซียส (รสสุคนธ์ ,2528)

ข. ความเป็นกรดด่าง

แบคทีเรีย *Acetobacter* sp. เจริญได้ดีที่พีเอชค่อนข้างต่ำหรือมีค่าความเป็นกรดสูงอยู่ระหว่าง 4.0 – 4.5 และเจริญได้ดีที่ระดับพีเอช 5.4 – 6.3

ค. แหล่งคาร์บอน

แหล่งคาร์บอนที่ดีที่สุดสำหรับการเจริญของเชื้อ *Acetobacter* sp. คือ เอทานอล กลีเซอรอล และโซเดียมแลกเทต ตามลำดับ นอกจากนี้ยังพบว่าอาหารเลี้ยงเชื้อที่มีปริมาณเอทานอลมากขึ้นจะมีผลทำให้การเจริญเติบโตของเชื้อ *Acetobacter* sp. มีอัตราการเจริญเติบโตลดลง จากการศึกษาพบว่าเอทานอลจะมีผลไปยับยั้งการออกซิไดส์อะซิเตรทให้เป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำโดยเซลล์ *Acetobacter* sp. แต่ไม่สมบูรณ์ นอกจากนี้ *Acetobacter* sp. ยังสามารถใช้กลูโคสได้อย่างสมบูรณ์ 80% ของกลูโคสจะถูกเปลี่ยนเป็นกลูโคเนต และอีก 20 เปอร์เซ็นต์ใช้เป็นแหล่งคาร์บอนและแหล่งพลังงานตามวิถีเฮกโซไคเนส (Hexokinase pathway) ส่วนแหล่งคาร์บอนอื่นๆ เช่น กาแลกโทส ไซโลส อะราบิโนส และไรโบส จะถูกออกซิไดส์เป็นกรดได้เช่นกันแต่ไม่มีความเหมาะสมต่อการเจริญเติบโตของ *Acetobacter* sp. (Conner and Allgeier,1976)

ง. ผลของออกซิเจน

การหมักน้ำส้มสายชูในสภาพที่ต้องการอากาศจำเป็นต้องมีการให้อากาศอย่างต่อเนื่อง ถ้าการให้อากาศเกิดขัดข้องในระหว่างการหมักจะเกิดผลต่อการทำลายเซลล์ของเชื้อ *Acetobacter* sp. ในระหว่างการขาดออกซิเจนนอกจากนี้ยังเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นทั้งหมดของกรดอะซิตริกและแอลกอฮอล์ในน้ำหมักและอัตราเร็วของการหมัก เป็นต้น ในน้ำหมักที่มีความเข้มข้นของกรดอะซิตริกและแอลกอฮอล์เท่ากับ 5 เปอร์เซ็นต์ และการให้อากาศหยุดชะงักไป 2 – 8 นาที จะส่งผลทำให้ *Acetobacter* sp. ถูกทำลายมากเช่นเดียวกับที่ความเข้มข้น 11 – 12 เปอร์เซ็นต์ และการให้อากาศจะหยุดชะงักไป 15 -60 วินาที

จ. ผลของแอลกอฮอล์

แบคทีเรีย *Acetobacter* sp. จะถูกทำลายเมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักเปลี่ยนไปจนหมด และมีการเติมแอลกอฮอล์ที่เป็นองค์ประกอบใน

อาหารเลี้ยงเชื้อลงในน้ำหมักช้าเกินไปจึงมีผลต่อการทำลายเซลล์ *Acetobacter* sp. โดยเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของกรดอะซิตริกและแอลกอฮอล์ทั้งหมดที่มีในน้ำน้ำหมัก และระยะเวลาที่ขาดแอลกอฮอล์โดยมีผลเหมือนกับการขาดออกซิเจน

2.3.11 ประโยชน์ของน้ำส้มสายชู

(1) ใช้ในการปรุงรสอาหาร เพื่อเพิ่มรสชาติ แต่ปัจจุบันนี้ นิยมนำน้ำส้มสายชูหมักมาชงเป็นเครื่องดื่มสำหรับบริโภค โดยผสมน้ำผึ้งและน้ำอุ่น เนื่องด้วยน้ำส้มสายชูหมักมีประโยชน์ต่อสุขภาพช่วยให้ระบบต่างๆ ในร่างกายดีขึ้น แล้วยังช่วยให้กระปรี้กระเปร่า ทำให้ระบบย่อยอาหารดี ทำลายเชื้อแบคทีเรีย ราไวรัสในร่างกายลดความดันโลหิต ช่วยขจัดเสมหะและน้ำมูก ลดการสะสมไขมันในร่างกาย เช่น ในหลอดเลือด และส่วนต่างๆ ของร่างกาย (มาลัย บุญรัตนกรกิจ, ม.ป.ป.)

(2) อุตสาหกรรมการผลิตอาหารชนิดต่าง ๆ เช่น การผลิตผักและผลไม้กระป๋อง น้ำสลัด ไส้กรอก ซอสมะเขือเทศ ซอสพริก เป็นต้น

(3) อุตสาหกรรมอื่น ๆ อีกหลายชนิด เช่น การผลิตสารประกอบอะซิเตทชนิดต่าง ๆ และการผลิตพลาสติกบางชนิด เป็นต้น

ตารางที่ 2.7 ผลของการทำลายเซลล์ *Acetobacter* sp. จากการขาดออกซิเจนควบคู่กับปัจจัยต่าง ๆ ของการหมัก

Experiment No.	Acetic acid ($g/100\ cm^3$)	Alcohol (%)	Total concentration (%)	Efficiency at Beginnin of Interruption (g/100 ml / 24 h.)	Duration of Interruption (Sec)	Degree of Damange of Acetobacter (%)
1	2.51	2.29	4.80	1.10	120	34.0
2	2.42	2.29	4.71	1.38	300	42.5
3	3.16	1.71	4.87	6.03	480	99.5
4	7.90	3.80	11.70	2.63	15	10.8
5	8.05	3.70	11.75	5.25	30	74.8
6	8.05	3.30	11.35	4.47	60	99.9

ที่มา : Ebner , 1982

2.3.12 มาตรฐานของน้ำส้มสายชู

ตามพระราชบัญญัติการควบคุมคุณภาพอาหารมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนและตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ได้กำหนดมาตรฐานของน้ำส้มสายชูไว้ดังนี้

น้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังต่อไปนี้

(1) น้ำส้มสายชูหมัก หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำธัญพืช ผลไม้ หรือน้ำตาลมาหมักกับส่าเหล่าแล้วหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีตามธรรมชาติ

(2) น้ำส้มสายชูกลั่น หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำแอลกอฮอล์กลั่นเจือจาง (Dilute Distilled Alcohol) มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู หรือเมื่อหมักแล้วนำไปกลั่นอีก หรือได้จากการนำน้ำส้มสายชูหมักตามข้อ 1 มากลั่น

(3) น้ำส้มสายชูเทียม หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้ม (Acetic acid) มาเจือจาง

น้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่นต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังนี้

(1) มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส

(2) ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณที่กำหนด

(2.1) สารหนู ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัมต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(2.2) ทองแดง สังกะสี และเหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัมต่อน้ำส้มสายชู 10 กิโลกรัม

(3) ไม่มีกรดน้ำส้มที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

(4) ไม่มีกำมะถัน (Sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

(5) ใสไม่มีตะกอน เว้นแต่น้ำส้มสายชูตามธรรมชาติ

(6) ไม่มีหนอนน้ำส้ม (Vinegar Eel)

(7) ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม

(8) ให้ใช้วัตถุเจือปนอาหารได้

(8.1) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 70 มิลลิกรัมต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(8.2) กรดแอล-แอสคอร์บิก ไม่เกิน 400 มิลลิกรัมต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(9) มีแอลกอฮอล์ตกค้างไม่เกินร้อยละ 0.5

(10) การแต่งสีให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้หรือสีคาราเมล

(ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู. 26 สิงหาคม 2557)

2.3.13 ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำส้มสายชูแต่ละชนิด

น้ำส้มสายชูแต่ละชนิดอาจจะมีส่วนประกอบทางเคมีที่แตกต่างกัน จึงมีผลทำให้คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูมีคุณสมบัติเฉพาะตัวแตกต่างกัน ส่วนประกอบของน้ำส้มสายชูชนิดต่าง ๆ แสดงดังตารางที่

ตารางที่ 2.8 ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำส้มสายชูแต่ละชนิด

ส่วนประกอบทางเคมี	Malt Vinegar	Non brewed Vinegar	Cider Vinegar	Wine Vinegar	Spirit Vinegar
1. ความถ่วงจำเพาะ	1.013-1.022	1.007-1.022	1.013-1.024	1.013-1.021	1.015-1.020
2. กรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิตริก (%)	4.3-5.9	4.1-5.3	3.9-9.0	4.4-7.4	11.5-12.2
3. กรดที่ระเหยได้ในรูปกรดอะซิตริก (%)	0.2-0.4	เล็กน้อยมาก	0.1-0.2	-	-
4. กรดมาลิก (%)	-	-	0.07-0.16	-	-
5. ของแข็งทั้งหมด (%)	1.4-3.5	0.01-0.45	1.9-3.5	1.4-3.2	0.15-0.60
6. เถ้าทั้งหมด (%)	0.18-0.45	0.02-0.05	0.02-0.45	0.15-0.69	0.02-0.05
7. ความเป็นด่าของเถ้าที่ละลายในน้ำ (ml 0.01M กรด/ml)	-	-	2.2-4.0	-	-
8. ไนโตรเจนทั้งหมด (%)	0.04-0.14	0-0.2	-	-	0.003-0.03
9. กรดฟอสฟอริก (%)	0.05-0.12	0-0.02	0.04-0.30	-	0.005
10. SO_3 (%)	0.05-0.12	0-0.01	-	-	-
11. เกลือแกง (%)	0.15-0.25	0.01-0.12	-	-	-
12. น้ำตาลทั้งหมด (%)	-	-	0.15-0.7	0.22-0.56	-
13. แอลกอฮอล์ (%v/v)	-	-	0.03	-	0.15
14. Oxidation Value	500-1800	0-20	>3500	600-2000	90-650
15. Alkaline Oxidation Value	70-180	0-10	-	60-180	3-20
16. Iodine Value	380-1500	0-25	-	380-1000	5-30
17. Ester Value	30-140	0-15	-	50-220	0-20

ที่มา : ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และนิธิยา รัตนาปนนท์, 2540

2.4 สารออกฤทธิ์ทางชีวภาพ

2.4.1 สารประกอบฟีนอลิก (Phenolic content)

ก. สารฟีนอลิก (Phenolic)

มีสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (antioxidant) พบได้ในผักและผลไม้ เช่น แอปเปิล ช่า และสมุนไพร พลลิฟีนอลเป็นสารที่ใช้ในการกำจัดอนุมูลอิสระ ป้องกันการเป็นโรคหัวใจ

มีคุณสมบัติเป็นสารอินทรีย์ สามารถละลายน้ำได้ มี Hydroxyl group อย่างน้อย 1 หมู่ นอกจากนี้ยังมีอนุพันธุ์ของสารประกอบฟีนอลิกที่มีการแทนที่ด้วยหมู่เคมีต่าง ๆ เช่น Flavonoids , Lignin , Ascorbic acid , Caffeic acid เป็นต้น

สารประกอบฟีนอลิกที่พบทั่วไปในพืชมีความเป็นกรด สามารถสร้างพันธะไฮโดรเจนกับโมเลกุลอื่นๆ เช่น พันธะเปปไทด์ของโปรตีน ซึ่งเมื่อเกิดปฏิกิริยามักจะทำให้เอนไซม์เสียสภาพธรรมชาติ และสารประกอบฟีนอลิกส่วนใหญ่มักพบอยู่รวมกับโมเลกุลอื่นในรูปของ glycosides มากกว่าอยู่ในรูปอิสระตามธรรมชาติ โดยจะเชื่อมต่อกับโมเลกุลของแซคคาไรด์ เช่น กลุ่มของ Flavonoids ซึ่งมักรวมกับน้ำตาล หรืออาจจะพบรวมกับสารอินทรีย์ กรดอะมิโน ไขมัน เทอร์ปี ฟีโนลิก และกลุ่มอื่น ๆ

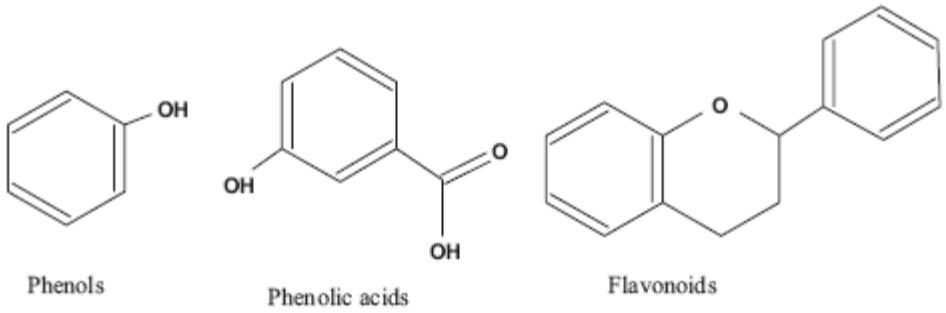
ข. ชนิดของสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds)

สามารถแบ่งชนิดของสารประกอบฟีนอลิก ตามจำนวน Phenol Rings ได้เป็น 3 ชนิด

1. Monocyclic Phenols มี 1 Phenol ring พบทั่วไปในพืช ได้แก่ Phenol , Catechol , Hydro quinone เป็นต้น

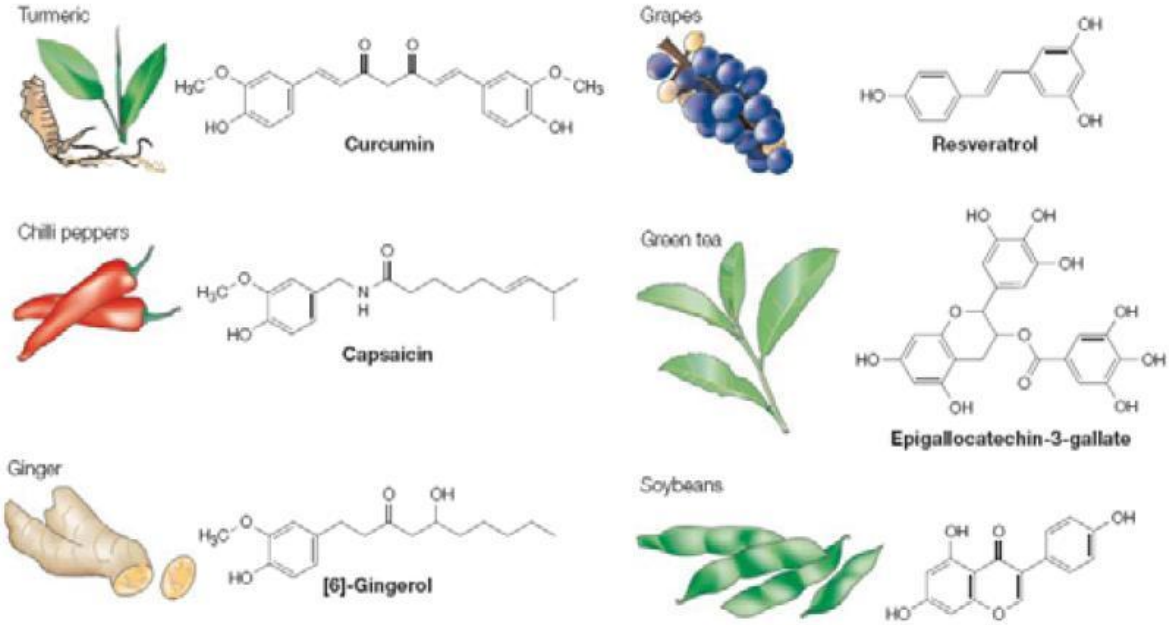
2. Dicyclic Phenols มี 2 Phenol ring ได้แก่ Flavonoids และ Lignans

3. Polycyclic Phenols หรือ Polyphenols มีหลาย Phenol ring ได้แก่ Lignins , Catechol Melanins , Flavolans เป็นต้น



ภาพที่ 2.12 โครงสร้างของสารประกอบฟีนอลิก ที่พบในพืชทั่วไป

ที่มา : http://isnff.org/files/ISNFF_Newsletter_March_2011-1.pdf



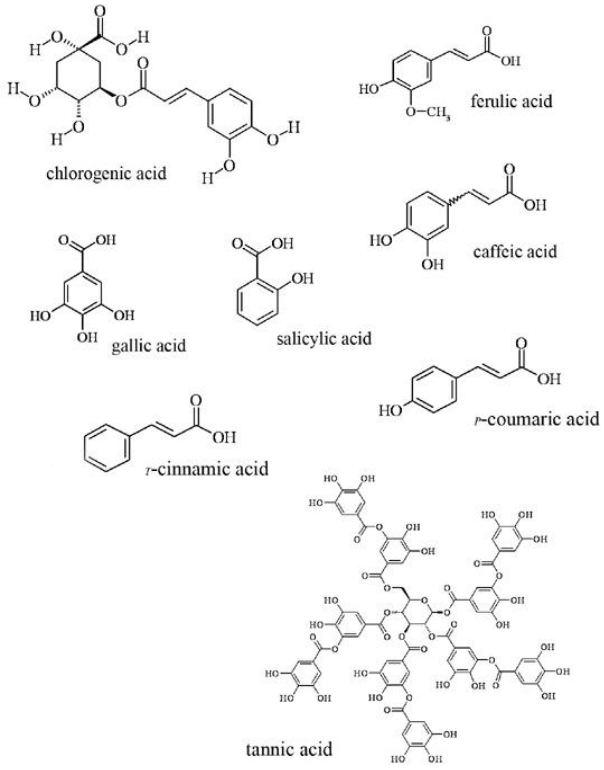
ภาพที่ 2.13 ตัวอย่างสารประกอบฟีนอลที่พบตามธรรมชาติในพืชทั่วไป
ที่มา : http://isnff.org/files/ISNFF_Newsletter_March_2011-1.pdf

ค. สรรพคุณของสารประกอบฟีนอลิก

1. ประโยชน์ต่อสุขภาพ สารประกอบฟีนอลิกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

2. ยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันและสารต้านการกลายพันธุ์ (Antimutagen) ป้องกันโรคหัวใจขาดเลือด และมะเร็ง

3. ใช้เพื่อการถนอมอาหาร ใช้เป็นสารกันหืน ป้องกันการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของลิพิด (Lipid oxidation)



ภาพที่ 2.14 โครงสร้างของกรดแกลลิก

เพราะแกลลิกเป็นสารประกอบฟีนอลลิกที่มีโครงสร้างเรียบง่าย พบมาก มีความคงตัว จึงเหมาะที่จะใช้เป็นตัวเปรียบเทียบในการศึกษาสารสารประกอบฟีนอลลิกอื่นๆ ที่มีโครงสร้างซับซ้อนกว่า เช่น กรดแทนนิก อย่างกรดซาลิไซลิก แม้จะมีโครงสร้างไม่ซับซ้อน ราคาถูก แต่ระเหยง่ายและไม่คงตัว จึงไม่เหมาะจะใช้เป็นสารมาตรฐาน

2.4.2 ฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activity)

ก. อนุมูลอิสระ (Free radical)

คือ อะตอม โมเลกุล หรือสารประกอบที่มีอิเล็กตรอนเดี่ยวอยู่ในวงนอกสุดที่มีระดับพลังงานสูง มีความไวในการเข้าทำปฏิกิริยากับสารชีวโมเลกุลในร่างกาย ทำลายสมดุลของระบบต่าง ๆ ในร่างกาย ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ซึ่งเป็นสาเหตุสำคัญของการเกิดการกลายพันธุ์และการเกิดเซลล์มะเร็ง

อนุมูลอิสระพบเจอได้ทั้งภายนอกร่างกาย ได้แก่ มลพิษในอากาศ อาหารที่มีกรดไขมันอิ่มตัวหรือธาตุเหล็กมากกว่าปกติ แสงแดด ความร้อน รังสีแกมมา ยาบางชนิด เป็นต้น และภายในร่างกาย ได้แก่ ออกซิเจน เป็นต้น

ข. ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระ (Antioxidant reaction)

ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระเป็นปฏิกิริยาลูกโซ่ (Free radical chain reaction) มีกลไกในการเกิดปฏิกิริยา 3 ขั้นตอน คือ

1. Initiation step ปฏิกิริยาการเกิดอนุมูลอิสระในเซลล์เกิดจากการสลายพันธะด้วยน้ำ (Hydrolysis) แสง (Photolysis) รังสี (Radiolysis) หรือปฏิกิริยารีดอกซ์ (Redox reaction) ดังสมการ (1)

$$RH \longrightarrow R^{\circ} \qquad \text{สมการ (1)}$$

2. Propagation step อนุมูลอิสระจะมีการดึงเอาอะตอมไฮโดรเจนจากโมเลกุลข้างเคียง หรือเข้าทำปฏิกิริยากับโมเลกุลของออกซิเจนที่สถานะ ground state ทำให้ได้อนุมูลอิสระตัวใหม่เกิดขึ้น ดังสมการ (2) - (4)

$$RH + R^{1-} \rightleftharpoons R^{\circ} + R^{1}H \qquad \text{สมการ (2)}$$

$$R^{\circ} + {}^{3}O_2 \rightleftharpoons ROO^{\circ} \qquad \text{สมการ (3)}$$

$$ROOH + RH \rightleftharpoons ROOH + R^{\circ} \qquad \text{สมการ (4)}$$

3. Termination step เป็นขั้นตอนที่อนุมูลอิสระ 2 ตัวมารวมกันกลายเป็นสารที่มีความเสถียร จึงหยุดการเกิดปฏิกิริยาลูกโซ่ของการเกิดอนุมูลอิสระ ดังสมการ (5) และ (6)

$$ROO^{\circ} + ROO^{\circ} \rightleftharpoons ROOR + O_2 \qquad \text{สมการ (5)}$$

$$ROO^{\circ} + R^{\circ} \rightleftharpoons ROOR \qquad \text{สมการ (6)}$$

ค. สารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant)

เป็นสารที่ทำหน้าที่ต่อต้านหรือยับยั้งการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชัน ช่วยยับยั้งอนุมูลอิสระไม่ให้ทำลายองค์ประกอบของเซลล์ สารต้านอนุมูลอิสระมีทั้งที่เป็นสารจากธรรมชาติ เช่น Amino acid , Ascorbic acid , Tannins , Tocopherols , Carotenoids , Flavonoids และ Phenolic และเป็นสารที่ได้จากการสังเคราะห์ โดยทั่วไปสามารถจัดประเภทของสารต้านอนุมูลอิสระได้เป็น 5 ประเภท ดังนี้

1. Primary Antioxidant สารในกลุ่มนี้ส่วนใหญ่จะเป็นสารประกอบฟีนอลิก (Phenolic compounds) ทำหน้าที่ในการหยุดปฏิกิริยาลูกโซ่ในขั้นตอนการเกิดอนุมูลอิสระในปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมัน รวมถึงสารโทโคฟีรอลธรรมชาติ และที่ได้จากการสังเคราะห์ (Natural and Synthetic Tocopherol) นอกจากนี้ยังมี Gallic acid , BHA , BHT และอื่น ๆ ซึ่งทำหน้าที่เป็นตัวให้อิเล็กตรอน

2. Oxygen Scavenger สารกลุ่มนี้ ได้แก่ Ascorbic acid หรือ Vitamin C จะเข้าทำปฏิกิริยากับออกซิเจน ช่วยกำจัดออกซิเจนได้

3. Secondary Antioxidant สารในกลุ่มนี้ ได้แก่ Dilauryl Thiopropionate และ Thiopropionic acid ทำหน้าที่สลายโมเลกุลของ Lipid Hydroperoxidase ให้เป็นสารที่มีความเสถียร

4. Enzymic Antioxidant สารกลุ่มนี้ ได้แก่ เอนไซม์ต่าง ๆ ทำหน้าที่กำจัดออกซิเจนหรืออนุพันธ์ของออกซิเจน โดยเฉพาะไฮโดรเจนเปอร์ออกไซด์ (H_2O_2)

5. Chelating Agent หรือ Sequestrant สารกลุ่มนี้ ได้แก่ กรดซิตริค กรดอะมิโน ทำหน้าที่จับไอออนโลหะ เช่น เหล็ก และทองแดงที่ส่งเสริมและเร่งปฏิกิริยาออกซิเดชันของไขมันทำให้เกิดสารประกอบเชิงซ้อนที่เสถียร

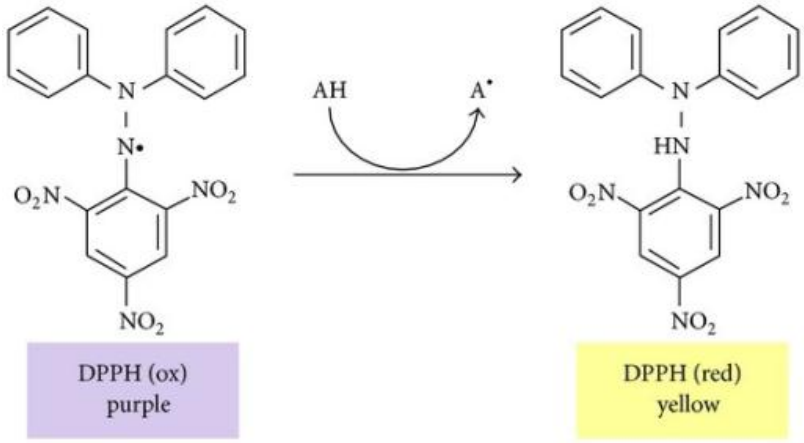
ง. การวิเคราะห์หาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระ (Total Antioxidant Capacity; TAC)

การวิเคราะห์หาความสามารถรวมในการต้านออกซิเดชันมีหลายวิธี ได้แก่

1. การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอะตอมไฮโดรเจน (Hydrogen atom transfer; HAT)
   - วิธี Oxygen radical absorbance capacity assay (ORAC)
   - วิธี Total radical trapping antioxidant parameter (TRAP)
2. การวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว (Electron transfer; ET หรือ SER)
   - วิธี 2,2 – diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH)
   - วิธี The Ferric Reducing Ability of Plasma assay (FRAP)
   - วิธี Trolox Equivalent Antioxidant Capacity (TEAC)

จากการศึกษาฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในน้ำส้มสายชูจากมะขามจะใช้วิธีการวิเคราะห์จากการส่งผ่านอิเล็กตรอนเดี่ยว โดยวิธี 2,2 – diphenyl-1-picrylhydrazyl assay (DPPH) โดยมีหลักการวิเคราะห์ ดังนี้

อนุมูลอิสระ DPPH$^{\circ}$ เป็นอนุมูลอิสระที่มีความคงตัวและมีสีม่วง สามารถเกิดอนุมูลอิสระได้โดยไม่ต้องทำปฏิกิริยา การวัดความสามารถในการรีดิวซ์สามารถทำการวัดโดยใช้เครื่องสเปกโตรสโกปีเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงของสี เมื่อมีการเติมสารต้านอนุมูลอิสระลงไป มีผลทำให้สารละลายของสีลดลง ซึ่งวัดได้จากการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ดังภาพที่ 2.7



ภาพที่ 2.15 การเกิดปฏิกิริยาหลังจากการเติมสารต้านอนุมูลอิสระ

ที่มา : Teixeira et *al*., 2013

การศึกษาความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยวิธี DPPH ทำให้อนุมูลอิสระรวมตัวกับ DPPH ที่อยู่ในรูปอนุมูลอิสระในสารละลาย โดย DPPH (มีสีม่วงเข้ม) ทำปฏิกิริยากับสารต้านอนุมูลอิสระแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ซึ่งค่าการดูดกลืนแสงจะแปรผันกับความเข้มข้นของ DPPH ดังนั้นความเข้มสีของ DPPH ลดลงจะบ่งบอกถึงความสามารถในการกำจัดอนุมูลอิสระของสารต้านอนุมูลอิสระ

ซึ่งนิยมรายงานความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่างในรูปค่า 50 % Inhibitory Concentration (IC_{50}) (หมายถึง ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระที่ทำให้ความเข้มข้นของ DPPH ลดลง 50%) การสร้างกราฟระหว่างความเข้มข้นของสารตัวอย่างกับค่าการดูดกลืนคลื่นแสง นำมาหาค่า IC_{50} บ่งบอกความสามารถของสารต้านอนุมูลอิสระจะเปรียบเทียบค่าของการทดสอบกับสารมาตรฐาน เช่น Ascorbic acid หรือ Gallic acid เป็นต้น การคำนวณหาค่า Radical Scavenging หรือเปอร์เซ็นต์การออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ หาได้จากสมการ (Kopjar et al., 2009)

$$\%\text{Radical Scavenging} = \frac{A_O - A_S}{A_O} X100$$

เมื่อ A_O คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของ DPPH

A_S คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารตัวอย่าง

2.5 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

กิตติพงษ์ ชูจิตร. (2541). ได้ศึกษาการหาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูโดยได้พัฒนาระบบโฟลอินเจคชันอะนาลิซิสร่มกับไดอะไลซิสเซลสำหรับแยกและวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติก วิธีนี้อาศัยหลักพื้นฐานของการแยกกรดอะซิติกออกจากตัวอย่างโดยใช้ไดอะไลซิสเมมเบรน แล้วกรดอะซิติกจะเข้าทำปฏิกิริยากับรีเอเจนต์ซึ่งประกอบด้วยโพแทสเซียมไอโอเดตและโพแทสเซียมไอโอไดด์ทำให้เกิดไอโอดีน วัดค่าการดูดกลืนแสงของไอโอดีนซึ่งมีสีเหลืองที่ 350 นาโนเมตร ซึ่งจะเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความเข้มข้นของกรดอะซิติกที่มีอยู่ในตัวอย่าง ได้ศึกษาหาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกโดยวิธีโฟลอินเจคชันคัลเลอริเมตรีได้กราฟมาตรฐานเป็นเส้นตรงในช่วงความเข้มข้น 0.05 – 1.00% w/v, 1.00 – 2.00% w/v และ 2.00 – 5.00% w/v ของกรดอะซิติก วิธีนี้มีความแม่นยำ 1.35% (ทำการทดลองซ้ำ 12 ครั้ง) มีขีดจำกัดของการวิเคราะห์ 0.03% w/v ได้นำวิธีที่พัฒนาขึ้นมาไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูหมักและในน้ำส้มสายชูในตัวอย่างที่วางขายในท้องตลาด

รำไพ เกณฑ์สาคูและคณะ (2549) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตน้ำส้มสายชูจากมันแกวโดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomycopsis fibuligera* TIS 5033 และเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 ทำการศึกษาผลของปริมาณหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่มีต่อปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชู กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูจะเกิดการหมัก 2 ขั้นตอน คือ ขั้นแรก *S. fibuligera* TIS 5033 เปลี่ยนน้ำมันแกวซึ่งมีน้ำตาล 15 กรัมต่อลิตร ไปเป็นเอทานอล 6.8 กรัมต่อลิตร หลังจากนั้น *A. aceti* TISTR 102 เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็น

กรดอะซิติก ผลการทดลองพบว่า หลังจากหมักเป็นเวลา 8 วัน ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดที่ 5.8 กรัมต่อลิตร โดยการใช้ปริมาณหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่ 10 %

มาลัย บุญรัตนกรกิจ และคณะ. (2549). ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกและแกนสับปะรด พบว่าเปลือกและแกนสับปะรดซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอาหารกระป๋อง ถูกนำมาหมักให้เป็นไวน์ โดยการปรับความหวานให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 °Brix ปรับความเป็นกรด-ด่าง (pH) 3.5 – 4 ด้วยกรดมะนาว ทำการหมักโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* var. *burgundy* ใช้เวลา 15 วัน หลังจากสิ้นสุดการหมักพบว่าไวน์ที่ได้มีแอลกอฮอล์ประมาณ 10% (น้ำหนัก/ปริมาตร) นำไวน์ที่ได้มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูใช้อัตราส่วนของเชื้อน้ำส้มต่อน้ำไวน์ เท่ากับ 1 : 1 เปรียบเทียบวิธีการหมักโดยการตั้งทิ้งไว้เฉย ๆ ที่อุณหภูมิห้อง กับการใส่เครื่องเขย่าด้วยความเร็ว 100 รอบ/นาที วัดเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติกที่เพิ่มขึ้นทุกวัน พบว่าการตั้งทิ้งไว้เฉย ๆ ที่อุณหภูมิห้องสามารถหมักได้กรดน้ำส้มสูง 6.0 – 7.0% ในเวลา 5 – 6 วัน เท่ากับการหมักโดยใช้เครื่องเขย่าซึ่งใช้เวลาเพียง วัน เท่ากับการหมักโดยใช้เครื่องเขย่าซึ่งใช้เวลาเพียง 4 วัน แต่ระยะเวลาของการหมักโดยใช้เครื่องเขย่าจะเร็วกว่าการหมักแบบตั้งไว้เฉย ๆ คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักที่ได้ปรากฏว่ามีสี กลิ่น และรสของน้ำส้มสายชูหมักจากแกนสับปะรดดีกว่าน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกสับปะรด

ธีรวิทย์ ทองอินทร์ และสมนึก สุดใหม่ (2550) ได้อธิบายไว้ว่า น้ำส้มสายชูจากสับปะรดโดยการนำเอาสับปะรดมาแยกส่วนเป็นส่วนเปลือกกับแกนกับและส่วนเนื้อ นำเอามาคั้นเอาน้ำเพื่อนำไปแปรรูปผ่านกระบวนการหมักเป็นน้ำส้มสายชู โดยการหมักที่อุณหภูมิ 30 °C และใช้ความเข้มข้นของ yeast 5 7 10% ต่อปริมาตร ในขั้นตอนการหมักแอลกอฮอล์ ส่วนในขั้นตอนที่สองการหมักกรดอะซิติก จะใช้น้ำหมักจากขั้นตอนแรก มาใช้ในการหมักขั้นตอนนี้ จะใช้ความเข้มข้นของ *Acetobacter* 5 7 และ 10% ต่อปริมาตร และใช้อุณหภูมิ 30 °C การทดลองนี้เราจะใช้สับปะรดที่แบ่งออกเป็นสองส่วนนั้นคือ เปลือกกับแกนสับปะรด และส่วนของเนื้อสับปะรด จากการทดลองทั้งสองส่วนนี้สามารถใช้ผลิตเป็นน้ำส้มสายชูได้ดีทั้งสองส่วน การทดลองในขั้นตอนแรกจะพบว่าที่ความเข้มข้นของ yeast 10% ต่อปริมาตร จะใช้เวลาน้อยกว่าความเข้มข้นของ yeast 5% 7% ต่อปริมาตร และการทดลองขั้นตอนที่สองจะพบว่าที่ความเข้มข้นของ *Acetobacter* 10% ต่อปริมาตร จะใช้เวลาน้อยกว่าใช้ความเข้มข้นของ *Acetobacter* 5 และ 7% ต่อปริมาตร

นิภา พวงทอง (2551) ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้ในท้องถิ่น จำนวน 3 ชนิด คือ ลิ้นจี่ กระท้อน และกระเจี๊ยบ โดยใช้แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* ใช้เวลาในการหมัก 43 วัน เปรียบเทียบคุณภาพของน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักผลไม้ทั้ง 3 ชนิด พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากลิ้นจี่มีกรดอะซิตริกเฉลี่ย 2.90% ปริมาณแอลกอฮอล์ 4.23% ค่า pH 3.34 ปริมาณน้ำตาล 3.12 Brix น้ำส้มสายชูกระท้อนมีกรดอะซิตริก 2.28% ปริมาณแอลกอฮอล์ 5.10% ค่า pH 3.47 ปริมาณน้ำตาล 5.46 Brix และน้ำส้มสายชูหมักจากกระเจี๊ยบมีปริมาณกรดอะซิตริก 1.79% ปริมาณแอลกอฮอล์ 6.44% ค่า pH 4.13 ปริมาณน้ำตาล 6.48 Brix โดยปริมาณกรดอะซิตริกและปริมาณแอลกอฮอล์จากน้ำส้มสายชูหมักจากลิ้นจี่มีปริมาณสูงกว่าน้ำส้มสายชูหมักจากกระท้อนและกระเจี๊ยบ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05 และ

เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปริมาณกรดอะซิตริกและปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำส้มสายชูที่วางขายในท้องตลาด และมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู พบว่า น้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้ทั้ง 3 ชนิดจะมีปริมาณกรดอะซิตริกและปริมาณของแอลกอฮอล์ไม่ตรงตามที่มาตรฐานกำหนด คือ มีค่าต่ำกว่ามาตรฐาน

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบบต่อเนื่องจากไวน์สับปะรดในถังหมักระดับห้องปฏิบัติการภายใต้สภาวะที่เหมาะสม โดยศึกษาผลของอัตราการเจือจางพบว่าอัตราการเจือจาง 0.05 ต่อชั่วโมง มีอัตราการผลิตกรดอะซิตริกเชิงปริมาตร 0.93 กรัมต่อลิตร ชั่วโมง และได้ความเข้มข้นของกรดอะซิตริกเท่ากับ 18.63 กรัมต่อลิตร ณ สภาวะคงตัว และเมื่อทำการทดสอบทางประสาทสัมผัสของเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักมีคะแนนอยู่ในช่วง 4 – 6 ส่วนความชอบโดยรวม เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักที่ผสมฟรุกโตโอลิโกแซ็คคาไรด์จะมีคะแนนความชอบสูงสุด โดยไม่มีความแตกต่างกับเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักที่ผสมมอลทิทอล แต่มีความแตกต่างกับเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักที่ผสมไซลิทอลกับน้ำผึ้ง

ปราณี นิมิบุตร. (2552). ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากน้ำส้มสายชูหมักจากสมุนไพร 6 ชนิด คือ น้ำมะตูม น้ำชาเขียว น้ำตะไคร้ น้ำหล่อฮังก๊วย น้ำอัญชัน และน้ำขิง ในอัตราส่วนร้อยละ 5 , 8 และ 10 เก็บรักษาผลิตภัณฑ์ที่อุณหภูมิห้อง แล้วทำการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสแบบ Acceptance test โดยวิธี Hedonic Scaling Test ทดสอบคุณลักษณะด้านสี ความใส กลิ่น ความหวาน ความเปรี้ยว ความซ่า และความชอบโดยรวม และตรวจสอบอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์ พบว่าผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของน้ำสมุนไพรผสมน้ำส้มสายชูหมักทั้ง 6 ชนิด มีความแตกต่างกันทางสถิติ ($p<0.05$) ในด้านสี ความใส กลิ่น ความหวาน ความเปรี้ยว ความซ่า และความชอบโดยรวม โดยค่าการยอมรับของผู้บริโภคในอัตราส่วนผสมของน้ำสมุนไพรกับน้ำส้มสายชูหมักจะแตกต่างกันตามอายุการเก็บรักษาพบว่าในช่วง 7 และ 14 วัน น้ำสมุนไพรผสมน้ำส้มสายชูหมักร้อยละ 5 ได้รับการยอมรับสูงสุด แต่เมื่อมีอายุการเก็บรักษามากกว่า 14 วัน น้ำสมุนไพรผสมน้ำส้มสายชูหมักร้อยละ 8 และ 10 มีแนวโน้มได้รับการยอมรับสูงกว่าร้อยละ 5 และจากการทดลองพบว่าน้ำสมุนไพรที่ผสมน้ำส้มสายชูหมักในอัตราส่วนต่ำจะมีอายุการเก็บรักษาน้อยกว่าในอัตราส่วนที่สูง แต่อย่างไรก็ตามพบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากน้ำส้มสายชูหมักสามารถทำการเก็บรักษาได้อย่างน้อย 14 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

จักรพงศ์ ประเสริฐแสง และคณะ. (2555). ศึกษาการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากละมุด โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่าเนื้อละมุดต่อน้ำที่ 1 : 2 , 1 : 3 และ 1 : 4 พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำไวน์ละมุด คือ 1 : 4 มีค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์เท่ากับ 10.4% เมื่อนำมาผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากละมุดด้วยการหมักในถาดสแตนเลส (Rapid tray method) จาก *Acetobacter aceti* สายพันธุ์ 102 ใช้เวลาหมัก 3 วัน น้ำส้มสายชูที่ได้มีค่าเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติกเท่ากับ 5.76% จากนั้นนำมาผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากละมุดผสมน้ำลูกหม่อนและทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากละมุด 5% ผสมน้ำผึ้ง 3% และฟรุกโตสไซรัป 8% ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบทางด้านสี รสชาติ กลิ่น ความเปรี้ยวของน้ำส้มสายชูและความชอบโดยรวมมากที่สุด

วรรณภา ทาบโลกา และคณะ. (2556). ศึกษาผลของปริมาณแอลกอฮอล์และสภาวะการให้อากาศต่อปริมาณวิตามินซี และการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมะขามป้อมด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* var.*montache* เพื่อผลิตไวน์มะข้ามป้อมที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 8.57 ที่ระยะเวลาการบ่มนาน 14 วัน การผลิตน้ำส้มสายชูหมักมะขามป้อมเตรียมจากไวน์มะขามป้อมให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่างกัน พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก คือ ร้อยละ 5 ได้ปริมาณกรดอะซิติกเพิ่มมากที่สุด คือ ร้อยละ 3.03 ($p<0.05$) ในวันที่ 11 ของการหมัก ผลของการให้อากาศในสภาวะที่แตกต่างกันต่อการผลิตน้ำส้มสายชู คือ การหมักในสภาวะการวางฟลาสต์ที่อุณหภูมิห้องผลิตกรดอะซิติกได้สูงกว่า การเขย่า และการให้อากาศจากปั๊ม ส่วนการเจริญของแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 ในสภาวะการวางที่คัดเลือกเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูหมักที่ระยะเวลาการบ่มต่าง ๆ กัน พบว่ามีจำนวนแบคทีเรียมากที่สุดเมื่อบ่มที่ระยะเวลา 5 วัน คือ $2.2x10^{8}$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร ปริมาณกรดอะซิติกร้อยละ 4.11 และปริมาณวิตามินซี 24.88 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

Moonmangmee e. al. (2005). ศึกษาการแยกชนิดของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูทั้งหมด 57 ชนิดที่สามารถแยกได้จากอาหารหมักหลายชนิด โดยสามารถแยกเชื้อยีสต์ตามลักษณะโครงสร้างของเซลล์ คุณสมบัติทางชีวเคมี และลักษณะการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ได้ 3 กลุ่ม ได้แก่ *Acetobacter* , *Gluconobacter* และ *Gluconacetobacter* พบว่า *Acetobacter* sp. PVB2 มีความสามารถในการผลิตกรดอะซิตริกในปริมาณที่มากที่สุด เมื่อนำไปวิเคราะห์ผลทางชีวโมเลกุลโดยเทียบ DNA สามารถระบุสายพันธุ์ได้ คือ *A. tropicalis* PVB2 ซึ่งสามารถใช้เอทานอลในสาโทเป็นแหล่งคาร์บอนในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูที่มีเอทานอลเข้มข้นร้อยละ 5 สามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้ร้อยละ 4 จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง และแบบเขย่าด้วยความเร็ว 200 rpm พบว่าน้ำส้มสายชูที่ผลิตได้จากข้าวเหนียวแดงให้คุณภาพด้านสี กลิ่น และรสชาติดีที่สุด ตามลำดับ

ธนาวรรณ สุขเกษม (2557) ศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 โดยใช้เวลาในการหมัก 12 วัน จากนั้นนำมาศึกษาสูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่มีส่วนผสมของสารให้ความหวานแตกต่างกัน 3 ชนิด ที่ระดับความเข้มข้น 3% ได้แก่ น้ำตาลทราย น้ำตาลฟรุกโทส และกลูโคสไซรัป และนำมาวิเคราะห์คุณภาพของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทางเคมีกายภาพ ทางจุลชีววิทยา และการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค พบว่าน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร มีลักษณะเป็นของเหลวใสสีเหลือง รสชาติเปรี้ยวอมหวาน และมีกลิ่นหมักอ่อน ๆ ในสูตรที่เติมน้ำตาลทราย ส่วนการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ผสมน้ำตาลฟรุกโทสจะมีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด 37 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 3.8 องศาบริกซ์ ปริมาณแอลกอฮอล์หลงเหลือ 3.43 องศาบริกซ์แอลอกอฮอล์ และมีปริมาณกรดอะซิตริก 5.28 % ซึ่งเป็นสูตรที่มีปริมาณกรดอะซิตริกน้อยที่สุด และจากการตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดของน้ำส้มสายชูทั้ง 6 สูตรมีจำนวนเชื้ออยู่ระหว่าง 5.54 – 6.19 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และไม่พบยีสต์ และราในน้ำส้มสายชูหมัก

พร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู และผลิตภัณฑ์น้ำส้มพร้อมดื่ม (มผช.275/2547)

จากการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทางด้านสี กลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม ด้วยวิธี 9 point hedonic scale ใช้ผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน พบว่าสูตรที่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภคมากที่สุด คือ สูตรที่ 2 เป็นน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 ผสมสารละลายฟรุกโทสเข้มข้น 3% จะมีคะแนนความชอบโดยรวม 8.07 ส่วนน้ำส้มสายชูหมักที่ผสมด้วยน้ำตาลทรายจะมีความชอบโดยรวมน้อยที่สุดเท่ากับ 5.5 ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับ 0.05

จิราภรณ์ กระแสเทพ และคณะ (2557). วัตถุประสงค์ของการทำวิจัยในครั้งนี้ เพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณสารกาบ้า สารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยวิธี DPPH radical scavenging และ Ferric Reducing Power Assay (FRAP) ของผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากข้าว 6 ชนิด ได้แก่ ข้าวกล้อง ข้าวกล้องงอก ขนมจีน ขนมจีนข้าวกล้องงอก และขนมจีนข้าวกล้องงอกอบแห้ง โดยใช้สารละลายเมทานอลสกัด จากผลการทดลองพบว่า ในชั้นสารสกัดเมทานอล ข้าวกล้องมีปริมาณของสารประกอบฟีโนลิกสูงที่สุด (0.4352±0.03 มิลลิกรัมสมมูลย์ของกรดแกลลิกต่อกรัมของสารสกัดสด) ข้าวกล้องงอกมีปริมาณสารกาบ้าสูงที่สุดสุด (52.09±0.52 มิลลิกรัมของกาบ้าต่อกรัมของสารสกัดสด) ขนมจีนข้าวกล้องงอกมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระด้วยวิธีดักจับอนุมูลอิสระ DPPH สูงที่สุด ซึ่งรายงานผลเป็นค่า IC50 (0.0043 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร) และข้าวกล้องมีความสามารถในการรีดิวซ์เฟอร์ริกของสารต้านอนุมูลอิสระ (FRAP assay) สูงที่สุด (6.695±44.49 มิลลิโมลของเหล็กต่อกรัมของสารสกัดสด)

พรธิดา วัฒนกูล และคณะ (2557).วัตถุประสงค์ของการศึกษานี้เพื่อเพิ่มผลผลิตสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพและกรดอะซิติกของน้ำส้มสายชูดอกกระเจี๊ยบโดยเชื้อจุลินทรีย์ผสม ไวน์ดอกกระเจี๊ยบถูกผลิตในถังปฏิกรณ์แบบกะ ค่าพารามิเตอร์จลนศาสตร์ที่ได้จากการผลิตไวน์โดย *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5048 มีค่า PMAX เท่ากับ 63.47 กรัมต่อลิตร, QE เท่ากับ2.25 กรัมต่อลิตรต่อชั่วโมง, YP/S เท่ากับ 0.45 และ YX/S เท่ากับ 1.53 การใช้เชื้อจุลินทรีย์ผสมระหว่าง *Acetobacter aceti* TISTR102 และ *Acetobacter cervisiae* TN4497 ในสภาวะที่เหมาะสมจากเอทานอลเริ่มต้น 63.47 กรัมต่อลิตร ตรวจวัดปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด แอนโทไซยานินทั้งหมดและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของน้ำกระเจี๊ยบ ไวน์กระเจี๊ยบ และน้ำส้มสายชูกระเจี๊ยบพบว่ากระบวนการหมักกรดอะซิติกมีผลทา ให้ปริมาณสารประกอบฟินอลิกทั้งหมด แอนโทไซยานินทั้งหมดและคุณสมบัติในการต้านอนุมูลอิสระของกระเจี๊ยบเพิ่มขึ้น ไวน์และน้ำส้มสายชูกระเจี๊ยบมีความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของ DPPH โดยมีค่า EC50 เป็น 16.28 และ 11.89 มิลลิกรัมต่อลิตรตามลำดับ กระบวนการหมักกรดอะซิติกมีผลในปริมาณแอนโทไซยานินและคุณสมบัติการต้านอนุมูลอิสระเพิ่มสูงขึ้นผลการศึกษานี้ชี้ให้เห็นว่าการหมักเป็นวิธีช่วยให้กิจกรรมต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์จากดอกกระเจี๊ยบสูงขึ้น

นฤมล จันทิมา และคณะ (2558) ทำการผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยให้เป็นไปตามมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 โดยทำการศึกษากล้วยน้ำว้า 2 สายพันธุ์ ได้แก่ กล้วยน้ำว้ามะลิอ่อง และกล้วยน้ำว้าค่อม ที่มีระยะการสุก 3 ระยะ คือ สุกน้อย สุก และสุกจัด โดยวางแผนการทดลองแบบสุ่มสมบูรณ์ CRD แบบ 2x3 เมื่อทำการการหมักน้ำส้มสายชูจากกล้วยเป็นเวลา 3 เดือน จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ และทางเคมี พบว่าได้น้ำส้มสายชูจากกล้วยที่มีลักษณะสีเหลืองน้ำตาล มีกลิ่นหอมของกล้วย และกลิ่นกรดอะซิติก มีปริมาณน้ำส้มสายชูหมักจากกล้วยสุกจัดได้ปริมาณกรดมากที่สุด 883.33 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมของกล้วย ในขณะที่ปริมาณกรดที่น้อยที่สุดพบในกล้วยสุกน้อยมีปริมาณน้ำส้มสายชู 700 มิลลิลิตรต่อกิโลกรัมกล้วย ค่าความขุ่นอยู่ระหว่าง 9.30 – 35.70 NTU เมื่อนำไปวัดค่าสี พบว่ากล้วยน้ำว้าค่อมระยะสุกจัดมีค่าความสว่าง (L^*) มากที่สุด คือ 95.1 และกล้วยน้ำว้ามะลิอ่องระยะสุกจัดมีค่าความเข้มสีแดง (a^*) และสีเหลือง (b^*) มากที่สุด คือ -0.4 และ 19.4 ตามลำดับ จากการตรวจสอบคุณค่าทางโภชนาการพบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากกล้วยสุกจัดมีปริมาณโปรตีนมากที่สุด 0.022 กรัม/100 กรัมของกล้วย ปริมาณฟอสฟอรัสจากกล้วยสุกมีมากที่สุด 1.35 มิลลิกรัม /100 กรัมของกล้วย ส่วนกล้วยสุกน้อยจะมีปริมาณฟอสฟอรัสน้อยที่สุด 0.66 มิลลิกรัม /100 กรัมของกล้วย ปริมาณโพแทสเซียมของน้ำส้มสายชูหมักจากกล้วยสุกจัดมีค่ามากที่สุด 5.79 มิลลิกรัม /100 กรัมของกล้วย ปริมาณวิตามินซีอยู่ในช่วง 2.10 – 2.59 มิลลิกรัม ซึ่งพบว่าน้ำส้มสายชูจากกล้วยสุกจัดให้ปริมาณวิตามินซีสูงสุด ปริมาณวิตามินบี 1 มี 0.01 มิลลิกรัม

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยควรใช้ผลกล้วยที่มีระยะเวลาการสุกของผลจัดเพื่อให้ได้คุณค่าทางโภชนาการที่สูงสุด ซึ่งจากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี พบว่าค่า pH อยู่ระหว่าง 2.1 – 2.9 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 10.23 – 34.26 กรัมต่อลิตร ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดอยู่ระหว่าง 4.6 – 9.2 $^{\circ}$Brix ปริมาณกรดอะซิติกอยู่ระหว่างร้อยละ 0.91 – 3.77 ปริมาณแอลกอฮอล์ร้อยละ 2.2 – 4.2 เมื่อนำมาพิจารณาเปรียบเทียบกับมาตรฐานน้ำส้มสายชูตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 พบว่าปริมาณกรดอะซิติกน้อยกว่า 4% และปริมาณแอลกอฮอล์ที่ตกค้างเกิน 0.5% ซึ่งมีคุณภาพไม่ตรงตามมาตรฐานที่กำหนด ส่วนปริมาณสารปนเปื้อน ได้แก่ สารหนู ตะกั่ว ทองแดง สังกะสี และเหล็ก มีค่าน้อยกว่า 1 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งไม่เกินปริมาณที่กำหนด และไม่พบกรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระ การรับประทานน้ำส้มสายชูหมักจากกล้วยด้วยกรรมวิธีการหมักแบบธรรมชาติดีกว่าการรับประทานน้ำส้มสายชูแบบกลั่น เพราะน้ำส้มสายชูหมักจากกล้วยมีคุณค่าทางโภชนาการ ปลอดภัยต่อการบริโภค ง่ายต่อการผลิต และสามารถเป็นเครื่องดื่มช่วยลดการอ่อนล้าของร่างกายได้อีกด้วย

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และสมจิตต์ ปาละกาศ (2553) ประเมินคุณสมบัติการออกฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและฤทธิ์ทางเภสัชของสารสกัดจากข้าวไทย ได้แก่ ข้าวกล้องหอมมะลิแดง (*Oryza sativa* L.) และข้าวเหนียวดำ (*Oryza sativa* var.glutinosa) สารมัธยันต์ หรือน้ำหมักและน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวเหนียวดำ เมื่อนำข้าวไทยทั้ง 2 ชนิดมาทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระโดยใช้อนุมูล DPPH และอนุมูล ATBS พบว่าสารสกัดเอทานอลของน้ำแช่ข้าวกล้องหอมมะลิแดง และข้าวเหนียวดำสามารถกำจัดอนุมูล

อิสระทั้งสองได้ดี แต่ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ ABTS สูงกว่า DPPH โดยน้ำแช่ข้าวเหนียวดำมีปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ DPPH และ ATBS สูงสุดเป็น 564.40±53.07 และ 1,396±41.68 ไมโครโมลโทรลอกซ์ต่อกรัมของสารสกัดตามลำดับ ส่วนการทดสอบความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระของสารสกัดจากน้ำส้มสายชูหมักด้วยข้าวเหนียวดำโดยแบคทีเรียน้ำส้ม 3 ชนิด พบว่าสารสกัดจากน้ำส้มสายชู *A. acetic* TISTR 1074 และ TISTR 103 มีความสามารถในการกำจัดอนุมูล DPPH และอนุมูล ABTS ใกล้เคียงกัน แต่เมื่อพิจารณาสภาวะที่มีปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นต่างกัน พบว่าสารสกัดจากน้ำส้มสายชูหมักด้วยเชื้อทั้ง 2 ชนิดที่หมักด้วยแอลกอฮอล์เริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ มีความสามารถในการต้านอนุมูล DPPH และ ABTS สูงสุดตามลำดับ

และเมื่อนำผลการสกัดเอทานอลของน้ำแช่ข้าว และสารสกัดเอทิลอะซิเทตของน้ำหนักข้าวทั้งสองชนิดมาทดสอบฤทธิ์ในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งตับชนิด Chang cell และเซลล์มะเร็งท่อน้ำดีชนิด RM cell CL6 cells พบว่าสารสกัดเอทิลอะซิเทตของน้ำหมักข้าวเหนียวดำมีความสามารถในการยับยั้งการเจริญของเซลล์มะเร็งสูงสุดแต่ประสิทธิภาพไม่ดีเท่าที่ควร

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และสมจิตต์ ปาละกาศ (2551) ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวเหนียวดำและข้าวกล้องหอมมะลิแดง โดยการหมักร่วมกันของราและรายีสต์บริสุทธิ์ ได้แก่ *Aspergillus oryzae* TISTR 3256 และ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 หมักรวมกับยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จำนวน 3 สายพันธุ์ ได้แก่ Burgundy , Kyokai และ ATCC 5049 พบว่าการหมักข้าวเหนียวดำร่วมกันของ *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 และ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ Kyokai และ ATCC 5049 ที่เติมหัวเชื้อยีสต์ 8 เปอร์เซ็นต์ เป็นเวลา 3 วัน มีการเติมแอมโมเนียมซัลเฟต 0.2 กรัมต่อลิตร และปรับปริมาณของแข็งที่ละลายได้เป็น 22 องศาบริกซ์ สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงสุด โดยให้สีและกลิ่นรสที่ดี เมื่อนำมาพัฒนาเป็นน้ำส้มสายชูหมัก พบว่าแบคทีเรียน้ำส้ม 2 สายพันธุ์ คือ *Acetobacter aceti* TISTR 103 และ *Acetobacter aceti* TISTR 1074 สามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้สูงเทียบเท่ามาตรฐานสากล เมื่อเลี้ยง *Acetobacter aceti* TISTR 103 ด้วยน้ำหมักข้าวเหนียวดำที่ปรับปริมาตรเริ่มต้นเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ และปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้น 8 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงถึงเกือบ 10 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกับการหมัก *Acetobacter aceti* TISTR 1074 พบว่าสามมารถผลิตน้ำส้มสายชูได้ดีเมื่อปรับน้ำข้าวเหนียวดำให้มีปริมาณกรดเริ่มต้นเท่ากับ 2 เปอร์เซ็นต์ และปรับปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้น 10 เปอร์เซ็นต์ สามารถผลิตน้ำส้มสายชูได้สูงเกือบ 10 เปอร์เซ็นต์เช่นกัน

ชัชชญา กาบรินชัย ธวัชชัย ศุภวิทิตพัฒนา และปิยวรรณ ศุภวิทิตพัฒนา. (2556). ได้ศึกษาสัดส่วนของน้ำส้ม น้ำส้มสายชูหมัก และฟรุกโตสไซรัปที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากน้ำแช่ข้าวซึ่งเป็นของเหลือทิ้งจากโรงงานผลิตก๋วยเตี๋ยวมาเป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก พบว่า สัดส่วนที่เหมาะสม ได้แก่ น้ำส้ม 30% น้ำส้มสายชูหมัก 2.79% และฟรุกโตสไซรัป 12.80% และเมื่อนำไปวิเคราะห์คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจะมีปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายน้ำได้ 21.78 $^{\circ}$Brix ค่าความเป็นกรด-ด่าง 3.69 ปริมาณกรดทั้งหมดในรูปกรดอะซิตริก 0.32% ค่าสี L^{*} 43.07 a* 4.35 b* 18.10 ได้รับ

คะแนนความชอบจากการประเมินผลทางประสาทสัมผัสด้านสี, กลิ่น, รส, ความหวาน, ความเปรี้ยว และความชอบโดยรวม เท่ากับ 7.20, 6.80, 7.04, 7.01, 6.99 และ 7.09 ตามลำดับ ฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระและปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของน้ำส้มสายชูหมักมีค่ามากกว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม สารให้กลิ่นรสที่มีมากที่สุด คือ Ethyl acetate รองลงมา คือ Ethanol

นาฎจรี ภูมิศักดิ์ อนัญญา พิมดา อังคณา จันทรพลพันธ์. (2559). ศึกษาสูตรที่เหมาะสมในการผลิตน้ำเชื่อมกลิ่นเสาวรสโดยใช้วิธีการพื้นผิวตอบสนอง (Response Surface Methodology, RSM) เพื่อให้ได้สูตรที่เหมาะสมในการผลิตน้ำเชื่อมกลิ่นเสาวรสนี้จึงวางแผนการทดลองแบบ Central Composite Dsign (CCD) โดยศึกษา 3 ปัจจัย ได้แก่ ความเข้มข้นน้ำเสาวรส 45 – 55% ปริมาณน้ำตาลทราย 30 – 40% และแซนแทนกัม 0.2 – 0.4% นำมาประเมินความมาหนืด ความขุ่น และคุณลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำเชื่อมกลิ่นเสาวรสด้วยวิธีการาให้คะแนนความชอบ 9 คะแนน (9-point hedonic scale) และใช้เป็นดัชนีบ่งชี้คุณภาพของผลิตภัณฑ์จากการทดสอบคุณลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่าสูตรที่เหมาะสมในการผลิตน้ำเชื่อมกลิ่นเสาวรสที่ดีที่สุด ได้แก่ น้ำเสาวรสเข้มข้น 55% น้ำตาลทราย 40% และแซนแทนกัม 0.2%

อัสนี วิจิตระกะ และนวลพรรณ ณ ระนอง. (2551). ศึกษาปัจจัยที่คัดเลือกอาหารน้ำมะพร้าวจำนวน 6 ปัจจัย คือ ผงสกัดจากเนื้อ ผงสกัดจากยีสต์ เปปโทน โซเดียมซิเตรต ทวีน 80 และโซเดียมอะซิเตต เพื่อใช้ในการหาองค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อที่เหมาะสมในการผลิตไดอะซิติลในการเพาะเลี้ยง *Lactobacillus pentosus* SR 4-2 โดยวางแผนการทดลองแบบเศษส่วนเชิงแฟคทอเรียลแบบ 2 ระดับ และวิธีพื้นผิวผลตอบสภาวะที่เหมาะสมที่สุด (กรัมต่อลิตร) ที่ส่งผลต่อการผลิตไดอะซิติลได้สูงสุด ได้แก่ ผงสกัดจากเนื้อ, ผงสกัดจากยีสต์, เปปโทน, ทวีน 80, โซเดียมอะซิเตต และไตรโซเดียมซิเตรท เท่ากับ 7.5, 7.15, 7.5, 0.75, 2.5 และ 47.47 มิลลิโมล หรือ 13.90 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ สามารถผลิตไดอะซิติล อะซิโทอิน และน้ำหนักเซลล์แห้งได้ 0.228 มิลลิโมล 4.88 มิลลิโมล และ 1.99 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ใกล้เคียงกับค่าจากแบบจำลอง (R^2=0.9797) เมื่อเพาะเลี้ยง *L. pentosus* SR 4-2 ในถังหมักขนาด 10 ลิตร พบว่าสายพันธุ์ SR 4-2 ผลิตไดอะซิติล อะซิโทอิน และน้ำหนักเซลล์แห้งได้สูงสุด เท่ากับ 0.204 มิลลิโมล 5.05 มิลลิโมล และ 1.96 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 วัตถุดิบ

3.1.1 มะขาม 4 สายพันธุ์ ได้แก่

พันธุ์สีทอง (Sri Thong) พันธุ์ประกายทอง (Pra Kai Thong) พันธุ์ศรีชมภู (Sri Chomphu) และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ (Priaw yak)

3.1.2 น้ำตาลทราย (Sucose)

3.1.3 น้ำผึ้ง (Fructose syrup)

3.2 สารเคมี

3.2.1 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH)

3.2.2 ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

3.2.3 โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium metabisulfite (KMS))

3.2.4 สารละลายเปปโตน (Peptone)

3.2.5 4% กรดเมตาฟอสฟอริก (4% Metaphosphoric acid)

3.2.6 อะซิโตน (Acetone)

3.2.7 สารละลายมาตรฐานของวิตามินซี (Ascorbic acid)

3.2.8 95% เอทิลแอลกอฮอล์ (95% ethyl alcohol)

3.2.9 กรดแกลลิก (Gallic acid)

3.2.10 สารละลายฟอลิน (Folin Ciocalteu reagent)

3.2.11 สารละลายโซเดียมคาร์บอเนต (Sodium carbonate; Na_2CO_3)

3.2.12 2,2 ไดฟีนิลไพซิลไฮดราไซน์ (2,2-Diphenylpicrylhydrazine; DPPH)

3.2.13 0.1% สารละลาย 2,6 ไดคลอโรฟีนิลอินโดฟีนอล (2,6-dichlorophenlindophenol)

3.2.14 เบนโทไนต์ (Bentonite)

3.2.15 กรดไฮโดรคลอริก (Hydrochloric acid; HCl)

3.2.16 กรดไนตริก (Nitric acid; HNO_3)

3.2.17 อาร์เซนิกไตรออกไซด์ (Arsenic trioxide; AS_2O_3)

3.2.18 เลด (II) ไนเตรต (Lead (II) nitrate; $Pb(NO_3)_2$)

3.2.19 คอปเปอร์ (II) ซัลเฟต หรือจุนสี (Copper (II) sulfate; $CuSO_45H_2O$)

3.2.20 สังกะสีบริสุทธิ์ (Zn)

3.2.21 เหล็กบริสุทธิ์ (Fe)

3.3 วัสดุ และอุปกรณ์

3.3.1 เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง

3.3.2 เครื่องปั่น (Blender)

3.3.3 เครื่องผสมสารละลาย (Vortex mixture)

3.3.4 เครื่องเขย่า (Platform shaker) รุ่น innova™ 2000

3.3.5 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

3.3.6 ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร พร้อมจุกยาง

3.3.7 บิวเรต พร้อมขาตั้ง

3.3.8 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.3.9 ขวดปรับปริมาตร (Volumetric flask) ขนาด 100 และ 1,000 มิลลิลิตร

3.3.10 บีกเกอร์ (Beaker)

3.3.11 จานเพาะเชื้อ (Petridish)

3.3.12 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.3.13 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.3.14 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air-flow cabinet)

3.3.15 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave**)**

3.4 เครื่องมือที่ใช้ในการทดสอบ

3.4.1 เครื่องวัดค่าสี (Universal Hunter Lab) รุ่น Colour Flex

3.4.2 เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer) รุ่น Dujardin salleron

3.4.3 เครื่องวัดแอลกอฮอล์ (Hand held alcohol refractometer) ยี่ห้อ ATAGO รุ่น AL-21a

3.4.4 เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (UV-vis spectrophotometer) รุ่น UV-1700 Shimadzu

3.4.5 เครื่องอะตอมมิกแอบซอร์พชัน (Atomic absorption Spectrometer; AAS) รุ่น Avanta

3.4.6 เครื่องวัดของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer) ยี่ห้อ ATAGO รุ่น PAL-1

3.4.7 เครื่องนับจำนวนโคโลนี (Colony counter) ยี่ห้อ Suntex รุ่น 570

3.4.8 เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter) รุ่น Mettler Toledo

3.5 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทริย์

3.5.1 สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

3.5.2 สูตรอาหาร Plate count agar (PCA)

3.6 เชื้อจุลินทรีย์

3.6.1 เชื้อยีสต์เชิงการค้า (bakery's yeast)

3.6.2 เชื้อยีสต์บริสุทธิ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5339 , TISTR 5339 , TISTR 5015 และ TISTR 5019

3.6.3 เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102

3.6.4 เชื้อแบคทีเรีย *Gluconobacter krungthepensis*

3.7 วิธีการทดลอง

ในการทดลองการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ที่ปลูกในจังหวัดเพชรบูรณ์ ในการศึกษาครั้งนี้จะดำเนินการวิจัยเป็น 8 ขั้นตอน คือ

ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

ตอนที่ 2 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

(1) กระบวนการหมักแอลกอฮอล์

(2) กระบวนการหมักกรดอะซิติก

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และทางจุลชีววิทยาของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ

ตอนที่ 5 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม

ตอนที่ 6 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

ตอนที่ 7 การวิเคราะห์หาปริมาณสารปนเปื้อน

ตอนที่ 8 การวิเคราะห์ข้อมูล

ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

นำมะขามหวาน 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์สีทอง พันธุ์สีชมภู พันธุ์ประกายทอง และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ ที่มีอายุหลังการเก็บเกี่ยว 30 – 45 วัน น้ำหนักเฉลี่ยต่อฝักใกล้เคียงกันมาทำการแกะเมล็ด และคั้นน้ำในอัตราส่วนระหว่างน้ำ : เนื้อมะขาม ในอัตรา 2 : 1 กรองแล้วเก็บสารละลายส่วนใสไว้ในถุงที่ปิดสนิทเก็บเข้าแช่ไว้ในตู้เย็น 4 $^{\circ}$C เพื่อรอนำไปใช้ในกระบวนการหมักในขั้นตอนต่อไป

ตอนที่ 2 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

1. กระบวนการหมักไวน์มะขาม

1.1 นำมะขามจากกระบวนการเตรียมตัวอย่างข้างต้นมาทำการหมักเพื่อผลิตไวน์มะขาม โดยใช้อัตราส่วนของเนื้อมะขาม : น้ำ เท่ากับ 1 : 2 (w/v) ปรับให้มีปริมาตร 1 ลิตร

1.2 นำน้ำมะขามที่คั้นได้มาปรับให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ให้เท่ากับ 20 $^{\circ}$Brix ด้วยสารละลายซูโครส และปรับค่าความเป็นกรด – ด่างให้เท่ากับ 4.0 – 4.5 ด้วยสารละลายกรดซิตริก แบ่งน้ำมะขามออกเป็น 2 ส่วน

ส่วนที่ 1 เตรียมน้ำมะขามใส่ขวดแก้วที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว เติม KMS ความเข้มข้น 150 ppm ปล่อยตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมง

ส่วนที่ 2 เตรียมหัวเชื้อไวน์ (Starter) โดยนำน้ำมะขาม ปริมาตร 10% ฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งอัดความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เมื่อทำการฆ่าเชื้อเสร็จเรียบร้อยทำการเติมหัวเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์บริสุทธิ์ 4 สายพันธุ์ และสายพันทางการค้า 1 สายพันธุ์ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.3 จากนั้นถ่าย starter (ส่วนที่ 2) ปริมาตร 5% ลงในน้ำมะขาม (ส่วนที่ 1) ที่ทำการกรองแล้วลงในถังหมักแล้วปิดด้วยจุกสำลี

1.4 นำไปหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 - 30 วัน จะได้ผลิตภัณฑ์ไวน์จากมะขาม 10% แอลกอฮอล์ มีปริมาตรสุทธิ 1,000 มิลลิลิตร

1.5 เมื่อครบกำหนดเวลาให้ทำการหยุดกระบวนการหมักด้วยการเติม KMS 150 ppm ลงไปเพื่อหยุดปฏิกิริยาการทำงานของยีสต์ ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.6 จากนั้นทำการตกตะกอนเนื้อมะขามด้วยสารละลาย 10% bentonite ปริมาตร 4% ของไวน์มะขาม เป็นเวลา 24 ชั่วโมง

1.7 ทำการกรองไวน์มะขามแยกส่วนใสบรรจุลงในภาชนะที่ฆ่าเชื้อแล้ว นำไปเก็บรักษาไว้ที่อุณหภูมิ 5 – 15 องศาเซลเซียส

1.8 นำผลิตภัณฑ์ไวน์จากมะขามทำการตรวจวิเคราะห์ค่าความหวาน ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่า pH ค่าเปอร์เซ็นต์กรดทั้งหมด แล้วเก็บไว้เพื่อนำไปทดลองในขั้นตอนต่อไป

2. กระบวนการหมักน้ำส้มสายชูมะขาม

<u>การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น</u> (Starter)

(1) นำน้ำมะขามแต่ละสายพันธุ์ใส่ลงในฟลาสต์ ปริมาตร 350 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่หม้อนึ่งความดันไอน้ำ ที่อุณหภูมิ 121 องศเซลเซียส 15 นาที ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว

(2) พอน้ำมะขามที่ผ่านการฆ่าเชื้อเรียบร้อยแล้วนำเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู 2 สายพันธุ์มาเขี่ยลงในน้ำมะขามจำนวน 2 ลูป ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ปิดจุกสำลี แล้วตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง

เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะได้หัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) จากสายพันธุ์แบคทีเรีย 2 สายพันธุ์ (สายพันธุ์มะขามประกายทอง สีทอง ศรีชมภู และมะขามเปรี้ยวยักษ์ใช้หลักการเดียวกัน)

<u>การขยายหัวเชื้อน้ำส้มสายชู</u>

(1) นำ starter จากขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นมาทำการขยายหัวเชื้อน้ำส้มสายชูให้มีปริมาตร 1 ลิตร ดังนี้

การขยายหัวเชื้อชนิดที่ 1 เชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ปริมาตร 1 ลิตร

ผสมหัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) ปริมาตร 350 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำมะขามที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 300 มิลลิลิตร และเติมไวน์มะขาม ปริมาตร 350 มิลลิลิตร สายพันธุ์สีทอง ศรีชมภู และมะขามเปรี้ยวยักษ์ใช้หลักการเดียวกัน)

การขยายหัวเชื้อชนิดที่ 2 เชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*

ผสมหัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) ปริมาตร 350 มิลลิลิตร ใส่ในน้ำมะขามที่ฆ่าเชื้อแล้วปริมาตร 300 มิลลิลิตร และเติมไวน์มะขาม ปริมาตร 350 มิลลิลิตร สายพันธุ์สีทอง ศรีชมภู และมะขามเปรี้ยวยักษ์ใช้หลักการเดียวกัน)

(2) นำส่วนผสมจากการขยายเชื้อชนิดที่ 1 และ 2 เทลงในถาดสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้วด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

(3) จากนั้นปิดคลุมถาดสแตนเลสด้วยแผ่นพลาสติกใส รัดด้วยเชือกหรือยางให้แผ่นพลาสติกมีลักษณะตึงไม่หย่อนไปโดนส่วนผสมในถาด

(4) ทำการเจาะรูเล็ก ๆ ให้ทั่วแผ่น ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 – 4 วัน จะได้หัวเชื้อน้ำส้มสายชูขนาด 1 ลิตร

<u>การผลิตน้ำส้มสายชูหมัก</u>

จากนั้นนำหัวเชื้อน้ำส้มสายชูหมักในขั้นตอนขยายหัวเชื้อปริมาตร 1 ลิตร มาผสมรวมกับไวน์มะขามปริมาณ 1 ลิตร โดยใช้อัตราส่วนหัวเชื้อ : ไวน์ เท่ากับ 1 : 1 ทำการบ่มน้ำส้มสายชู 2 วิธี ได้แก่

วิธีที่ 1 Rapid tray method

(1) นำหัวเชื้อน้ำส้มสายชูผสมกับไวน์มะขามในอัตราส่วน 1 : 1 (v/v) ผสมลงในถาดสแตนเลสที่ฆ่าเชื้อแล้วโดยเทคนิคปลอดเชื้อ

(2) คลุมถาดสแตนเลสด้วยแผ่นพลาสติกเจาะรู หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำส้มสายชูหมัก

(3) นำมากรอง และต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียน เป็นเวลานาน 5 นาที จากนั้นนำบรรจุขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

(4) หัวเชื้อน้ำส้มสายชูชนิดที่ 2 ดำเนินการหมักตามขั้นตอนเดียวกับหัวเชื้อชนิดที่ 1 (ดัดแปลงจาก มาลัย เมืองน้อย, 2555 และธนาวรรณ สุขเกษม, 2557)

(5) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ รวมถึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีโนลิก และสารต้านอนุมูลอิสระ

วิธีที่ 2 Shake flask method

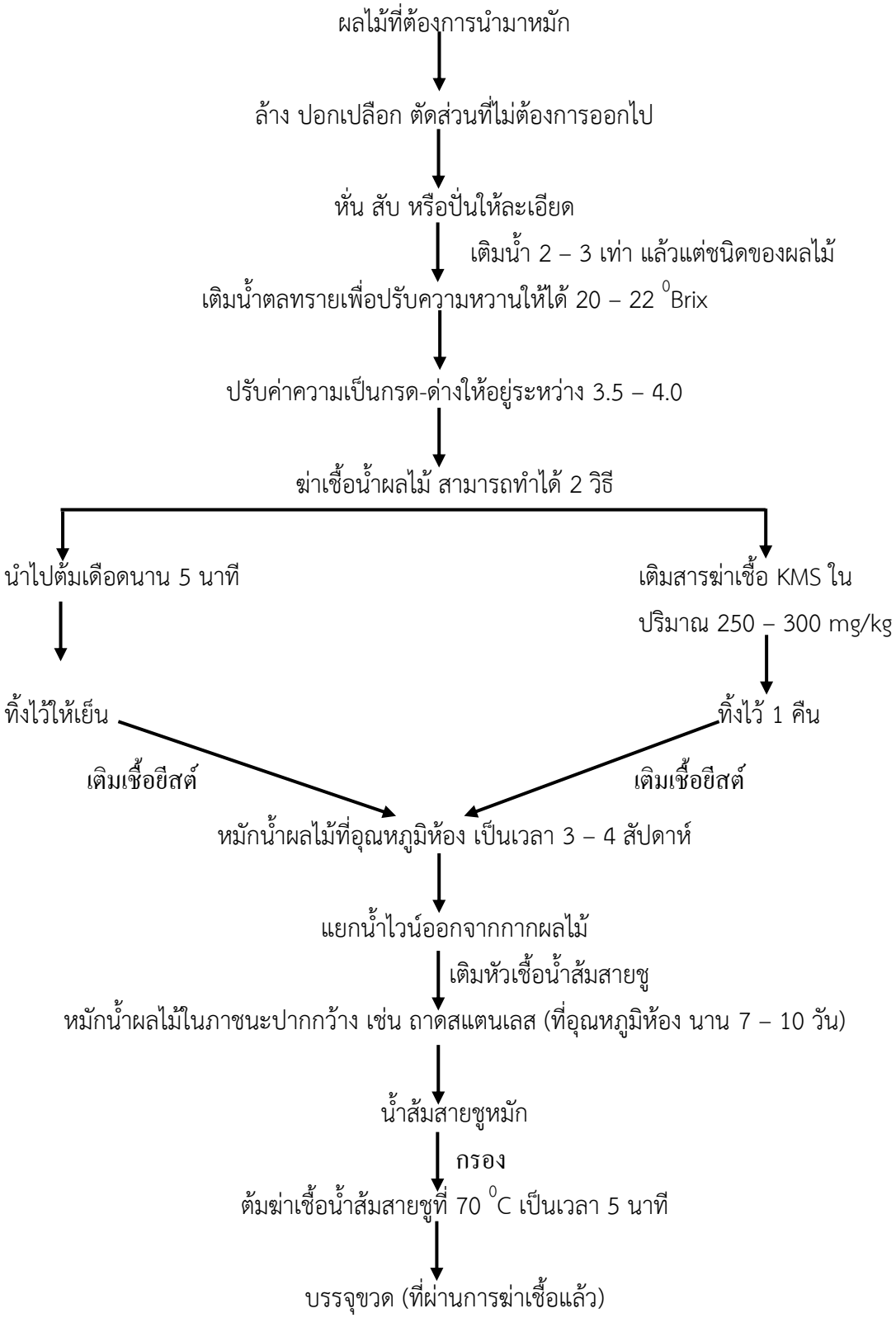
(1) นำหัวเชื้อน้ำส้มสายชูผสมกับไวน์มะขามในอัตราส่วน 1 : 1 (v/v) ผสมลงในขวดรูปชมพูที่ฆ่าเชื้อแล้วโดยเทคนิคปลอดเชื้อ

(2) ปิดปากขวดด้วยจุกสำลี นำไปบ่มบนเครื่องเขย่าทีความเร็วรอบ 1,000 รอบต่อนาที หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 7 วัน จะได้ผลิตภัณฑ์เป็นน้ำส้มสายชูหมัก

(3) นำมากรอง และต้มฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียน เป็นเวลานาน 5 นาที จากนั้นนำบรรจุขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

(4) หัวเชื้อน้ำส้มสายชูชนิดที่ 2 ดำเนินการหมักตามขั้นตอนเดียวกับหัวเชื้อชนิดที่ 1 (ดัดแปลงจาก มาลัย เมืองน้อย, 2555 และธนาวรรณ สุขเกษม, 2557)

(5) จากนั้นนำผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม ไปวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เคมี และชีวภาพ รวมถึงนำไปวิเคราะห์หาปริมาณสารฟีโนลิก และสารต้านอนุมูลอิสระ



ภาพที่ 3.1 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

ที่มา : มาลัย และพิสมัย, 2555

ตอนที่ 3 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และทางจุลชีววิทยาของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* และ *Gluconobacter krungthepensis* ในระดับความเข้มข้น 10 %

ก. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)

1. การสังเกตลักษณะทั่วไปของน้ำส้มสายชูหมัก

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เป็นการทดสอบลักษณะของสี โดยการนำตัวอย่างการทดลองมาเทลงในแก้วใสโดยมีกระดาษสีขาวเป็นฉากหลัง ตรวจสอบโดยการสังเกตสีของผลิตภัณฑ์ การทดสอบลักษณะของกลิ่น โดยการนำตัวอย่างการทดลองมาเทลงในแก้วใส โดยทดสอบด้วยการดม การทดสอบลักษณะของทั่วไปโดยการนำตัวอย่างการทดลองมาเทลงในแก้วใสแล้ววางทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นตรวจสอบลักษณะที่ได้ว่ามีสารตกตะกอนหรือปนเปื้อนหรือไม่

2. การวัดค่าสี ด้วย Hunter LAB

2.1 เตรียมตัวอย่างน้ำส้มสายชูปริมาตร 20 มิลลิลิตร มาใส่ลงในบีกเกอร์

2.2 เตรียม glass cell ที่สะอาดก่อนนำมาบรรจุตัวอย่าง

2.3 นำตัวอย่างน้ำส้มสายชูเทลงใน glass cell โดยให้ระดับความสูงของตัวอย่างอยู่ที่ ¾ ของ glass cell

2.4 วาง glass cell ที่บรรจุตัวอย่างแล้ว วางลงบนช่องอ่านค่าสีทางด้านบนของเครื่อง แล้วครอบด้วยฝาครอบสีขาวมาตรฐานเพื่อป้องกันแสงจากแหล่งอื่น

2.5 กดอ่านค่าที่เครื่องวัดค่าสี รอให้ผลค่าสีหยุดนิ่ง บันทึกค่าสีที่ได้จากเครื่องเป็นค่า L^*, a^*, b^* และทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ แล้วหาค่าเฉลี่ย X Y Z และ L a b ของตัวอย่างน้ำส้มสายชู

2.6 นำมาคำนวณหาค่า color difference (ΔE)

2.7 หลังจากวัดค่าสีเรียบร้อยแล้ว ทำความสะอาด cell ด้วยน้ำกลั่น แล้วเช็คให้แห้ง (ภาคผนวก ข)

ข. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

1. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก (% Acetic acid)

1.1. ปิเปตตัวอย่างน้ำส้มสายชู 10 ml ลงใน erlenmeyer flask จำนวน 3 flask

1.2 หยดฟีนอล์ฟทาลีนเป็นอินดิเคเตอร์ flask ละ 2 - 3 หยด

1.3 ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 1 N NaOH จากบิวเรต จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูอ่อนๆ คงที่ภายในเวลา 20 วินาที ซึ่งเป็นจุดยุติของปฏิกิริยา

1.4 บันทึกปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ใช้ ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

1.5 นำปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่ได้นำมาคำนวณหาปริมาณกรดอะซิตริกในตัวอย่างน้ำส้มสายชู (ภาคผนวก ข)

2. *การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ (Alcohol content)* โดย Hand alcohol refractometer

2.1 การตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่อง Hand alcohol refractometer ทุกครั้ง ต้องทำการปรับมาตรฐานของเครื่องให้มีค่าเริ่มต้นเท่ากับศูนย์ โดยการหยดน้ำกลั่นบนแผ่นปริซึม แล้วปรับให้สเกลเท่ากับศูนย์ แล้วเช็ดให้แห้ง

2.2 นำหลอดดูดตัวอย่างน้ำส้มสายชูโดยหยดลงบนแผ่นปริซึม ปิดด้วยฝาครอบพลาสติก แล้วส่องมองผ่านช่องไปทางด้านที่มีแสง จะมองเห็นเป็นแถบสีแสดงระดับดีกรีแอลกอฮอล์

2.3 จากนั้นอ่านค่าตัวเลขได้ตามเสกลที่เครื่องวัดได้ มีหน่วยเป็น °ABV หรือ Alcohol By Volume แล้วทำการบันทึกผล ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.4 หลังจากการตรวจวัดทุกครั้งต้องล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วใช้กระดาษซับให้แห้งก่อนเก็บ

3. *การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ (Alcohol content)* โดย Ebluliometer

3.1 ประกอบเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์ตามภาพประกอบ (ภาคผนวก ข)

3.2 ทำการหาจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ก่อน โดยนำน้ำบริสุทธิ์มาต้มจนเดือดจนอุณหภูมิคงที่ 15 – 30 วินาที อ่านค่าอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ ตั้งค่าอุณหภูมิบนแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

3.3 จากนั้นนำตัวอย่างน้ำส้มสายชู 50 มิลลิลิตร มาต้มในช่องใส่ตัวอย่าง

3.4 ต้มตัวอย่างน้ำส้มสายชูจนกระทั่งเดือด รอจนกระทั่งให้อุณหภูมิจุดเดือดของตัวอย่างน้ำส้มสายชูคงที่

3.5 นำอุณหภูมิที่อ่านค่าได้ไปเทียบกับปริมาณแอลกอออล์บนแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

4. *การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid)*

4.1 การวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดโดยเครื่อง Hand Refractometer ทุกครั้งต้องทำการปรับมาตรฐานของเครื่องให้มีค่าเริ่มต้นเท่ากับศูนย์ โดยการหยดน้ำกลั่นบนแผ่นปริซึม แล้วปรับให้สเกลเท่ากับศูนย์ แล้วเช็ดให้แห้ง

4.2 นำหลอดดูดตัวอย่างน้ำส้มสายชูโดยหยดลงบนแผ่นปริซึม ปิดด้วยฝาครอบพลาสติก (พยายามให้มีฟองอากาศ) แล้วส่องมองผ่านช่องทางด้านที่มีแสง จะมองเห็นเป็นแถบสีแสดงระดับน้ำตาล

4.3 จากนั้นอ่านค่าตัวเลขที่ได้ตามเสกล ที่เครื่องวัดได้ มีหน่วยเป็น °Brix แล้วทำการบันทึกผล ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

4.4 ทำเช่นเดียวกับการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์

5. *การวิเคราะห์ปริมาณความเป็นกรด-ด่าง (pH)*

5.1 เตรียมตัวอย่างน้ำส้มสายชูปริมาตร 45 – 50 มิลลิลิตร ใส่ในบิกเกอร์

5.2 ปรับเทียบมาตรฐานของ pH meter ก่อนการใช้โดยการปรับเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน pH 4 , 7 หรือ 10 อย่างน้อย 2 ค่า ที่มีค่าครอบคลุมในช่วงที่เราต้องการวัด

5.3 ล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) หรือน้ำกลั่น (distilled water) และซับด้วยกระดาษทิชชูก่อนการวัดตัวอย่างน้ำส้มสายชู

5.4 จากนั้นจุ่มอิเล็กโทรดลงในตัวอย่างน้ำส้มสายชูอย่างรวดเร็ว จากนั้นรอให้ค่า pH แสดงเป็นตัวเลขขึ้นบนหน้าจอเครื่อง ทำการบันทึกผล ทำการทดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

5.5 หลังจากการตรวจวัดต้องล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วเช็ดให้แห้งทุกครั้ง

6. *การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม (Vitamin C content)*

6.1 นำน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มแต่ละสูตร ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ใส่ใน flask เติมสารละลาย 4% metaphosphoric acid 5 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

6.2 นำมาไตเตรทกับสารละลาย 0.1% indophenol dye จนกระทั่งถึงจุดยุติที่มีการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเป็นสีชมพูจาง ๆ ประมาณ 15 วินาที

6.3 จดปริมาตรของสารละลาย indophenol dye ที่ถูกใช้ไป แล้วนำมาเปรียบเทียบกับปริมาตรของสารละลาย indophenol dye ที่ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานของวิตามินซี (ใช้หลักการเดียวกันกับไตเตรทน้ำส้มสายชู)

6.4 นำมาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูพร้อมดื่มในแต่ละสูตร แต่ละสูตรทำการทดลดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ ในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ข)

7. *การวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม (Reducing sugar)* (ดัดแปลงวิธีของ Muller, 1959 และขนิษฐา เอี่ยมลออ, 2555 อ้างอิงวิธีของธัญญกาญจน์ และคณะ, 2553)

7.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

7.2 เติมสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ผสมลงในตัวอย่างน้ำส้มสายชู

7.3 นำหลอดทดลองที่มีส่วนผสมตัวอย่างน้ำส้มสายชูกับสารละลาย DNS มาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว

7.4 จากนั้นนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เป็นเวลา 5 นาที จนสารละลายเย็น แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดทดลอง 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันโดย vortex mixer

7.5 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาว 540 นาโนเมตร โดยใช้สารละลาย DNS เป็น Blank ทำการทดลดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

7.6 นำมาการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างน้ำส้มสายชูมาเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในสารละลายตัวอย่าง หรืออาจจะใช้วิธีการคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน (ภาคผนวก ข)

8. การทดสอบหากรดกำมะถัน หรือกรดแร่อิสระ (Mineral acid content) (ดัดแปลงจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

8.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม ปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask

8.2 เติมสารละลาย methyl violet ความเข้มข้น 0.1% ลงไป 4 – 5 หยด ผสมลงในตัวอย่างน้ำส้มสายชู เขย่าให้เข้ากัน

8.3 สังเกตการณ์เปลี่ยนแปลงของตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างน้ำส้มสายชูเป็นสีน้ำเงินหรือสีเขียวปรากฏแสดงว่าในตัวอย่างน้ำส้มสายชูมีส่วนผสมของกรดแร่หรือกรดกำมะถันเป็นองค์ประกอบ แต่ถ้าไม่พบการเปลี่ยนแปลงใด ๆ แสดงว่าตัวอย่างน้ำส้มสายชูไม่พบกรดแร่อิสระหรือกรดกำมะถัน (ภาคผนวก ข)

ค. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties)

1. การนับจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (Total bacteria)

การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยาโดยวิธีการนับจำนวนจุลินทรีย์รวม โดยใช้อาหาร Plate count agar (PCA) ด้วยเทคนิคการ pour plate จากนั้นนำไปบ่มที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จะเกิดโคโลนีเดี่ยวๆ ของจุลินทรีย์ขึ้นมา จากนั้นนำมาทำการนับจุลินทรีย์ด้วยเครื่องนับจำนวนโคโลนี แล้วทำการบันทึกผล (ภาคผนวก ค)

2. การนับจำนวนยีสต์และรา (Yeast and Mould)

การวิเคราะห์ทางด้านจุลชีววิทยาโดยวิธีการนับปริมาณยีสต์และราโดยใช้อาหาร Potato dextrose agar (PDA) ด้วยเทคนิคการ spread plate จากนั้นนำไปบ่มที่ตู้ควบคุมอุณหภูมิ ที่มีอุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 – 5 วัน จะเกิดโคโลนีของเชื้อยีสต์ และราขึ้นมา จากนั้นนำมาทำการนับด้วยเครื่องนับจำนวนโคโลนี แล้วทำการบันทึกผล (ภาคผนวก ค)

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์หาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic compound contents) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activities)

ก. การวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic contents) โดยวิธี Folin - Ciocalteu method (ดัดแปลงจากวิธี ธนาวรรณ สุขเกษม., 2551)

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง (ถ้าสารละลายตัวอย่างขุ่นให้นำไปปั่นเหวี่ยง และแยกเอาส่วนใสมาทำการวิเคราะห์)

2. จากนั้นเติมสารละลาย 10% Folin - Ciocalteu reagent ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน เพื่อให้ทำปฏิกิริยา 6 นาที (ทำปฏิกิริยาภายใต้สภาวะไม่มีแสง)

3. หลังจากทำปฏิกิริยาแล้วเติม 7% Sodium carbonate ปริมาตร 1.5 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 3 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเกิดปฏิกิริยาสารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำเงิน

4. นำสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (A_{760}) ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

5. คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อ 100 มิลลิลิตร (mg Gallic acid/ 100 ml) (Gallic acid equivalents ,GAE) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค (ภาคผนวก ค)

ข. การทดสอบฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activities) โดยวิธี DPPH radical scavenging activity (ดัดแปลงจากวิธี Lee et *al*., 2002 และประภาพรรณ. 2551)

1. ปิเปตสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก 1.0 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลองห่อฟลอย์ (ถ้าสารละลายตัวอย่างขุ่นให้นำไปปั่นเหวี่ยง และแยกเอาส่วนใสมาทำการวิเคราะห์)

2. จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 30 นาที

3.นำสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

4. เตรียมตัวอย่างควบคุม (control) โดยปิเปตเมทานอล (แทนตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก) 1.0 มิลลิลิตรผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร ทำการทดสอบเช่นเดียวกับตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก

5. คำนวณหากิจกรรมการยับยั้งอนุมูลอิสระในหน่วยร้อยละ (% DPPH scacenging activity) (ภาคผนวก ค)

ตอนที่ 5 การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม

จากการวิจัยได้ศึกษากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูจากมะขาม 4 สายพันธุ์ที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* ในสภาวะที่เหมาะสม และนำมาต่อยอดในเชิงพาณิชย์เป็นเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มเพื่อสุขภาพ โดยได้ทำการศึกษาชนิดของสารให้ความหวาน (Sweetener) ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย (Sucrose) น้ำผึ้ง (Fructose syrup) และกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) ที่ความเข้มข้น 3 % จากนั้นนำไปทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อไป สูตรน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่มแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากมะขาม 4 สายพันธ์ที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 (A) โดยวิธี Rapid tray method

Treatment	Tamarind variety	Acetic acid bacteria (10%)	Sweetener (3%)	Abb.
1	Pra Kai Thong (PKT)	*Acetobacter aceti* TISTR 102	Fructose syrup (S_1)	PKT-S1
2			Sucrose (S_2)	PKT-S2
3			Glucose syrup (S_3)	PKT-S3
4	Sri Thong (ST)	*Acetobacter aceti* TISTR 102	Fructose syrup (S_1)	ST-S1
5			Sucrose (S_2)	ST-S2
6			Glucose syrup (S_3)	ST-S3
7	Sri Chomphru (SC)	*Acetobacter aceti* TISTR 102	Fructose syrup (S_1)	SC-S1
8			Sucrose (S_2)	SC-S2
9			Glucose syrup (S_3)	SC-S3
10	Priaw yak (PY)	*Acetobacter aceti* TISTR 102	Fructose syrup (S_1)	PY-S1
11			Sucrose (S_2)	PY-S2
12			Glucose syrup (S_3)	PY-S3

หมายเหตุ : A = *Acetobacter aceti* TISTR 102

S_1 = Sucrose , S_2 = Fructose syrup และ S_3 = Glucose syrup

ตอนที่ 6 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evaluation)

จากการศึกษาสูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขาม โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบระหว่างการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* จำนวน 24 สูตร แล้วนำมาทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทางด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมจากผู้เข้าร่วมทดสอบจำนวน 30 คน โดยใช้แบบทดสอบชิม 9 point Hedonic scale ซึ่งเป็นการทดสอบความชอบของผลิตภัณฑ์โดยการให้คะแนนกับผลิตภัณฑ์ที่มีความชอบมากที่สุดตามระดับคะแนน ดังนี้

คะแนน	9	ชอบมากที่สุด
คะแนน	8	ชอบมาก
คะแนน	7	ชอบปานกลาง
คะแนน	6	ชอบเล็กน้อย
คะแนน	5	เฉย ๆ

คะแนน	4	ไม่ชอบเล็กน้อย
คะแนน	3	ไม่ชอบปานกลาง
คะแนน	2	ไม่ชอบมาก
คะแนน	1	ไม่ชอบมากที่สุด

โดยมีการให้รหัสกับผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักแต่ละสูตร เพื่อป้องกันการเกิดอคติต่อตัวผลิตภัณฑ์ ซึ่งการทดสอบชิมในแต่ละครั้งต้องทำการบ้วนปากด้วยน้ำสะอาดก่อนการทดสอบชิมสูตรอื่น ๆ ทุกครั้ง เมื่อผู้ทดสอบทำการชิมแล้วจึงให้คะแนนความชอบตามระดับคะแนน แล้วนำมาวิเคราะห์หาความพึงพอใจต่อผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักสูตรที่ได้รับความชอบจากผู้บริโภคสูงสุดเพื่อนำมาใช้ในการปรับปรุงพัฒนาตรวจสอบคุณภาพตามมาตรฐานอุตสากรรมเพื่อผลิตเป็นผลิตภัณฑ์ในเชิงการค้าต่อไป (ภาคผนวก จ)

ตอนที่ 7 การวิเคราะห์หาปริมาณสารปนเปื้อน (Contaminants contents) (ตามวิธี A.O.A.C., 2000)

น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามนำมาตรวจวัดหาปริมาณสารปนเปื้อนของน้ำส้มสายชูให้เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรม ซึ่งสารปนเปื้อนที่กำหนดไว้ ได้แก่ สารหนู (As) , ตะกั่ว (Pb) , ทองแดง (Cu) , สังกะสี (Zn) และเหล็ก (Fe) โดยทำการวิเคราะห์ ดังนี้

1. ปิเปตตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงในบีกเกอร์

2. เติม 30% HNO_3 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ลงไปผสมให้เข้ากัน

3. ปิดปากบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกาเพื่อทำการย่อยสารละลายด้วยความร้อนบนเตาให้ความร้อนเป็นเวลา 30 นาที

4. ทำการเติม 30% HNO_3 ปริมาตร 20 มิลลิลิตร อีกครั้ง แล้วทำการย่อยสารละลายต่อจนสารละลายของตัวอย่างใส และให้มีปริมาตรคงเหลือของสารละลายตัวอย่างน้อยกว่า 10 มิลลิลิตร

5. กรองสารละลายตัวอย่างที่ได้จากการย่อยลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่น

6. นำสารละลายตัวอย่างไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงด้วยเครื่อง AAS ที่สภาวะที่เหมาะสม โดยใช้น้ำกลั่นเป็น Blank

7. นำมาคำนวณหาปริมาณสารปนเปื้อนในน้ำส้มสายชูเทียบกับกราฟมาตรฐานของสารปนเปื้อนแต่ละชนิด (ภาคผนวก ข)

ตอนที่ 8 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

นำข้อมูลที่ได้จากการวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี และการทดสอบทางประสาทสัมผัส มาทำการวิเคราะห์ผลการทดลองโดยใช้สถิติทดสอบเปรียบเทียบความแปรปรวนทางเดียว (One Way Anova) และความแตกต่างของค่าเฉลี่ย โดยวิธี Duncan's new multiple range test (DMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$)

3.8 ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย

3.8.1 ระยะเวลาในการทำวิจัย คือ 9 เดือน ตั้งแต่เดือนมกราคม 2559 ถึงกันยายน 2559

3.8.2 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูลสำหรับการทดลองนี้ คือ ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา อาคารสิรินธร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

จากการทดลองผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ที่มีแหล่งเพาะปลูกในจังหวัดเพชรบูรณ์ โดยทำการศึกษาเปรียบเทียบสายพันธุ์ Acetic acid bacteria ทั้ง 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* และนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามโดยเปรียบเทียบสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย (Sucrose) 3% , น้ำผึ้ง (Fructose syrup) 3% และกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) 3% ซึ่งเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมักได้การวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ ทางเคมี ทางจุลชีววิทยา ปริมาณฟีนอลิก (Total phenolic content, mgGAE/mll) ปริมาณสารต้านอนุมูลอิสระ (DPPH scavenging activity, %) มาตรฐานของน้ำส้มสายชูหมักที่เป็นไปตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง น้ำส้มสายชูหมัก และทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูที่พัฒนาขึ้นจากมะขาม 4 สายพันธุ์ที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 มีทั้งหมด 12 สูตร ดังนี้

ตารางที่ 4.1 สูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 12 สูตร

สูตรที่	Fermented vinegar**
1	Pra Kai Thong + Fructose syrup 3% (PKT-S_1)
2	Pra Kai Thong + Sucrose syrup 3% (PKT-S_2)
3	Pra Kai Thong + Glucose syrup 3% (PKT-S_3)
4	Sri Thong + Fructose syrup 3% (ST-S_1)
5	Sri Thong + Sucrose 3% (ST-S_2)
6	Sri Thong + Glucose syrup 3% (ST-S_3)
7	Sri Chomphru + Fructose syrup 3% (SC-S_1)
8	Sri Chomphru + Sucrose syrup 3% (SC-S_2)
9	Sri Chomphru + Glucose syrup 3% (SC-S_3)
10	Priaw yak + Fructose syrup 3% (PK-S_1)
11	Priaw yak + Sucrose 3% (PK-S_2)
12	Priaw yak + Glucose syrup 3% (PK-S_3)

** *Acetobacter aceti* TISTR 102

ผลการวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่มทั้ง 12 สูตรทั้งทางด้านกายภาพ เคมี ชีวภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ดังต่อไปนี้

4.1 ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)

จากการศึกษาน้ำส้มสายชูหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* ที่ระดับความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 30 วัน จากมะขาม 4 สายพันธุ์ ซึ่งเมื่อนำตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพด้านสี กลิ่น รสชาติ และลักษณะทั่วไปของน้ำส้มสายชูจากมะขามโดยการสังเกตด้วยตา ได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำส้มสายชูที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis*

สายพันธุ์	ลักษณะทางกายภาพ			
	สี	กลิ่น	รสชาติ	ลักษณะทั่วไป
PKT	มีสีออกน้ำตาลเข้ม	มีกลิ่นหมักอ่อน ๆ	รสชาติเปรี้ยวอ่อนๆ	เป็นของเหลวใสตกตะกอนเล็กน้อย
ST	มีสีน้ำตาลแดงเข้ม	มีกลิ่นหอมของ	หวานอมเปรี้ยว	เป็นของเหลวใส และตกตะกอนเล็กน้อย
SC	มีสีน้ำตาลอ่อน ๆ	มีกลิ่นเปรี้ยวอ่อน ๆ	หวานอมเปรี้ยว	เป็นของเหลวใส และไม่มีตะกอน
PY	มีสีน้ำตาลแดง	มีกลิ่นเปรี้ยว	เปรี้ยวมาก	เป็นของเหลวขุ่น และตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้

หมายเหตุ : PKT = Pra Kai Thong
ST = Sri Thong
SC = Sri Chomphu
PY= priaw yak

จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพทางด้านสีกลิ่น รสชาติ และลักษณะทั่วไปของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ด้วยเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* จะมีลักษณะแตกต่างกันตามชนิดของวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู (Vinegar) (ปราณี นิมิบุตร ,2552) น้ำส้มสายชูเป็นสารปรุงแต่งกลิ่น และรสชาติของผลิตภัณฑ์อาหารที่ได้จากกระบวนการหมักทาง

จุลชีววิทยาซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกายมากมาย เช่น ช่วยในระบบการย่อย การดูดซึมอาหารของร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพ (ดุษณี ธนะบริพัฒน์, 2546) จากการวิเคราะห์ลักษณะทางกายภาพพบว่าลักษณะของสีจะมีสีออกน้ำตาลแดงอ่อนจนถึงน้ำตาลเข้ม มีกลิ่นเปรี้ยวอ่อน ๆ จากมะขามที่ใช้เป็นวัตถุดิบ เป็นของเหลวใสจนถึงขุ่น โดยน้ำส้มสายชูจากมะขามเปรี้ยวยักษ์จะมีกลิ่นเปรี้ยวและรสชาติค่อนข้างเปรี้ยวมาก ของเหลวมีสีแดงเข้ม ขุ่น และมีตะกอนปริมาณมากเนื่องจากเนื้อมะขามมีลักษณะฟูจึงทำให้ตกตะกอนได้ยากกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ ส่วนน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามสายพันธุ์ประกายทองจะมีสีออกน้ำตาลแดง ใส มีตะกอนเล็กน้อย ซึ่งลักษณะสีของน้ำส้มสายชูสามารถนำมาตรวจวัดค่าสีของผลิตภัณฑ์ในระบบ Lab แสดงดังตารางที่ 4.3 – 4.4

จากตารางที่ 4.3 – 4.4 จะแสดงค่า L* a* และ b* ซึ่งจะใช้ในการประเมินลักษณะสีของตัวอย่างที่ศึกษา โดยค่า L* ที่เข้าใกล้ 100 หมายถึง ผลิตภัณฑ์มีความสว่างมากจนเป็นสีขาวหรือสีจาง แต่ถ้าค่า L* เข้าใกล้ 0 หมายถึง ผลิตภัณฑ์มีความสว่างน้อยจนเป็นสีคล้ำ ส่วนค่า a* ที่เป็นบวก หมายถึง ผลิตภัณฑ์นั้นเป็นสีแดง ค่า a* เป็นลบ หมายถึง ผลิตภัณฑ์นั้นเป็นสีเขียว สำหรับค่า b* ที่เป็นบวก หมายถึง ผลิตภัณฑ์มีสีเหลือง และค่า b* ที่เป็นลบ หมายถึง ผลิตภัณฑ์นั้นมีสีน้ำเงิน (อรุณทิพย์และคณะ, 2555). จากการหมักน้ำส้มสายชูจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก 30 วัน พบว่ามะขามพันธุ์สีชมพูจะมีค่า L* มากที่สุด รองลงมา ได้แก่ มะขามพันธุ์ประกายทอง ส่วนมะขามยักษ์จะมีค่า L* ต่ำที่สุด ส่วนค่า a* ของมะขามพันธุ์สีทองจะมีค่ามากที่สุดทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีสีน้ำตาลแดงเข้ม สำหรับค่า b* ที่มีค่ามากที่สุด ได้แก่ มะขามเปรี้ยวยักษ์ ซึ่งจากผลการวิเคราะห์ค่าสีมีความสอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพที่มะขามสายพันธุ์สีทองจะมีสีน้ำตาลแดงเข้ม และมะขามพันธุ์สีชมพูจะใสมากกว่าสายพันธุ์อื่น

ตารางที่ 4.3 เปรียบเทียบค่าสี L* a* และ b* ของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 โดยการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray

Time	Pra Kai Thong			Sri Thong			Sri Chomphu			Priaw yak		
(Day)	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Shake flask												
0	11.15	5.33	10.43	7.83	3.33	11.44	16.23	4.62	9.25	8.35	5.43	14.62
3	8.98	4.85	8.68	4.86	2.53	9.20	14.91	3.77	5.55	6.53	7.40	11.49
5	10.23	5.22	9.15	7.61	4.96	10.75	16.21	4.74	5.76	6.49	5.10	13.28
7	11.37	5.57	9.57	9.28	4.95	12.33	17.26	5.89	6.07	5.93	4.60	16.40
12	12.04	5.54	9.61	8.17	4.85	12.67	18.71	6.84	6.14	5.22	4.45	17.01
15	13.17	5.77	10.10	8.02	4.33	12.42	18.77	6.86	6.34	5.18	4.36	17.36
20	14.53	5.94	11.23	7.93	4.12	12.61	18.89	6.92	6.42	5.14	4.19	17.64
25	14.51	5.95	11.37	7.83	3.94	12.74	19.03	6.93	6.98	4.97	4.03	17.23
30	14.37	5.92	11.34	7.84	3.95	12.72	19.04	6.99	7.00	4.95	3.97	17.16
Rapid tray												
0	9.88	4.80	10.58	9.23	4.13	10.91	12.40	5.32	10.48	9.47	6.71	16.56
3	8.42	3.83	5.45	4.91	2.34	7.50	11.63	3.44	4.85	6.58	3.31	11.42
5	7.58	3.86	6.67	5.91	2.86	7.34	13.17	4.15	6.42	5.73	3.43	12.23
7	7.58	4.73	6.80	6.93	2.94	8.91	15.21	4.73	4.83	5.64	3.51	12.52
12	10.82	5.29	6.59	7.38	3.48	9.40	16.20	4.55	5.30	5.77	3.53	13.34
15	12.23	6.54	6.83	7.70	3.56	10.40	17.25	5.57	5.75	5.65	3.94	13.71
20	12.60	7.29	6.89	8.25	3.69	11.16	17.95	6.49	6.30	5.89	3.97	14.66
25	13.23	7.35	6.91	8.81	3.74	12.36	18.28	6.81	6.81	5.92	4.31	15.14
30	13.27	7.32	6.84	9.14	3.82	12.89	19.04	7.12	6.95	5.94	4.53	15.44
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
	Pra Kai Thong			Sri Thong			Sri Chomphu			Priaw yak		

หมายเหตุ ผลทางสถิติไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ $p<0.05$

จากการหมักน้ำส้มสายชูโดยเปรียบเทียบกระบวนการผลิต 2 แบบ ได้แก่ แบบ Shake flask และ Rapid tray พบว่าค่าสี L* a* และ b* มีค่าไม่แตกต่างกัน และค่าสีจะมีค่าเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาของการหมักเพิ่มขึ้น

ตารางที่ 4.4 เปรียบเทียบค่าสี L* a* และ b* ของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ด้วยเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis* โดยการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray

Time	Pra Kai Thong			Sri Thong			Sri Chomphu			Priaw yak		
(Day)	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
Shake flask												
0	12.58	10.20	10.48	8.26	2.23	13.32	12.18	5.16	6.45	4.80	5.02	17.03
3	8.48	6.61	4.82	3.80	2.63	10.22	10.57	5.86	4.13	5.40	4.09	13.78
5	9.59	6.20	5.35	4.16	2.27	10.93	11.26	4.51	4.32	5.33	4.02	12.71
7	11.36	5.12	6.24	3.80	2.63	10.22	13.55	5.38	4.94	5.53	4.32	11.49
12	12.36	5.42	6.71	5.64	3.72	11.80	13.88	5.49	5.18	5.69	5.03	12.80
15	13.80	5.42	7.14	6.39	3.91	12.73	14.25	5.80	5.67	5.90	5.03	13.28
20	13.84	5.42	7.68	6.69	4.23	13.33	15.32	6.32	5.81	6.07	5.03	13.75
25	13.92	5.42	8.10	6.90	4.52	13.90	16.86	7.49	5.81	6.12	5.03	14.13
30	13.80	5.42	8.54	7.00	4.56	14.14	17.67	7.88	6.20	6.23	5.03	14.50
Rapid tray												
0	14.18	5.74	11.12	11.33	2.37	11.41	15.21	5.72	6.88	5.74	4.18	11.99
3	8.74	4.75	8.71	6.75	2.08	9.18	10.97	5.01	5.73	4.30	2.95	12.04
5	9.90	5.73	9.68	7.72	2.60	10.44	10.70	7.09	7.39	5.10	3.26	11.98
7	11.44	5.93	6.15	6.61	2.85	10.55	11.07	6.57	3.85	5.26	3.69	10.77
12	12.62	6.18	7.20	8.04	3.34	10.94	12.65	6.90	4.38	5.37	3.85	11.63
15	13.45	6.53	8.43	9.01	3.61	11.07	13.60	7.05	4.65	5.52	4.14	12.49
20	14.57	6.95	8.66	9.45	4.14	11.65	13.66	7.14	4.88	5.61	4.23	12.65
25	14.82	7.12	9.26	9.74	4.75	12.32	15.07	7.98	5.26	5.86	4.39	12.75
30	15.20	7.36	10.58	9.93	5.12	12.55	16.36	8.09	5.45	5.91	4.51	12.86
	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*	L*	a*	b*
	Pra Kai Thong			Sri Thong			Sri Chomphu			Priaw yak		

4.2 ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* ในสภาวะการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray เป็นระยะเวลา 30 วัน ซึ่งจะนำผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักมาทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีต่าง ๆ ดังนี้ ปริมาณกรดอะซิตริก (%) ปริมาณแอลกอฮอล์ (%) ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ($^{\circ}$Brix) และปริมาณวิตามินซี (mg/100 ml) ซึ่งคุณสมบัติของน้ำส้มสายชูที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดจะมีคุณภาพแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ในกระบวนการหมักแบบต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 30 วัน

	Microbial	Type of tammarine	Acetic acid (%)	pH	Vitamin C (mg/100 ml)	TSS (^{0}Brix)	Alcohol (%)
Shake flask	*Acetobacter aceti* TISTR 102	Pra Kai Thong	2.28±0.01^{c}	3.20±0.01^{bc}	13.33±0.88^{de}	6.93±0.12^{c}	2.13±0.06^{e}
		Sri Thong	1.57±0.01^{de}	3.26±0.02^{b}	14.00±0.66^{d}	7.73±0.21^{b}	3.07±0.12^{b}
		Sri Chomphu	1.68±0.01^{d}	2.89±0.01^{d}	15.00±0.00^{c}	7.03±0.06^{c}	2.90±0.10^{b}
		Priaw yak	2.87±0.02^{a}	2.10±0.10^{e}	15.42±0.72^{b}	6.37±0.12^{d}	2.17±0.06^{e}
Rapid tray	*Acetobacter aceti* TISTR 102	Pra Kai Thong	2.19±0.01^{c}	3.42±0.01^{a}	9.42±0.52^{f}	7.63±0.06^{b}	2.53±0.06^{c}
		Sri Thong	1.54±0.01^{e}	3.41±0.01^{a}	9.25±0.90^{f}	7.83±0.21^{b}	3.23±0.12^{a}
		Sri Chomphu	1.62±0.00^{d}	3.09±0.01^{d}	14.92±0.14^{c}	8.23±0.06^{a}	3.00±0.00^{b}
		Priaw yak	2.76±0.01^{ab}	2.23±0.03^{e}	16.83±0.63^{a}	6.47±0.06^{d}	2.33±0.15^{d}

$^{a-f}$ ตัวอักษรที่กำกับที่แตกต่างกันตามแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

ตารางที่ 4.5 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ในกระบวนการหมักแบบต่าง ๆ เป็นระยะเวลา 30 วัน (ต่อ)

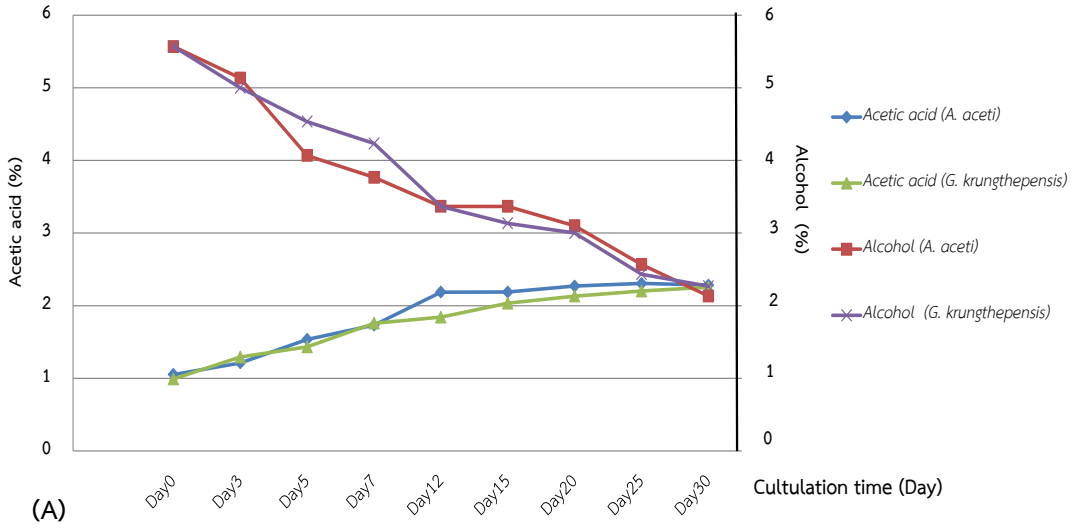
	Microbial	Type of tammarine	Acetic acid (%)	pH	Vitamin C (mg/100 ml)	TSS (^{0}Brix)	Alcohol (%)
Shake flask	*Gluconobacter krungthepensis*	Pra Kai Thong	2.25±0.01^{b}	3.04±0.01^{d}	14.58±0.63^{c}	6.90±0.10^{c}	2.27±0.06^{d}
		Sri Thong	1.81±0.02^{d}	3.26±0.01^{bc}	13.92±0.63^{d}	7.73±0.21^{b}	3.13±0.12^{b}
		Sri Chomphu	1.90±0.01^{c}	2.89±0.01^{e}	16.75±0.90^{b}	7.07±0.06^{c}	2.80±0.26^{c}
		Priaw yak	2.81±0.01^{a}	2.10±0.02^{f}	19.17±0.80^{a}	6.40±0.10^{d}	2.10±0.10^{e}
Rapid tray	*Gluconobacter krungthepensis*	Pra Kai Thong	2.17±0.00^{bc}	3.34±0.01^{b}	8.83±0.76^{e}	7.60±0.00^{b}	2.17±0.06
		Sri Thong	1.73±0.01^{e}	3.61±0.01^{a}	9.59±0.64^{e}	7.83±0.21^{b}	3.43±0.15^{a}
		Sri Chomphu	1.86±0.00^{cd}	3.10±0.01^{d}	14.08±0.80^{d}	8.23±0.06^{a}	2.87±0.06^{bc}
		Priaw yak	2.74±0.01^{a}	2.17±0.07^{f}	16.67±0.72^{b}	6.47±0.06^{d}	1.47±0.06^{f}

$^{a-f}$ ตัวอักษรที่กำกับที่แตกต่างกันตามแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

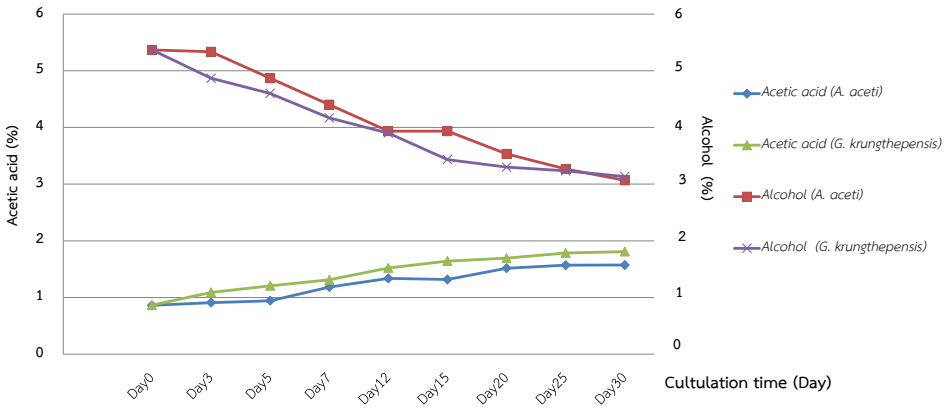
จากตารางที่ 4.5 เป็นการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ในสภาพการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray เป็นระยะเวลา 30 วัน พบว่าการหมักที่ให้กรดอะซิตริกในปริมาณสูงสุด ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวยักษ์ที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ในสภาพแบบ shake flask ส่วนมะขามพันธุ์สีทองจะให้ปริมาณกรดอะซิตริกต่ำที่สุดในการผลิต (1.57%) ค่า pH มีค่า 2.10 – 3.61 ปริมาณวิตามินซี 29.00 – 44.44 โดยมะขามสายพันธุ์สีชมพูจะมีปริมาณวิตามินซีสูงที่สุด ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ (TSS) มีค่าระหว่าง 6.37 – 8.23 และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ 1.17 – 3.43 %

4.2.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิตริกกับปริมาณแอลกอฮอล์

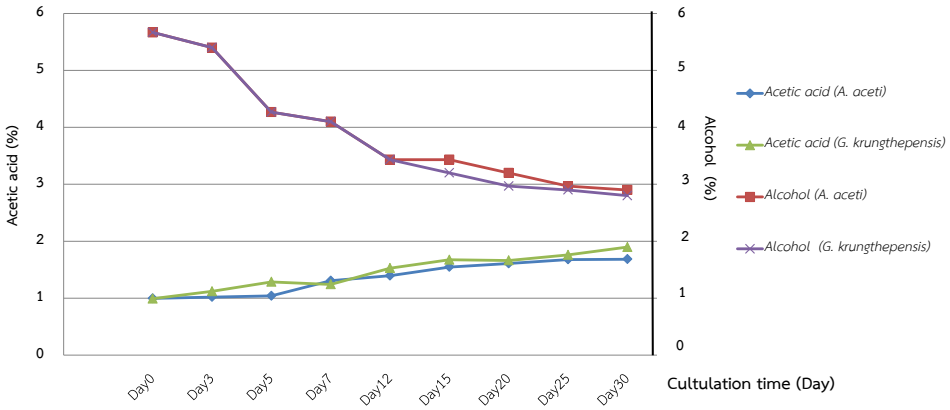
น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ประกายทอง พันธุ์สีทอง พันธุ์สีชมพู และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ โดยเปรียบเทียบสายพันธุ์ของแบคทีเรียกรดอะซิตริก 2 สายพันธุ์ ได้แก่ เชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter krungthepensis* และกระบวนการหมักกรดอะซิตริก 2 แบบ ได้แก่ แบบ Shake flask และ Rapid tray และแล้วนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิตริกกับปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่เป็นระยะเวลา 30 วัน ได้ผลดังตารางที่ 4.5 และความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดอะซิตริก และปริมาณแอลกอฮอล์ของกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid ดังภาพที่ 4.1 และ 4.2 ตามลำดับ



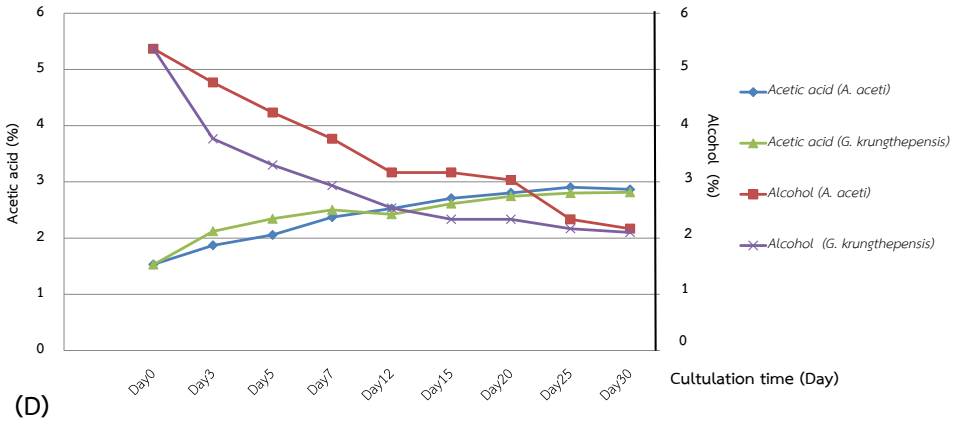
(A)



(B)



(C)



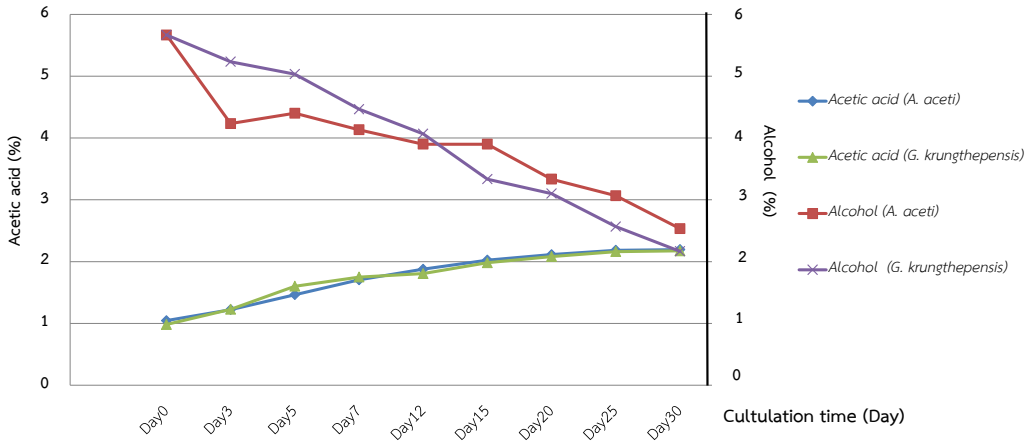
(D)

ภาพที่ 4.1 ปริมาณกรดอะซิตริก และแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask

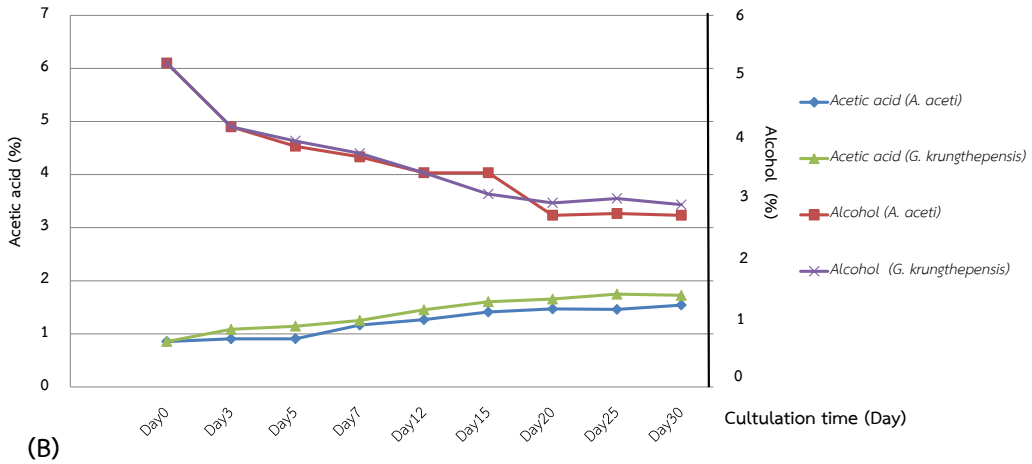
Note : (A) = Pra Kai Thong – Shake flask (PKT-SF) (B) = Sri Thong – Shake flask (PKT-SF)

(C) = Sri Chomphu – Shake flask (SC-SF) (D) = Priew Yak – Shake flask (PY-SF)

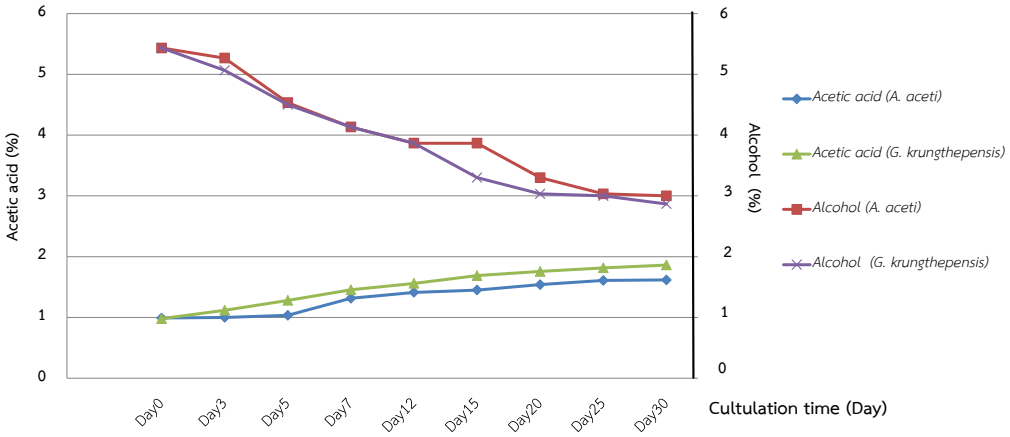
จากภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณกรดอะซิติก และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบบ Shake flask จากมะขาม 4 สายพันธุ์ พบว่าน้ำส้มสายชูหมักที่ผลิตได้จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ลดลงเรื่อย ๆ ตามระยะเวลาการหมักในทางเดียวกันปริมาณของกรดอะซิตริกจะเพิ่มขึ้นจากกระบวนการแมแทบอลิซึมของเชื้อแบคทีเรียกรดอะซิตริกทั้ง 2 สายพันธุ์ โดยมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์จะมีปริมาณค่อนข้างสูงกว่าสายพันธุ์อื่น ๆ เนื่องจากมีกรดอินทรีย์ชนิดอื่นนอกจากกรดอะซิตริกเป็นส่วนประกอบด้วย ซึ่งจะมีปริมาณกรดอะซิตริกในน้ำส้มสายชูจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์มีค่าอยู่ระหว่าง 0.89 – 2.89% ซึ่งมีปริมาณกรดอะซิตริกน้อยกว่า 4% โดยปริมาตร นอกจากนี้ยังพบว่าปริมาณของแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมักจะมีค่าอยู่ระหว่าง 2.10 – 3.13 ซึ่งมีค่าเกิน 0.5% โดยปริมาตร ซึ่งไม่เป็นไปตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชุมชน (พระราชบัญญัติควบคุมอาหาร, 2543) แต่น้ำส้มสายชูที่ได้จากกระบวนการหมักจะมีความเข้มข้นมากกว่านี้จึงต้องมีการเจือจางด้วยน้ำ (กำเนิด สุภัณวงษ์,2534)



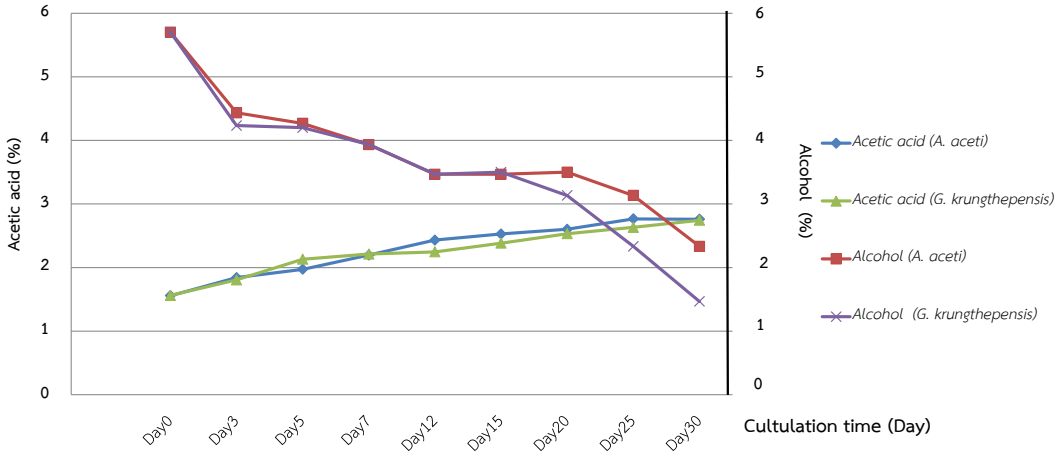
(A)



(B)



(C)



(D)

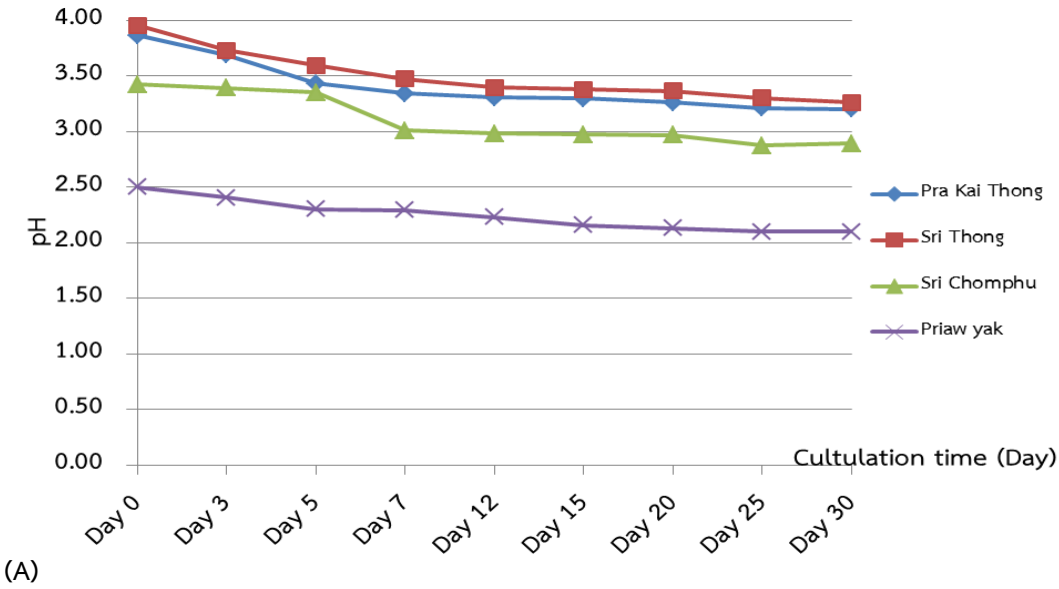
ภาพที่ 4.2 ปริมาณกรดอะซิตริก และแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือจากกระบวนการหมักแบบ Rapid tray

Note : (A) = Pra Kai Thong – Rapid tray (PKT-RT) (B) = Sri Thong – Rapid tray (PKT-RT)

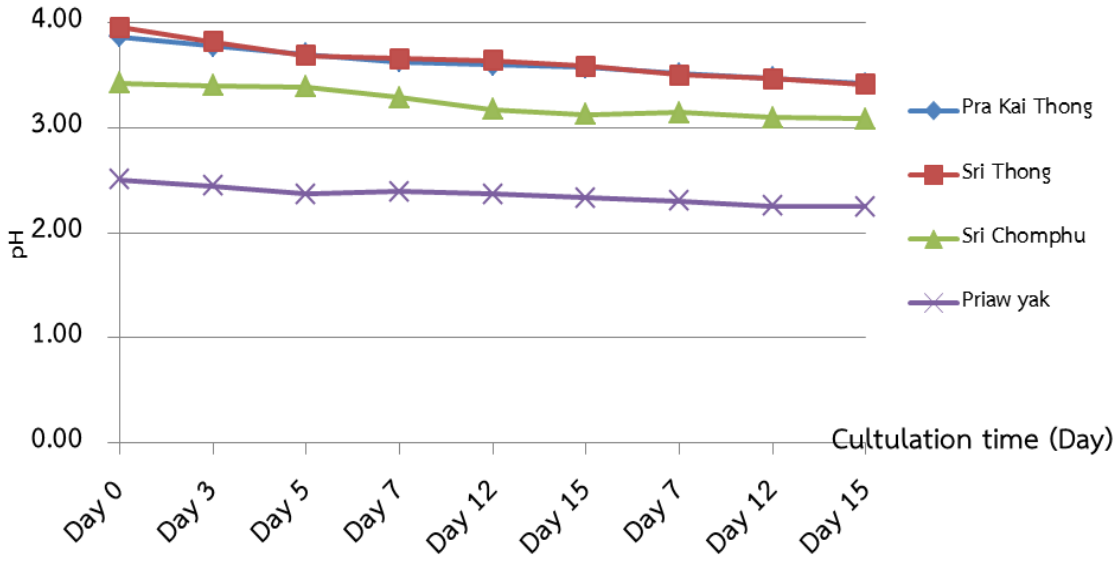
(C) = Sri Chomphu – Rapid tray (SC-RT) (D) = Priew Yak – Rapid tray (PY-RT)

4.2.2 ผลการวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH)

จากผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ของผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ได้ผลดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.3 - 4.4



(A)

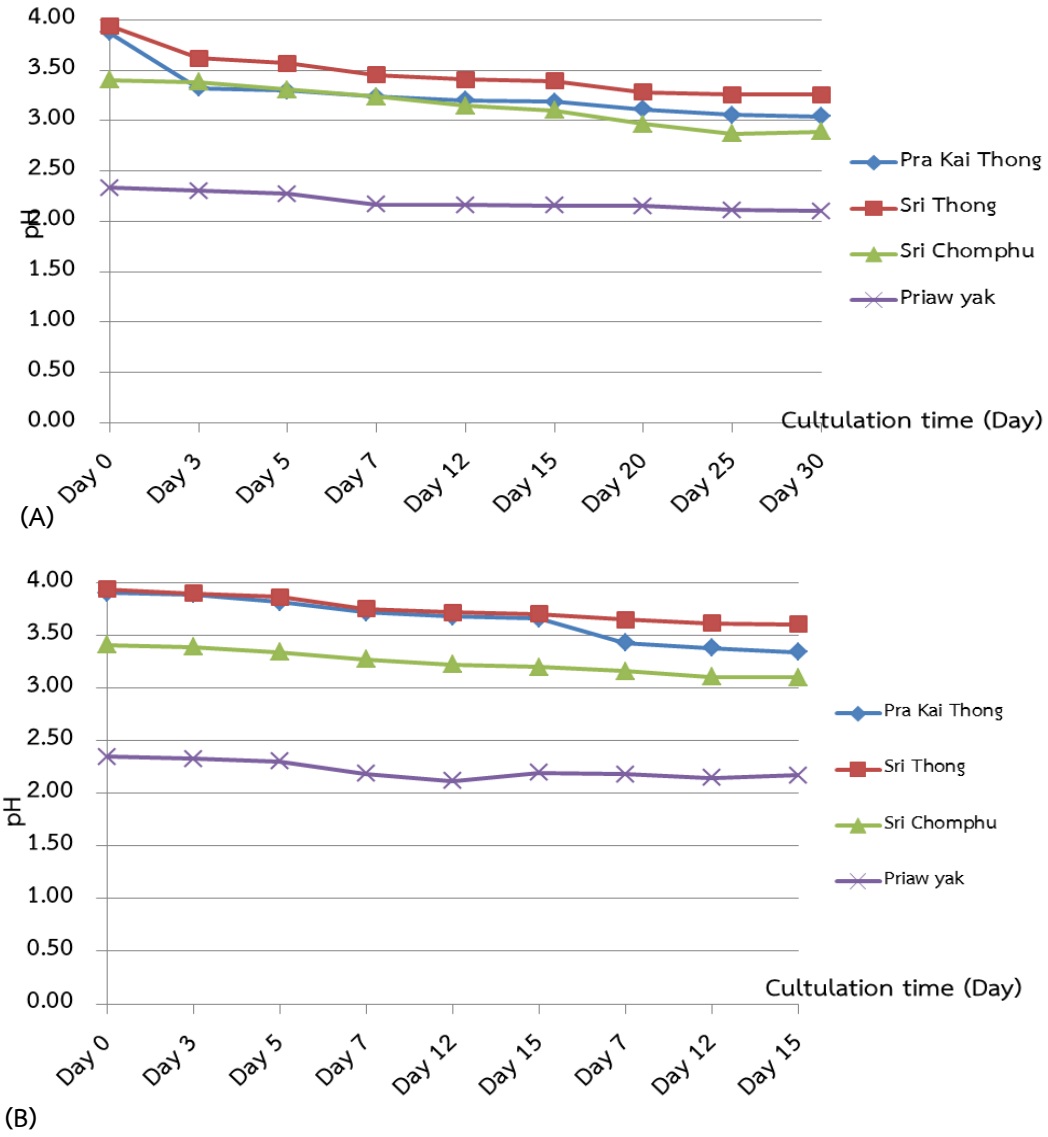


(B)

ภาพที่ 4.3 ค่า pH ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102

Note : (A) กระบวนการหมักแบบ Shake flask (B) กระบวนการหมักแบบ Rapid tray

จากภาพที่ 4.3 แสดงปริมาณค่าความเป็นกรด – ด่างของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* TISTR 102 โดยกระบวนการหมัก 2 แบบ พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจะมีปริมาณความเป็นกรด – ด่างลดลงตามระยะเวลาการหมัก อยู่ระหว่าง 2.10 – 3.95 โดยน้ำส้มสายชูที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างต่ำที่สุดเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก คือ น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวยักษ์ที่หมักแบบ Shake flask ซึ่งมีค่าต่ำกว่าการหมักแบบ Rapid tray เนื่องจากสภาวะของการหมักแบบ Shake flask มีการให้อากาศจำนวนมาก เนื่องจากแบคทีเรียอะซิตริกเป็นแบคทีเรียแบบ aerobe microbe จำเป็นต้องการอากาศในการเจริญเติบโตและผลิตกรดอินทรีย์ (สมใจ ศิริโภค, 2550)

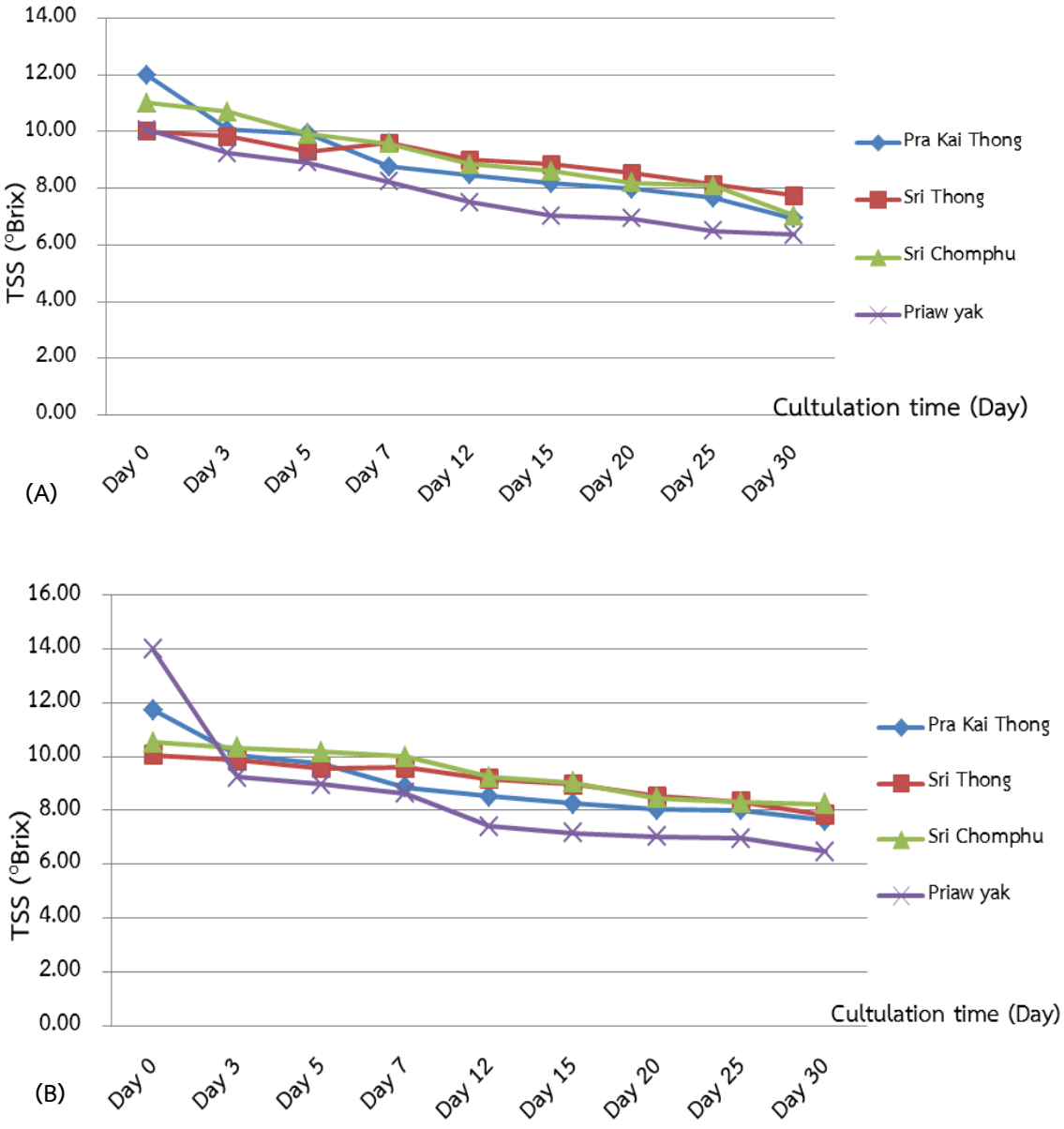


ภาพที่ 4.4 ค่า pH ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*

Note : (A) กระบวนการหมักแบบ Shake flask (B) กระบวนการหมักแบบ Rapid tray

4.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

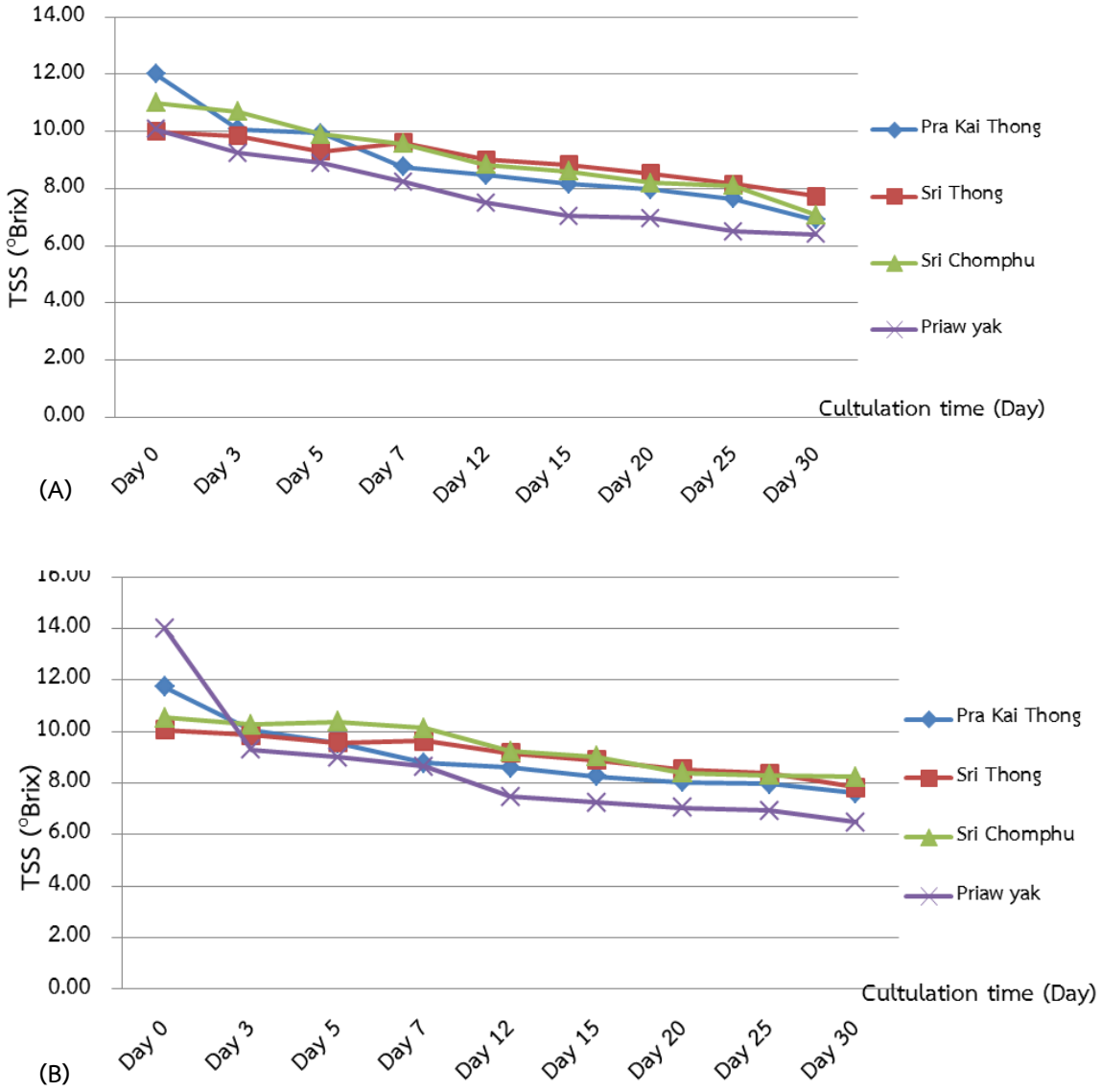
จากผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids, TSS) ของผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ได้ผลดังตารางที่ 4.5 และภาพที่ 4.5 - 4.6



ภาพที่ 4.5 ค่า TSS ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102

(A) กระบวนการหมักแบบ Shake flask (B) กระบวนการหมักแบบ Rapid tray

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทุกสายพันธุ์มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (TSS) มีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ 4.5 พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่าอยู่ระหว่าง 6.37 -8.23 ^{O}Brix น้ำส้มสายชูที่หมักจากมะขามพันธุ์ศรีชมพูที่หมักแบบ Rapid tray จะให้ค่า pH สูงที่สุด 8.23 ^{O}Brix และน้ำส้มสายชูที่หมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์หยักที่หมักแบบ Shake flask จะให้ค่า pH ต่ำที่สุด 6.37 ^{O}Brix ซึ่งการใช้เชื้อแบคทีเรียต่างสายพันธุ์กันไม่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายได้



ภาพที่ 4.6 ค่า TSS ของน้ำส้มสายชูหมักของมะขามจากกระบวนการหมักแบบ Shake flask และ Rapid tray ที่เพาะเลี้ยงด้วยเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*
(A) กระบวนการหมักแบบ Shake flask (B) กระบวนการหมักแบบ Rapid tray

4.2.4 ผลการวิเคราะห์หาค่าปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูหมัก

จากการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม ได้นำมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในผลิตภัณฑ์โดยวิธีการไตเตรทกับสารละลาย Indophenol dye ได้ผลดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูหมักแบบต่าง ๆ

	Type	Vitamin C (mg/100mll)	
		Acetobacter aceti TISTR 102	*Gluconobacter krungthepensis*
Shake flask	Pra Kai Thong	$13.33\pm0.88^{de/B}$	$14.58\pm0.63^{c/A}$
	Sri Thong	$14.00\pm0.66^{d/A}$	$13.92\pm0.63^{d/A}$
	Sri Chomphu	$15.00\pm0.00^{c/B}$	$16.75\pm0.90^{b/A}$
	Priaw yak	$15.42\pm0.72^{b/B}$	$19.17.\pm0.80^{a/A}$
Rapid ray	Pra Kai Thong	$9.42\pm0.52^{f/A}$	$8.83\pm0.76^{e/B}$
	Sri Thong	$9.25\pm0.90^{f/A}$	$9.59\pm0.64^{e/A}$
	Sri Chomphu	$14.92\pm0.14^{c/A}$	$14.08\pm0.80^{d/A}$
	Priaw yak	$16.83\pm0.63^{a/A}$	$16.67\pm0.72^{b/A}$

$^{a-e}$ คือ ค่าที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

$^{/A-/B}$ คือ ค่าที่แตกต่างภายในแถวเดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีโดยวิธีการไตเตรทน้ำส้มสายชูหมักกับสารละลาย indophenol dye แล้วนำมาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานของวิตามินซีในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยจะนำน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเมื่อสิ้นสุดระยะการหมักเป็นระยะเวลา 30 วัน และมีการพาสเจอร์ไรซ์น้ำส้มสายชูเมื่อสิ้นกระบวนการหมัก พบว่าจะมีปริมาณวิตามินซีโดยประมาณ 9.25 – 16.83 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และพบว่าเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ปริมาณของวิตามินซีในผลิตภัณฑ์จะค่อย ๆ ลดลง เนื่องจากวิตามิซีเป็นสารที่ไวต่อสภาพแวดล้อมได้ง่ายทำให้สลายตัวได้ง่ายในระหว่างกระบวนการผลิต

4.3 ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties)

หลังจากกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูสิ้นสุดระยะการหมัก 30 วัน จึงนำมาผ่านกระบวนการฆ่าเชื้อจุลิทรีย์ที่ไม่ต้องการลงด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรซ์เซอรชั่น และนำผลิตภัณฑ์มาวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา ได้แก่ การตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณยีสต์ รา

โดยทำการเก็บตัวอย่างมาตรวจหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดในน้ำส้มสายชูหมักเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร PCA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง และทำการตรวจนับหาปริมาณยีสต์ รา โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร PDA เป็นเวลา 3 – 5 วัน ด้วยเทคนิคการ pour plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้ผลดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 ปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมด และปริมาณยีสต์ ราของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม

Treatment	TVBC (cfu/ml)		Yeasts and moulds (cfu/ml)	
	X	SD	X	SD
Rapid tray				
Pra Kai Thong	$2x10^{c}$	2.00	NF	0.00
Sri Thong	$8.48x10^{2b}$	0.53	NF	0.00
Sri Chomphu	$1.2x10^{d}$	1.00	3x10	10.00
Priaw yak	0.00	0.00	NF	0.00
Shake flask				
Pra Kai Thong	$1.5x10^{cd}$	2.00	NF	0.00
Sri Thong	$1.9x10^{3a}$	25.17	NF	0.00
Sri Chomphu	$1.1x10^{e}$	2.00	NF	0.00
Priaw yak	0.00	0.00	NF	0.00

TVBC = Total Viable Bacterial Count

NF = Not Found

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม มาทำการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยวิธีการ pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มแล้วพบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมดของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมัก จะมีปริมาณ 11 – 1900 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้

เนื่องจากก่อนที่จะทำการบรรจุน้ำส้มสายชูใส่ขวดโดยมากมักจะนำส้มสายชูไปผ่านความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรเซชั่นเพื่อทำลายสิ่งปนเปื้อนที่อาจเป็นสาเหตุให้น้ำส้มสายชูเกิดการเสื่อมเสียได้ และนอกจากนี้น้ำส้มสายชูหมักมีสมบัติความเป็นกรดค่อนข้างสูงจึงจัดเป็น preservative food คือ เกิดการเสื่อมเสียหรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากสาเหตุของเชื้อจุลินทรีย์ได้ยาก (ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร,สืบค้นเมื่อวันที่ 25 สิงหาคม 2557)

น้ำส้มสายชูเป็นสารปรุงแต่งรสชาติอาหารที่ความเป็นกรดสูง ทำให้เชื้อจุลินทรีย์โดยส่วนใหญ่ไม่สามารถเจริญเติบโตได้ จึงตรวจไม่พบจำนวนยีสต์ และราในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูโดยส่วนใหญ่ ยกเว้นน้ำส้มสายชูที่หมักจากมะขามพันธุ์สีชมพูที่หมักแบบ Rapid tray ที่ตรวจพบยีสต์ และราจำนวน 30 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักมีปริมาณความเป็นกรดค่อนข้างต่ำ และมีปริมาณแอลกอฮอล์หลงเหลืออยู่ในระดับหนึ่งจึงส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และรา (นภา โล่ห์ทอง, 2534) ซึ่งสังเกตได้จากน้ำส้มสายชูจากมะขามเปรี้ยวยักษ์ที่มีปริมาณกรดอะซิตริกสูงที่สุดจะไม่พบการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์

4.4 ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)

จากการศึกษาคุณภาพาของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขาม 4 สายพันธุ์ที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ได้มีการนำผลิตภัณฑ์มาทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคแบบ 9 – point hedonic scale ทำการทดสอบด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมจากผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ได้ผลดังภาพที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102

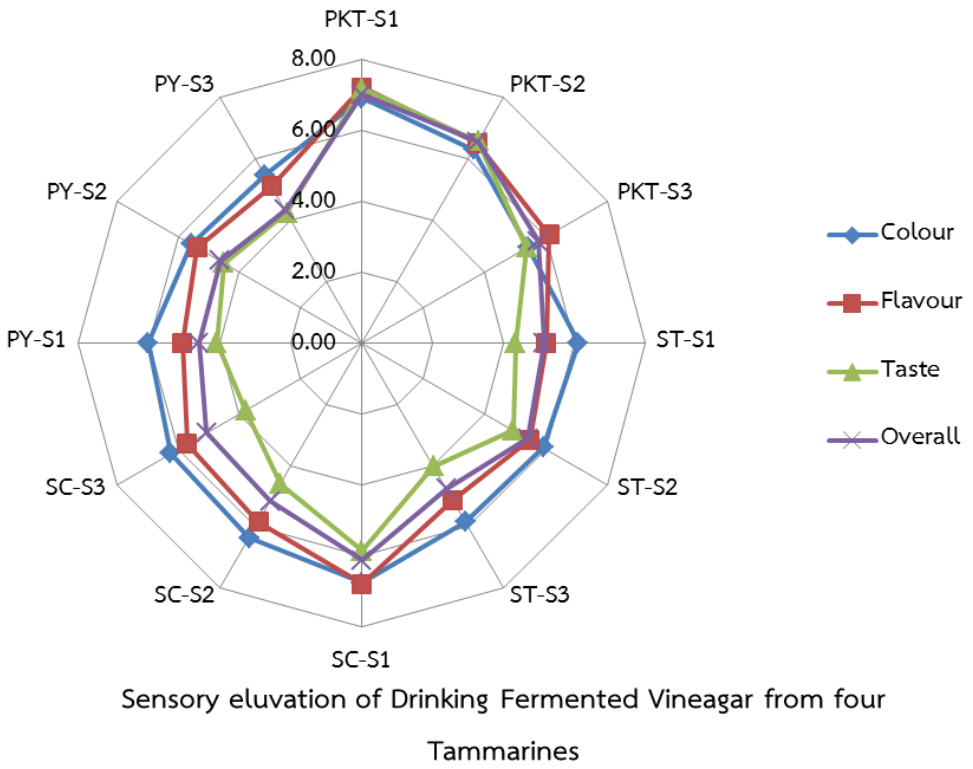
	สูตร	คุณภาพทางประสาทสัมผัส			
		สี	กลิ่น	รสชาติ	ความชอบโดยรวม
Rapid flask	PKT-S_1	6.90^{a}	7.20^{a}	7.17^{a}	7.00^{a}
	PKT-S_2	6.30^{c}	6.50^{c}	6.57^{b}	6.53^{b}
	PKT-S_3	5.40^{g}	6.10^{d}	5.37^{d}	5.73^{d}
	ST-S_1	6.10^{d}	5.20^{g}	4.33^{g}	5.13^{fg}
	ST-S_2	5.90^{de}	5.47^{f}	4.93^{e}	5.40^{e}
	ST-S_3	5.83^{e}	5.13^{gh}	4.03^{hj}	4.77^{h}
	SC-S1	6.77^{b}	6.80^{b}	5.87^{c}	6.13^{c}
	SC-S2	6.37^{c}	5.83^{de}	4.60^{f}	5.17^{f}
	SC-S3	6.23^{c}	5.70^{e}	3.80^{j}	5.07^{g}
	PY-S1	6.03^{d}	5.07	4.10^{h}	4.60^{i}
	PY-S2	5.57^{f}	5.37^{f}	4.50^{f}	4.63^{hi}
	PY-S3	5.47^{g}	5.10^{h}	4.23^{g}	4.33^{j}

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ยของผู้ทดสอบชิมทั้งหมด 30 คน

$^{a-j}$ คือ ค่าที่แตกต่างภายในคอลัมน์เดียวกัน หมายถึงมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($p<0.05$)

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 12 สูตรที่หมักแบบ Rapid tray โดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และมีการปรับแต่งสีและกลิ่นรสน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย 3% , น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรัป 3% นำมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคจำนวน 30 คน พบว่าผู้บริโภคมีความชอบเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักทั้ง 12 สูตร ทั้งด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมอยู่ในระดับ 4 – 8 มีผลการประเมินความชอบตั้งแต่ระดับเฉย ๆ ถึงระดับ

ชอบมาก ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ได้รับคะแนนความทางประสาทสัมผัสด้านความชอบทุกด้านสูงที่สุด สูตรที่ 1 คือ น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 แล้วมีการปรับแต่งกลิ่นและรสชาติของน้ำส้มสายชูด้วยน้ำผึ้ง (Frucrose) ที่มีความเข้มข้น 3% มีความชอบมากที่สุดในด้านสี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวมซึ่งมีคะแนนความชอบเท่ากับ 6.90 , 7.20 , 7.17 และ 7.00 ตามลำดับ ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ได้รับคะแนนความชอบต่ำที่สุด คือ สูตรที่ 12 ซึ่งเป็นน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวยักษ์ที่มีการเติมสารให้ความหวาน คือ แป๊ะแซ (Glucose) ที่ระดับความเข้มข้น 3% มีคะแนนความชอบน้อยที่สุดทั้ง 5 ด้าน เนื่องจากตัวผลิตภัณฑ์มีความเปรี้ยวเนื่องจากตัววัตถุดิบอยู่แล้ว จึงทำให้มีรสชาติเปรี้ยวมากเกินไป น้ำส้มสายชูเกิดจากกระบวนการหมักผลไม้ น้ำผลไม้ที่มีรสออกเปรี้ยว หวานเล็กน้อย มีกลิ่นหอมเฉพาะของน้ำผลไม้ที่นำมาเป็นส่วนประกอบหลัก ไม่แต่งกลิ่น ไม่แต่งสี และไม่ใส่วัตถุกันเสีย เป็นเครื่องดื่มที่ให้ความสดชื่นและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ (นิภา พวงทอง,2551)ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 12 สูตร สามารถแสดงได้ดังกราฟที่ 4.7



ภาพที่ 4.7 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้ง 12 สูตร

4.4 ผลการวิเคราะห์ปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Total phenolic and antioxidant activity)

จากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามในท้องถิ่นเพื่อนำมาปรับปรุงพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์ทางเลือกใหม่ให้กับผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรเป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับสินค้าเกษตรในจังหวัดเพชรบูรณ์ จึงได้มีการศึกษาสารที่มีคุณค่าทางโภชนาการในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยนำมาวิเคราะห์หาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ แสดงผลดังตารางที่ 4.9

ตารางที่ 4.9 ผลการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูหมักแบบต่าง ๆ

	Type	Total phenolic content (mgGAE/ml)		DPPH scavenging activity (%)	
		Acetobacter aceti TISTR 102	*Gluconobacter krungthepensis*	*Acetobacter aceti* TISTR 102	*Gluconobacter krungthepensis*
Shake flask	Pra Kai Thong	0.65±0.01	0.82±0.01	20.78±0.19	6.18±0.28
	Sri Thong	0.69±0.01	0.71±0.01	13.59±0.18	9.04±0.17
	Sri Chomphu	0.42±0.00	0.59±0.01	-0.85±0.35	-0.07±0.20
	Priaw yak	0.51±0.01	0.62±0.00	11.26±0.28	4.77±0.16
Rapid ray	Pra Kai Thong	0.86±0.01	1.10±0.01	17.03±0.17	26.99±0.29
	Sri Thong	0.76±0.01	0.74±0.01	12.26±0.07	5.43±0.43
	Sri Chomphu	0.45±0.01	0.56±0.01	-0.65±0.38	-1.31±0.11
	Priaw yak	0.65±0.01	0.67±0.01	8.94±0.23	0.41±0.64

จากตารางที่ 4.9 พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.42 -0.69 มิลลิกรัมแกลลิคต่อมิลลิลิตรที่หมักแบบ Shake flask และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่าง -0.85 – 20.78 % ส่วนการหมักน้ำส้มสายชูแบบ Rapid tray จะมีปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดอยู่ระหว่าง 0.45 -0.86 มิลลิกรัมแกลลิคต่อมิลลิลิตรที่ และมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระอยู่ระหว่าง -0.65 – 17.03 % และเมื่อพิจารณาสายพันธุ์ของมะขามที่ให้ปริมาณฟีนอลิก

และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระสูงที่สุด ได้แก่ น้ำส้มสายชูที่หมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่หมักแบบ Rapid tray และมะขามพันธุ์ประกายทองที่หมักแบบ Shake flask ตามลำดับ

ส่วนการหมักน้ำส้มสายชูจากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis* จะมีปริมาณสารฟีนอลิกและฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระมากกว่าการใช้เชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ และพบว่าน้ำส้มสายชูหมักที่ดีที่สุดเนื่องจากมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณฟีนอลิกสูงที่สุด ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทอง ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสที่พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่ผสมน้ำผึ้งจะมีความพึงพอใจต่อผู้บริโภคสูงที่สุด ทางคณะผู้วิจัยจึงนำน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มสูตรนี้มาตรวจสอบคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักให้เป็นไปตามมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชุมชนต่อไป

4.4 ผลการตรวจสอบคุณภาพของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากมะขามสายพันธุ์ประกายทองที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 เป็นระยะเวลา 30 วัน โดยการหมักแบบ Rapid tray ที่มีการผสมสารให้ความหวาน คือ น้ำตาลฟรุกโตสที่ความเข้มข้น 3% ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้รับการยอมรับทางประสาทสัมผัสมากที่สุด จึงได้นำผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากมะขามมาตรวจวิเคราะห์คุณภาพให้เป็นไปตามมาตรฐานชุมชน ตามประกาศของกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ทางด้านต่าง ๆ เช่น ลักษณะทางกายภาพ ทางเคมี และปริมาณโลหะหนัก (ตารางที่ 4.10)

ตารางที่ 4.10 คุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองผสมน้ำตาลฟรุกโตส 3%

ลักษณะ	Amount	
	Std. vinegar	Drinking fermented tamarined vinegar
Total actic acid (TA,%)	4 - 7	2.19
pH	-	3.2
Total soluble solid (TSS, $^{\circ}$Brix)	-	6.93
Ethyl alcohol (%)	<0.5	2.13
Reducing sugar (g/ml)	-	0.776
Vitamin C (mg/100ml)	<400	30.76
Total phenolic content (mgGAE/ml)	-	0.62
DPPH scavenging activity (%)	-	20.78
Colour	clear no sediment	clear yellow
Mineral acid	No detect	No detect
Arsenic (As, ppm)	<1	ND.
lead (Pb, ppm)	<1	ND.
Cupper (Cu, ppm)	<10	0.022
Zinc (Zn, ppm)	<10	0.174
Ferous (Fe, ppm)	<10	1.889
Total Viable Bacterial Countt (TVBC, cfu/ml)	-	$0.2x10^{2}$
Yeast and mold (cfu/ml)	-	NF

Note - = not require or not analysis

N.D = Not detect

N.F = Not found

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์ ใช้กระบวนการผลิตทั้งหมด 2 ขั้นตอน และใช้เวลาในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์มะขามใช้ระยะเวลาการหมักเวลา 30 วัน และนำมาศึกษาแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มในเชิงพาณิชย์โดยนำมาผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามเปรียบเทียบความเป็นไปได้ทั้ง 4 สายพันธุ์ โดยมีการปรับรสชาตินำส้มสายชูด้วยสารให้ความหวานจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย (Sucrose) 3% , น้ำผึ้ง (Fructose syrup) 3% และกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) 3% ได้ทั้งหมด 12 สูตร จากนั้นได้นำมาทำการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties) ทางเคมี (Chemical Properties) ทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties) และศึกษาลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)

5.1 การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)

น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ ได้แก่ พันธุ์ประกายทอง พันธุ์สีทอง พันธุ์สีชมภู และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์โดยใช้แบคทีเรียอะซิตริก 2 สายพันธุ์เพื่อผลิตกรดอะซิตริกจากกระบวนการหมัก 2 แบบ ได้แก่ แบบ Shake flask และแบบ Rapid tray ใช้ระยะเวลาการหมัก 30 วัน จากนั้นนำมาวิเคราะห์คุณภาพทางกายภาพ เช่น การดูลักษณะทางกายภาพด้วยสายตา การมีตะกอน สี ความใส และการวัดค่าสีของผลิตภัณฑ์ พบว่าผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามจะมีตั้งแต่สีน้ำตาลแดงจนถึงสีน้ำตาลอ่อน เมื่อตั้งทิ้งไว้จะเป็นของเหลวใสสีน้ำตาลแดง มีตะกอนของเนื้อมะขามตกอยู่ก้นภาชนะ น้ำส้มสายชูที่ผลิตจากมะขามพันธุ์ประกายทอง และสีชมพูจะมีลักษณะเป็นของเหลวสีแดงอ่อนใสขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของมะขาม มีตะกอนค่อนข้างน้อย ซึ่งน้ำส้มสายชูเป็นของเหลวใส ไม่มีสี หรือมีสีของวัตถุที่ใช้ในการหมัก (กำเนิด สุภัณวงษ์, 2534) ส่วนน้ำส้มสายชูจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์และพันธุ์สีทองจะเป็นของเหลวที่มีสีน้ำตาลแดงค่อนข้างเข้ม และมีตะกอนมาก

ค่าสีของน้ำส้มสายชูหมักมีผลสอดคล้องกับลักษณะทางกายภาพที่สังเกตด้วยตาเปล่า พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีชมพู และประกายทองจะมีค่า L* สูงกว่าพันธุ์สีทอง และมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ ซึ่งค่า L* ยิ่งเข้าใกล้ 100 จะมีค่าความสว่างมาก (อรุณทิพย์ เหมะธุลิน, 2555) และค่า a* และ b* ของน้ำส้มสายชูจากมะขามทั้ง 4 สายพันธุ์ มีค่าเป็นบวกซึ่งสามารถบ่งบอกลักษณะของสีน้ำส้มสายชูจากมะขามว่ามีลักษณะเป็นของเหลวที่มีแดงออกเหลืองซึ่งสอดคล้องกับการสังเกตสีน้ำส้มสายชูด้วยตาว่ามีลักษณะเป็นสีน้ำตาลแดง

5.2 การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

จากผลการศึกษาคุณภาพของน้ำส้มสายชูจากมะขามทางเคมี อาทิเช่น ค่า pH ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ ปริมาณแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือ ปริมาณกรดอะซิตริก และปริมาณวิตามินซี ในระหว่างการหมักน้ำส้มสายชูเป็นระยะเวลาทั้งหมด 30 วัน พบว่าค่า pH ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำ และปริมาณแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือ และปริมาณวิตามินซีจะมีค่าลดลงตามระยะเวลากระบวนการหมัก ส่วนปริมาณกรดอะซิตริกจะเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก กระบวนการหมักกรดอะซิตริกของเชื้อ *A. aceti* ซึ่งสามารถออกซิไดส์เอทานอลให้เป็นกรดอะซิตริก หรือการเปลี่ยนโครงสร้างของสารประกอบในรูปของเอทานอลไปเป็นกรดอินทรีย์ (สมใจ ศิริโภค, 2555) และเมื่อมีการใช้เอทานอลเป็นแหล่งวัตถุดิบเชื้อแบคทีเรียอะซิตริกก็จะผลิตกรดอะซิตริกเพิ่มขึ้นจึงทำให้น้ำส้มสายชูจากมะขามมีปริมาณกรดอะซิตริกเพิ่มขึ้นจากปริมาณเริ่มต้น 0.86 % จนถึง 2.81 % และปริมาณเอทานอลเริ่มต้น 6.1 % จะมีปริมาณลดลงเหลือ 1.47 ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของมะขาม จากผลดังกล่าวสอดคล้องกับงานวิจัยของวรรณา ทาบโลกา และคณะ (2556) ศึกษาผลของปริมาณแอลกอฮอล์ และสภาวะการให้อากาศต่อปริมาณวิตามินซี และการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมะขามป้อมพบว่าเชื้อ *A. aceti* จะใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และแอลกอฮอล์ในการผลิตกรดอะซิตริกเพื่อเป็นแหล่งพลังงานในกระบวนการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์และกรดอะซิตริกต่อไปจึงทำให้มีแนวโน้มลดลง (นฤมล จันทิมา, 2558) เมื่อสารละลายมีความเป็นกรดเพิ่มขึ้นก็ส่งผลต่อการเปลี่ยนแปลงความเป็นกรด – ด่างของน้ำส้มสายชูทำให้มีค่า pH ต่ำลงตามระดับความเข้มข้นของกรดอะซิตริกที่เพิ่มขึ้น สำหรับปริมาณวิตามินซีจะมีค่าลดลงตามระยะเวลาการหมักเนื่องจาก ให้ผลเช่นเดียวกับธนิยา พันธุวรกุล (2546) ที่วิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในน้ำหมักกากฝรั่ง พบว่าค่าความคงตัวของปริมาณวิตามินซีที่อยู่ในกระบวนการหมัก 1 เดือนจะมีค่าลดลงตามระยะเวลาในการหมักน้ำกากฝรั่งมากขึ้น

ส่วนกระบวนการหมักน้ำส้มสายชู 2 แบบ มีผลต่ออัตราการสร้างกรดอะซิตริกเนื่องจากแบคทีเรียกรดอะซิตริกจะเจริญได้ดีในสภาวะที่มีออกซิเจน จึงพบว่าการหมักแบบ Shake flask จะมีปริมาณกรดอะซิตริกมากกว่ากระบวนการหมักแบบ Rapid ray แต่ถ้าการให้อากาศในระหว่างการหมักมากเกินไปจะมีผลต่อการผลิตกรดอะซิตริกให้ลดลงเนื่องจากกิจกรรมการทำงานของเซลล์ลดลง (Ory *et al.,* 2002)

5.3 การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties)

การตรวจวัดคุณภาพทางจุลชีววิทยามีผลทำให้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูมีความปลอดภัยต่อผู้บริโภคและช่วยยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์ให้เป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 932-2533) โดยมีข้อกำหนดในการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (Total Plate Count) ไม่เกิน $1.0x10^5$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และปริมาณยีสต์ รา (Total Mold Count) ไม่เกิน $1.0x10^2$ โคโลนีต่อกรัม (หลักเกณฑ์และมาตรฐานประกอบการตรวจรับรองสินค้าเกษตรด้านพืช,2556) จากผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาที่มีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมดพบมากที่สุดในน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีทองมีจำนวนที่

พบ $1.9x10^3$ โคโลนีต่อมิลลิลิตร และพบยีสต์ และราในน้ำส้มสายชูจากมะขามพันธุ์สีชมพู 30 โคโลนีต่อมิลลิลิตร

หลังจากที่มีการพัฒนาต่อยอดเป็นน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามพันธุ์ประกายทองได้นำมาวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยา พบว่ามีปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด 20 โคโลนีต่อมิลลิลิตร และไม่มีการตรวจพบยีสต์ และราซึ่งมีคุณภาพเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดเนื่องจากน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณความเป็นกรดค่อนข้างสูง มีค่า pH ต่ำ ซึ่งจะไปมีผลทำให้โครงสร้างของผนังเซลล์จุลินทรีย์เกิดการถูกทำลายทำให้เชื้อจุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโต และเพิ่มจำนวนเซลล์ได้ (ดุษณี ธนะบริพัฒน์,2555)

5.4 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

จากการศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม 4 สายพันธุ์ และเปรียบเทียบสายพันธุ์ของแบคทีเรียอะซิตริก 2 สายพันธุ์ รวมถึงรูปแบบกระบวนการหมักกรดอะซิตริก จะได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูที่มีคุณลักษณะตามที่ต้องการ จึงได้เลือกเอาการทดลองที่ให้ผลผลิตปริมาณกรดอะซิตริกดีที่สุดมาเลือกใช้ในการพัฒนาผลิตภัณฑ์เป็นน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม เพื่อใช้เป็นการเพิ่มมูลค่าให้กับผลผลิตทางการเกษตร โดยกระบวนการหมักที่ใช้เชื้อแบคทีเรีย *Acetrobacter aceti* และการหมักแบบ Rapid tray ให้ปริมาณผลผลิตสูงที่สุดจากการวิเคราะห์คุณภาพทางเคมีมาแล้วจึงนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูโดยผสมกับสารให้ความหวาน 3 ชนิดที่ความเข้มข้น 3% พบว่าผู้ทดสอบชิมให้คะแนนความชอบด้านสี กลิ่น รส และความชอบโดยรวมสูงที่สุดอยู่ที่ระดับชอบปานกลาง (คะแนน = 7) ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ได้รับคะแนนความชอบสูงที่สุด ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่มีการปรับปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติด้วยน้ำตาลฟรุกโตส 3% รองลงมา ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่มีการปรับปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติด้วยน้ำตาลซูโครส 3% (คะแนน 6.53) ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ได้รับคะแนนความชอบน้อยที่สุด ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ที่มีการปรับปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติด้วยน้ำตาลกลูโคส 3% มีคะแนนความชอบอยู่ในระดับต่ำทุกด้าน เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสมีความหวานน้อยจึงไม่สามารถทำให้รสชาติความเปรี้ยวของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ลดลง

5.5 การศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมด และฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ

ในระหว่างกระบวนการหมักกรดน้ำส้มสายชูจากมะขาม ได้ทำการศึกษาปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระของน้ำส้มสายชู และเมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก แล้วนำมาพัฒนาต่อยอดเป็นผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มได้มีการวิเคราะห์ปริมาณดังกล่าวในผลิตภัณฑ์สุดท้ายเพื่อใช้เป็นตัวเปรียบเทียบกับคุณภาพมาตรฐานของน้ำส้มสายชู พบว่าในระหว่างกระบวนการหมักปริมาณฟีนอลิกทั้งหมดและฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระจะลดลงตามระยะเวลาการหมักสอดคล้องกับชัชชญา กาบรินชัย (2556) ศึกษา

ปริมาณที่เหมาะสมของน้ำส้ม น้ำส้มสายชูหมักสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มพบว่าฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระ และปริมาณสารประกอบฟีนอลิกของน้ำส้มสายชูหมักมีค่ามากกว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม กระบวนการเปลี่ยนโครงสร้างของไวน์ไปเป็นกรดอะซิตริกในน้ำส้มสายชูจะมีผลต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาณของสารประกอบฟีนอลิก และฤทธิ์สารต้านอนุมูลอิสระให้มีปริมาณลดลง (Bakir, *et al.,* 2016)

5.6 การศึกษาคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่ผสมน้ำผึ้ง 3 % ที่ได้จากการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส พบว่าลักษณะโดยทั่วไปของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามมีลักษณะเป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานของผลิตภัณฑ์ชุมชน อาทิเช่น เป็นของเหลวใส มีสีเช่นเดียวกับวัตถุดิบ ไม่พบแร่กำมะถัน ปริมาณสารโลหะหนัก และจำนวนเชื้อจุลินทรีย์เป็นไปตามมาตรฐาน มีค่า pH อยู่ในเกณฑ์ที่กำหนด แต่ลักษณะของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามบางลักษณะไม่เป็นไปตามเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนด อาทิเช่น มีปริมาณกรดอะซิตริกน้อยกว่า 4 % และมีปริมาณเอทิลแอลกอฮอล์สูงกว่าเกณฑ์ที่กำหนดซึ่งเนื่องจากว่าระยะเวลาการหมักอาจจะสั้นจึงทำให้แอลกอฮอล์ยังเกิดกระบวนการออกซิไดส์ยังไม่สมบูรณ์ สอดคล้องกับงานวิจัยของนฤมล จันทิมา (2558) ที่ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูจากกล้วยมีคุณภาพไม่ตรงตามที่มาตรฐานกำหนด 2 ลักษณะ คือ ปริมาณกรดอะซิตริกมีค่าน้อยกว่า 4 % และปริมาณแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือมีค่ามากกว่า 0.5 %

5.7 ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษารูปแบบการพัฒนาสูตรการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากสินค้าเกษตรในท้องถิ่น
2. ควรศึกษาสัดส่วนการใช้ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรด และชนิดน้ำตาลให้มีความเหมาะสมต่อกระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพ
3. ควรศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการเพิ่มอัตราการผลิตกรดอะซิตริกให้เพิ่มขึ้นจนถึงระดับตามเกณฑ์มาตรฐาน
4. ควรนำข้อมูลที่ได้ไปต่อยอดในการผลิตในรูปแบบเชิงการค้า

บรรณานุกรม

กรมวิชาการเกษตร. (2556). *หลักเกณฑ์และมาตรฐานประกอบการตรวจรับรองสินค้าเกษตรด้านพืช.* สำนักพัฒนาระบบและรับรองมาตรฐานสินค้าพืช กระทรวงเกษตรและสหกรณ์.

กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์. (2558). วิธีมาตรฐานสำหรับการวิเคราะห์อาหาร เล่มที่ 1. กระทรวงสาธารณาสุข. 241 หน้า.

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และสมจิตต์ ปาสะกาศ. (2551). *การพัฒนาสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากข้าวกล้องไทย (Oryza sativa L.) ในระดับห้องปฏิบัติการ.* รายงานการวิจัย สาขาวิทยาศาสตร์เคมี และเภสัช มหาวิทยาลัยบูรพา.

กรองจันทร์ รัตนประดิษฐ์ และสมจิตต์ ปาสะกาศ. (2553). *การสกัดและทดสอบฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ และฤทธิ์ทางเภสัชวิทยาของสารสกัดจากวัตถุดิบ สารมัธยันต์และผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวกล้องไทย (Oryza sativa L.).* รายงานการวิจัย สาขาวิทยาศาสตร์เคมี และเภสัช มหาวิทยาลัยบูรพา.

กองโภชนาการ กรมอนามัย กระทรวงสาธารณสุข. (2535). *ตารางแสดงคุณค่าทางโภชนาการของมะขาม.* สถาบันวิจัยโภชนาการ มหาวิทยาลัยมหิดล

กองเพยแพร่และควบคุมโฆษณา. (2545). *เอกสารเผยแพร่ เรื่อง น้ำส้มสายชูดี..ชีวีปลอดภัย*. สำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา กระทรวงสาธารณสุข. กรุงเทพมหานคร.

กำเนิด สุภัณวงษ์. (2535). *จุลชีวอุตสาหกรรม.* ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

กิตติพงษ์ ชูจิตร. (2541). *การหาปริมาณกรดอะซิติกในน้ำส้มสายชูโดยวิธีโฟลอินเจคชันอะนาลิซิส*. วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

เกษตรฟิวชั่น. (2559). *ส่วนประกอบ Refractometer และวิธีการใช้งานเครื่องวัดความหวาน.* ค้นเมื่อวันที่ 10 เมษายน พ.ศ. 2559 จาก http://www.kasetfusion.com/blog/refractometer/

ขนิษฐา เอี่ยมลออ ชนากานต์ สืบนิคม ไพบูลย์ ชิวะภา และสุภัค ยินดีรูป. (2555). *การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากล้ำต้นธูปฤาษีด้วย Aspergillus niger TISTR 3254 สำหรับนำไปใช้ในการผลิตเอทานอล.* โครงการวิจัยวิทยาสตรบัณฑิต สาขาวิชาชีววิทยา มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี. 77 หน้า.

โครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืช. (2544). *สรรพคุณสมุนไพร*. สำนักงานโครงการอนุรักษ์พันธุกรรมพืชอันเนื่องมาจากพระราชดำริ สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี สวนจิตรลดา กรุงเทพฯ. แหล่งที่มา: http://www.rspg.or.th/plants_data/index.htm. สืบค้นเมื่อวันที่ 24 กันยายน 2559.

จรัล ทรัพย์เสรี. (2009). *การออกแบบการทดลองแบบ Central Composite Design (CCD).* วารสารวิชาการ QF for Quality Management. ฉบับที่ 145 . หน้า 72 –74.

จักรพงศ์ ประเสริฐแสง ปรัชญา วงษ์มา และสวรรยา เม้งเกร็ด. (2555). *การผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากละมุด.* โปรแกรมวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏหมู่บ้านจอมบึง

จิราภรณ์ กระแสเทพ มาระตรี เปลี่ยนศิริชัย และมัณฑนา นครเรียบ. (2557). *สารกาบ้า สารประกอบฟีโนลิกทั้งหมด และฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระของผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปจากข้าว.* วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ฉบับพิเศษ) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ชินวัฒน์ ศาสนนันทน์. (2555). *การหาปริมาณโลหะหนักในพืชผักสวนครัว.* รายงานวิจัย หลักสูตรสาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยราชภัฏสวนสุนันทา. 38 หน้า.

ชัชชญา กาบรินชัย ธวัชชัย ศุภวิทิตพัฒนา และปิยวรรณ ศุภวิทิตพัฒนา. (2556). *การหาปริมาณที่เหมาะสมของน้ำส้ม น้ำส้มสายชูหมักจากน้ำแช่ข้าว และฟรุกโตสไซรัปสำหรับการผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม.* รายงานสืบเนื่องจากการประชุมวิชาการ การนำเสนอผลงานวิจัยระดับชาติ เครือข่ายบัณฑิตศึกษา มหาวิทยาลัยราชภัฏภาคเหนือ ครั้งที่ 11. หน้า 349 –356.

ดุษณี ธนะบริพัฒน์. (2546). *จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม.* ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ. หน้า 1 – 18.

ธนาวรรณ สุขเกษม. (2551). *การศึกษาวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาส้มโอตัดแต่งโดยใช้ฟิลม์ห่อหุ้ม และสารเคลือบผิว.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยนเรศวร. พิษณุโลก.

ธนาวรรณ สุขเกษม. (2558). *การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสัปปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย Acetobacter aceti TISTR 102 และ Gluconobacter oxydans TISTR 402.* การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 2 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น”. หน้า 103 –112.

ธีรวิทย์ ทองอินทร์ และสมนึก สุดใหม่. (2551). *การศึกษาการทำน้ำส้มสายชูจากเปลือกและแกนสับปะรด.* ภาควิชาวิศวกรรมเคมี. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

นฤมล จันทิมา ศศิธร แท่นทอง และเบญจพร ศรีสุวรมาศ. (2558). *การผลิตและการตรวจสอบคุณภาพน้ำส้มสายชูจากกล้วย.* วารสารวิชาการวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏนครสวรรค์ ปีที่ 7 ฉบับที่ 7 . หน้า 57 –76.

นภา โลห์ทอง. (2534). *กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการหมัก.* กรุงเทพฯ : ฟันนี่ พลับลิชชิ่ง 159 หน้า.

นิภา พวงทอง. (2551). *การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากลิ้นจี่ (Litchi chinensis Somn.) กระท้อนพันธุ์พื้นเมือง (Sandoricum koetjape (Burm.f.) Merr.) และกระเจี๊ยบ (Hibiscus sabdariffa Linn.) : กรณีศึกษา ตำบลห้วยสัก อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาการสอนวิทยาศาสตร์.

นาฎจรี ภูมิศักดิ์ อนัญญา พิมดา อังคณา จันทรพลพันธ์. (2559). *การพัฒนาน้ำเชื่อมกลิ่นเสาวรส.* การประชุมวิชาการ “มหาวิทยาลัยมหาสารคามวิจัย ครั้งที่ 12”. หน้า 403 – 409.

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204). (2543). *เรื่อง น้ำส้มสายชู.* ราชกิจจานุเบกษา ฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ ลงวันที่ 24 มกราคม พ.ศ. 2544.

ประดิษฐ์ ครุวัณณา และคณะ. (2530). *การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกและแกนสับปะรด.* สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ วารสารอาหาร 17(3).

ประภาพรรณ พรหมหิรัญกูล. (2551). *การประเมินฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในเครื่องดื่มสมุนไพรและไวน์ไทย.* เวชสารโรงพยาบาลมหาราชนครราชสีมา. 32(2) : 101 – 108.

ปราณี นิมิบุตร. (2552). *การผลิตเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพจากน้ำส้มสายชูหมัก.* รายงานโครงการวิจัย. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก.

ปรานอม ธรรมศิริ. (2555). *การวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกรวมและความสามารถในการต้านอนุมูลอิสระในสมุนไพรประกอบยาดองและยาดองเหล้า.* งานวิจัยสารนิพนธ์ สาขาวิชาวิทยาศาสตรศึกษา มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเพทฯ.

พรธิดา วัฒนกูล พีรพล จิรังคสกุลเดช พรรณี รัตนชัยสิทธิ์. 2557. *การศึกษาเชื้อผสมของ Acetobacter aceti TISTR102 และ Acetobacter cervisiae TN4497 เพื่อการผลิตกรดอะซิติก และสารออกฤทธิ์ทางชีวภาพในการหมักน้ำส้มสายชูจากดอกกระเจี๊ยบ.* วารสารวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี (ฉบับพิเศษ) มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

เพ็ญจันทร์ สังข์แก้ว. 2551. *การพัฒนารูปแบบการจัดการธุรกิจชุมชนเพื่อการพึ่งตนเองตามแนวเศรษฐกิจพอเพียงประเภทธุรกิจเกษตรของเกษตรกรปลูกมะขามหวานเพื่อการค้า จังหวัดเพชรบูรณ์.* รายงานการวิจัย คณะวิทยาการจัดการ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. *การเสื่อมเสียของอาหารเนื่องจากจุลินทรีย์.* แหล่งที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki . สืบค้นเมื่อวันที่ 25 สิงหาคม 2556.

เมดไทย. (2559). *มะขาม สรรพคุณและประโยชน์ของมะขาม 42 ข้อ.* แหล่งที่มา: https://medthai.com. สืบค้นเมื่อวันที่ 25 กันยายน 2559.

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน. (2552). *น้ำส้มสายชูหมัก. (มผช. 326/2547).* แหล่งที่มา: http://service.ifrpd.ku.ac.th/koha_ku/opac-detail.php?bib=4310 . สืบค้นเมื่อวันที่ 25 สิงหาคม 2556.

มาลัย บุญรัตนกรกิจ และคณะ. (2549). *การพัฒนาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากมะพร้าวน้ำหอมเพื่อสุขภาพ.* สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

มาลัย บุญรัตนกรกิจ. (2548). *คู่มืออบรมการทำน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำผลไม้.* สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ

มาลัย เมืองน้อย และพิสมัย ศรีชาเยช. (2555). *การผลิตน้ำส้มสายชูหมักและน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม.* เอกสารประกอบการฝึกอบรม. สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ

ยา รัตนาปนนท์. (2545). *เคมีอาหาร.* ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

รสสุคนธ์ เหล่าไพบูลย์. (2528). *การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อน้ำส้มสายชูที่เหมาะสมต่อวิธีการผลิตแบบต่าง ๆ.* วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

รีเฟคโตมิเตอร์. (2557). *วิธีการใช้งานเครื่องวัดความหวาน Refractometer.* ค้นเมื่อวันที่ 10 เมษายน พ.ศ. 2559 จาก ที่มา : http://www.brew-corner.com/article/1/refractometer

รำไพ เกณฑ์สาคู บุษบา ธระเสนา และจาริณี ทิพยมาศ. (2549). *การผลิตน้ำส้มสายชูจากน้ำมันแก้วโดยเชื้อยีสต์และ Acetobacter aceti TISTR 102*. วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหาสารคาม.

ลักขณา รุจนะไกรกานต์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. (2540). *หลักการวิเคราะห์อาหาร.* พิมพ์ครั้งที่ 5. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร มหาวิทยาลัยเชียงใหม่

วิกีพีเดีย สารานุกรมเสรี. (2558). *มะขาม.* แหล่งที่มา: https://th.wikipedia.org/wiki/. สืบค้นเมื่อวันที่ 24 กันยายน 2559.

วรรณาภา ทาบโลกา จินตนา เป็นรัมย์ และนภาลัย ใยบัว. (2556). *ผลของปริมาณแอลกอฮอล์และสภาวะการให้อากาศต่อปริมาณวิตามินซีและการผลิตน้ำส้มสายชูหมักมะขามป้อม.* การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 51. สาขาวิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลตะวันออก.

วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. (2532). *เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม*. โรงพิมพ์โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ

วราวุฒิ ครูส่ง พนิต เพ็ชรน่วม และประภาส ปิ่นวิเศษ. (2533). *เส้นทางวิจัยกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก การพัฒนาเทคโนโลยีเพื่อทดแทนการนำเข้าสู่การยอมรับของภาคเอกชนไทย.* วารสารวิจัยและนวัตกรรมเพื่ออุตสาหกรรมไทย.

ศรีสุดา เคยอาษา. (2554). *การศึกษาคุณลักษณะของเอนไซม์ฟรุกโตซิสทรานเฟอเรสจากแก่นตะวันเพื่อนำไปผลิตฟรุกโตโอลิโกแซคคาไรด์.* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยศิลปากร กรุงเทพฯ. 114 หน้า.

ศศิธร แท่นทอง. (2551). *รายงานวิจัย เรื่อง ชาข้าวงอก.* สาขาวิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์. 48 หน้า.

ศุภาวิชญ์ฐา สุวรรณแพทย์. (2551). *การผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบบต่อเนื่องจากไวน์สับปะรด.* วิทยานิพนธ์ปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพฯ.

สถาบันมะขามหวาน. *พันธุ์มะขามหวาน.* แหล่งที่มา : http://agritech.pcru.ac.th/new/page/tamarineinst.html. สืบค้นเมื่อวันที่ 2 มิถุนายน พ.ศ. 2559.

สมใจ ศิริโภค. (2555). *จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม.* ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพฯ. กรุงเทพฯ. 352 หน้า.

สมใจ ศิริโภค. (มปป). *เทคโนโลยีการหมัก***.** ศูนย์สื่อเสริมกรุงเทพ. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ กรุงเทพฯ.

เสาวนีย์ ธรรมสถิติ. (2547). *แบคทีเรียทางเทคโนโลยีชีวภาพ เซลล์และผลิตภัณฑ์ของเซลล์.* สถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล. โรงพิมพ์สถาบันพัฒนาสาธารณสุขอาเซียน. กรุงเทพมหานคร. หน้า 109 – 125.

อรวัสสา เผือกสุข ชัยศักดิ์ จันศรีนิยม และมยุรี กัลยาวัฒนกุล. (2555). *ฤทธิ์ทางชีวภาพของสารสกัดเห็ดฟางเพื่อใช้ประโยชน์ทางเครื่องสำอาง.* สำนักวิชาวิทยาศาสตร์เครื่องสำอาง มหาวิทยาลัยแม่ฟ้าหลวง เชียงราย.

อรุณทิพย์ เหมะธุลิน สกุลกานต์ สิมลา สุรศักดิ์ บุญแต่ง และสุดาทิพย์ อินทร์ชื่น. (2555). *ความสัมพันธ์ระหว่างค่าสี (L* , a* และ b*) กับปริมาณแอนโทไซยานินในเชื้อพันธุกรรมข้าวโพดข้าวเหนียวสีม่วง*. แก่นเกษตร ปีที่ 40 ฉบับพิเศษ 4. หน้า 59 - 64.

อัคกะบัทคาน ปาทาน. (2540). *การผลิตมอลโทเดกซ์ทรินโดยใช้มอล์ทธัญพืช.* วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเคมี มหาวิทยาลัยเชียงใหม่. 48 หน้า.

อับดุลลาดีฟ ดอรอแม และสินินาฎ จงคง. (2557). *การผลิตน้ำตาลรีดิวซ์จากเปลือกกล้วยด้วยสารละลายน้ำส้มสายชู.* วิศวสารลาดกระบัง ปีที่ 31 ฉบับที่ 1. หน้า 31 – 36.

อัสนี วิจิตระกะ และนวลพรรณ ณ ระนอง. (2551). *การหาสูตรอาหารน้ำมะพร้าวที่เหมาะสมในการผลิตไดอะซิดิล และอะซิโทอินโดยเชื้อ Lactobacillus pentosus SR 4-2 ด้วยวิธี*

พื้นผิวผลตอบ. การประชุมวิชาการ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 46 ฉบับที่ 7. หน้า 630 – 637.

A.O.A.C. (1984). *Official Methods of Analysis 14th ed.* Association Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.

A.O.A.C. (1995). *Official Methods of Analysis 16th ed.* Association Official Analytical Chemists, Washington, D.C., USA.

A.O.A.C. (2000). *Official Methods of Analysis of AOAC International.* Gaithersburg, Md.: Association Official Analytical Chemists.

Bakir, S., Toydemir, G., Boyacioglu, D., Beekwilder, J., and Capanoglu, E. (2016). *Fruitantioxidants during vinegar processing changes in content in vitro bio accessibility*. International Journal of Molecular Science. 17(1658) : 1 – 12.

Bumer, R.L. 1964. *Determination of reducing sugar value 3,5 – dinitrosalicylic acid method.* Methods in Carbohydrate Chemistry. 4 : 67 – 71.

Conner, H.A. and R.J. Allgeier. (1976). *Vinegar : It's history and development.* Adv. Appl. Microbiol. 20 : 81 – 133.

Crueger, W. and A. Crueger. (1999). *Biotechnology : A Textbook of Industrial Microbiology. 2nd ed.* Sunderland : Sinauer Associates.

Ebner, H. (1982). *Vinegar in precott and Dunn's Industrial Microbiology*. AVI Publishing Corn., Inc. Weatport, Connecticut.

Gluconobacter Oxydans. ค้นเมื่อวันที่ 26 สิงหาคม พ.ศ. 2557. ที่มา http://enologyaccess.org/EA2/images/stories/icrobes/g.oxydans40xps.jpg.

Horiuchi, J.i., Kanno. T., and Kibayashi., M. (1999). *New vinegar production from onions.* Journal of Bioscience and Bioengineering. 88: 107-109.

Jin, S.S., and Yong, J.J. (2003). *Changes in the components of acetic acid fermentation of brown rice using raw starch digesting enzyme*. J. Korean Soc. Food Sci. Nutr. 32(3) : 381 – 387.

Miller, G.L. (1959). *Use of dinitrosalicyclic acid reagent for determination of reducing sugar*. Anal Chem. Vol., 31, pp. 426 – 428.

Moonmangmee, D., R. Taloadtaisong, S. Saowaro, S. Moonmangmee and S. Tanasupawat. (2005). *Vinegar making from thai traditional alcoholic beverge, satoh*. Depart. Microciol, Fac. Science, king Mongkut Thechnol. Thonburi, Bangkok.

Nanba, a., Kimura, K., and Nagai, S. (1985). *Vinegar production by Acetobacter rancevs cells fixed on a hollow fiber module.* Journal Fermentation Technology. 63: 175 – 184.

Ohmori, S., T. Uozumi and T. Beppu. (1982). *Loss of acetic acid resistance and ethanol oxidizing ability in an Acetobacter strain*. J. Agric. Biol. Chem. 46(2) : 381 – 389.

Ory, I.D., Romero, L.E., and Centero, D. (2002). *Optinim tarting – up protocol a piot plant scale acetifier for vinegar production.* Journal of food enginerring. 52: 31 - 37

Saha, P., and Banerjee, S. (2013). *Optimization of process parameters for vinegar production using banana fermentation*. International Journal of Research in Engineering and Technology. 2(9) : 501 – 514.

Shahidi, F. and Wanasundara, P.K.J. (1992). *Phenolic antioxidant*. Crit Rev Food Sci Nutrition. 32: 67-103

Sokollek, S.J., Hertel, C., and Hammes, W.P. (1998). *Cultivation and preservation of vinegar bacteria*. Journal of Biotechnology. 60: 195 – 206.

Talaro, K. and A. Talaro. (1996). *Foundations in Microbiology 2nd ed.* Chicago : Wm. C. Brown Publishers.

Nation Nutrient Database for Standard Reference Release 28. (2014). *Nutrient values and weight of tamarind.* United States Depaetment of Agriculture Research Service. USA.

Vinegar Connoisseurs International. 2003. *The Vinegar Bacteria*. แหล่งที่มา www.vinegarman.com/zoo_vinegar_bacteria1.shtml. สืบค้นเมื่อวันที่ 26 สิงหาคม 2557

.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ
(Physical Properties)

ภาคผนวก ก
วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)

1. การวัดค่าสี (Colour Measuring) (ดัดแปลงมาจากธนาวรรณ และคณะ., 2558)

หลักการ

การวัดสีของผลิตภัณฑ์มีหลายระบบ เช่น CIE Lab scale หรือระบบ Hunter Lab scale ซึ่งในการทดลองนี้จะใช้ระบบการวัดสีระบบ Hunter Lab scale ซึงจะมีแกนที่ใช้ในการวัดค่าสีใน 3 มิติ เช่นเดียวกับระบบแสง CIE โดยที่ Hunter Lab จะใช้สเกล L , a , b ในการบรรยายลักษณะสีเช่นเดียวกับ L^* , a^* , b^* ของ CIE ความแตกต่างระหว่างการวัดระบบสีทั้ง 2 ระบบ คือ สูตรการคำนวณค่าสีมีพื้นฐานการคำนวณมากจากระบบ X , Y , Z

โดยการวัดค่าสีระบบ CIE เป็นที่ยอมรับมากที่สุด คือ ระบบ L^* a^* b^* ซึ่งเป็นระบบการบรรยายสีแบบ 3 มิติ เป็นวิธีการวัดสีที่ใช้ลักษณะของ color space โดยมีการกำหนดค่าสี ดังนี้

แกน L^* จะแสดงถึงค่าความสว่าง (Lightness) มีค่าอยู่ระหว่าง 0 - 100

ค่า $+L^*$ แสดงสีขาว ⟶ ค่า $-L^*$ แสดงสีดำ

แกน a^* จะแสดงถึงค่าสีแดงไปสีเขียว

ค่า $+a^*$ แสดงสีแดง ⟶ ค่า $-a^*$ แสดงสีเขียว

แกน b^* จะแสดงถึงค่าสีเหลืองไปน้ำเงิน

ค่า $+b^*$ แสดงสีเหลือง ⟶ ค่า $-b^*$ แสดงสีน้ำเงิน

วิธีการทดลอง

เครื่องมือ Hunter Lab digital color รุ่น Colour Flex

1.1 เตรียมตัวอย่างน้ำส้มสายชู ปริมาตร 20 มิลลิลิตร

1.2 นำตัวอย่างน้ำส้มสายชูมาใส่ในถาดแก้วกลมใส (glass cell) ที่มีขนาด 0.50 นิ้ว ของเครื่องวัดสี

1.3 ปิดทับด้วยแผ่นขาวมาตรฐาน (L = 91.29, a = -1.15, b = 1.49)

1.4 อ่านค่าสีโดยใช้ระบบ CIE Lab โดยค่าที่ได้จะเป็นค่า L^* a^* และ b^*

1.5 จากนั้นนำมาคำนวณค่า Total color difference (ΔE), Yellowness Index (YI) และ White Index (WI) ตามสูตร ดังนี้

สูตรคำนวณหา Total color difference (ΔE)

$$\Delta E = (\Delta L^2+\Delta a^2+\Delta b^2)^{0.5}$$

สูตรคำนวณหา Yellowness Index (YI)

$$YI = 142.86b / L$$

สูตรคำนวณหา White Index (WI)

$$WI = 100- [(100-L)^2+a^2+b^2]^{0.5}$$

เมื่อ $\Delta L = L_{st.}-L_{sam.}$;

$\Delta a = a_{st.}-a_{sam.}$;

$\Delta b = b_{st.}-b_{sam.}$

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี
(Chemical Properties)

ภาคผนวก ข
วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

1. ปริมาณกรดอะซิตริก (Acetic acid content) (ดัดแปลงมาจาก A.O.A.C., 2000)

เครื่องมือ ชุดไตเตรทกับ 0.1 Sodium hydroxide

1.1 การเตรียมสารเคมี

สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.1 N

ชั่งผง NaOH จำนวน 4 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จากนั้นนำมา standardize เพื่อหาความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ด้วยการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมทาเลต ($KHC_8H_4O_4$)

สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน (Phenolpthalein) 1%

ชั่งผงฟีนอล์ฟทาลีน จำนวน 1 กรัม นำมาละลายในเอทานอล 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมทาเลต ($KHC_8H_4O_4$)

ชั่งผง โพแทสเซียมทาเลต ($KHC_8H_4O_4$) ที่ผ่านการอบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นใน dessicator ปริมาณ 0.60 – 0.70 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 75 มิลลิลิตร ในขวดรูปชมพู

1.2 วิธีการ standardize กับสารละลาย NaOH ทำโดย

1.2.1 นำสารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมทาเลต ($KHC_8H_4O_4$) ที่เตรียมได้ข้างต้นมาหยดด้วยอินดิเคเตอร์ คือ ฟีนอลฟ์ทาลีน 1% จำนวน 2 หยด

1.2.2 นำมาไตเตรทกับสารละลาย NaOH ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนถาวร

1.2.4 ทำการไตเตรท 3 ซ้ำ บันทึกปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ในการไตเตรท

1.2.5 นำมาคำนวณหา Normality ของ NaOH ตามสูตร ดังต่อไปนี้

สูตรคำนวณหาน้ำหนักสมมูล

$$\text{Normality ของ NaOH} = \frac{\text{จำนวนกรัม } KHC_8H_4O_4 \times 1000}{\text{มิลลิลิตร NaOH} \times 204.229}$$

1.3 วิธีการทดลอง

เครื่องมือ ชุดไตเตรทกับ 0.1 N NaOH

1.3.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask ขนาด 50 มิลลิลิตร

1.3.2 หยด 1% Phenolpthalein ลงไป 2 - 3 หยด ผสมให้เข้ากัน

1.3.3 นำมาไตเตรทกับสารละลายมาตรฐาน NaOH ที่อยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูถาวร บันทึกปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (V_1)

1.3.4 ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิตริกในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูจากมะขาม

1.3.5 นำมาคำนวณหาปริมาณกรดอะซิตริกในน้ำส้มสายชูตามสูตร ดังต่อไปนี้

สูตรคำนวณหาปริมาณกรดอะซิติก (% Acetic acid)

$$\text{ปริมาณกรดอะซิตริก (\%)} = \frac{N_{(NaOH)} \times V_{(NaOH)} \times MW_{(\text{Acetic acid})} \times 100}{1000 \times V_{(Sample)}}$$

กำหนดให้ $V_{(NaOH)}$ = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

$N_{(NaOH)}$ = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ในการไตเตรท (นอร์มอล)

$MW_{(\text{Acetic acid})}$ = น้ำหนักโมเลกุลของกรดอะซิตริก (CH_3COOH) มีค่าเท่ากับ 60

$V_{(Sample)}$ = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่างที่ใช้ในการไตเตรท (มิลลิลิตร)

ทำการทดลองซ้ำ 5 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้ซึ่งมีความแตกต่างกันไม่เกิน ± 3% นำมาหาค่าเฉลี่ยของปริมาณของกรดอะซิตริกในตัวอย่าง

2. การหาปริมาณวิตามินซี (Vitamin C content) (ดัดแปลงมาจาก A.O.A.C., 2000)

เครื่องมือ ชุดไตเตรทกับ 0.02 N Indophenol dye

2.1 การเตรียมสารเคมี

<u>สารละลายอินโดฟีนอล (Indophenol dye) 0.1%</u>

ชั่งผง 2,6-dichlorophenlindophenol จำนวน 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำเย็นและทำแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

<u>สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก (Metaphosphoric acid) 4%</u>

ชั่งผงเมตาฟอสฟอริก จำนวน 4 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

<u>สารละลายมาตรฐานของวิตามินซี (Ascorbic acid) 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ชั่งผง Ascorbic acid จำนวน 100 มิลลิกรัม นำมาละลายใน 4% metaphosphoric acid ปริมาตร 60 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายมาตรฐานของวิตามินซี 1 มิลลิลิตร = 1 มิลลิกรัมของ Ascorbic acid

2.2 วิธีการทดลอง

2.2.1 ปิเปตสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก ความเข้มข้น 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ปริมาณ 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask เติม 4% metaphosphoric acid ปริมาณ 5 มิลลิลิตร

2.2.2 นำสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิกมาไตเตรทกับสารละลาย 0.1% indophenol dye จนกระทั่งได้จุดยุติซึ่งสารละลายจะมีสีชมพู ทำการทดลองทั้งหมด 3 ซ้ำ

2.2.3 ทำการบันทึกผลปริมาตรของสารละลาย 0.1% indophenol dye ที่ใช้หาปริมาตรวิตามินซีในสารละลายมาตรฐานกรดแอสคอร์บิก (V_1)

2.2.4 ปิเปตตัวอย่างน้ำส้มสายชูมะขาม 1 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask เติมสารละลาย 4% metaphosphoric acid 5 มิลลิลิตร

2.2.5 นำมาไตเตรทกับสารละลาย 0.1% indophenol dye จนกระทั่งได้สีชมพูจาง ๆ คงตัวประมาณ 15 วินาที จดปริมาตรของ Indophenol dye ที่ใช้ (V_2)

2.2.6 ทำการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูในแต่ละสูตร ๆ ละ 3 ซ้ำ

2.2.7 นำค่าที่ได้มาคำนวณหาปริมาณวิตามินซี ตามสูตร ดังต่อไปนี้

สูตรคำนวณหาปริมาตรวิตามินซี

$$\text{ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร)} = \frac{0.02 \times V_2 \times 100}{V_1}$$

กำหนดให้ V_1 = ปริมาตรของ 0.1% Ihdophenol dye ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิก (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของ 0.1% Ihdophenol dye ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูมะขาม (มิลลิลิตร)

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้ซึ่งมีความแตกต่างกันไม่เกิน ± 3% นำมาหาค่าเฉลี่ยของปริมาณวิตามินซีในตัวอย่าง

ตัวอย่างเช่น น้ำส้มสายชูพร้อมดื่มสูตรที่ 1 หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR102 ที่ปรับแต่งรสชาติด้วยน้ำตาลทรายความเข้มข้น 3% นำมาไตเตรทกับ 0.1% Ihdophenol dye ได้ 12 มิลลิลิตร และมีปริมาตร 0.1% Ihdophenol dye ที่ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานของกรดแอสคอร์บิกได้ 4 มิลลิลิตร

ปริมาณวิตามินซี (มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร) $= \frac{0.02 \times V_2 \times 100}{V_1}$

$= \frac{0.02 \times 12 \times 100}{4}$

= 6 มิลลิกรัม/ 100 มิลลิลิตร

ในสารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณวิตามินซี 6 มิลลิกรัม

3. การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ (Alcohol contents)

3.1 เครื่องมือทดสอบ

เครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์ (Ebluliometer)

3.2 หลักการ

การวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยวิธีนี้จะมีความแม่นยำสูง นิยมนำมาใช้ในการตรวจวัดในเครื่องดื่มที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ เช่น ไวน์ เหล้า เป็นต้น การหาปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยวิธีนี้อาศัยหลักการวัดจุดเดือดของไวน์เทียบกับจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ ถ้าไวน์มีปริมาณแอลกอฮอล์สูงจะทำให้จุดเดือดของไวน์ลดลงจากจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์มากยิ่งขึ้น

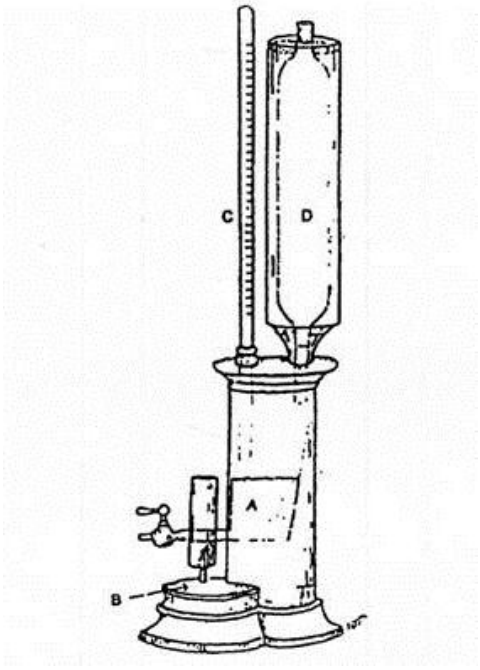
3.3 วิธีการทดลอง

การหาจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์

ตวงน้ำกลั่นบริสุทธิ์ 30 มิลลิลิตร หรือใช้หลอดแก้วตวงน้ำกลั่นให้ถึงขีด “EAU” จากนั้นนำน้ำกลั่นใส่ลงในช่องใส่ตัวอย่าง (A) แล้วนำเทอร์โมมิเตอร์ (C) มาต่อให้ปลายอยู่เหนือน้ำ จุดตะเกียงแอลกอฮอล์ (B) ต้มจนกระทั่งน้ำกลั่นเดือด เมื่ออุณหภูมิจุดเดือดคงที่ประมาณ 15 – 30 วินาที ให้อ่านอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์จากเทอร์โมมิเตอร์ นำค่าที่ได้ไปตั้งค่าบนแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ โดยตั้งให้จุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่อ่านได้ (สเกลด้านใน) ให้ตรงกับ 0 ของแอลกอออล์ (สเกลด้านนอก)

การหาจุดเดือดของตัวอย่างไวน์

ตวงตัวอย่างไวน์มะขาม 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในช่องตัวอย่าง จากนั้นเติมน้ำเย็นลงในท่อที่ใช้ในการควบแน่น (D) แล้วนำเทอร์โมมิเตอร์มาต่อให้ปลายอยู่เหนือสารละลายเช่นเดียวกับน้ำบริสุทธิ์ ต้มสารละลายจนเดือด และมีอุณหภูมิคงที่ จากนั้นอ่านจุดเดือดของสารตัวอย่าง แล้วนำไปเทียบกับแผ่นสเกล โดยอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของตัวอย่างน้ำส้มสายชู (สเกลนอก) ให้ตรงกับจุดเดือดของตัวอย่างน้ำส้มสายชู (สเกลด้านใน) จากแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์



ภาพที่ ข-1 ลักษณะของเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์

A คือ ช่องใสตัวอย่าง B คือ ตะเกียงแอลกอฮอล์

C คือ เทอร์โมมิเตอร์ D คือ ส่วนควบแน่น

ภาพที่ ข-2 แผ่นอ่านแอลกอฮอล์

4. การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Reducing sugar) (ดัดแปลงวิธีของ Miller, 1959 และขนิษฐา เอี่ยมลออ, 2555 อ้างอิงวิธีของธัญญกาญจน์ และคณะ, 2553)

เครื่องมือ ชุดไตเตรทกับ 3,5 - Dinitrosalisylic acid

4.1 การเตรียมสารเคมี

<u>สารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) ความเข้มข้น 2 โมลาร์</u>

ชั่งสารโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) จำนวน 80 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

การเตรียมสารละลาย 2M NaOH หาได้จากการคำนวณ

$$\frac{g}{MW} = \frac{CV}{1,000}$$

กำหนดให้ g คือ น้ำหนักของ NaOH หน่วยเป็นกรัม (g)

MW คือ มวลโมเลกุลของ NaOH (MW_{NaOH} = 40)

C คือ ความเข้มข้น หน่วยเป็น Molar (M)

V คือ ปริมาตร หน่วยเป็นมิลลิลิตร (ml)

ต้องการเตรียม 2 M NaOH

$$\frac{g}{40} = \frac{(2)(1,000)}{1,000}$$

$$g = 80 \text{ กรัม}$$

∴ ต้องชั่งสาร NaOH 80 กรัม ละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 1,000 มิลลิลิตร

<u>สารละลาย 3,5 ไดไนโตรซาลิไซลิกแอซิด (3,5-Dinitrosalisylic acid; DNS)</u>

ประกอบไปด้วย (อ้างอิง Bumer, R.L., 1964)

3,5-Dinitrosalisylic acid	10.0	กรัม
2M NaOH	200.0	มิลลิลิตร
Potassium sodium tartate	300.0	กรัม

ชั่งผง 3,5-Dinitrosalisylic acid จำนวน 10.0 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตรเล็กน้อยผสมให้เข้ากันบน hot plate จนสารละลายที่ได้มีสีเหลืองใส จากนั้นค่อย ๆ เติม 2M NaOH ลงไปผสมให้สารละลายเป็นเนื้อเดียวกัน แล้วค่อย ๆ เติม potassium sodium tartate pH 5.0 ลงไปขณะที่ยังร้อนอยู่ คนให้เข้ากันจนได้สารละลายมีสีส้ม – เหลืองใส ตั้งทิ้งไว้ให้เย็น ปรับปริมาตรให้ได้ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร จะได้ DNS reagent เก็บไว้ในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

<u>สารละลายมาตรฐานฟรุกโตส (Fructose solution) ความเข้มข้น 1 mg/ml</u>

ชั่งฟรุกโตส ($C_6H_{12}O_6$) จำนวน 1 กรัม ละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร ใช้เป็นสารละลายมาตรฐานกลูโคสที่มีปริมาณกลูโคส 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

4.2 การทำกราฟมาตรฐานของน้ำตาลฟรุกโตส (Fructose standard curve)

4.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส ให้มีความเข้มข้น ดังนี้ 0 , 0.2 , 0.4 , 0.6 , 0.8 และ 1.0 mg/ml จาก stock ของน้ำตาลฟรุกโตสความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ดังตารางที่ ข-1

4.2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตสตามตารางที่ ข-1 ลงในหลอดทดลองสะอาด

4.2.3 เติมสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ผสมลงในสารละลายมาตรฐาน

4.2.4 นำหลอดทดลองที่มีส่วนผสมของสารละลายมาตรฐาน Fructose กับสารละลาย DNS มาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว

4.2.5 จากนั้นนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เป็นเวลา 5 นาที จนสารละลายเย็น แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดทดลอง 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันโดย vortex mixer

4.2.6 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาว 540 นาโนเมตร โดยใช้สารละลาย DNS เป็น Blank ทำการทดลดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

4.2.7 นำค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส มาเขียนกราฟมาตรฐานแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนคลื่นแสงกับความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส

ตารางที่ ข-1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส

หลอดที่ / ความเข้มข้น (mg/ml)	1	2	3	4	5	6
	0	0.2	0.4	0.6	0.8	1.0
สารละลายFructose (ml)	0	0.1	0.2	0.3	0.4	0.5
น้ำกลั่น (ml)	0.5	0.4	0.3	0.2	0.1	0
DNS (ml)	1	1	1	1	1	1
ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที						
น้ำกลั่น (ml)	5	5	5	5	5	5
ปริมาตรรวม (ml)	6.5(Blank)	6.5	6.5	6.5	6.5	6.5
	วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{540} นาโนเมตร					

ตัวอย่างการเตรียมสารละลายฟรุกโตสที่ความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

จาก stock ของสารละลายน้ำตาลฟรุกโตสที่มีความเข้มข้น 1 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร ต้องเตรียมปริมาตรของสาร โดยคำนวณ ดังนี้

$$C_1V_1 = C_2V_2$$

เมื่อ C_1 และ V_1 คือ ความเข้มข้น และปริมาตรของสารละลาย Fructose ใน stock

C_2 และ V_2 คือ ความเข้มข้น และปริมาตรของสารละลาย Fructose ที่ต้องการ

$$(1\ mg/ml)\ V_1 = (0.2\ mg/ml)(0.5\ ml)$$

$$V_1 = \frac{(0.2\ mg/ml)(0.5\ ml)}{(1\ mg/ml)}$$

$$= 0.1\ ml$$

∴ จะต้องปิเปตสารละลายมาตรฐานของน้ำตาลฟรุกโตสใน stock มา 0.1 มิลลิลิตร แล้วเติมน้ำกลั่นปริมาตร 0.4 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตสที่มีความเข้มข้น 0.2 มิลลิกรัม/มิลลิลิตร

4.3 วิธีการทดลอง

4.3.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดลอง

4.3.2 เติมสารละลาย DNS reagent ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ผสมลงในตัวอย่างน้ำส้มสายชู

4.3.3 นำมาต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ปิดปากหลอดทดลองด้วยลูกแก้ว

4.3.4 จากนั้นนำหลอดทดลองมาแช่ในน้ำเย็นเพื่อหยุดปฏิกิริยา เป็นเวลา 5 นาที จนสารละลายเย็น แล้วเติมน้ำกลั่นลงไปในหลอดทดลอง 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันโดย vortex mixer

4.3.5 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาว 540 นาโนเมตร โดยใช้สารละลาย DNS เป็น Blank ทำการทดลดลองตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

4.3.6 นำมาการดูดกลืนคลื่นแสงของตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่มมาเทียบกับกราฟมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส เพื่อหาความเข้มข้นของน้ำตาลทั้งหมดในสารละลายตัวอย่าง หรืออาจจะใช้วิธีการคำนวณหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากสมการเส้นตรงของกราฟมาตรฐาน

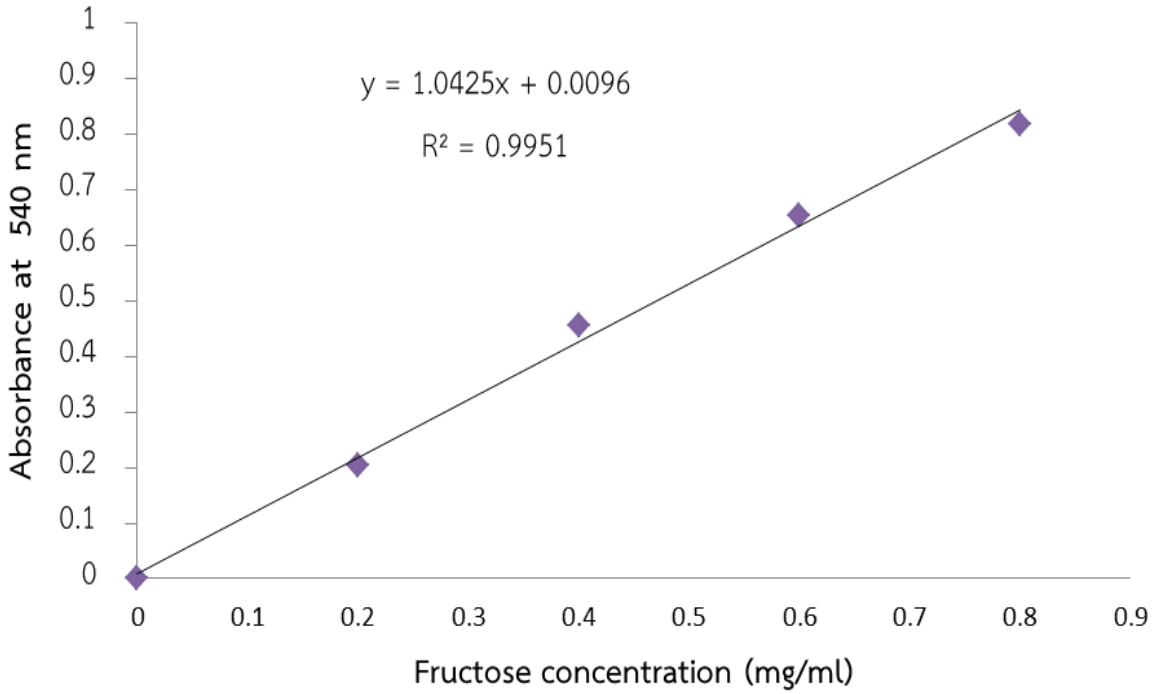
4.4 การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในสารละลายตัวอย่าง

จากการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตสที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ แสดงดังตารางที่ ช-2

ตารางที่ ข-2 ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลฟรุกโตส

Fructose concentration (mg/ml)	Absorbance at 540 nm
0	0
0.2	0.205
0.4	0.456
0.6	0.654
0.8	0.818
1.0	0.978

นำมาค่าการดูดกลืนคลื่นแสงมาพลอตกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ระดับความเข้มข้นต่าง ๆ (ภาพที่ ข-3)



ภาพที่ ข-3 กราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Fructose

จากกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส จะได้สมการเส้นตรง y = mx+C

โดย y คือ ค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร

x คือ ความเข้มข้นของ reducing sugar (mg/ml)

C คือ ค่าคงที่

สามารถคำนวณหาปริมาณ reducing sugar ได้ดังนี้

จากภาพที่ ข-3 เป็นกราฟมาตรฐานของสารละลายมาตรฐาน Fructose จากการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตรในน้ำส้มสายชูหมัก โดยสามารถคำนวณหาปริมาณของน้ำตาลรีดิวซ์ในตัวอย่างได้จากสมการ

$$Y = 1.0425x - 0.0096$$

โดย Y = ค่า Absorbance

X = ปริมาณของสารประกอบฟีนอกลิกทั้งหมด (mg/ml)

5. การหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solid)

เครื่องมือ เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Hand held refractometer)

5.1 วัสดุ และอุปกรณ์

5.1.1 เครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Hand held refractometer)

5.1.2 บีกเกอร์ขนาด 10 มิลลิลิตร

5.1.3 หลอดหยดตัวอย่าง ขวดน้ำกลั่น กระดาษเช็ดเลนส์

5.2 วิธีการทดลอง

5.2.1 นำหลอดหยดตัวอย่างดูดน้ำกลั่นมาหยดลงบนแผ่นปริซึมรองรับสารของเครื่องวัดปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 1 – 2 หยด ปิดแผ่นปริซึมเบา ๆ มองผ่านช่องมองภาพและทำการอ่านค่าโดยสังเกตให้เส้นตัดสีขาวและสีฟ้าตัดตรงกับสเกลที่ 0 เปอร์เซ็นต์บริกซ์พอดี

5.2.2 ทำการหยดสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูแต่ละการทดลองที่อุณหภูมิ 20 องศาเซลเซียส 1 – 2 หยด ลงบนแผ่นปริซึมแล้วทำการอ่านค่าเช่นเดียวกับข้อ 6.2.1 โดยดูแถบบนสเกล อ่านค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ทำการทดลองตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

5.2.3 ก่อนและหลังการวัดค่าแต่ละครั้งให้ทำความสะอาดแผ่นปริซึมของเครื่องด้วยน้ำกลั่นและซับด้วยกระดาษเช็ดเลนส์ให้แห้งก่อนทำการทดลองในตัวอย่างต่อไป โดยกำจัดฝุ่นละออง และคราบสกปรกซึ่งมีผลต่อความถูกต้องของค่าที่อ่านได้

ภาพที่ ข-4 สเกลที่ทำการ calibrate กับน้ำกลั่น

ที่มา : http://www.brew-corner.com/article/1/refractometer

5.3 วิธีการอ่านค่า

5.3.1 ทำการ calibrate เครื่องโดยใช้น้ำกลั่นมาหยดลงบนแผ่นปริซึมของโดยให้เส้นตัดสีขาวและสีฟ้าตัดตรงกับสเกลที่ 0 เปอร์เซ็นต์บริกซ์พอดี

5.3.2 ทำการทดลองตามภาพที่ ข-4 ในการอ่านค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดในตัวอย่างน้ำส้มสายชู หน่วยเป็น เปอร์เซ็นต์บริกซ์ (% Brix) หรือ เปอร์เซ็นต์น้ำหนักต่อน้ำหนักของตัวอย่าง

5.3.3 การอ่านค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ให้อ่านสเกลตรงเส้นตัดระหว่างแถบสีขาว และแถบสีฟ้า ดังภาพที่ ข-5

(ก) หยดตัวอย่าง 1 – 2 หยดบนแผ่นปริซึม

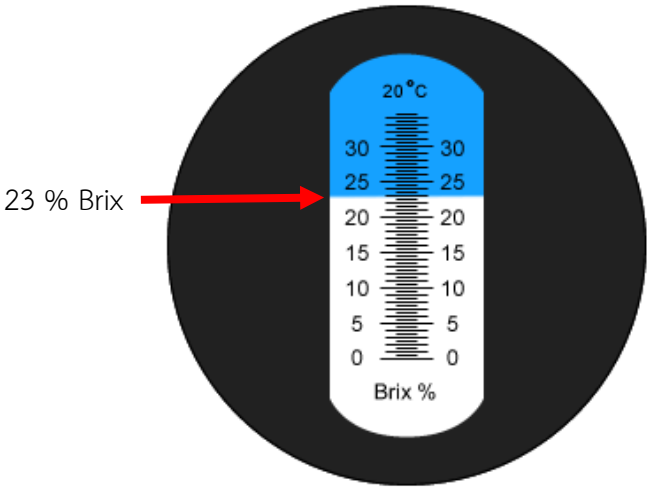
(ข) ปิดฝาปริซึม

(ค) อ่านค่าผ่านช่อง และปรับความคมชัด

ภาพที่ ข-5 วิธีการอ่านค่า Hand held refractometer

ที่มา : http://www.kasetfusion.com/blog/

จากตัวอย่างภาพที่ ข-6 อ่านค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ เท่ากับ 23 % Brix



ภาพที่ ข-6 สเกลของ Hand held refractometer

ที่มา : http://www.brew-corner.com/article/1/refractometer

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา
(Microbiological Properties)

ภาคผนวก ค
วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties)

1. การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacteria count) ด้วยเทคนิคการ pour plate (ดัดแปลงจาก A.O.A.C., 2000)

1.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

<u>อาหารสูตร PCA (Plate Count Agar) ประกอบด้วย</u>

0.5% Peptone	5.0	กรัม
0.25% Yeast extract	2.5	กรัม
0.1% Glucose	1.0	กรัม
1.5% Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

(1) ชั่งส่วนผสมที่เหลือให้ได้น้ำหนักตามสูตร ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร โดยใช้ความร้อนอ่อน ๆ กวนจนผงวุ้นละลายหมด

(2) นำผสมส่วนในข้อ 2 ผสมให้เข้าด้วยกันปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบตามสูตร

(3) นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว

<u>สารละลายเปปโตน (peptone solution) 0.1%</u>

ชั่งผงเปปโตน จำนวน 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร เทใส่ลงในหลอดทดลองขวดฝาเกลียวหลอดละ 9 มิลลิลิตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว

1.2 วิธีการ pour plate

1.2.1 นำสารละลายน้ำส้มสายชูหมักมาทำการ dilution ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) โดยทำการเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย 0.1% peptone ให้มีความเข้มข้น 1 : 10 , 1 : 100 , 1 : 1000 จะได้ความเข้มข้นที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ตามลำดับ

1.2.2 ดูดตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางจากข้อ 1.2.1 มาตัวอย่างละ 1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

1.2.3 เททับด้วยอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA ประมาณ 15 - 20 มิลลิลิตร หมุนจานเพาะเชื้อเบา ๆ ให้อาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่างผสมให้เข้ากันเป็นวงกลม แล้วตั้งทิ้งไว้ให้อาหารเลี้ยงเชื้อแข็งตัว

1.2.4 นำจานเพาะเชื้อที่อาหารวุ้นแข็งตัวแล้วไปอบในตู้เพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยคว่ำจานเพาะเชื้อให้อาหารวุ้นอยู่ด้านบน โดยใช้เวลาในการบ่มเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง

1.2.5 ตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด โดยเลือกเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวน Colony Forming Unit หรือจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (cfu/ml) โดยใช้สูตรคำนวณ ดังนี้

$$\text{Total viable count} = \frac{\sum (X_1 + X_2 + X_3)}{3} \text{ X dilution factor}$$

เมื่อ Total viable count คือ จำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมด (cfu/ml)

X_n คือ จำนวนโคโลนี n ซ้ำ

n คือ จำนวนซ้ำของการทดลอง

dilution factor คือ ค่าคงที่ความเจือจาง

เช่น น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} สามารถตรวจนับจำนวนจุลินทรีย์ทั้งหมดได้เท่ากับ 233 , 188 และ 190 โคโลนี สามารถรายงานผลได้ ดังนี้

$$\text{Total viable count} = \frac{(233 + 188 + 190)}{3} \text{ X } 10^{1}$$

$$= 2003 \text{ cfu/ml}$$

2. การวิเคราะห์หาปริมาณยีสต์ และรา (Yeast and mold count) โดยวิธี spread plate

2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

<u>อาหารสูตร PDA (Potato Dextrose Agar) ประกอบด้วย</u>

Potato	200.0	กรัม
Dextrose	20.0	กรัม
Agar	15.0	กรัม
น้ำกลั่น	1000.0	มิลลิลิตร

(1) ปอกเปลือกมันฝรั่งและหั่นเนื้อมันฝรั่งเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมลูกบาศก์ ขนาดประมาณ 1 เซนติเมตร นำไปชั่งน้ำหนักให้ได้ตามสูตร แล้วต้มในน้ำกลั่นปริมาตร 500 มิลลิลิตร จนเดือดนาน ประมาณ 10-15 นาที และกรองเอาเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำมันฝรั่งผ่านผ้าขาว

(2) ชั่งส่วนผสมที่เหลือให้ได้น้ำหนักตามสูตร ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร ละลายส่วนผสมทั้งหมดด้วยการให้ความร้อน

(3) ปรับปริมาตรอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1000 มิลลิลิตร

(4) นำอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว

<u>สารละลายเปปโตน (peptone solution) 0.1%</u>

ชั่งผงเปปโตน จำนวน 0.1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ที่ความดัน 15 ปอนด์/ตารางนิ้ว

2.2 วิธีการ Spread plate

2.2.1 นำอาหารเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอ เทลงในจานเพาะเลี้ยงเชื้อที่ผ่านการอบฆ่าเชื้อแล้วประมาณ 15 มิลลิลิตร และวางตั้งทิ้งไว้จนวุ้นเกิดการแข็งตัว จึงจะสามารถนำมาใช้ในการวิเคราะห์ยีสต์ และราต่อไป

2.2.2 นำสารละลายน้ำส้มสายชูหมักมาทำการ dilution ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic technique) โดยทำการเจือจางตัวอย่างด้วยสารละลาย 0.1% peptone ให้มีความเข้มข้น 1 : 10 , 1 : 100 , 1 : 1000 จะได้ความเข้มข้นที่ระดับการเจือจาง 10^{-1} , 10^{-2} , 10^{-3} ตามลำดับ

2.2.3 ปิเปตตัวอย่างในแต่ละระดับความเจือจางจากข้อ 1.2.1 มาตัวอย่างละ 0.1 มิลลิลิตร ลงในจานเพาะเชื้อที่ฆ่าเชื้อแล้วด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ทำการทดลอง 3 ซ้ำ

2.2.4 นำแท่งแก้วสามเหลี่ยม (sterile spreader) จุ่มแอลกอฮอล์แล้วลนฆ่าเชื้อด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์มาเกลี่ยลงบนอาหารแข็งด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ

2.2.5 นำจานเพาะเชื้อที่ปล่อยไว้ให้แห้งแล้วไปบ่มในตู้เพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยคว่ำจานเพาะเชื้อให้อาหารวุ้นอยู่ด้านบน โดยใช้เวลาในการบ่มเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 3 – 5 วัน

2.2.6 จากนั้นนำมาตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อยีสต์ และรา โดยเลือกเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (cfu/ml)

ภาคผนวก ง

9 point hedonic scale

ภาคผนวก ง

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม

การทดสอบ 9 – point hedonic scale

หมายเลขผู้ทดสอบ.....

วันที่.....

<u>คำชี้แจง</u> ให้ผู้ทดสอบประเมินตัวอย่างจำนวน 8 ตัวอย่างต่อไปนี้ตามลำดับที่นำเสนอจากซ้ายไปขวาตามรหัสของตัวอย่างแต่ละตัวอย่าง โดยให้คะแนนตั้งแต่ระดับ 1 – 9 ที่แสดงระดับความชอบและไม่ชอบต่อผลิตภัณฑ์ตัวอย่าง และกรุณาบ้วนปากระหว่างทดสอบตัวอย่างทุกครั้ง ดังนี้

9 = ชอบมากที่สุด	8 = ชอบมาก	7 = ชอบปานกลาง
6 = ชอบเล็กน้อย	5 = เฉย ๆ	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย
3 = ไม่ชอบปานกลาง	2 = ไม่ชอบมาก	1 = ไม่ชอบมากที่สุด

คุณลักษณะ	รหัส					
	.....	.....	.....	.....	.....	.....
สี						
กลิ่น						
รสชาติ						
ความชอบโดยรวม						

ข้อเสนอแนะ].....

.....

.....

ขอขอบคุณที่ให้ความร่วมมือ

นักวิจัย

ภาคผนวก จ
วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activities)

ภาคผนวก จ
วิธีวิเคราะห์ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) และฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activities)

1. ปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) (ดัดแปลงมาจาก ธนาวรรณ สุขเกษม, 2551)

1.1 เครื่องมือทดสอบ

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (UV-VIS Spectrophotometer)

1.2 วัสดุอุปกรณ์

1.2.1 ไมโครปิเปตขนาด 10 – 1000 ไมโครลิตร

1.2.2 คิวเวตต์

1.2.3 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร

1.2.4 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)

1.2.5 หลอดทดลองห่อหุ้มอลูมิเนียมฟอยล์หรือขวดสีชา

1.2.6 ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร

1.3 การเตรียมสารเคมี

สารละลายมาตรฐานกรดแกลลิก ความเข้มข้น 1,000 ppm

ชั่งสาร gallic acid จำนวน 0.01 กรัม นำมาละลายในเมทานอล หลังจากนั้นปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน (ppm = 1 g/1,000,000 ml = mg/l)

สารละลาย Folin - Ciocalteu reagent ความเข้มข้น 10% (v/v)

ตวงสาร Folin - Ciocalteu ปริมาตร 10 มิลลิลิตร นำมาละลายในเมทานอล ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร (ทำการเตรียมใหม่ทุกครั้งที่ทำการทดลอง)

สารละลาย Sodium carbonatet (Na_2CO_3) ความเข้มข้น 7% (w/v)

ชั่งสาร โซเดียมคาร์บอเนต (Na_2CO_3) จำนวน 7 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นที่ปราศจากไอออน ผสมให้เข้ากัน ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

1.4 การทำกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิก (Gallic acid standard curve)

1.4.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของ gallic acid ให้มีความเข้มข้น 10 , 40 , 80 , 120 และ 150 ppm โดยปิเปตสารละลายมาตรฐาน gallic acid จาก stock solution ปรับปริมาตรสุดท้ายเป็น 1000 µl ด้วยตัวทำละลายเมทานอล แล้วเขย่าให้เข้ากัน ดังตารางที่ ง-1

ตารางที่ จ-1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน gallic acid

หลอดทดลอง	ปริมาณของ stock solution (μl)	ปริมาณของ methanol (μl)	ความเข้มข้น (ppm)
1	10	990	10
2	40	960	40
3	80	920	80
4	120	880	120
5	150	850	150

1.4.2 ปิเปตสารละลาย Folin – Ciacolteu reagent ปริมาตร 500 μl ลงในหลอดทดลองที่หุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยล์หรือขวดสีชา

1.4.3 ปิเปตสารละลายมาตรฐาน gallic acid ที่ความเข้มข้นต่าง ๆ ในตารางที่ ง-1 ปริมาตร 100 μl ลงในหลอดทดลองที่มีสารละลาย Folin – Ciacolteu reagent

1.4.4 ปิเปตสารละลาย 7% sodium carbonate ปริมาตร 400 μl ลงไปในหลอดทดลอง

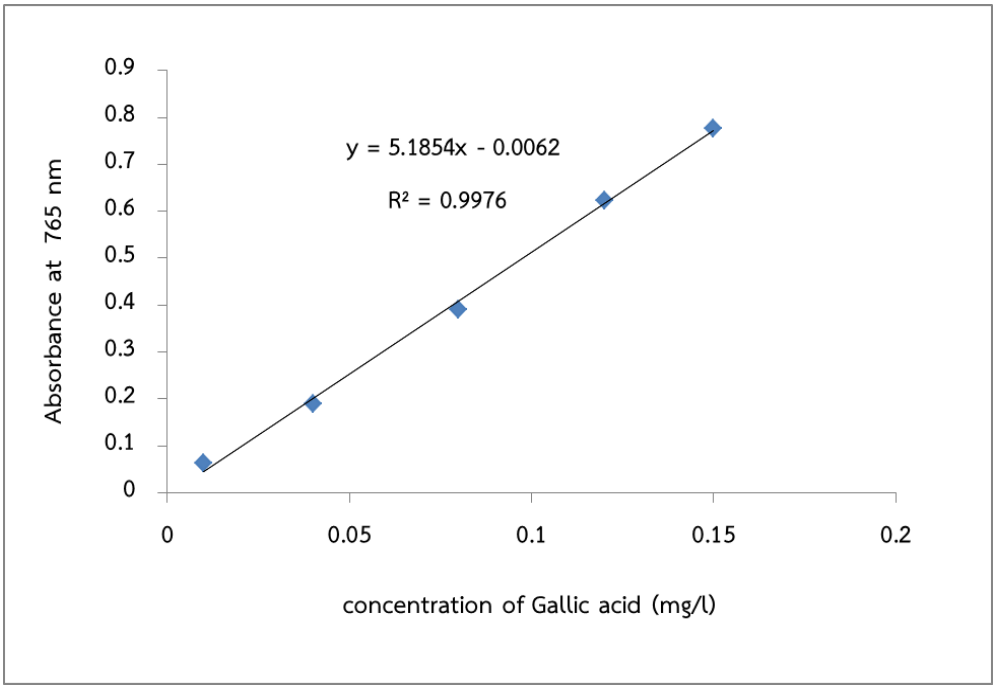
1.4.5 เติมน้ำกลั่นปริมาตร 4000 μl ลงในหลอดทดลอง ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer ปิดปากหลอดทดลองด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ ตั้งทิ้งไว้ให้ทำปฏิกิริยาในที่มืดเป็นเวลา 30 นาที

1.4.6 นำสารละลายมาตรฐาน gallic acid มาวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร

1.4.7 จากนั้นนำค่าที่ได้มาพลอตกราฟมาตรฐานระหว่างความเข้มข้นของ gallic acid กับค่าการดูดกลืนแสง (ภาพที่ ง-1) เพื่อนำไปใช้ในการคำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดในตัวอย่าง

ตารางที่ จ-2 การวัดค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานของ gallic acid

หลอดที่ / ความเข้มข้น (ppm)	1	2	3	4	5	6
	0	10	40	80	120	150
สารละลายมาตรฐาน gallic acid (μl)	100	100	100	100	100	100
10% Folin–Ciacolteu reagent(μl)	500	500	500	500	500	500
7% sodium carbonate(μl)	400	400	400	400	400	400
น้ำกลั่น (μl)	4000	4000	4000	4000	4000	4000
ปริมาตรรวม (μl)	5000 (Blank)	5000	5000	5000	5000	5000
	วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ λ_{765} นาโนเมตร					



ภาพที่ จ-1 กราฟมาตรฐานของสารละลาย gallic acid

จากภาพที่ ง-1 แสดงกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิคจากการวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตรในน้ำส้มสายชูหมัก โดยสามารถคำนวณหาปริมาณของสารประกอบฟีโนลิกในตัวอย่างได้จากสมการ

Y = 5.1854x – 0.0062

โดย Y = ค่า Absorbance

X = ปริมาณของสารประกอบฟีนอกลิกทั้งหมด (mg/l)

1.5 วิธีการทดลอง

1.5.1 ปิเปตสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก 100 µl ลงในหลอดทดลองหุ้มด้วยอลูมิเนียมฟอยล์ (ถ้าสารละลายตัวอย่างขุ่นให้นำไปปั่นเหวี่ยง และแยกเอาส่วนใสมาทำการวิเคราะห์)

1.5.2 จากนั้นเติมสารละลาย 10% Folin - Ciocalteu reagent ปริมาตร 500 µl เขย่าให้เข้ากัน เพื่อให้ทำปฏิกิริยา 6 นาที (ทำปฏิกิริยาภายใต้สภาวะไม่มีแสง)

1.5.3 หลังจากทำปฏิกิริยาแล้วเติม 7% Sodium carbonate ปริมาตร 400 µl แล้วปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 5,000 µl ด้วยน้ำกลั่น ตั้งทิ้งไว้ 30 นาที ในที่มืดที่อุณหภูมิห้อง เมื่อเกิดปฏิกิริยาสารละลายจะเปลี่ยนสีจากสีเหลืองเป็นสีน้ำเงิน

1.5.4 นำสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 765 นาโนเมตร (A_{760}) ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

1.5.5 คำนวณหาปริมาณสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมด (Total phenolic content) รายงานผลในหน่วยมิลลิกรัมของกรดแกลลิคต่อ 100 มิลลิลิตร (mg Gallic acid/ 100 ml) (Gallic acid equivalents ,GAE) โดยเทียบกับกราฟมาตรฐานของกรดแกลลิค ตามสูตร ดังต่อไปนี้

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้ซึ่งมีความแตกต่างกันไม่เกิน ± 3% นำมาหาค่าเฉลี่ยของปริมาณของสารประกอบฟีโนลิกทั้งหมดในตัวอย่าง

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u> ปริมาณของสารประกอบฟีนอลิกทั้งหมดของน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามประกายทองที่วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 765 นาโนเมตร เท่ากับ 0.211

$$Y = 5.1854x - 0.0062$$

$$0.211 = 5.1854x - 0.0062$$

$$5.1854x = 0.211 + 0.0062$$

$$x = \frac{0.2172}{5.1854}$$

$$= 0.042 \text{ มิลลิกรัม/ลิตร}$$

ดังนั้นน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามประกายทองมีปริมาณสารประกอบฟีนอกลิกทั้งหมด 0.042 มิลลิกรัม/ลิตร

2. การทดสอบฤทธิ์ในการเป็นสารต้านอนุมูลอิสระ (Antioxidant activities) โดยวิธี DPPH radical scavenging activity (ดัดแปลงจากวิธี Lee et *al*., 2002)

2.1 เครื่องมือทดสอบ

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนคลื่นแสง (UV-VIS Spectrophotometer)

2.2 วัสดุอุปกรณ์

2.2.1 ไมโครปิเปตขนาด 10 – 1000 ไมโครลิตร

2.2.2 แท่งแก้วคนสาร

2.2.3 หลอดหมุนเหวี่ยงขนาด 15 มิลลิลิตร

2.2.4 เครื่องผสมสาร (Vortex mixer)

2.2.5 หลอดทดลองห่อหุ้มอลูมิเนียมฟอยล์หรือขวดสีชา

2.2.6 ขวดปรับปริมาตรขนาด 50 และ 100 มิลลิลิตร

2.3 การเตรียมสารเคมี

<u>สารละลายมาตรฐาน DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM</u>

ชั่งผง 2,2 - diphenyl – 1 – picrylhydrazyl (DPPH) จำนวน 0.00789 กรัม ในสารละลาย methanol (Analytical grade) เล็กน้อย ใส่ลงใน volumetric flask ขนาด 100 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน และปรับปริมาตรจนถึงขีดที่กำหนดด้วย methanol (Analytical grade) จะได้สารละลายมาตรฐาน DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 mM เก็บไว้ในขวดสีชา (ควรเตรียมทันทีก่อนใช้ประมาณ 3 วัน และเก็บรักษาไว้ที่ 4 องศาเซลเซียส) โดยมีวิธีการคำนวณ ดังนี้

<u>คำนวณ</u> ความเข้มข้นของ DPPH

$$\frac{g}{M.W.} = \frac{M_1V_2}{1000}$$

กำหนดให้ g = มวลในหน่วยกรัมของ DPPH (กรัม)

M.W. = มวลโมเลกุลของ DPPH = 394.4

M_1 = ความเข้มข้นของ DPPH ที่ต้องการ (Molar)

V_2 = ปริมาตรของ DPPH (มิลลิลิตร)

<u>ตัวอย่างการคำนวณ</u> ความเข้มข้นของ DPPH ที่ความเข้มข้น 0.2 mM

$$\frac{g}{394.4} = \frac{(0.2\times10^{-3})(100)}{1000}$$

$$g = \frac{(0.2\times10^{-3})(100)(394.4)}{1000}$$

$$= 0.00789 \text{ กรัม}$$

2.4 วิธีการทดลอง

2.4.1 ปิเปตสารละลายส่วนใสของน้ำส้มสายชูหมัก 1.0 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดลองห่อฟลอย์

2.4.2 จากนั้นเติมสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 30 นาที

2.4.3 นำสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 517 นาโนเมตร ด้วยเครื่อง UV-Vis spectrophotometer ทำการทดลอบตัวอย่างละ 3 ซ้ำ

2.4.4 นำเมธิลแอลกอฮอล์ 50% ปริมาตร 1.0 มิลลิลิตร ผสมกับสารละลาย DPPH ความเข้มข้น 0.2 mM ปริมาตร 2.0 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันด้วยเครื่อง vortex mixer เป็นเวลา 10 นาที ตั้งทิ้งไว้ให้เกิดปฏิกิริยาในที่มืด ณ อุณหภูมิห้อง เป็นเวลาประมาณ 30 นาที เป็นตัวอย่างควบคุม (control)

2.4.5 คำนวณหาร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ (% DPPH scacenging activity) ตามสูตร ดังต่อไปนี้

สูตรคำนวณหาร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

$$\text{DPPH scacenging activity (\%)} = \frac{Ab_{Control} - Ab_{Sample}}{Ab_{Control}} \times 100$$

กำหนดให้ % DPPH scacenging activity = ร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระ

$Ab_{Control}$ = ค่าการดูดกลืนแสงของเมธิลแอลกอฮอล์กับสารละลาย DPPH

Ab_{Sample} = ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายตัวอย่างกับสารละลาย DPPH

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้ซึ่งมีความแตกต่างกันไม่เกิน ± 3% นำมาหาค่าเฉลี่ยของร้อยละของฤทธิ์การต้านอนุมูลอิสระในตัวอย่าง

ตัวอย่างเช่น น้ำส้มสายชูพร้อมดื่มสูตรที่ 1 หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR102 ที่ปรับแต่งรสชาติด้วยน้ำตาลทรายความเข้มข้น 3% นำมาไตเตรทกับ Ihdophenol dye ได้ 12 มิลลิลิตร และมีปริมาตร Ihdophenol dye ที่ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานกับวิตามินซีได้ 8 มิลลิลิตร

สารละลายมาตรฐานใช้ปริมาตร Ihdophenol dye 8 ml จะมีปริมาณวิตามินซี 2 mg

สารละลายตัวอย่างใช้ปริมาตร Ihdophenol dye 12 ml จะมีปริมาณวิตามินซี $\frac{12 \times 2}{8}$ mg

$= 3$ mg

ในสารละลายตัวอย่าง 10 มิลลิลิตร จะมีปริมาณวิตามินซี 3 มิลลิกรัม

ถ้าสารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตร จะมีปริมาณวิตามินซี $\frac{3 \times 100}{10}$ มิลลิกรัม

$= 30$ มิลลิกรัม/100 มิลลิลิตร

ในสารละลายตัวอย่าง 100 มิลลิลิตรจะมีปริมาณวิตามินซี 30 มิลลิกรัม

ภาคผนวก ฉ
วิธีวิเคราะห์สารปนเปื้อน
(Contaminate Analysis)

ภาคผนวก ฉ
วิธีการทดสอบสารปนเปื้อน (Contaminate analysis)

1. การทดสอบหากรดกำมะถัน หรือกรดแร่อิสระ (mineral acid content) (ดัดแปลงจากสำนักงานคณะกรรมการอาหารและยา, 2545)

1.1 วัสดุ และอุปกรณ์

1.1.1 ปิเปตขนาด 5 มิลลิลิตร

1.1.2 ขวดรูปชมพูขนาด 25 มิลลิลิตร

1.1.3 หลอดหยดตัวอย่าง ขวดน้ำกลั่น

1.2 วิธีการทดลอง

1.2.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม ปริมาตร 5 มิลลิลตร ใส่ลงในขวดรูปชมพูขนาด 25 มิลลิลิตร

1.2.2 หยดสารละลาย methyl violet ความเข้มข้น 0.1% จำนวน 4 – 5 หยด เขย่าให้เข้ากัน ทำซ้ำตัวอย่างละ 5 ซ้ำ

1.2.3 สังเกตการเปลี่ยนแปลงของตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมัก ถ้ามีการเปลี่ยนแปลงสีของตัวอย่างเป็นสีน้ำเงินหรือสีเขียว แสดงว่าในตัวอย่างน้ำส้มสายชูมีส่วนผสมของกรดแร่หรือกรดกำมะถันเป็นองค์ประกอบ จัดเป็นน้ำส้มสายชูเทียม

2. การวิเคราะห์หาปริมาณสารปนเปื้อน (Contaminants contents) (ตามวิธี A.O.A.C., 2000)

การตรวจวัดหาปริมาณสารปนเปื้อนของผลิตภัณฑ์อาหารให้เป็นไปตามมาตรฐานอุตสาหกรรม ได้แก่ สารหนู (As) , ตะกั่ว (Pb) , ทองแดง (Cu) , สังกะสี (Zn) และเหล็ก (Fe) มีวิธีการ ดังนี้

เครื่องมือ เครื่อง Flame Atomic Absorption Spectrometer (AAS) รุ่น Avan สำหรับวิเคราะห์ Cu, Fe และ Zn

เครื่อง Dry Ashing and Flame Atomic Absorption Spectrometry (GFAAS) สำหรับวิเคราะห์ Pb และ As

2.1 การเตรียมสารละลายมาตรฐาน

<u>สารละลายมาตรฐานสารหนู (As) ความเข้มข้น 1 mg/ml</u>

ชั่งผง AS_2O_3 จำนวน 1.32 กรัม นำมาละลายในสารละลายกรดไฮดรอคลอริก (HCl) ปริมาตร 3 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

<u>สารละลายมาตรฐานตะกั่ว (Pb) ความเข้มข้น 1 mg/ml</u>

ชั่งผง $Pb(NO_3)_2$ จำนวน 1 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่น แล้วเติมกรดไนตริก (HNO_3) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร และปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายมาตรฐานทองแดง (Cu) ความเข้มข้น 1 mg/ml

ชั่งผง $CuSO_4.5H_2O$ จำนวน 3.929 กรัม นำมาละลายในน้ำบริสุทธิ์ปรับปริมาตรให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายมาตรฐานสังกะสี (Zn) ความเข้มข้น 1 mg/ml

ชั่งผง Zn บริสุทธิ์ หนัก 1 กรัม นำมาละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายมาตรฐานเหล็ก (Fe) ความเข้มข้น 1 mg/ml

ชั่งผง Fe บริสุทธิ์ หนัก 1 กรัม นำมาละลายในสารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) 5 mol/l ปริมาตร 20 มิลลิลิตร และเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ครบ 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายกรดอะซิตริก (CH_3COOH) ความเข้มข้น 4% (by volume)

นำสารละลายกรดอะซิตริกเข้มข้น 100% ปริมาตร 40 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางด้วยน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายกรดไนตริก (HNO_3) ความเข้มข้น 10% (w/w)

นำสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 65% ปริมาตร 10 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางด้วยน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายกรดไนตริก (HNO_3) ความเข้มข้น 0.1 M

นำสารละลายกรดไนตริกเข้มข้น 65% (w/w) ปริมาตร 7 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางด้วยน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายกรดไฮโดรคลอริก (HCl) ความเข้มข้น 6 M

นำสารละลายกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้น 37% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางด้วยน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 1,000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายแมกนีเซียมไนเตรท (Mg_2NO_3) ความเข้มข้น 1,000 mg/l

ปิเปตสารละลายแมกนีเซียมไนเตรท จำนวน 0.25 มิลลิลิตร มาทำการเจือจางด้วยน้ำ deionized แล้วปรับปริมาตรเป็น 10 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

2.2 วิธีการทำกราฟมาตรฐาน

การเตรียมสารละลายมาตรฐานเพื่อนำมาทำกราฟมาตรฐานของสารปนเปื้อนทั้ง 5 ชนิด ได้แก่ สารหนู (As) ตะกั่ว (Pb) ทองแดง (Cu) สังกะสี (Zn) และเหล็ก (Fe) โดยมีการเตรียมสารจาก stock solution ที่ความเข้มข้น 1,000 ppm ดังนี้

2.2.1 เตรียมสารละลายมาตรฐานของสารปนเปื้อน ให้มีความเข้มข้น 0 , 0.5 , 1.0 , 3.0 , 10.0 และ 15.0 ppm จาก stock solution ที่มีความเข้มข้น 1,000 ppm มาทำกราฟมาตรฐาน โดยเตรียมสารละลายมาตรฐานให้มีความเข้มข้นดังตารางที่ จ-1(อ้างอิงจากชินวัฒน์ ศาสนนันทน์, 2555)

2.2.2 ปิเปตสารละลายมาตรฐานจาก stock solution 1000 ppm โดยใช้ Micropipette ตามความเข้มข้นดังกล่าวใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วย 0.1 M HNO_3 จนครบ 10 มิลลิลิตร จะได้สารละลายมาตรฐานที่มีความเข้มข้นต่าง ๆ ตามลำดับ

2.2.3 นำสารละลายมาตรฐานที่เตรียมได้มาวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง AAS เพื่อทำกราฟมาตรฐานของสารปนเปื้อน (Contaminate standard curve)

2.3 วิธีการทดลอง

2.3.1 ปิเปตตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม ปริมาตร 20 มิลลิลิตร เติม 30% กรดไนตริก (HNO_3) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร ใส่ในบีกเกอร์

2.3.2 นำบีกเกอร์ไปวางบนเตาเผาให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 450 องศาเซลเซียส ทำการย่อย (digest) สารละลายตัวอย่างเป็นเวลา 30 นาที ปิดบีกเกอร์ด้วยกระจกนาฬิกา

2.3.3 เติม 30% กรดไนตริก (HNO_3) ปริมาตร 20 มิลลิลิตร อีกครั้ง แล้วทำการย่อยสารละลายตัวอย่างต่อจนสารละลายตัวอย่างใส และมีปริมาตรของสารละลายเหลือน้อยกว่า 10 มิลลิลิตร

2.3.4 นำสารละลายจากการย่อยด้วยสารละลายกรดไนตริกมากรองใส่ในขวดปรับปริมาตรขนาด 10 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ครบ 10 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น

2.3.5 เตรียม Blank และกราฟมาตรฐานสำหรับแต่ละตัวอย่าง

2.3.6 นำสารละลายตัวอย่างน้ำส้มสายชูที่ผ่านการย่อยเรียบร้อยแล้วไปวัดค่าการดูดกลืนแสงด้วยเครื่อง FAAS สำหรับการวิเคราะห์ Cu, Fe และ Zn ส่วนเครื่อง GFAAS สำหรับการวิเคราะห์ Pb และ As ที่สภาวะที่เหมาะสม

2.3.7 คำนวณหาปริมาณโลหะหนักในน้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพร้อมดื่ม รายงานปริมาณโลหะที่พบในหน่วย มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม (mg/kg) ตามสูตร ดังต่อไปนี้ (กรมวิทยาศาสตร์การแพทย์, 2558)

สูตรคำนวณหาปริมาณโลหะหนัก (Metal ion content)

$$C\ (mg/kg) = \frac{(a - b) \times v}{m}$$

กำหนดให้ C = ความเข้มข้นของโลหะหนักในตัวอย่าง (mg/kg)

a = ความเข้มข้นของโลหะหนักในสารละลายตัวอย่าง (mg/l)

b = ความเข้มข้นของโลหะใน blank (mg/l)

v = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (ml)

m = น้ำหนักของสารละลายตัวอย่าง (g)

ภาคผนวก ช

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543

เรื่อง น้ำส้มสายชู

ภาคผนวก ช

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข

(ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543

เรื่อง น้ำส้มสายชู

โดยที่เป็นการสมควรปรับปรุงประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง น้ำส้มสายชู อาศัยอำนาจตามความในมาตรา 5 และมาตรา 6(3)(4)(5)(6)(7) และ (10) แห่งพระราชบัญญัติอาหาร พ.ศ.2522 อันเป็นพระราชบัญญัติที่มีบทบัญญัติบางประการเกี่ยวกับการจำกัดสิทธิและ เสรีภาพของบุคคล ซึ่งมาตรา 29 ประกอบกับมาตรา 35 มาตรา 48 และมาตรา 50 ของรัฐธรรมนูญแห่ง ราชอาณาจักรไทยบัญญัติให้กระทำได้โดยอาศัยอำนาจตามบทบัญญัติแห่งกฎหมาย รัฐมนตรีว่าการ กระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ ดังต่อไปนี้

ข้อ 1 ให้ยกเลิกประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 48 (พ.ศ.2523) เรื่อง น้ำส้มสายชู ลงวันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2523

ข้อ 2 ให้น้ำส้มสายชูเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ให้ถือว่าผลิตภัณฑ์ที่ผลิตขึ้นเพื่อจุดประสงค์ที่จะใช้ผลิตภัณฑ์นั้นในทำนองเดียวกับน้ำส้มสายชูเป็นน้ำส้มสายชู และให้หมายความรวมถึงหัวน้ำส้มด้วย

ข้อ 3 น้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ดังต่อไปนี้

(1) น้ำส้มสายชูหมัก หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำธัญพืช ผลไม้ หรือน้ำตาล มาหมักกับส่าเหล้าแล้วหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ

(2) น้ำส้มสายชูกลั่น หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำแอลกอฮอล์กลั่นเจือจาง (Dilute Distilled Alcohol) มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู หรือเมื่อหมักแล้วนำไปกลั่นอีก หรือได้จากการนำน้ำส้มสายชูหมักตาม (1) มากลั่น

(3) น้ำส้มสายชูเทียม หมายความว่า ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้ม (Acetic acid) มาเจือจาง

ข้อ 4 น้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส

(2) ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณที่กำหนด ดังต่อไปนี้

(2.1) สารหนู	ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
(2.2) ตะกั่ว	ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
(2.3) ทองแดงและสังกะสี	ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม
(2.4) เหล็ก	ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(3) ไม่มีกรดน้ำส้มที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

(4) ไม่มีกรดกำมะถัน (Sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

(5) ใสไม่มีตะกอน เว้นแต่น้ำส้มสายชูหมักตามธรรมชาติ

(6) ไม่มีหนอนน้ำส้ม (Vinegar eel)

(7) ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม

(8) ให้ใช้วัตถุเจือปนอาหาร (Food Additives) ได้ ดังต่อไปนี้

(8.1) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(8.2) กรดแอล-แอสคอร์บิก ไม่เกิน 400 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(9) มีแอลกอฮอล์ตกค้าง (Residual alcohol) ไม่เกินร้อยละ 0.5

(10) การแต่งสี ให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้หรือสีคาราเมล

ข้อ 5 น้ำส้มสายชูเทียม ต้องมีคุณภาพหรือมาตรฐาน ดังต่อไปนี้

(1) มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัม และไม่เกิน 7 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส

(2) ตรวจพบสารปนเปื้อนได้ไม่เกินปริมาณที่กำหนด ดังต่อไปนี้

(2.1) สารหนู ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(2.2) ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(2.3) ทองแดง และสังกะสี ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(2.4) เหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

(3) ใสไม่มีตะกอน

(4) ไม่มีกรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

(5) ไม่ใช้สี

(6) ไม่มีการแต่งกลิ่นหรือรส

(7) ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม

ข้อ 6 ในการจำหน่ายน้ำส้มสายชูหรือผลิตภัณฑ์ที่เป็นกรดน้ำส้ม ห้ามแสดงคำว่า "หัวน้ำส้ม" หรือข้อความอื่นที่มีความหมายในทำนองเดียวกัน

ข้อ 7 กรดน้ำส้ม ถ้าจะจำหน่ายเป็นน้ำส้มสายชูเทียมต้องเจือจางให้มีคุณภาพหรือมาตรฐานตามข้อ 5

ข้อ 8 ผู้ผลิตหรือผู้นำเข้าน้ำส้มสายชูเพื่อจำหน่าย ต้องปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง วิธีการผลิต เครื่องมือเครื่องใช้ในการผลิต และการเก็บรักษาอาหาร

ข้อ 9 การใช้ภาชนะบรรจุน้ำส้มสายชู ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่องภาชนะบรรจุ

ข้อ 10 การแสดงฉลากของน้ำส้มสายชู ให้ปฏิบัติตามประกาศกระทรวงสาธารณสุขว่าด้วยเรื่อง ฉลาก

ข้อ 11 ให้ใบสำคัญการขึ้นทะเบียนตำรับอาหารหรือใบสำคัญการใช้ฉลากอาหารตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 48 (พ.ศ.2523) เรื่อง น้ำส้มสายชู ลงวันที่ 20 กุมภาพันธ์ พ.ศ.2523 ซึ่งออกให้ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับยังคงใช้ต่อไปได้อีกสองปี นับแต่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 12 ให้ผู้ผลิต ผู้นำเข้าน้ำส้มสายชูที่ได้รับอนุญาตอยู่ก่อนวันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ ยื่นคำขอรับเลขสาระบบอาหารภายในหนึ่งปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ เมื่อยื่นคำขอดังกล่าวแล้วให้ได้รับการผ่อนผันการปฏิบัติตามข้อ 8 ภายในสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ และให้คงใช้ฉลากเดิมที่เหลืออยู่ต่อไปจนกว่าจะหมดแต่ต้องไม่เกินสองปี นับแต่วันที่ประกาศนี้ใช้บังคับ

ข้อ 13 ประกาศนี้ ให้ใช้บังคับเมื่อพ้นกำหนดหนึ่งร้อยแปดสิบวันนับแต่วันถัดจากวันประกาศในราชกิจจานุเบกษาเป็นต้นไป

ประกาศ ณ วันที่ 19 กันยายน พ.ศ.2543

กร ทัพพะรังสี

รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุข

(ราชกิจจานุเบกษาฉบับประกาศทั่วไป เล่ม 118 ตอนพิเศษ 6 ง. ลงวันที่ 24 มกราคม พ.ศ.2544)

ภาคผนวก ซ
มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
น้ำส้มสายชูหมัก

มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน
น้ำส้มสายชูหมัก

๑. ขอบข่าย

๑.๑ มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ครอบคลุมเฉพาะน้ำส้มสายชูหมักที่บรรจุในภาชนะบรรจุ

๒. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

๒.๑ น้ำส้มสายชูหมัก หมายถึง ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำวัตถุดิบที่เหมาะสม เช่น ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาล หรือกากน้ำตาล มาหมักกับส่าเหล้า แล้วนำมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ

๓. คุณลักษณะที่ต้องการ

๓.๑ ลักษณะทั่วไป

ต้องเป็นของเหลวใส อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้

๓.๒ สี

ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของน้ำส้มสายชูหมัก

๓.๓ กลิ่น

ต้องมีกลิ่นของกรดแอซีทิกและอาจมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้หมักอยู่ด้วยก็ได้

เมื่อตรวจสอบโดยวิธีให้คะแนนตามข้อ ๘.๑ แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่า ๓ คะแนน และไม่มีลักษณะใดได้ ๑ คะแนน จากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

๓.๔ สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่ส่วนประกอบที่ใช้ เช่น หนอนน้ำส้ม เส้นผม ขนสัตว์ ดิน ทราย กรวด ชิ้นส่วนหรือสิ่งปฏิกูลจากสัตว์

๓.๕ สารปนเปื้อน

๓.๕.๑ สารหนู ต้องไม่เกิน ๑ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๕.๒ ตะกั่ว ต้องไม่เกิน ๑ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๕.๓ ทองแดง ต้องไม่เกิน ๑๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๕.๔ สังกะสี ต้องไม่เกิน ๑๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๕.๕ เหล็ก ต้องไม่เกิน ๑๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๖ วัตถุเจือปนอาหาร

๓.๖.๑ ห้ามใช้สีสังเคราะห์ทุกชนิด หากมีการแต่งสี ให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้เท่านั้น

๓.๖.๒ หากมีการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ให้ใช้ได้ไม่เกิน ๗๐ มิลลิกรัมต่อกิโลกรัม

๓.๗ กรดแอซีติก

ต้องไม่น้อยกว่า ๔ กรัมต่อ ๑๐๐ ลูกบาศก์เซนติเมตร

๓.๘ กรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระ

ต้องไม่พบ

๓.๙ เมทานอล

ต้องไม่เกิน ๔๒๐ มิลลิกรัมต่อลิตร

๔. สุขลักษณะ

๔.๑ สุขลักษณะในการทำน้ำส้มสายชูหมัก ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.

๕. การบรรจุ

๕.๑ ให้บรรจุน้ำส้มสายชูหมักในภาชนะบรรจุที่สะอาด ทำด้วยแก้ว พลาสติกทนกรด หรือเครื่องเคลือบดินเผา ปิดได้สนิท และสามารถป้องกันการปนเปื้อนจากสิ่งสกปรกภายนอกได้ วัสดุที่ใช้บุหรือใช้รองด้านในของฝาปิดหรือฝาชั้นใน ต้องไม่มีสี

๕.๒ ปริมาตรสุทธิของน้ำส้มสายชูหมักในแต่ละภาชนะบรรจุ ต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

๖. เครื่องหมายและฉลาก

๖.๑ ที่ภาชนะบรรจุน้ำส้มสายชูหมักทุกหน่วย อย่างน้อยต้องมีเลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(๑) ชื่อผลิตภัณฑ์

(๒) ปริมาณของกรดแอซีติก

(๓) ปริมาตรสุทธิ

(๔) วัน เดือน ปีที่ทำ และวัน เดือน ปีที่หมดอายุ หรือข้อความว่า “ควรบริโภคก่อน (วัน เดือน ปี)”

(๕) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น

๗. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

๗.๑ รุ่น ในที่นี้ หมายถึง น้ำส้มสายชูหมักที่มีส่วนประกอบเดียวกัน ทำในระยะเวลาเดียวกัน

๗.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้

๗.๒.๑ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสิ่งแปลกปลอม การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๔ ข้อ ๕. และข้อ ๖. จึงจะถือว่าน้ำส้มสายชูหมักรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๒ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบลักษณะทั่วไป สี และกลิ่น ให้ใช้ตัวอย่างที่ผ่านการทดสอบตามข้อ ๗.๒.๑ แล้ว จำนวน ๓ หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๑ ถึงข้อ ๓.๓ จึงจะถือว่าน้ำส้มสายชูหมักรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๒.๓ การชักตัวอย่างและการยอมรับ สำหรับการทดสอบสารปนเปื้อน วัตถุเจือปนอาหาร กรดแอซีติก กรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระ และเมทานอล ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกัน จำนวน ๕ หน่วยภาชนะบรรจุ นำมาทำเป็นตัวอย่างรวม เมื่อตรวจสอบแล้วตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ ๓.๕ ถึงข้อ ๓.๙ จึงจะถือว่าน้ำส้มสายชูหมักรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด

๗.๓ เกณฑ์ตัดสิน

ตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักต้องเป็นไปตามข้อ ๗.๒.๑ ข้อ ๗.๒.๒ และข้อ ๗.๒.๓ ทุกข้อ จึงจะถือว่าน้ำส้มสายชูหมักรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

๘. การทดสอบ

๘.๑ การทดสอบลักษณะทั่วไป สี และกลิ่น

๘.๑.๑ ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ ประกอบด้วยผู้ที่มีความชำนาญในการตรวจสอบน้ำส้มสายชูหมักอย่างน้อย ๕ คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ

๘.๑.๒ เทตัวอย่างน้ำส้มสายชูหมักลงในแก้วใสโดยมีกระดาษสีขาวเป็นฉากหลัง ตรวจสอบโดยการตรวจพินิจ

๘.๑.๓ หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามตารางที่ ๑

ตารางที่ ๑ หลักเกณฑ์การให้คะแนน

(ข้อ ๘.๑.๓)

ลักษณะที่ตรวจสอบ	เกณฑ์ที่กำหนด	ระดับการตัดสิน (คะแนน)			
		ดีมาก	ดี	พอใช้	ต้องปรับปรุง
ลักษณะทั่วไป	ต้องเป็นของเหลวใส อาจตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้	๔	๓	๒	๑
สี	ต้องมีสีที่ดีตามธรรมชาติของน้ำส้มสายชูหมัก	๔	๓	๒	๑
กลิ่น	ต้องมีกลิ่นของกรดแอซีทิกและอาจมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้หมักอยู่ด้วยก็ได้	๔	๓	๒	๑

๘.๒ การทดสอบสิ่งแปลกปลอม ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก

ให้ตรวจพินิจ

๘.๓ การทดสอบสารปนเปื้อน วัตถุเจือปนอาหาร กรดแอซีทิก กรดกำมะถันหรือกรดแร่อิสระ และเมทานอล

ให้ใช้วิธีทดสอบตาม AOAC หรือวิธีทดสอบอื่นที่เป็นที่ยอมรับ

๘.๔ การทดสอบปริมาตรสุทธิ

ให้ใช้เครื่องวัดปริมาตรที่เหมาะสม

ภาคผนวก ก.

สุขลักษณะ

(ข้อ ๔.๑)

ก.๑ สถานที่ตั้งและอาคารที่ทำ

ก.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง อยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ทำเกิดการปนเปื้อนได้ง่าย โดย

ก.๑.๑.๑ สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก

ก.๑.๑.๒ อยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่น เขม่า ควัน มากผิดปกติ

ก.๑.๑.๓ ไม่อยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ เช่น บริเวณเพาะเลี้ยงสัตว์ แหล่งเก็บหรือกำจัดขยะ

ก.๑.๒ อาคารที่ทำมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย

ก.๑.๒.๑ พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารที่ทำ ก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน เรียบ ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ดีตลอดเวลา

ก.๑.๒.๒ แยกบริเวณที่ทำออกเป็นสัดส่วน ไม่อยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่มีสิ่งของที่ไม่ใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการทำอยู่ในบริเวณที่ทำ

ก.๑.๒.๓ พื้นที่ปฏิบัติงานไม่แออัด มีแสงสว่างเพียงพอ และมีการระบายอากาศที่เหมาะสม

ก.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการทำ

ก.๒.๑ ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการทำที่สัมผัสกับผลิตภัณฑ์ ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ล้างทำความสะอาดได้ง่าย

ก.๒.๒ เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้ สะอาด เหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

ก.๓ การควบคุมกระบวนการทำ

ก.๓.๑ วัตถุดิบและส่วนผสมในการทำ สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้

ก.๓.๒ การทำ การเก็บรักษา การขนย้าย และการขนส่ง ให้มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์

ก.๔ การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

ก.๔.๑ น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือของผู้ทำ เป็นน้ำสะอาดและมีปริมาณเพียงพอ

ก.๔.๒ มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่นผง ไม่ให้เข้าในบริเวณที่ทำตามความเหมาะสม

ก.๔.๓ มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่ผลิตภัณฑ์

ก.๔.๔ สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ทำ เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่ผลิตภัณฑ์ได้

ก.๕ บุคลากรและสุขลักษณะของผู้ทำ

ผู้ทำทุกคน ต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด มีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในผลิตภัณฑ์ ไม่ไว้เล็บยาว ล้างมือให้สะอาดทุกครั้งก่อนปฏิบัติงาน หลังการใช้ห้องสุขา และเมื่อมือสกปรก

ภาคผนวก ฌ
ภาพประกอบการทำวิจัย

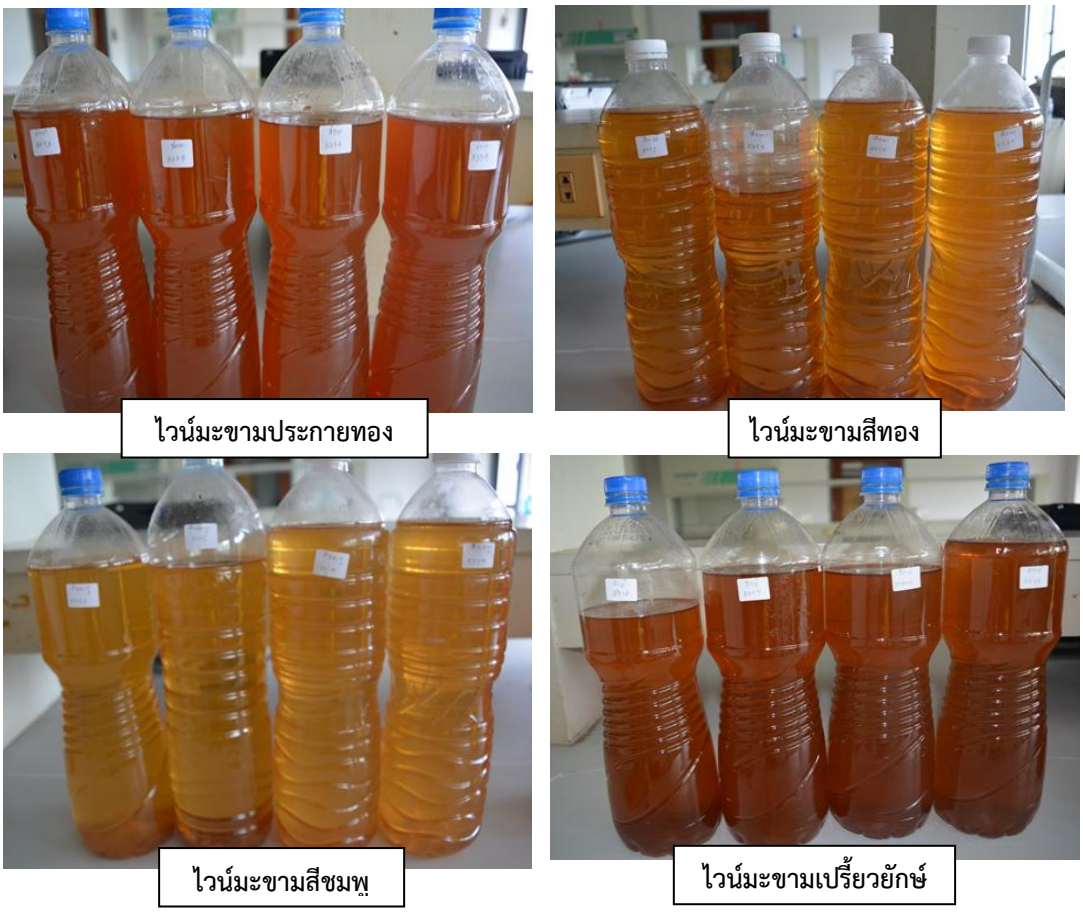
ภาคผนวก ณ

ภาพประกอบการทำวิจัย

ภาพที่ ณ-1 ตัวอย่างมะขามสายพันธุ์ต่าง ๆ

ภาพที่ ณ-2 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) การผลิตไวน์มะขามในตู้ Laminar flow

ภาพที่ ณ-3 ตัวอย่างการผลิตไวน์มะขามในถังหมักขนาด 10 ลิตร



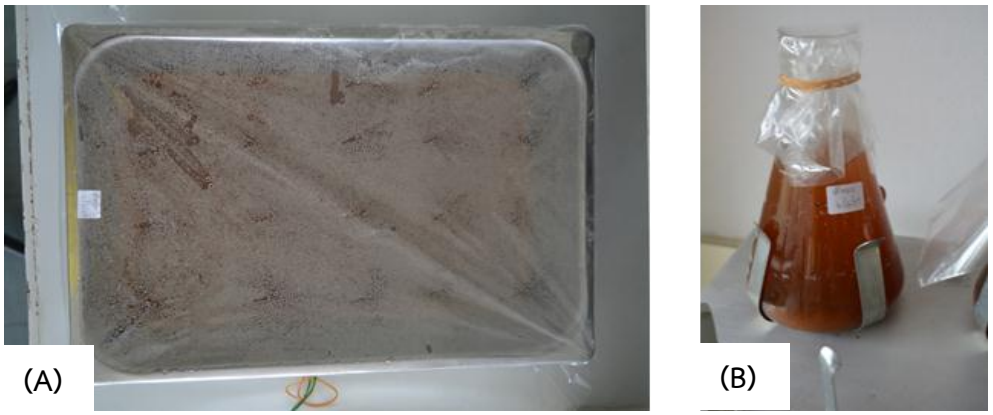
ภาพที่ ณ-4 ไวน์มะขาม 4 สายพันธุ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว

ภาพที่ ฌ-5 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น (Starter) การผลิตน้ำส้มสายชูมะขามในตู้ Laminar flow

(A) **(B)**

ภาพที่ ฌ-6 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองจากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102

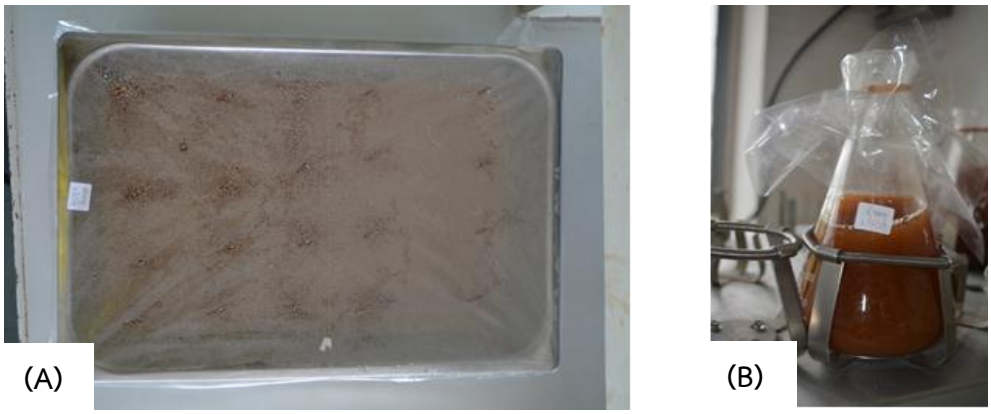
(A) หมักแบบ Rapid Tray **(B) หมักแบบ Shake Flask**



(A) **(B)**

ภาพที่ ฌ-7 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีทองจากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102

(A) หมักแบบ Rapid Tray **(B) หมักแบบ Shake Flask**

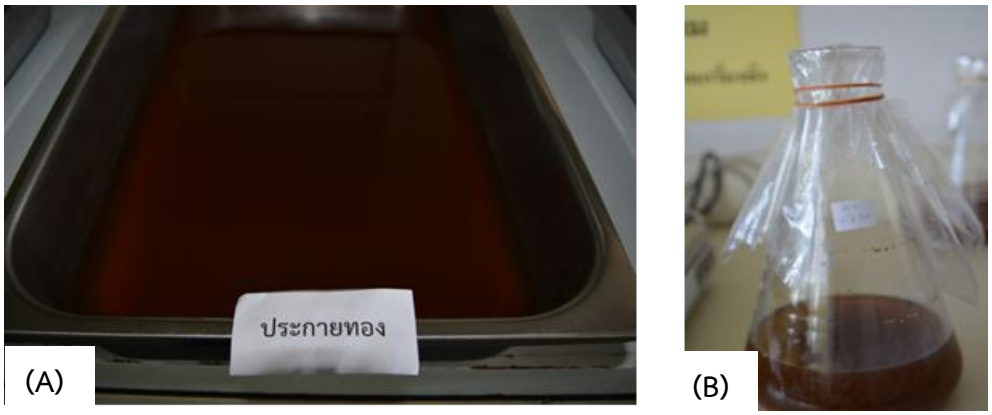


(A) (B)

ภาพที่ ฌ-8 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีชมภูจากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask

(A) (B)

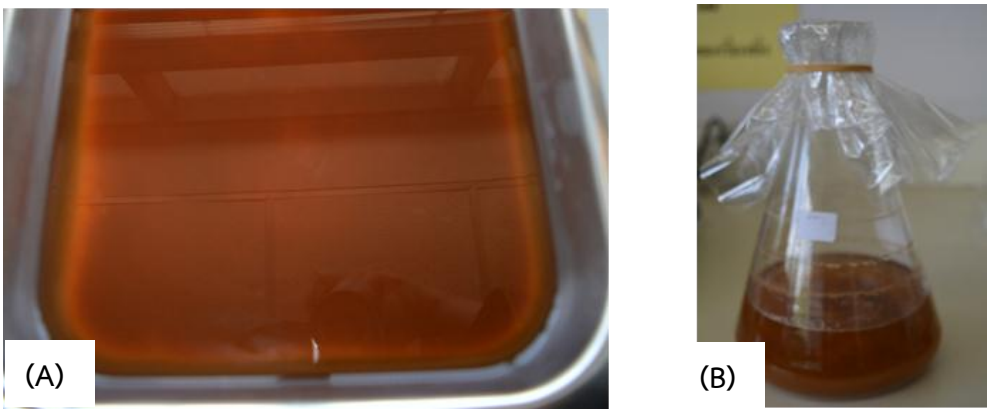
ภาพที่ ฌ-9 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์จากเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask



(A) (B)

ภาพที่ ฌ-10 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองจากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask

ภาพที่ ฌ-11 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีทองจากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask

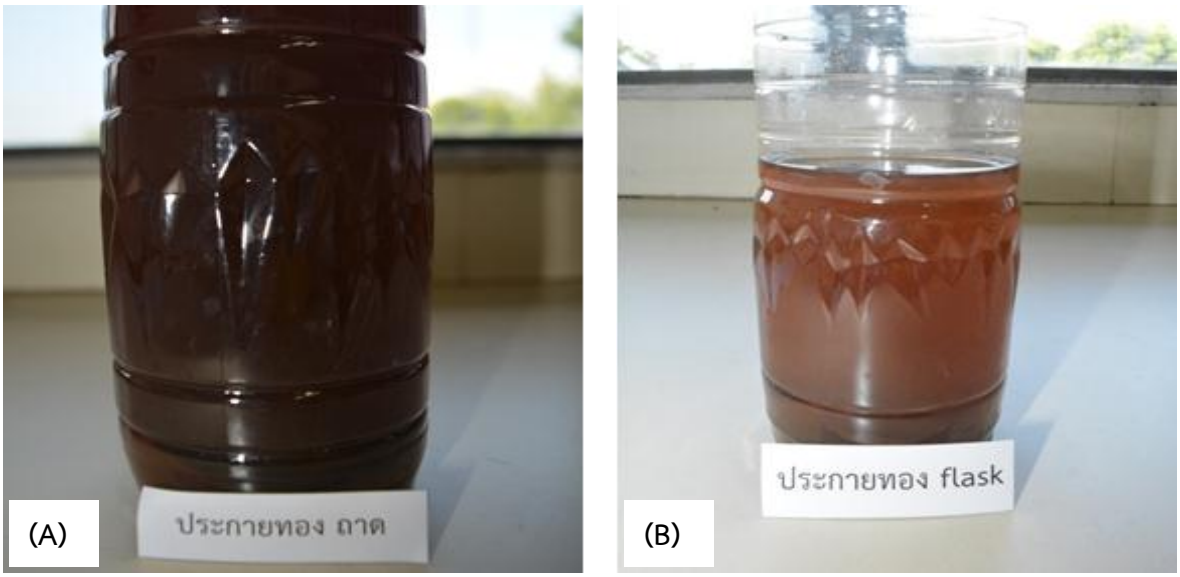


ภาพที่ ฌ-12 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีชมภูจากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask

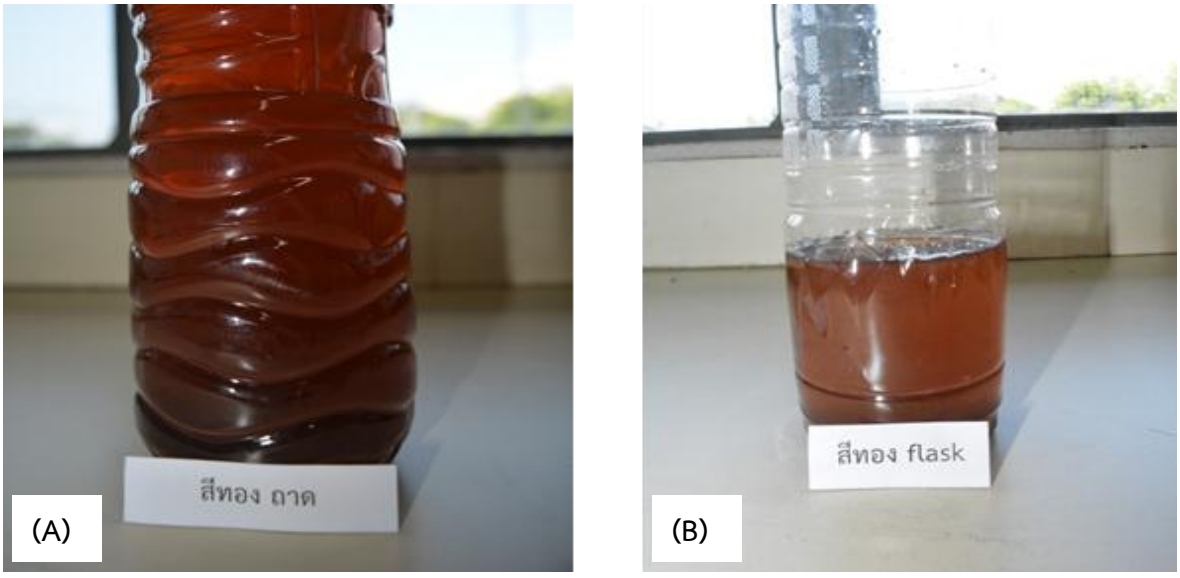
ภาพที่ ฌ-13 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์จากเชื้อ *Gluconobacter krungthepensis*
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask

ภาพที่ ฌ-14 การหมักน้ำส้มสายชูจากมะขามทั้ง 2 แบบ

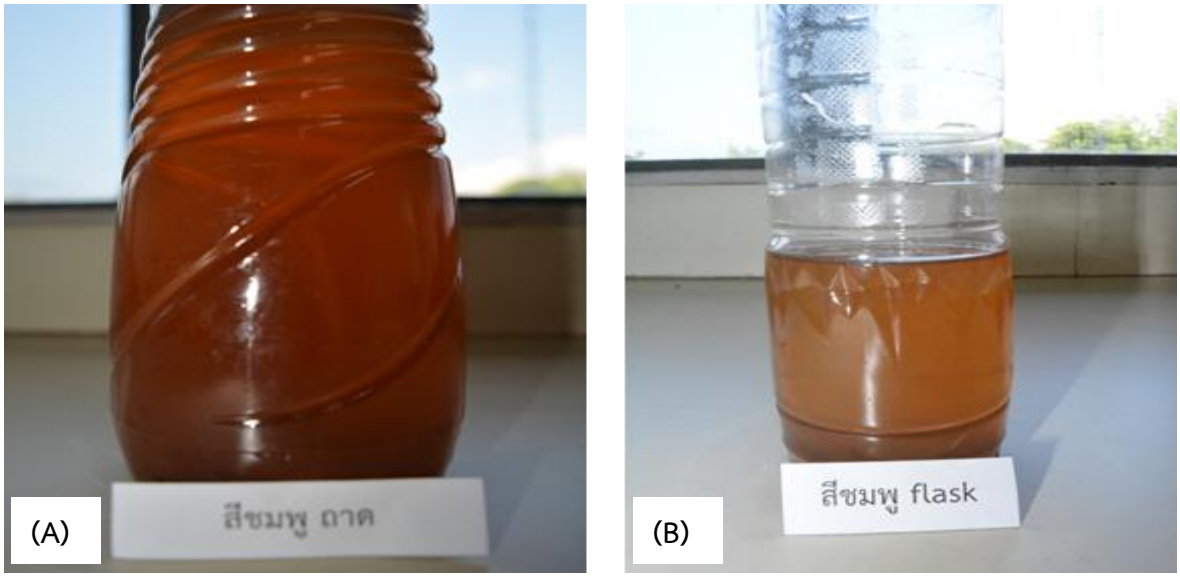
ภาพที่ ฌ-15 การวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิตริกในน้ำส้มสายชูหมักด้วยวิธีการไตเตรท



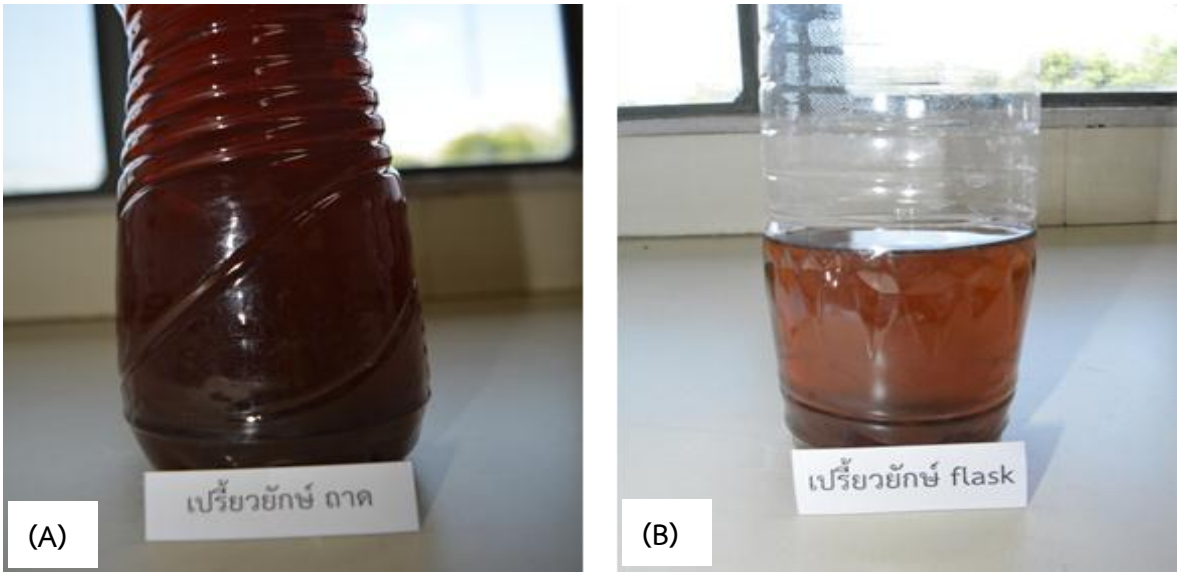
ภาพที่ ฌ-16 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask



ภาพที่ ฌ-17 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีทองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask



ภาพที่ ฌ-18 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์สีชมภูที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask



ภาพที่ ฌ-19 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามเปรี้ยวพันธุ์ยักษ์ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)
(A) หมักแบบ Rapid Tray (B) หมักแบบ Shake Flask

ภาพที่ ฌ-20 น้ำส้มสายชูหมักจากมะขามพันธุ์ประกายทองที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว (30 วัน)

ภาคผนวก ฏ

มคอ. 3 BIOL506 จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม

(TQF 3 BIOL506 Industrial Microbiology)

ภาคผนวก ฏ

	รายละเอียดของรายวิชา (มคอ.3)
	คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
	หลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

หมวดที่ 1 ข้อมูลโดยทั่วไป

1. รหัสและชื่อรายวิชา

BIOL506 จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม (Industrial Microbiology)

2. **จำนวนหน่วยกิต**

3 หน่วยกิต 3 (2-3-6)

3. หลักสูตรและประเภทของรายวิชา

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา และวิชาเฉพาะด้านเอกเลือก

4. อาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชาและอาจารย์ผู้สอน

อาจารย์ธนาวรรณ สุขเกษม และคณาจารย์ผู้สอนหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

5. ภาคการศึกษา/ชั้นปีที่เรียน

ระดับปริญญาตรี ภาคการศึกษา 1 ชั้นปีที่เรียน ปี 3

6. รายวิชาที่ต้องเรียนมาก่อน (Pre-requisites) (ถ้ามี)

BIOL501 จุลชีววิทยา และ BIOL502 ปฏิบัติการจุลชีววิทยา

7. รายวิชาที่ต้องเรียนพร้อมกัน (Co-requisites) (ถ้ามี)

ไม่มี

8. สถานที่เรียน

คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

9. วันที่จัดทำรายละเอียดของรายวิชา หรือวันที่มีการปรับปรุงครั้งล่าสุด

วันที่ 24 มิถุนายน 2559

หมวดที่ 2 จุดมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

1. จุดมุ่งหมายของรายวิชา

1. อธิบายความสำคัญของจุลินทรีย์ทางอุตสาหกรรมได้
2. รู้และเข้าใจหลักการคัดเลือก และการเก็บรักษาสายพันธุ์ได้
3. อธิบายการกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมประเภทต่าง ๆ ที่ใช้จุลินทรีย์ได้
4. สามารถนำความรู้ที่ได้ไปประยุกต์ใช้ในการวิเคราะห์ผลงานวิจัยที่เกี่ยวข้องได้
5. สามารถนำความรู้ที่ได้ไปสร้างสรรค์งานวิจัยหรือแก้ปัญหาที่เกี่ยวข้องได้

2. วัตถุประสงค์ในการพัฒนา/ปรับปรุงรายวิชา

เพื่อให้สอดคล้องกับสาระวิชาในกรอบมาตรฐานหลักสูตรกลุ่มวิทยาศาสตร์ สอดคล้องกับอัตลักษณ์และลักษณะที่พึงประสงค์ของนักศึกษาตามมาตรฐานผลการเรียนรู้ของหมวดเฉพาะและเปิดโอกาสให้แต่ละหลักสูตรได้เลือกเรียนวิชาในกลุ่มวิทยาศาสตร์มากขึ้น และให้เนื้อหารายวิชามีความทันสมัยและทันต่อเหตุการณ์ในปัจจุบันเพื่อส่งเสริมให้นักศึกษามีความรู้ความเชี่ยวชาญให้สอดคล้องกับตลาดแรงงานมากขึ้น

หมวดที่ 3 ลักษณะและการดำเนินการ

1. คำอธิบายของรายวิชา

ศึกษาจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม หลักการคัดเลือกและการเก็บรักษา สายพันธุ์จุลินทรีย์ กระบวนการหมัก(fermentation processes) กระบวนการผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมประเภทต่าง ๆ ที่ใช้จุลินทรีย์ การศึกษานอกสถานที่ เยี่ยมชมโรงงานอุตสาหกรรม

Study important microorganisms in industry. Principles of selection and preservation strains in fermentation processes. Industrial processes that use different microorganisms. Field trip visit the industry.

2. จำนวนชั่วโมงที่ใช้ต่อภาคการศึกษา

หน่วยกิต	ชั่วโมงต่อภาคการศึกษา			
	ทฤษฎี	ปฏิบัติ	ศึกษาด้วยตนเอง	สอนเสริม
3 (2-3-6)	2 x 15 = 30	3 x 15 = 45	6 x 15 = 90	-

3. จำนวนชั่วโมงต่อสัปดาห์ที่อาจารย์ให้คำปรึกษาและแนะนำทางวิชาการแก่นักศึกษาเป็นรายบุคคล

- อาจารย์ประจำรายวิชาประกาศเวลาให้คำปรึกษาที่หน้าห้องทำงาน
- อาจารย์จัดเวลาให้คำปรึกษาเป็นรายบุคคล/กลุ่มตามความต้องการ 1 ชั่วโมงต่อสัปดาห์

ตารางการให้คำปรึกษาและแนะนำทางวิชาการแก่นักศึกษาเป็นรายบุคคล

วัน-เวลาให้คำปรึกษา	สถานที่	หมายเลขโทรศัพท์	E-mail	รวมจำนวนชั่วโมงต่อสัปดาห์ที่ให้คำปรึกษา
ทุกวันพุธ	อาคารสิรินธร ชั้น 4 ห้อง 408	056-717100 ต่อ 2709	Tan_awan@hotmail.com	1

หมวดที่ 4 การพัฒนาผลการเรียนรู้ของนักศึกษา

1. ทักษะด้านคุณธรรม จริยธรรม		
1.1 ผลการเรียนรู้	1.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	1.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [o] มีความซื่อสัตย์ สุจริต และประพฤติตนให้เป็นแบบอย่างที่ดีในสังคม	1. สอดแทรกเนื้อหาด้านคุณธรรม จริยธรรม ปลูกฝังเกี่ยวกับความซื่อสัตย์ต่อตนเองและผู้อื่น	1. สังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาในการปฏิบัติในชั้นเรียน
2. [o] มีวินัย ตรงต่อเวลา และมีความรับผิดชอบทั้งต่อตนเอง วิชาชีพและลังคม	2. ให้ความสำคัญในวินัย เช่น การตรงต่อเวลา การแต่งกาย การมีวินัยในห้องเรียน	2. ขานชื่อหรือเซ็นชื่อการเข้าชั้นเรียน สังเกตพฤติกรรม การแต่งกายและวินัย
3. [o]เคารพสิทธิและรับฟังความคิดเห็นของผู้อื่น มีความอื้ออาทรต่อผู้อื่นและสังคม	3.สอดแทรกการเคารพสิทธิและการรับฟังความคิดเห็นของผู้อื่น	3. สังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาในการปฏิบัติ
4. [●] เคารพกฎระเบียบและข้อบังคับต่าง ๆ ขององค์กรและสังคม	4. สอดแทรกเรื่องการประพฤติตนที่เหมาะสม เช่น ไม่ส่งเสียงดัง ไม่รับประทานอาหารในห้องเรียน	4. สังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาในการปฏิบัติตามกฎระเบียบและข้อตกลงในห้องเรียน
5. [o] มีจรรยาบรรณทางวิชาการและวิชาชีพ	5. ปลูกฝังจิตสำนึก สอดแทรกคุณธรรมปฏิบัติตามจรรยาบรรณทางวิชาการ	5. สังเกตพฤติกรรมของนักศึกษาในการปฏิบัติ
2. ความรู้		
2.1 ผลการเรียนรู้	2.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	2.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [o] มีความรู้ ในหลักการ และทฤษฎีทางด้านจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	1. จัดการเรียนการสอนที่มีลักษณะยึดผู้เรียนเป็นสำคัญโดยจัดกิจกรรมในลักษณะการบรรยาย ค้นคว้า เน้นทฤษฎี และกฎเกณฑ์ต่าง ๆ ในเชิงวิเคราะห์	1. ประเมินด้วยการสอบย่อย สอบปฏิบัติการ สอบกลางภาคการศึกษาและสอบปลายภาคการศึกษา
2. [o] มีความรู้พื้นฐานทางด้านจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมที่จะนำมาอธิบายหลักการและทฤษฎีในศาสตร์เฉพาะ	2. ภาคปฏิบัติ วิธีสอนโดยการสาธิต การทดลอง และการศึกษานอกสถานที่	2. ประเมินจากการปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ ของรายวิชา เช่น การนำเสนอรายงาน โครงการวิจัย
3. [●] สามารถติดตามความก้าวหน้าทางวิชาการ และพัฒนาความรู้ใหม่ทางด้านจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	3. ภาคทฤษฎี วิธีสอนโดยการบรรยาย และการศึกษาค้นคว้าทางสื่อเทคโนโลยี	3. การสอบข้อเขียน การทำรายงานเกี่ยวกับนวัตกรรมทางด้านจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมใหม่ ๆ
4. [o] มีความรอบรู้ในศาสตร์ต่างๆ ที่จะนำไปใช้ในชีวิตประจำวัน	4. ภาคทฤษฎี วิธีสอนโดยการบรรยายและภาคปฏิบัติ วิธีสอนโดย	4. การสอบข้อเขียน และประเมินจากกิจกรรม รวมถึงการทำ mini-

	การสาธิต และการทดลอง	project
3. ทักษะทางปัญญา		
3.1 ผลการเรียนรู้	3.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	3.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [o] สามารถคิดวิเคราะห์อย่างเป็นระบบ และมีเหตุมีผลตามหลักการวิธีการทางวิทยาศาสตร์	1. การทำรายงาน และการนำเสนอ	1. ประเมินตามสภาพจริงจากผลงาน และการปฏิบัติของนักศึกษา
2. [**o**] นำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมไปประยุกต์กับสถานการณ์ต่างๆ ได้อย่างถูกต้อง และเหมาะสม	2. การอภิปรายกลุ่ม และการทำรายงานเดี่ยว / กลุ่ม	2. ประเมินจากการนำเสนอรายงานหน้าชั้นเรียน การทดสอบ การสัมภาษณ์ การทดลอง รายงาน
3. [●] มีความใฝ่รู้ สามารถวิเคราะห์ และสังเคราะห์ความรู้จากแหล่งข้อมูลต่างๆ ที่หลากหลายได้อย่างถูกต้อง และสร้างสรรค์เพื่อนำไปสู่การสร้างนวัตกรรม	3. การฝึกให้นักศึกษามีโอกาสปฏิบัติจริง และการทำ mini-project	3. ประเมินผลการดำเนิน จากการรายงานผลการทดลอง และการแก้ปัญหา ผลการรายงาน mini-project
4. ทักษะความสัมพันธ์ระหว่างบุคคล และความรับผิดชอบ		
4.1 ผลการเรียนรู้	4.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	4.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [o] ภาวะผู้นำ โดยสามารถทำงานร่วมกับผู้อื่น ในฐานะผู้นำ และสมาชิกที่ดี	1. จัดกิจกรรมให้มีการทำงานเป็นกลุ่ม และการทำงานที่ต้องประสานกับผู้อื่น	1. ประเมินจากพฤติกรรม และการแสดงออกของนักศึกษาในการนำเสนอรายงานในชั้นเรียน
2. [●] มีความรับผิดชอบ ต่อสังคม และองค์กร รวมทั้งพัฒนาตนเองและพัฒนางาน	2. ค้นคว้าหาข้อมูลจากการสัมภาษณ์บุคคลอื่น หรือผู้มีประสบการณ์ที่ได้รับมอบหมายในงานกลุ่ม	2. สังเกตจากพฤติกรรมที่แสดงออกจากการร่วมกิจกรรมต่าง ๆ รายงาน และการนำเสนองานที่ได้รับมอบหมาย
3. [o] สามารถปรับตัวเข้ากับสถานการณ์ และวัฒนธรรมขององค์กร	3. ฝึกการยอมรับความคิดเห็น การมีส่วนร่วมในการทำกิจกรรมกลุ่ม	3. ประเมินจากการสังเกตพฤติกรรมการระดมความคิด
5. ทักษะการวิเคราะห์เชิงตัวเลข การสื่อสาร และการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ		
5.1 ผลการเรียนรู้	5.2 กลยุทธ์/วิธีการสอน	5.3 กลยุทธ์/วิธีการประเมินผล
1. [o] สามารถประยุกต์ความรู้ทางคณิตศาสตร์ และสถิติ เพื่อการวิเคราะห์ประมวลผลการ และนำเสนอข้อมูลได้อย่างเหมาะสม	1. จัดกิจกรรมการเรียนการสอนด้วยมอบหมายงานให้มีการทดลองและการวิเคราะห์ผล และมีการนำเสนอรายงานหน้าชั้นเรียน	1. ประเมินจากวิธีการประมวลผล และหลักการวิเคราะห์ และการใช้เทคโนโลยีในการนำเสนอ
2. [o] มีทักษะในการใช้ภาษาเพื่อการสื่อสารความรู้ทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้ง	2. จัดให้มีการนำเสนอหน้าชั้นเรียนโดยประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศที่หลากหลายสถานการณ์ รวมถึง	2. ประเมินจากความสามารถในทักษะการสื่อสาร การอภิปรายนำเสนอต่อชั้นเรียน และการตอบ

การเลือกใช้รูปแบบการสื่อสารได้อย่างเหมาะสม	การรูปแบบการนำเสนอ	คำถาม
3. [●] มีทักษะและความรู้ภาษาอังกฤษหรือภาษาต่างประเทศอื่น เพื่อการค้นคว้าได้อย่างเหมาะสมและจำเป็น	3. มอบหมายงานสืบค้นข้อมูล paper งานด้านการวิจัยเป็นบทความภาษาอังกฤษ	3. ประเมินผลจากรายงานผลการอ่านและการแปลเป็นรายงานเดี่ยว / กลุ่ม
4. [o] สามารถใช้เทคโนโลยี สารสนเทศ ในการสืบค้น และเก็บรวบรวมข้อมูลได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมกับสถานการณ์	4. การจัดทำรายงาน และแบบฝึกหัด โดยให้สืบค้นจากระบบสารสนเทศแล้ววิเคราะห์ในหัวข้อที่ได้มอบหมาย	4. ประเมินจากความสามารถในการอภิปราย นำเสนอต่อชั้นเรียน แบบฝึกหัด และรายงาน

หมวดที่ 5 แผนการสอนและการประเมินผล

1. แผนการสอน (ท. = ทฤษฎี , ป. = ปฏิบัติ)

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	ชั่วโมงสอนต่อสัปดาห์		กิจกรรมการสอน	สื่อที่ใช้ในการสอน	ผู้สอน
		ท.	ป.			
1	**ปฐมนิเทศการเรียนรู้** (Pre-school) - แนะนำการเรียนและการประเมินผล - แนะนำแหล่งเรียนรู้และเอกสารการค้นคว้า - วิเคราะห์ความรู้พื้นฐานผู้เรียน - วิเคราะห์รูปแบบการเรียนรู้ผู้เรียน	2	3	- อธิบายประมวลการสอนรายวิชา - อธิบายแผนการเรียน วิธีการเรียนการให้คะแนน - กำหนดกิจกรรมการเรียน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad	อ.ธนาวรรณ
2	**บทที่ 1 บทนำ การแยกและการเก็บรักษาจุลินทรีย์** - ขอบเขต ความสำคัญ ความหมายและชนิดของการหมัก - ปัจจัยในการคัดเลือกจุลินทรีย์ แหล่งจุลินทรีย์ - วิธีการแยกเชื้อ และการเก็บรักษาจุลินทรีย์	2	3	-บรรยาย -ทดสอบก่อนเรียน -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -มอบหมายงาน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
3	**บทที่ 2 การวิเคราะห์ผลผลิต** - การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีการทางเคมี – ฟิสิกส์ - การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีการทางชีววิทยา	2	3	-บรรยาย -อภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -สอบเก็บคะแนนครั้งที่ 1	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	ชั่วโมงสอนต่อสัปดาห์		กิจกรรมการสอน	สื่อที่ใช้ในการสอน	ผู้สอน
		ท.	ป.			
4	**บทที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมเชื้อเริ่มต้น** - ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอาหารเลี้ยงเชื้อ - การเตรียมเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมัก	2	3	-บรรยาย และอภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -มอบหมายงาน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
5	**บทที่ 4 การเก็บเกี่ยวผลผลิตและการทำให้บริสุทธิ์** - การเก็บเกี่ยวผลผลิตภายนอกเซลล์ - การเก็บเกี่ยวผลผลิตภายในเซลล์	2	3	-บรรยาย และอภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -ฝึกปฏิบัติการ -มอบหมายงาน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
6	**บทที่ 5 การออกแบบถังหมัก** - สมบัติพื้นฐานของถังหมัก - ส่วนประกอบ หน้าที่ของอุปกรณ์การหมัก - ถังหมักแบบอื่น ๆ **บทปฏิบัติการที่ 1 การออกแบบถังหมัก**	2	3	-บรรยาย และอภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -ฝึกปฏิบัติการ -มอบหมายงาน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
7	**บทที่ 6 จลนพลศาสตร์การหมัก** - อัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ - อัตราการใช้สับสเตรทของจุลินทรีย์ - อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ **บทปฏิบัติการที่ 2 การคำนวณจลนพลศาสตร์การหมัก**	2	3	-บรรยาย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -ฝึกปฏิบัติการ --สอบเก็บคะแนนครั้งที่ 2	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
8	**บทที่ 6 จลนพลศาสตร์การหมัก (ต่อ)** - อัตราการเจริญจำเพาะของจุลินทรีย์ - อัตราการใช้สับสเตรทของจุลินทรีย์ - อัตราการผลิตผลิตภัณฑ์ **บทปฏิบัติการที่ 2 การคำนวณจลนพลศาสตร์การหมัก**	2	3	-บรรยาย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -ฝึกปฏิบัติการ --สอบเก็บคะแนนครั้งที่ 2	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	ชั่วโมงสอนต่อสัปดาห์		กิจกรรมการสอน	สื่อที่ใช้ในการสอน	ผู้สอน
		ท.	ป.			
9	**บทที่ 7 การใช้ยีสต์ในทางอุตสาหกรรม** - การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ - การผลิตยีสต์ที่ใช้ทำขนมปัง **บทปฏิบัติการที่ 3 การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ท้องถิ่น**	2	3	-บรรยาย -อภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย	อ.ธนาวรรณ
10	**บทที่ 8 การใช้แบคทีเรียในทางอุตสาหกรรม** - การผลิตกรดแล็กติก - การผลิตกรดอะซิตริก **บทปฏิบัติการที่ 4 การผลิตกรดอินทรีย์** บูรณาการร่วมกับงานวิจัย เรื่อง “การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์”	2	3	-บรรยาย -อภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -ฝึกปฏิบัติการ -มอบหมายงาน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
11	**บทที่ 9 การใช้ราในทางอุตสาหกรรม** - การผลิตเอนไซม์ การผลิตยาปฏิชีวนะ - การผลิต SCP และกรดซิตริก **บทปฏิบัติการที่ 5 การผลิต SCP**	2	3	-บรรยาย -อภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -ฝึกปฏิบัติการ -มอบหมายงาน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
12	**บทที่ 10 การตรึงเซลล์จุลินทรีย์** - ความหมาย - วิธีการตรึงเซลล์ - แนวทางการใช้ประโยชน์	2	3	-บรรยาย -อภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -สอบเก็บคะแนนครั้งที่3	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad -เอกสารประกอบการบรรยาย -หนังสือ	อ.ธนาวรรณ
13	**บทที่ 11 การผลิตเอนไซม์** - ความสำคัญ แหล่งเอนไซม์ทางอุตสาหกรรม - ปัจจัยสำคัญในการผลิตเอนไซม์จากจุลินทรีย์ - แนวทางในการนำไปใช้ประโยชน์ **บทปฏิบัติการที่ 6 การผลิตเอนไซม์**	2	3	-บรรยาย -อภิปราย -ซักถาม ตอบคำถาม - แบบฝึกหัด และทำการบ้านส่ง -ฝึกปฏิบัติการ -มอบหมายงาน	-Power point -คลิปวีดีโอ -app note ของ Ipad - เอกสารประกอบการบรรยาย - หนังสือ	อ.ธนาวรรณ

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	ชั่วโมงสอนต่อสัปดาห์		กิจกรรมการสอน	สื่อที่ใช้ในการสอน	ผู้สอน
		ท.	ป.			
14	**การศึกษาดูงานนอกสถานที่** บูรณาการร่วมกับงานวิจัย เรื่อง “ความหลากชนิดของแมลงกินได้ และพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ปรุงจากแมลงกินได้ตามภูมิปัญญาท้องถิ่น”	2	3	- สังเกตการณ์มีส่วนร่วม - แบบประเมิน	- เอกสารประกอบการบรรยาย	อ.ธนาวรรณ
15	**นำเสนองานเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้จุลชีววิทยาอุตสาหกรรมในปัจจุบัน**	2	3	- การอภิปราย - การนำเสนอรายกลุ่ม/เดี่ยว	- paper งานวิจัยต่างประเทศ	อ.ธนาวรรณ
16	**สอบปลายภาค**					

2. แผนการประเมินผลการเรียนรู้

2. แผนการประเมินผลการเรียนรู้					
กิจกรรมที่	**การเรียนรู้ด้าน**	**ผลการเรียนรู้**	**วิธีการประเมิน**	**สัปดาห์ที่ประเมิน**	**สัดส่วนของการประเมิน**
1	คุณธรรม จริยธรรม	1. [**o**] มีความซื่อสัตย์สุจริต 2. [o] มีระเบียบวินัย 3. [o] มีจิตสำนึก และตระหนักในการปฏิบัติตามจรรยาบรรณทางวิชาการ 4. [●] เคารพสิทธิ และความคิดเห็นของผู้อื่น 5. [o] มีจิตสาธารณะ	1. ประเมินจากการตรงเวลาของนักศึกษาในการเข้าชั้นเรียน การส่งงานที่ได้รับมอบหมายตามกำหนดเวลา และการร่วมกิจกรรม 2 .ประเมินจากการมีวินัย และพร้อมเพรียงของนักศึกษาในการเข้าร่วมกิจกรรม 3 .ประเมินจากการกระทำทุจริตในการสอบ และความรับผิดชอบในหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย 4.ประเมินจากความร่วมมือในการแต่งกายที่ถูกระเบียบ	1-15	10%

กิจกรรมที่	การเรียนรู้ด้าน	ผลการเรียนรู้	วิธีการประเมิน	สัปดาห์ที่ประเมิน	สัดส่วนของการประเมิน
2	ความรู้	1. [o] มีความรู้ ในหลักการ และทฤษฎีทางด้านจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม 2. [**o**] มีความรู้พื้นฐานทางด้านจุลชีววิทยาทางอุตสาหกรรมที่จะนำมาอธิบายหลักการและทฤษฎีในศาสตร์เฉพาะ 3. [●] สามารถติดตามความก้าวหน้าทางวิชาการ และพัฒนาความรู้ใหม่ทางด้านจุลชีววิทยาอุตสาหกรรม 4. [**o**] มีความรอบรู้ในศาสตร์ต่างๆ ที่จะนำไปใช้ในชีวิตประจำวัน	1. ประเมินด้วยการสอบย่อย สอบปฏิบัติการ สอบกลางภาคการศึกษา และสอบปลายภาคการศึกษา 2. ประเมินจากการปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ ของรายวิชา เช่น การนำเสนอ รายงาน 3. ประเมินจากการแก้ปัญหาที่ได้รับมอบหมาย	-6,7,10, 11,12, 13 -3,7,12	70%
3	ทักษะทางปัญญา	1. [o] สามารถคิดวิเคราะห์อย่างเป็นระบบ และมีเหตุมีผลตามหลักการวิธีการทางวิทยาศาสตร์ 2. [o] นำความรู้ทางวิทยาศาสตร์และจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมไปประยุกต์กับสถานการณ์ต่างๆ ได้อย่างถูกต้องเหมาะสม 3. [●] มีความใฝ่รู้ สามารถวิเคราะห์ และสังเคราะห์ความรู้จากแหล่งข้อมูลต่างๆ ที่หลากหลายได้อย่างถูกต้อง และสร้างสรรค์เพื่อนำไปสู่การสร้างนวัตกรรม	1. ประเมินตามสภาพจริงจากผลงาน และการปฏิบัติของนักศึกษา 2. ประเมินจากการนำเสนอรายงานหน้าชั้นเรียน การทดสอบ การสัมภาษณ์ การทดลอง	2-14	10%
4	ทักษะความสัมพันธ์ระหว่างบุคคลและความรับผิดชอบ	1. [o] ภาวะผู้นำโดยสามารถทำงานร่วมกับผู้อื่น ในฐานะผู้นำ และสมาชิกที่ดี 2. [●] มีความรับผิดชอบ ต่อสังคม และองค์กร รวมทั้งพัฒนาตนเองและพัฒนางาน 3. [o] สามารถปรับตัวเข้ากับสถานการณ์ และวัฒนธรรมขององค์กร	1.ประเมินจากพฤติกรรมและการแสดงออกของนักศึกษาในการนำเสนอรายงาน การรวมกลุ่มระดมความคิด 2. สังเกตจากพฤติกรรมจากการร่วมกิจกรรมต่าง ๆ	1-15	5%
5	ทักษะการวิเคราะห์เชิงตัวเลข การสื่อสารและสารสนเทศ	1. [o] สามารถประยุกต์ความรู้ทางคณิตศาสตร์ และสถิติ เพื่อการวิเคราะห์ประมวลผลการ และนำเสนอข้อมูลได้อย่างเหมาะสม 2. [o] มีทักษะในการใช้ภาษาเพื่อการสื่อสารความรู้ทางวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ได้อย่างมีประสิทธิภาพ รวมทั้งการเลือกใช้รูปแบบการสื่อสารได้อย่างเหมาะสม 3. [●] มีทักษะและความรู้ภาษาอังกฤษ หรือภาษาต่างประเทศอื่นเพื่อการค้นคว้าได้อย่างเหมาะสม 4. [o] สามารถใช้เทคโนโลยี สารสนเทศ ในการสืบค้นและเก็บรวบรวมข้อมูลได้อย่างมีประสิทธิภาพ และเหมาะสมกับสถานการณ์	1. ประเมินผลจากการเขียนรายงาน ประมวลผลการทดลอง การอ่าน การแปลผลและความสามารถในการอภิปราย นำเสนอ 2. การอ่าน และแปล paper ในรูปแบบรายงานและการนำเสนอ	1-15	5%

หมวดที่ 6 ทรัพยากรประกอบการเรียนการสอน

1. ตำราและเอกสารหลัก

[1] ดุษณี ธนะบริพัฒน์. (2537). จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม. ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรจน์.กรุงเทพฯ.

[2] สมใจ ศิริโภค. (2537). เทคโนโลยีการหมัก. ศูนย์สื่อเสริม.กรุงเทพฯ.

[3] วราวุฒิ ครูส่ง และรุ่งนภา พงศ์สวัสดิ์มานิต. เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

[4] Aiba, S.A. Humphy, E.H. and Millis, N.F. 1993. Biochemical Engineering 2 ed. London : Academic Press,Inc. Casida, L.E. 1968. Industrial Microbiology. New York :Join Wiley & Sons.

2. เอกสารและข้อมูลสำคัญ

[5] สาโรจน์ ศิริศันสนียกุล. (2547). เทคโนโลยีชีวภาพทางอาหาร การหมัก และสิ่งแวดล้อม. คณะอุตสาหกรรมการเกษตร. กรุงเทพฯ.

3. เอกสารและข้อมูลแนะนำ

เว็บไซต์ที่เกี่ยวกับหัวข้อในประมวลรายวิชา เช่น Wikipedia คำอธิบายศัพท์

หมวดที่ 7 การประเมินและปรับปรุงการดำเนินการของรายวิชา

1. กลยุทธ์การประเมินประสิทธิผลของรายวิชาโดยนักศึกษา

1.1 การสนใจเรียน และการทำกิจกรรมของนักศึกษา

1.2 ประเมินพัฒนาการของนักศึกษาโดยเปรียบเทียบความรู้ ด้วยแบบทดสอบก่อนและหลังเรียนรายวิชานี้ โดยทำการทดสอบความรู้ในสัปดาห์แรกและสัปดาห์สุดท้ายของการเรียนการสอนด้วยข้อสอบชุดเดียวกัน

1.3 การประเมินผู้สอนและแบบประเมินรายวิชา โดยใช้แบบประเมิน

1.4 ส่งเสริมให้นักศึกษาแสดงความคิดเห็นต่อการเรียนการสอน และข้อเสนอแนะผ่านเว็บบอร์ดที่อาจารย์ผู้สอนได้จัดทำเป็นช่องทางการสื่อสารกับนักศึกษา หรือทาง social media เช่น facebook

2. กลยุทธ์การประเมินการสอน

2.1 ประเมินจากผลการสอนของผู้สอน และผลการเรียนของนักศึกษา

2.2 สรุปผลการเรียนของนักศึกษา และการทวนสอบผลประเมินการเรียนรู้

2.3 การทดสอบความรู้ของผู้เรียน โดยเทียบคะแนนก่อนเรียนและหลังเรียน

3. การปรับปรุงการสอน

3.1 ปรับปรุงการสอน โดยประมวลความคิดเห็นของนักศึกษา การประเมินการสอนของตนเอง ปัญหา อุปสรรค แนวทางแก้ไข เพื่อเป็นข้อมูลเบื้องต้นในการปรับปรุงรายวิชาในภาคการศึกษาต่อไป

3.2 หาข้อมูลเพิ่มเติมเพื่อปรับปรุงการสอน เช่น การสำรวจความต้องการในการศึกษา พัฒนาวิธีการสอนโดยการจัดกิจกรรมประกอบ

3.3 ปรับปรุงรายละเอียดของรายวิชาให้ทันสมัยและเหมาะสมกับนักศึกษารุ่นต่อไป

4. การทวนสอบมาตรฐานผลสัมฤทธิ์ของนักศึกษาในรายวิชา

4.1 ในระหว่างกระบวนการสอนรายวิชา มีการทวนสอบผลสัมฤทธิ์ในรายหัวข้อ ตามที่คาดหวังจากการเรียนรู้ในวิชา ได้จากการสอบถามนักศึกษา หรือการสุ่มตรวจผลงานของนักศึกษา รวมถึงการพิจารณาจากผลการทดสอบย่อยและหลังการออกผลการเรียนรายวิชา

4.2 ทวนสอบจากการประเมินพฤติกรรมของผู้เรียนโดยอาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชา

4.3 มีการตั้งคณะกรรมการในสาขาวิชาตรวจสอบผลการประเมินการเรียนรู้ของนักศึกษา โดยตรวจสอบข้อสอบ รายงาน วิธีการให้คะแนนสอบและการให้คะแนนพฤติกรรม รวมถึงประเมินผลการเรียน

5. การดำเนินการทบทวนและการวางแผนปรับปรุงประสิทธิผลของรายวิชา

จากผลการประเมิน และทวนสอบผลสัมฤทธิ์ประสิทธิผลรายวิชา ได้มีการวางแผนการปรับปรุงการสอน และรายละเอียดวิชาเพื่อให้เกิดคุณภาพมากขึ้น ดังนี้

5.1 ปรับปรุงรายวิชาทุก 4 ปีหรือตามข้อเสนอแนะและผลการทวนสอบมาตรฐานผลสัมฤทธิ์ตามข้อ 4

5.2 นำผลการประเมินการสอนของตนเอง มาพัฒนาเนื้อหาสาระให้ทันสมัย ปรับวิธีการเรียนการสอน และวิธีการประเมินผลให้ตรงกับผลการเรียนรู้ที่คาดหวัง

5.3 นำผลประเมิน และข้อคิดเห็นจากนักศึกษามาปรับปรุงแก้ไขในการจัดการเรียนการสอนในรุ่นต่อไป

ภาคผนวก ฐ

การรับรองผลการวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ไปใช้ประโยชน์

แบบฟอร์มรับรองการนำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ไปใช้ประโยชน์

1. ชื่อโครงการวิจัย การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์

2. ชื่อนักวิจัย/นักประดิษฐ์ นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม

3. คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

4. ทุนอุดหนุนการวิจัยประเภท ทุนอุดหนุนงานวิจัยเพื่อสร้างองค์ความรู้ (เพิ่มเติม) งบประมาณแผ่นดิน ประจำปีงบประมาณ พ.ศ. 2559

5. ปีที่งานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ดำเนินการเสร็จ .พ.ศ. 2559

6. ปีที่นำไปใช้ประโยชน์ พ.ศ.2560

7. การนำไปใช้ประโยชน์

๗.๑ ชื่อหน่วยงาน องค์การบริหารส่วนตำบลนาป่า

๗.๒ ที่อยู่หน่วยงาน หมู่ 2 ตำบลนาป่า อำเภอเมือง จังหวัดเพชรบูรณ์

ขอรับรองว่าได้นำผลงานวิจัยหรืองานสร้างสรรค์ดังกล่าวไปใช้ประโยชน์ ดังนี้

☑ 1. การนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงสาธารณะ (โปรดระบุรายละเอียด)

งานวิจัยชิ้นนี้นำมาเผยแพร่ให้กลุ่มวิสาหกิจชุมชน กลุ่มแม่บ้านที่เกี่ยวกับการแปรรูปมะขาม โดยการจัดโครงการอบรมเชิงปฏิบัติการ เรื่อง “หลักการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) เพื่อสร้างมูลค่าเพิ่มในเชิงพาณิชย์” โดยทางกลุ่มแม่บ้านจะได้นำองค์ความรู้ที่ได้จากการพัฒนางานทางด้านการวิจัยมาต่อยอดเพื่อก่อให้เกิดกระบวนการผลิตผลิตภัณฑ์ชนิดใหม่จากการแปรรูปมะขามแบบดั้งเดิมเพื่อเพิ่มรายได้ให้กับชุมชน และส่งเสริมสนับสนุนให้มีการต่อยอดให้เป็นผลิตภัณฑ์เพื่อสุขภาพจากการแปรรูปมะขามของกลุ่มวิสาหกิจชุมชนต่อไปซึ่งจะทำให้ชุมชนมีเศรษฐกิจ และคุณภาพชีวิตที่ดีต่อไป

☐ 2. การนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงนโยบาย (โปรดระบุรายละเอียด)

.....

.....

.....

☐ 3. การนำไปใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์ (โปรดระบุรายละเอียด)

.....

.....

.....

☐ 4. การนำไปใช้ประโยชน์อื่นๆ (โปรดระบุรายละเอียด)

.....

.....

.....

.....

(นางอัมพร กุลวงศ์)

ผู้นำไปใช้ประโยชน์

ตำแหน่งนักวิชาการพัฒนาชุมชนชำนาญการ

วันที่ให้ข้อมูล 10 กุมภาพันธ์ 2560

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม

Miss Tanawan Sukkasem

2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน

5670700001447

3. ตำแหน่งปัจจุบัน

อาจารย์

4. ตำแหน่งทางวิชาการ

-

5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก

โปรแกรมวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000

โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 1410, 086-3152221 E-mail : tan_awan@hotmail.com

6. ประวัติการศึกษา

กศ.บ. (ธุรกิจการเกษตร)	มหาวิทยาลัยสุโขทัยธรรมมาธิราช
บช.บ. (บัญชี)	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
วทม. (อุตสาหกรรมเกษตร)	มหาวิทยาลัยนเรศวร

7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ

จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม เทคโนโลยีชีวภาพ การใช้ประโยชน์จากของเสีย อาหาร และโภชนาการสุขภาพ

8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

- วิทยานิพนธ์ เรื่อง “การศึกษาวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาส้มโอตัดแต่งโดยใช้ฟิล์มห่อหุ้มและสารเคลือบผิว”

- โครงงานวิจัย เรื่อง “การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตเอนไซม์ Xylanase โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร”

- ทุนวิจัยเพื่อพัฒนา เรื่อง ข้าวหอมมะลิเสริมสมุนไพรไทยพื้นบ้านภายในท้องถิ่น

- ทุนวิจัยภายในมหาวิทยาลัย ปี 2553 เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวแตนเคลือบสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อสุขภาพ

- ทุนวิจัย วช. ปี 2553 เรื่อง การศึกษาระบบนิเวศบริเวณสวนรุกขชาติผาเมืองเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการรักษาระบบนิเวศให้สมดุล เหมาะสมกับการใช้เป็นแหล่งศึกษาความหลากหลายของชีวภาพในชุมชน

- ทุนวิจัยในชั้นเรียน เรื่อง ความพึงพอใจของนักศึกษาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารในระดับชั้นปีที่ 3 ที่มีต่อรูปแบบการจัดกิจกรรมการเรียนการสอนที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญในรายวิชา วิศวกรรมอาหาร 1

- ทุนวิจัย สกอ. ปี 2556 โครงการชุด เรื่อง ความหลากชนิดของเห็ดในป่าชุมชนพัฒนวรพงษ์จังหวัดเพชรบูรณ์และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์

- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2556 เรื่อง สารสกัดเพคตินจากกะหล่ำปลี (*Brassica oleracea* L. var *capitata* L.) ภูทับเบิก ตำบลวังบาล อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์

- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2557 เรื่อง การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสัปปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402

- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2558 หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การศึกษาสารสกัดหยาบจากพืชสมุนไพรท้องถิ่น 5 ชนิด ต่อการยับยั้งเชื้อ *Colletotrichum gloeosporioides* (Penz.) Sacc. ในมะม่วงน้ำดอกไม้

- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2558 ผู้ร่วมวิจัยแผนงานวิจัย เรื่อง การพัฒนาเทคโนโลยีหลังการเก็บเกี่ยวมะม่วงน้ำดอกไม้และปรับปรุงคุณภาพเพื่อเพิ่มศักยภาพการส่งออก

- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากมะขาม (*Tamarindus indica* L.) และแนวทางการสร้างมูลค่าเพิ่มเชิงพาณิชย์

- ทุนวิจัย สกอ. ปี 2559 หัวหน้าโครงการวิจัย เรื่อง ความหลากชนิดของแมลงกินได้ และพฤติกรรมการบริโภคอาหารที่ปรุงจากแมลงกินได้ตามภูมิปัญญาท้องถิ่น

- ทุนวิจัยงบประมาณแผ่นดิน ปี 2559 ผู้ร่วมวิจัย โครงงานวิจัย เรื่อง การส่งเสริมการจัดทำคาร์บอนฟุต พริ้นท์ในจังหวัดเพชรบูรณ์ เพื่อมุ่งสู่การเป็นเมืองคาร์บอนต่ำ

9. ประสบการณ์ในการเผยแพร่ผลงานวิจัยและทางวิชาการ

- ธนาวรรณ สุขเกษม. 2552. การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวแตนเคลือบสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อสุขภาพ. วารสารเพชรบูรณ์วิจัย. ปีที่ 2 หน้า 40 – 48. เพชรบูรณ์.

- ธนาวรรณ สุขเกษม. 2558. *การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสัปปะรดที่เหลือทิ้งที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย Acetobacter aceti TISTR 102 และ Gluconobacter oxydans TISTR 402.* การประชุมวิชาการระดับชาติ มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ครั้งที่ 2 “งานวิจัยเพื่อพัฒนาท้องถิ่น”, หน้า 41, เพชรบูรณ์.

ส่วน ข : ประวัติคณะผู้ร่วมวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล นางสาวสมเพียร ฟักทอง
   Miss Sompian Fagtong
2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 3670100751040
3. ตำแหน่งปัจจุบัน พนักงานปฏิบัติการ ชีววิทยา
4. ตำแหน่งทางวิชาการ -
5. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก
   ศูนย์วิทยาศาสตร์และวิทยาศาสตร์ประยุกต์ คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
   มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000
   โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709, 089-4619199 E-mail : mai_bio45@hotmail.com
6. ประวัติการศึกษา
   วท.บ. (ชีววิทยาประยุกต์) มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
7. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ
   การตรวจวิเคราะห์อาหาร การตรวจวิเคราะห์น้ำ ทางด้านจุลลินทรีย์ การเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ
8. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย
   - วิทยานิพนธ์ เรื่อง เทคนิคการเพาะเลี้ยงเนื้อเยื่อ ดีปลากั้ง