รายงานการวิจัย

การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสัปปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402

(Nutritional Evaluation of Drinking Vinegar from Pineapple (*Ananas comosus*) Waste Fermented by *Acetobacter aceti* TISTR 102 and *Gluconobacter oxydans* TISTR 402.)

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม
สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

ประจำปีงบประมาณ 2557

รหัสโครงการ PCRU_2557_G022

รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์

การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 (Nutritional Evaluation of Drinking Vinegar from Pineapple (*Ananas comosus*) Waste Fermented by *Acetobacter aceti* TISTR 102 and *Gluconobacter oxydans* TISTR 402.)

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวปอแก้ว พรมเพ็ชร	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวสมเพียร ฟักทอง	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวแสงจันทร์ สอนสว่าง	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี
นางสาวรุ่งนภา สนุ่นดี	สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี

ทุนอุดหนุนโดย มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
ประจำปีงบประมาณ 2557

กิตติกรรมประกาศ

ขอขอบพระคุณมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ที่อุดหนุนในการทำวิจัยในครั้งนี้ ขอขอบพระคุณคุณพ่อคุณแม่ที่ให้กำลังใจในการทำวิจัย ขอขอบคุณเพื่อน ๆ และพี่ ๆ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา และนักศึกษาสาขาวิชาชีววิทยาที่ช่วยเหลือในระหว่างทำงานวิจัย และขอขอบคุณผู้ทดสอบชิมทุกท่านที่ให้ความร่วมมือเป็นอย่างดี

ข้าพเจ้าหวังว่าโครงงานฉบับนี้จะเป็นประโยชน์ต่อท่านผู้สนใจ และหากมีข้อผิดพลาดประการใด ข้าพเจ้าขออภัยไว้ ณ ที่นี้ด้วย

นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม

สิงหาคม ๒๕๕๗

ชื่อเรื่อง การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402

ผู้วิจัย ธนาวรรณ สุขเกษม

บทคัดย่อ

การวิจัยครั้งนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อทำการศึกษาคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *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 และราในน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 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

คำสำคัญ **น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม / เปลือกสับปะรด / คุณค่าทางโภชนาการ**

Title Nutritional Evaluation of Drinking Vinegar from Pineapple (*Ananas comosus*) Waste Fermented by *Acetobacter aceti* TISTR 102 and *Gluconobacter oxydans* TISTR 402.

Author Tanawan Sukkasem

ABSTRACT

This research aims to study nutritional of drinking vinegar from pineapple (*Ananas comosus*) waste fermented by *Acetobacter aceti* TISTR 102 and *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 for 12 days. Then that study formula of drinking vinegar to fermented 2 strain and mixed with sweetener 3 type as sucrose 3% , fructose syrup 3% and glucose syrup 3% to analyzed physical , chemical microbiological and sensory evaluation found that drinking vinegar 6 formula to have a clear yellow 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 vitamin c content about 37 mg/ml , total soluble solid 3.8 ^{0}Brix alcohol 3.43 ^{0}Brix of alcohol and the amount of citric acid 5.28% which is formulated have minimal amount of citric acid and total plate count have 5.54 – 6.19 cfu/ml and undetected yeast and mold in all drinking vinegar 6 formula which to followed the community standard of vinegar and drinking orange juice (275/2547).

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 formula 2 that drinking vinegar fermented with *Acetobacter aceti* TISTR 102 and mixed with fructose syrup 3% to have 8.07 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.

Keywords *Drinking Vinegar* / Pineapple (*Ananas comosus*) Waste / Nutritional Evaluation

สารบัญเรื่อง

		หน้าที่
กิตติกรรมประกาศ		ก
บทคัดย่อไทย		ข
บทคัดย่ออังกฤษ		ค
สารบัญเรื่อง		ง
สารบัญตาราง		ฉ
สารบัญภาพ		ช
บทที่ 1	**บทนำ**	
	ความสำคัญและที่มาของปัญหา	1
	วัตถุประสงค์ของการวิจัย	2
	สมมติฐานการวิจัย	2
	ขอบเขตของการวิจัย	3
	ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	3
	นิยามศัพท์เฉพาะ	4
บทที่ 2	**การทบทวนวรรณกรรม**	
	สับปะรด	5
	เทคโนโลยีการหมัก	7
	น้ำส้มสายชู	9
	งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	26
บทที่ 3	**วิธีการดำเนินการวิจัย**	
	สารเคมี และวัตถุดิบ	30
	วัสดุ และอุปกรณ์	30
	วิธีการทดลอง	31
	ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย	37
บทที่ 4	**ผลการวิจัยและวิจารณ์**	
	ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)	38
	ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)	40

สารบัญเรื่อง (ต่อ)

		หน้าที่
	ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีววิทยา (Microbiological Properties)	47
	ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)	49
บทที่ 5	**สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ**	
	การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)	52
	การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)	52
	การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีววิทยา (Microbiological Properties)	54
	การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)	54
	ข้อเสนอแนะ	55
บรรณานุกรม		56
ภาคผนวก	ภาคผนวก ก วิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)	61
	ภาคผนวก ข วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางชีววิทยา (Microbiological Properties	65
	ภาคผนวก ค แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส 9-Point Hedonic Scale	68
	ภาคผนวก ง มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน เรื่อง น้ำส้มสายชูหมัก	69
	ภาคผนวก จ ประกาศกระทรวงสาธารณสุข เรื่อง น้ำส้มสายชูหมัก	74
	ภาคผนวก ฉ มคอ.3 รายวิชา จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม	77
	ภาคผนวก ง ภาพประกอบการทำวิจัย	87
ประวัติผู้วิจัย		93

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้าที่
2.1	คุณค่าทางโภชนาการของเปลือกสับปะรด	6
2.2	ตัวอย่างเอ็นไซม์ที่ผลิตจากกระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ และแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์	8
2.3	องค์ประกอบของน้ำส้มสายชูชนิดต่าง ๆ	13
2.4	แสดงถึงแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดน้ำส้มสายชูที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู	14
2.5	ผลของการทำลายเซลล์ *Acetobacter* sp. จากการขาดออกซิเจนควบคู่กับปัจจัยต่าง ๆ ของการหมัก	23
2.6	ส่วนประกอบทางเคมีของน้ำส้มสายชูแต่ละชนิด	25
3.1	สูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากกระบวนการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402	34
4.1	สูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร	38
4.2	ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402	39
4.3	ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร	41
4.4	ปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมดของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PCA	47
4.5	ปริมาณยีสต์ และราของน้ำส้มสายขูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PDA	48
4.6	การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร	49

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้าที่
1.1	กรอบแนวคิดของแผนงานวิจัย	2
2.1	ลักษณะสับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่น	5
2.2	สูตรโครงสร้างของกรดอะซิตริก (Acetic acid)	10
2.3	ปฏิกิริยาการออกซิไดส์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิตริก	11
2.4	สัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*	15
2.5	สัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Gluconobacter oxydans*	15
2.6	กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู	20
3.1	กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู	33
4.1	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดอะซิตริก และปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำส้มสายชูหมัก	42
4.2	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด-ด่างของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม 6 สูตร	44
4.3	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม 6 สูตร	45
4.4	แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณวิตามินซีในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม	46
4.5	ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม	50
1-ช	ตัวอย่างเปลือกสับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่น	87
2.ช	การเตรียมน้ำสับปะรดที่ใช้เตรียมหัวเชื้อผลิตไวน์เปลือกสับปะรด	87
3-ช	การเตรียมหัวเชื้อผลิตไวน์จากเปลือกสับปะรด	88
4.ช	การเตรียมไวน์จากเปลือกสับปะรด	88
5-ช	ขั้นตอนการผลิตกรดน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกสับปะรด	89
6-ช	น้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกสับปะรด	89
7-ช	น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร	90
8.ช	น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ใช้ทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส	90
9-ช	การเตรียมตัวอย่างทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส	91
10.ช	การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม	91
11-ช	น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม	92
12-ช	การทดสอบคุณสมบัติทางจุลชีววิทยา	92

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

สับปะรด (*Ananas comosus*) เป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีประโยชน์หลากหลาย ซึ่งส่วนใหญ่ผู้บริโภคนิยมรับประทานสับปะรดในรูปแบบต่าง ๆ อาทิ เช่น น้ำสับปะรด สับปะรดสไลด์ สับปะรดบรรจุกระป๋อง แยมสับปะรด สับปะรดกวน ฯลฯ ซึ่งผลิตภัณฑ์สับปะรดที่นิยมรับประทานส่วนใหญ่ต้องผ่านกระบวนการแปรรูปในการตัดแต่งส่วนที่ไม่ใช้ทิ้งไปโดยเฉพาะส่วนที่เป็นเปลือก จึงทำให้เปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งจากกระบวนการแปรรูปสับปะรดมีเปลือกสับปะรดเหลือทิ้งเป็นปริมาณมากและส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมเนื่องจากส่วนของเปลือกจะเป็นขยะมูลฝอย และเป็นสารที่เกิดกระบวนการหมักได้ง่ายทำให้เกิดกลิ่นเหม็น หากปล่อยทิ้งไว้จะส่งผลเสียต่อสิ่งแวดล้อมทำให้เกิดมลภาวะได้ ซึ่งเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าของเสียที่เหลือจากการแปรรูปน้ำสับปะรดและจากการตัดแต่งผลไม้แปรรูปจึงมีความเหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักเนื่องจากมีปริมาณน้ำ และน้ำตาลสูง น้ำสับปะรดมีสีเหลือง ค่อนข้างใส มีกลิ่นหอมเฉพาะ ซึ่งเป็นแนวทางหนึ่งในการนำเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งมาเพิ่มมูลค่าโดยแปรรูปเป็นน้ำส้มสายชูหมักจากธรรมชาติเพื่อใช้เป็นเครื่องปรุงแต่งรสชาติอาหาร เตรียมน้ำสลัด หรือผักดอง และนอกจากนี้น้ำส้มสายชูยังสามารถนำมาพัฒนาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มได้อีกทางหนึ่งเพื่อสนองต่อความต้องการของตลาดกลุ่มผู้บริโภคที่รักสุขภาพซึ่งเพิ่มขึ้นมากในปัจจุบัน เนื่องด้วยน้ำส้มสายชูหมักมีประโยชน์ต่อสุขภาพมากช่วยให้ระบบต่าง ๆ ในร่ายกายดีขึ้นแล้วยังช่วยให้กระปรี้กระเปร่าอีกด้วย

การผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากกระบวนการหมักโดยเชื้อจุลินทรีย์ 2 สายพันธุ์เพื่อเปรียบเทียบคุณค่าทางโภชนาการ และนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสสำหรับเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักโดยนำน้ำส้มสายชูหมักที่ได้มาผสมกับส่วนประกอบอื่น ๆ เช่น น้ำผึ้ง และน้ำผลไม้จะได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม (มาลัย บุญรัตนกรกิจ และคณะ, 2549) ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักมีกลิ่นหอมและรสชาติที่ดี มีสีสวย ซึ่งกลิ่นหอมของน้ำส้มสายชูเกิดจากกระบวนการหมักและกลิ่นรสจะดียิ่งขึ้นเมื่อเก็บเป็นเวลานานขึ้น (สมใจ ศิริโภค, 2537)

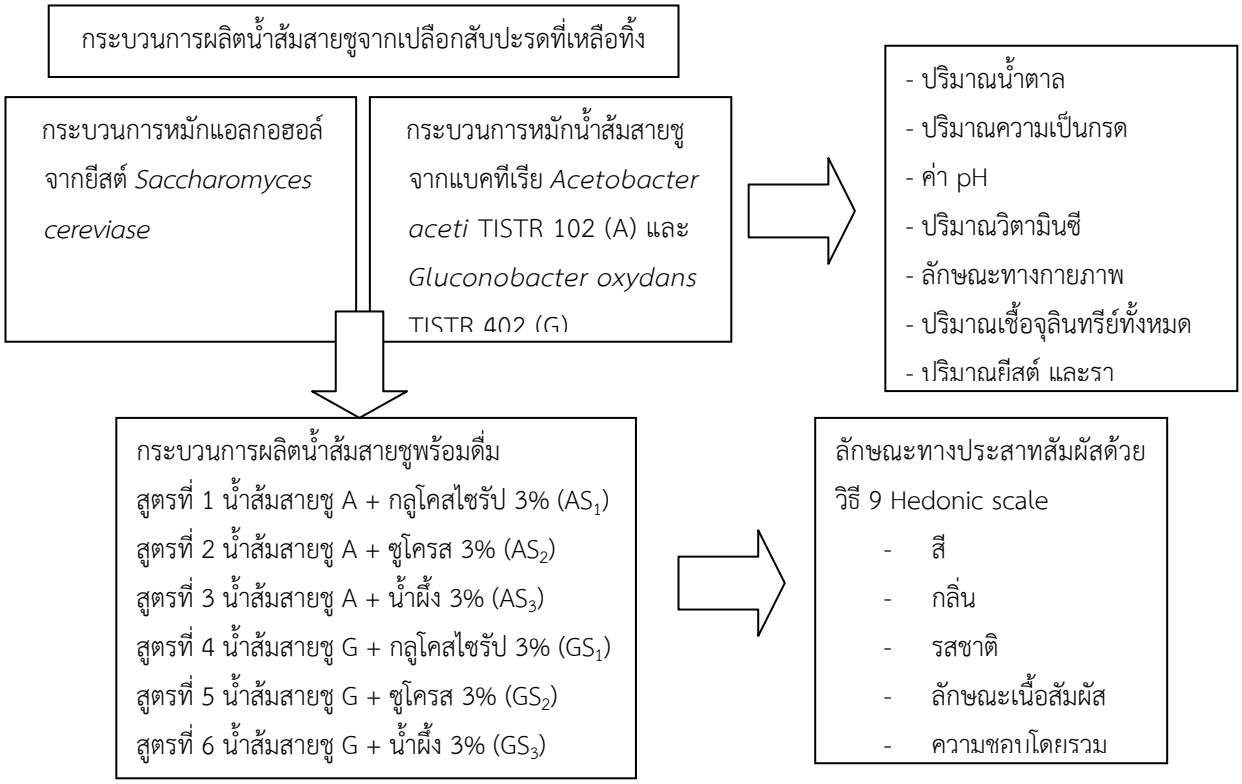
ดังนั้นผู้วิจัยจึงเล็งเห็นถึงความสำคัญในการเพิ่มมูลค่าของวัตถุดิบทางการเกษตรที่เหลือทิ้งมาใช้ให้เกิดประโยชน์และมีมูลค่าเพิ่มขึ้น โดยนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมัก ศึกษาการประเมินคุณค่าทางโภชนาการผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากกระบวนการหมักของแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์ และศึกษาสูตรที่ได้รับการยอมรับมากที่สุดจากการทดสอบของผู้บริโภค ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจัดเป็นเครื่องดื่มที่ส่งเสริมสุขภาพจึงเป็นทางเลือกใหม่สำหรับผู้บริโภคและยังช่วยลดขยะมูลฝอยไม่ให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อมอีกทางหนึ่งด้วย

1.2 วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาสูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้ง
2. เพื่อศึกษาคุณค่าทางโภชนาการน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402
3. เพื่อศึกษาผลการยอมรับจากผู้บริโภคของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์

1.3 สมมติฐานการวิจัย

จากทฤษฎีและสมมติฐานดังกล่าวสามารถกำหนดเป็นกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัยได้ดังนี้



ภาพที่ 1.1 กรอบแนวความคิดของแผนงานวิจัย

1.4 ขอบเขตของการวิจัย

1. ประชากรและกลุ่มตัวอย่าง

ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากส่วนของเปลือกสับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่นที่เหลือทิ้งจากกระบวนการ ตัดแต่งและการแปรรูปสับปะรดที่มีน้ำหนักเฉลี่ยต่อหัวใกล้เคียงกัน

2. ระยะเวลาที่ใช้ในการวิจัย คือ เดือนพฤศจิกายน 2556 – เดือนสิงหาคม 2557

3. ตัวแปรที่ใช้ในการค้นคว้า ได้แก่

3.1 ตัวแปรต้น

3.1.1 สายพันธุ์แบคทีเรียน้ำส้ม 2 สายพันธุ์ คือ *Acetobacter aceti* TISTR 102 (A) และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 (G) ที่มีอายุ 24 ชั่วโมง

3.1.2 สูตรการผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจำนวน 6 สูตร

3.2 ตัวแปรตาม ได้แก่

3.2.1 คุณสมบัติทางกายภาพ ได้แก่ ลักษณะทางกายภาพ เช่น สี กลิ่น ลักษณะที่สังเกตได้ด้วยตา

3.2.2 คุณสมบัติทางเคมี ได้แก่ ปริมาณน้ำตาล ปริมาณกรดอะซิตริก ค่า pH ปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณวิตามินซี

3.2.3 คุณสมบัติทางชีวภาพ ได้แก่ ปริมาณเชื้อจุลินทรีย์ทั้งหมด ยีสต์ และรา

3.2.3 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ด้านสี กลิ่น รส ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม

1.5 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการวิจัยประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ มีดังนี้

1. ทราบศึกษาคุณค่าทางโภชนาการน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402

2. สามารถเปรียบเทียบผลการยอมรับจากผู้บริโภคของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 สายพันธุ์

3. ช่วยเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งจากผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรของท้องถิ่น

4. เพื่อเผยแพร่งานวิจัยในวารสาร และถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตสู่ชุมชนเพื่อสร้างรายได้เสริม

5. สามารถนำมาบูรณาการร่วมกับการเรียนการสอนในรายวิชาจุลชีววิทยาทางอาหาร และจุลชีววิทยาอุตสาหกรรมต่อนักศึกษาหลักสูตรสาขาวิชาชีววิทยา

1.6 นิยามศัพท์เฉพาะ

1. เปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้ง (Pineapple Waste) หมายถึง ส่วนของเปลือกที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตน้ำสับปะรด และสับปะรดตัดแต่งพร้อมบริโภคซึ่งเป็นส่วนที่อยู่นอกสุดที่ติดกับเนื้อสับปะรดประมาณ 1 เซนติเมตร

2. น้ำส้มสายชูหมัก (Vineagar) หมายถึง เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำวัตถุดิบที่เหมาะสม เช่น ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาล หรือกากน้ำตาล มาหมักกับส่าเหล้า แล้วนำมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามกรรมวิธีธรรมชาติ

3. น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม (Drinking Vinegar) หมายถึง เป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่บริโภคได้ มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชูหมักจากผลไม้ น้ำผลไม้ แลสารปรุงแต่งกลิ่นและรสชาติทำให้มีรสชาติกลมกล่อมสามารถนำมาบริโภคได้เลย เป็นเครื่องดื่มให้ความสดชื่น และมีประโยชน์ต่อสุขภาพ

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. **ซูโครส (Sucrose)** หมายถึง สารที่ให้ความหวานตามธรรมชาติชนิดหนึ่งที่มีชื่อหลายแบบขึ้นอยู่กับรูปร่างลักษณะของน้ำตาล โดยทั่วไปซูโครสหรือแซคคาโรส หรือน้ำตาลทราย เป็นไดแซคคาไรด์ที่มีลักษณะเป็นผลึกของแข็งสีขาว

8. กลูโคสไซรัป (Glucose Syrup) หรือแบะแซ หมายถึง เป็นสารละลายแซคคาไรด์ที่ได้จากการย่อยแป้งโดยผ่านกรรมวิธีการทำให้บริสุทธิ์และเข้มข้น จัดเป็นของเหลวข้นหนืดที่ทำจากแป้งมันสำปะหลัง ซึ่งจะมีน้ำตาลกลูโคสชนิดหนึ่งเป็นน้ำเชื่อม มีรสหวาน ไม่มีสี หรือมีสีเหลืองอ่อน มีปริมาณของแข็งทั้งหมดไม่ต่ำกว่าร้อยละ 70

9. น้ำผึ้ง (Honey) หมายถึง เป็นของเหลวที่มีลักษณะข้นหนืดที่มีความหวานได้จากการที่แมลงหรือผึ้งเก็บสะสมเอามาจากดอกไม้ชนิดต่าง ๆ หรือเลี้ยงผึ้งเพื่อทำการเก็บน้ำผึ้งเพื่อไว้ในการบริโภคหรือใช้ปรุงแต่งกลิ่น และรสชาติอาหารรวมถึงใช้สำหรับปรับปรุงยาอีกด้วย

บทที่ 2
เอกสารและรายงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

ในการศึกษา เรื่อง การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 ผู้วิจัยได้รวบรวมแนวคิด และหลักการต่าง ๆ จากเอกสารที่เกี่ยวข้องดังต่อไปนี้

2.1 สับปะรด

2.2 เทคโนโลยีการหมัก

2.3 น้ำส้มสายชู

2.4 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สับปะรด (Pineapple)

2.1.1 ลักษณะทางพฤกษศาสตร์ของสับปะรด

ภาพที่ 2.1 ลักษณะสับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่น

วงศ์ (Family) : Bromeliaceae

จีนัส (Genus) : Ananas

สปีชีส์ (Species) : comosu

ชื่อสามัญ (Common name) : pineapple

ชื่อวิทยาศาสตร์ (Scientific name) : *Ananas comosus* (L.) Merr.

การพัฒนาของผลสับปะรดเกิดขึ้นได้โดยไม่ต้องมีการผสมเกสร (parthenocarpy) การผสมตัวเองเกิดขึ้นไม่ได้เนื่องจากหลอดเกสรตัวผู้ (pollen tube) ในดอกของสับปะรดพันธุ์เดียวกันไม่สามารถเจริญผ่านก้านเกสรตัวเมียไปจนถึงรังไข่ได้

ผลสับปะรดเป็นผลรวม (multiple fruit) เกิดจากการเชื่อมติดกันของผนังรังไข่และส่วนประกอบของดอกย่อยที่เรียงตัวอยู่ติดกันบนแกนกลางของช่อดอก ที่ส่วนบนสุดของผลจะเป็นกลุ่มของใบซึ่งจะเจริญไปพร้อมๆ กับผลและพัฒนาเป็นจุกต่อไป แกนกลางของจุกและผลสับปะรดเป็นส่วนที่เจริญต่อเนื่องมาจากเนื้อเยื้อเจริญที่

ปลายยอดของต้นสับปะรด ผลสับปะรด ถ้ามีขนาดใหญ่จะมีรูปร่างเป็นแบบกรวย (conical) คือส่วนโคนผลมีความกว้างมากกว่าส่วนปลายผล ถ้าผลมีขนาดปานกลางมักจะมีรูปร่างแบบทรงกระบอก (cylindrical) คือส่วน โคน ส่วนกลาง และส่วนปลายผลมีความกว้างใกล้เคียงกัน และถ้าผลมีขนาดเล็กมักจะมีรูปร่างเป็นแบบทรงกลม (spherical) คือส่วนกลางของผลมีความกว้างมากกว่าส่วนโคนและส่วนปลายและความยาวของผลใกล้เคียงกับความกว้าง (สำราญ สะรุโณ, 2552)

2.1.2 คุณค่าทางโภชนาการของเปลือกสับปะรด

ส่วนประกอบทางเคมีของเปลือกสับปะรดคิดเป็นเปอร์เซ็นต์ทางวัตถุแห้ง 96.28% โดยเปลือกสับปะรดมี

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของเปลือกสับปะรด

องค์ประกอบ	**เปลือกสับปะรด (100 กรัม)**
โปรตีน	6.37
ไขมัน	1.13
ใยอาหาร	20.60
เถ้า	6.62
NFE	65.28
แคลเซียม	0.33
ฟอสฟอรัส	0.18
ADF	25.67

จากที่กล่าวมาข้างต้นอาจมีความแตกต่างซึ่งขึ้นอยู่กับส่วนประกอบหรือสัดส่วนของเศษสับปะรดซึ่งประกอบไปด้วยเปลือกด้านข้าง เปลือกส่วนหัว เปลือกส่วนล่าง แกน(ไส้) และเศษเนื้อตลอดจนแหล่งที่มาของเปลือกสับปะรด (กลุ่มงานวิเคราะห์อาหารสัตว์ กองอาหารสัตว์ กรมปศุสัตว์, ม.ป.ป.)

สับปะรดห้วยมุ่น คือ สับปะรดพันธ์ปัตตาเวียที่ถูกนำเข้าไปปลูกในตำบลห้วยมุ่นประมาณ 50 ปีมาแล้ว(บ้างก็ว่า 100 ปีแล้ว) จนกลายเป็นพันธุ์ท้องถิ่น และมีคุณลักษณะแตกต่างไปจากพันธุ์ดั้งเดิมโดยเฉพาะ รสชาติหวานอร่อย เนื้อหนานิ่ม ตาตื้น เนื้อมีสีเหลืองอมน้ำผึ้ง รสชาติหวานฉ่ำ ตาไม่ลึกทำให้มีส่วนของเนื้อมาก ผลค่อนข้างเล็ก รับประทานแล้วไม่ระคายคอ เพียงปอกเปลือกบางๆ ก็หมดตาแล้ว และสิ่งที่ปรากฏอยู่ตรงหน้านั้น คือ เนื้อสับปะรดสีเหลืองฉ่ำ (ekkamai chaikanta, 2555)

2.2 เทคโนโลยีการหมัก (Fermentation Technology)

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 หรือกรดอินทรีย์ที่จุลินทรีย์สังเคราะห์ขึ้นและมีความสำคัญในเชิงอุตสาหกรรมทางด้านอุปโภคบริโภค 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 การ

หมักจากเชื้อจุลินทรีย์เนื่องจากผลิตได้จำนวนมาก ใช้เวลาในการหมักสั้น และสามารถปรับปรุงทางด้านพันธุวิศวกรรมเพื่อให้ได้สายพันธุ์ที่มีความสามารถให้ผลผลิตสูงขึ้นได้ง่ายกว่าการผลิตจากพืชหรือสัตว์

เอนไซม์ที่มีการผลิตในเชิงการค้าระดับอุตสาหกรรม สามารถนำมาใช้ประโยชน์มากมาย ดังตารางที่ 1.2 ส่วนใหญ่จะเกี่ยวข้องกับอุตสาหกรรมอาหาร และยา นอกจากนี้ยังนำมาใช้ในอุตสาหกรรมอื่น ๆ อาทิ เช่น อุตสาหกรรมการย้อม อุตสาหกรรมการผลิตผงซักฟอก อุตสาหกรรมสิ่งทอ อุตสาหกรรมการผลิตกระดาษ อุตสาหกรรมการฟอกหนัง และใช้ในการวิจัยทดลอง เป็นต้น

ตารางที่ 2.2 ตัวอย่างเอ็นไซม์ที่ผลิตจากกระบวนการหมักโดยใช้จุลินทรีย์ และแนวทางการนำไปใช้ประโยชน์

Enzyme	Source	Application
Amylase	*Aspergillus* sp. *Bacillus* sp. *Rhizopus* sp.	Flour supplement, desizing textiles, mash preparation, syrup manufacture, digestive aid, precooked foods, spot remover in dry cleaning
Cellulase	*Aspergillus* sp. *Trichoderma* sp.	Liquid-coffee concentration, digestive aid, increase digestibility of animal feed, degradation of wood or wood by product
Lipase	*Rhizopus* sp.	Digestive aid, to develop flavors in cheese and milk products
Pectinase	*Aspergillus* sp. *Sclerotina* sp.	Clarifies wine, vinegar, syrups and fruit juices by degrading pectin, a gelatinous substance ; used in concentrating coffee
Catalase	*Micrococcus* sp. *Aspergillus* sp.	To prevent oxidation of foods ; used in cheese production, cake baking, irradiated foods
Rennet	*Mucor* sp.	To curdle milk in cheese making

ที่มา : Talaro and Talaro, 1996.

(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) เป็นสารที่เกิดจากการเปลี่ยนแปลงของสารตัวกลางหรือผลผลิตที่ได้จากกระบวนการผลิตสารเมแทบอไลท์ปฐมภูมิ ซึ่งจะพบอยู่ในช่วงการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในช่วง stationary phase สารเมแทบอไลท์เหล่านี้มีความสำคัญในเชิงอุตสาหกรรมการหมักมากเนื่องจากมีผลต่อจุลินทรีย์ เช่น ยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ชนิดอื่นได้ ยับยั้การทำงานของเอนไซม์บางชนิด 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 การหมักกรดซิตริกและกรดอะซิตริก

(2) Anaerobic fermentation เป็นการหมักที่ไม่ต้องการออกซิเจน เช่น การหมักอะซิโตน และบิวทานอล

หรือการหมักถ้าแบ่งตามลักษณะหรือปริมาณน้ำในอาหารเลี้ยงเชื้อได้เป็น 2 ชนิด คือ

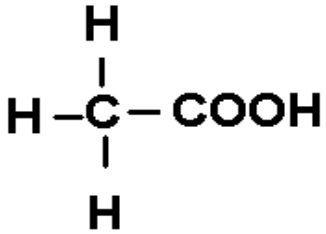
(1) Solid state fermentation เป็นการหมักบนอาหารแข็ง ซึ่งมีการเติมน้ำเล็กน้อย เพียงเพื่อให้เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ เช่น การหมักกรดซิตริกโดยใช้เชื้อรา

(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) มีสุตรเคมีคือ CH_3COOH และมีสูตรโครงสร้างเป็น



กรดอะซิติก

Acetic Acid

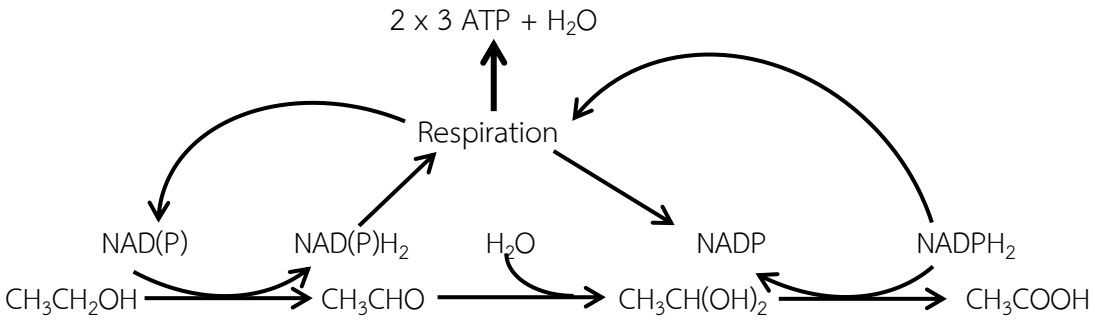
ภาพที่ 2.2 สูตรโครงสร้างของกรดอะซิตริก (Acetic acid)
ที่มา : นิธิยา, 2545

กรดอะซิตริกเป็นกรดอินทรีย์ที่เป็นส่วนประกอบสำคัญของน้ำส้มสายชู มีลักษณะเป็นของเหลว ใส ไม่มีสีและสิ่งเจือปน 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 2.3



ภาพที่ 2.3 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. ซึ่งสามารถเจริญเติบโตในเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์และสามารถเปลี่ยนแอลกอฮอล์ในไวน์

ให้เป็นกรดน้ำส้มสายชูหรือกรดอะซิตริกในสภาพที่มีออกซิเจนซึ่งจะทำให้ไวน์มีรสชาติเปรี้ยว 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 การหมักน้ำตาล ให้เกิดแอลกอฮอล์ (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 กรดน้ำส้มที่นำมาเจือจางจะต้องมีความบริสุทธิ์สูงเหมาะสมที่จะนำมาเป็นอาหารได้ และน้ำที่ใช้เจือจางต้องเหมาะสมที่จะใช้ดื่มได้

ตารางที่ 2.3 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 1

ตารางที่ 2.4 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

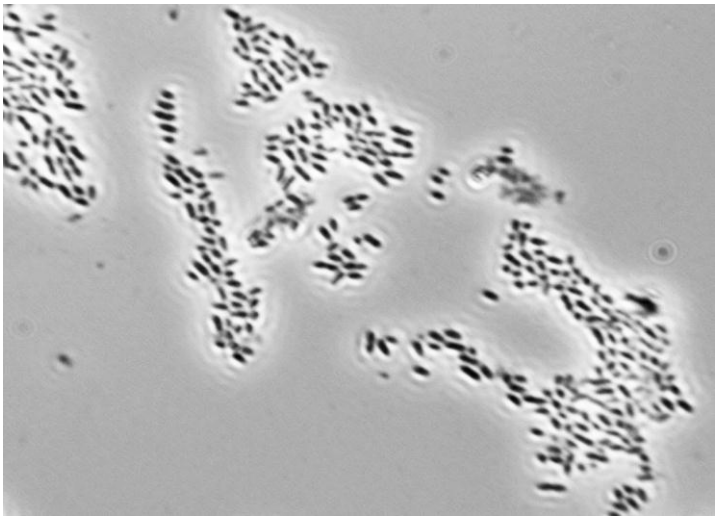
ภาพที่ 2.4 สัณฐานวิทยาของเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*
ที่มา : Vinegar Connoisseurs International, 2003

ข. *Gluconobacter oxydans*

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 2.5 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 เปลี่ยนเป็นเอทธิลแอลกอฮอล์ และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยอาศัยการทำงานของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ในระบบหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน ดังสมการ

$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{ยีสต์}} 2C_2H_5OH + 2CO_2$

น้ำตาล — เอทธิลแอลกอฮอล์ — คาร์บอนไดออกไซด์

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

$C_2H_5OH \xrightarrow{\text{แบคทีเรีย (}\textit{Acetobacter}\text{)}} CH_3COOH + H_3O$

เอทธิลแอลกอฮอล์ — กรดน้ำส้มสายชู — น้ำ

การเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้จำเป็นต้องการออกซิเจนจำนวนมากเพื่อที่จะนำไปใช้ในการออกซิไดซ์เอทธิลแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิตริกหรือกรดน้ำส้มโดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในสภาวะการหมักแบบใช้ออกซิเจน จึงจำเป็นต้องหมักในภาชนะปากกว้างเพื่อให้มีพื้นที่สัมผัสกับอากาศให้มากหรืออาจจะมีการกวนบ่อย ๆ เพื่อให้อากาศผ่านเข้าไปในถังหมัก อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักนั้นขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ และกรรมวิธีการผลิตโดยทั่ว ๆ ไปใช้อุณหภูมิประมาณ 26 – 29 องศาเซลเซียส

2.3.9 กรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชู

การผลิตน้ำส้มสายชูถ้าแบ่งตามกรรมวิธีการผลิตสามารถแบ่งได้เป็น 3 วิธี คือ

(1) วิธีการหมักน้ำส้มสายชูอย่างช้า เป็นวิธีการหมักตามธรรมชาติที่มีการนำน้ำผลไม้ที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลอยู่พอสมควร แล้วปล่อยให้เกิดกระบวนการหมักโดยเชื้อยีสต์ที่ปะปนมากับผลไม้ หรือ

อาจจะใช้เชื้อยีสต์บริสุทธิ์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลในวัตถุดิบเป็นแอลกอฮอล์ จากนั้นเชื้อน้ำส้มสายชูที่มีอยู่ตามธรรมชาติจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดน้ำส้มอีกทีหนึ่ง ชีววิธีนี้จะต้องใช้เวลาในการหมักเป็นเวลานานประมาณ 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

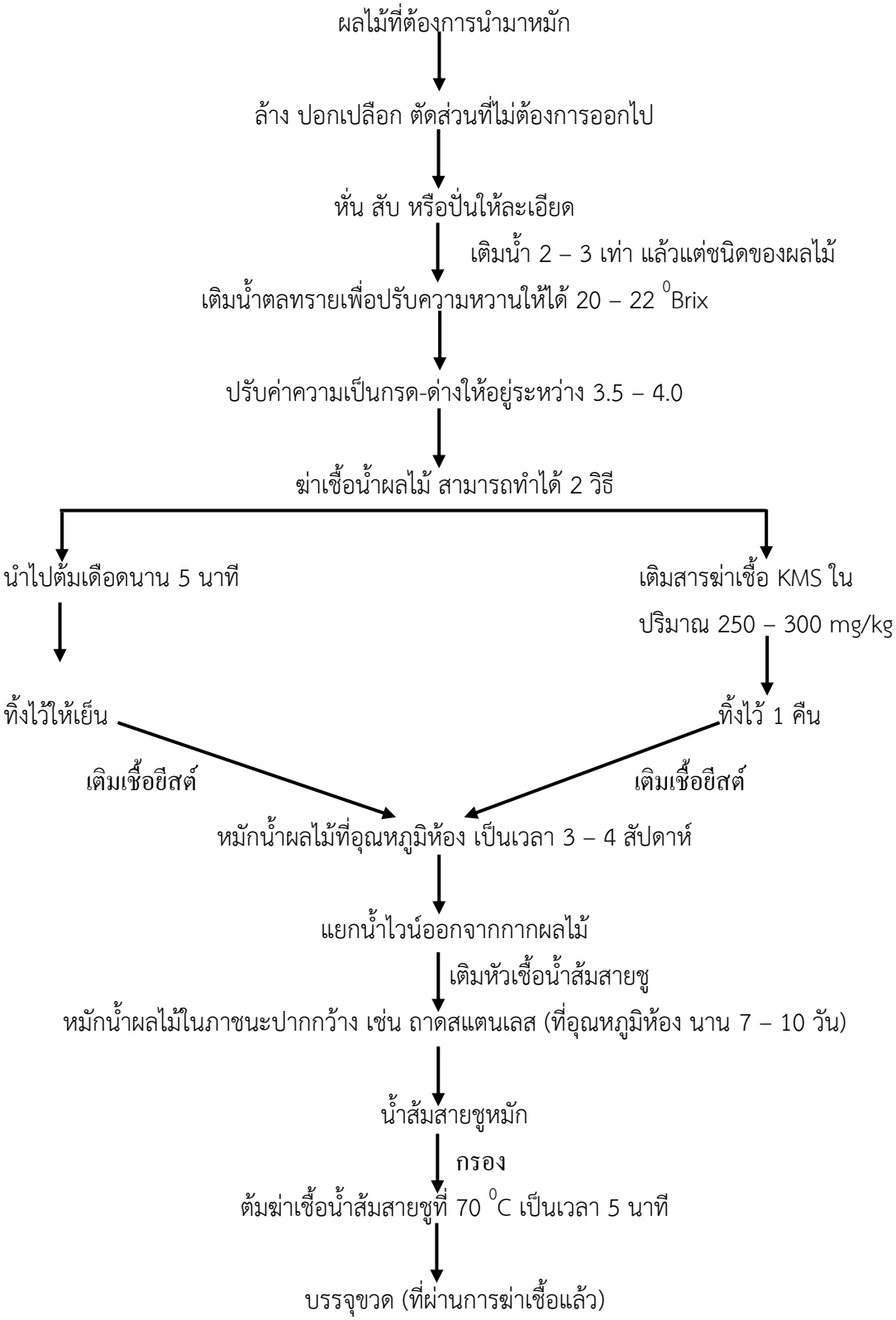
(3) การหมักโดยใช้เครื่องที่เรียกว่า Acetator การหมักวิธีนี้เป็นการจัดระบบการหมักในถังหมักทรงสูง มีลักษณะเป็นถังปิด และมีการให้อากาศเข้าสู่น้ำหมักได้อย่างเพียงพอในสภาพที่เป็นฟองละเอียด ทำให้แบคทีเรียสามารถกระจายตัวอยู่ในน้ำหมักได้อย่างทั่วถึง และสามารถใช้สารอาหารกับแอลกอฮอล์ และออกซิเจนที่ละลายอยู่ในน้ำหมักเพื่อการเจริญเติบโตและทำให้การผลิตกรดอะซิตริกมีปริมาณเพิ่มขึ้น 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 เพื่อปรับความเข้มข้นของอาหารที่ใช้เลี้ยงให้คงที่และมีสภาวะที่เหมาะสมต่อกระบวนการหมัก 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 2.6 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

ที่มา : มาลัย และพิสมัย, 2555

2.3.10 ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับการผลิตน้ำส้มสายชู (ศุภาวิชญ์ฐา ,2551)

(1) 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)

(2) ความเป็นกรดด่าง

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

(3) 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)

(4) 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

(5) ผลของแอลกอฮอล์

แบคทีเรีย *Acetobacter* sp. จะถูกทำลายเมื่อกระบวนการหมักเกิดขึ้นอย่างสมบูรณ์จนกระทั่งปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักเปลี่ยนไปจนหมด และมีการเติมแอลกอฮอล์ที่เป็นองค์ประกอบในอาหารเลี้ยง

เชื้อลงในน้ำหมักช้าเกินไปจึงมีผลต่อการทำลายเซลล์ *Acetobacter* sp. โดยเกี่ยวข้องกับความเข้มข้นของกรดอะซิตริกและแอลกอฮอล์ทั้งหมดที่มีในน้ำน้ำหมัก และระยะเวลาที่ขาดแอลกอฮอล์โดยมีผลเหมือนกับการขาดออกซิเจน

2.3.11 ประโยชน์ของน้ำส้มสายชู

(1) ใช้ในการปรุงรสอาหาร เพื่อเพิ่มรสชาติ แต่ปัจจุบันนี้ นิยมนำน้ำส้มสายชูหมักมาชงเป็นเครื่องดื่มสำหรับบริโภค โดยผสมน้ำผึ้งและน้ำอุ่น เนื่องด้วยน้ำส้มสายชูหมักมีประโยชน์ต่อสุขภาพช่วยให้ระบบต่างๆ ในร่างกายดีขึ้น แล้วยังช่วยให้กระปรี้กระเปร่า ทำให้ระบบย่อยอาหารดี ทำลายเชื้อแบคทีเรีย รา ไวรัสในร่างกายลดความดันโลหิต 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 2.5 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 2.6 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 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) ได้ศึกษาความเป็นไปได้ในการผลิตน้าส้มสายชูจากมันแกวโดยใช้เชื้อยีสต์ *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 เปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติก ผลการทดลองพบว่า หลังจากหมักเป็นเวลา 8 วัน ปริมาณกรดอะซิติกสูงสุดที่ 5.8 กรัมต่อลิตร โดยการใช้ปริมาณหัวเชื้อยีสต์เริ่มต้นที่ 10 %

มาลัย บุญรัตนกรกิจ และคณะ. (2549). ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกและแกนสับปะรด พบว่าเปลือกและแกนสับปะรดซึ่งเป็นวัสดุเหลือใช้จากโรงงานอาหารกระป๋อง ถูกนำมาหมักให้เป็นไวน์ โดยการปรับความหวานให้มีความเข้มข้นของน้ำตาล 20 $^{\circ}$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

พัชรี ลิมปิษเฐียร (ม.ป.ป.) ศึกษาพัฒนาผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชู เพื่อสุขภาพจากมังคุด ด้วยการหมักเนื้อมังคุดด้วยเชื้อ Gluconobacter oxydans ซึ่งเป็นเชื้อหมักเร็วในระดับอุตสาหกรรม ภายใต้การควบคุม

อุณหภูมิ จะได้ปริมาณกรดน้ำส้มอยู่ระหว่าง 4-5 % ตามมาตรฐานน้ำส้มสายชู ภายในเวลา 7 วัน คุณภาพน้ำส้มสายชูที่ได้มีสีตามธรรมชาติ มีกลิ่นหอมของกรดน้ำส้ม และมีปริมาณตามมาตรฐานน้ำส้มสายชู และมีกลิ่นของมังคุด ที่ใช้หมักอยู่ด้วย ใส ไม่มีหนอนน้ำส้ม สิ่งสกปรก หรือสิ่งเจือปนอันใด ไม่มีตะกอนจากตะกอนที่เกิดโดยธรรมชาติของน้ำส้มสายชูหมัก ผลิตภัณฑ์ น้ำส้มสายชูมังคุดเพื่อสุขภาพ อุดมด้วยโพแทสเซียม 97.8 มิลลิกรัม แคลเซียม 3.3 มิลลิกรัม แมกนีเซียม 13.7 ต่อ 100 กรัม และปริมาณกรดน้ำส้ม 4.68%

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) ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์ที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้ในท้องถิ่นจำนวน 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 และเมื่อนำมาเปรียบเทียบกับปริมาณกรดอะซิตริกและปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำส้มสายชูที่วางขายในท้องตลาดและมาตรฐานตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู พบว่าน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักน้ำผลไม้ทั้ง 3 ชนิดจะมีปริมาณกรดอะซิตริกและปริมาณของแอลกอฮอล์ไม่ตรงตามที่มาตรฐานกำหนด คือ มีค่าต่ำกว่ามาตรฐาน

ศุภาวิชญ์ฐา สุวรรณแพทย์. (2551) ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักแบบต่อเนื่องoไวน์สับปะรดโดยทำการคัดเลือกเชื้อ *Acetobacter aceti* 5 สายพันธุ์ ดังนี้ *A. aceti* TISTR 522, 086, 107,102 และ IFRPD โดยเพาะเลี้ยงเชื้อในอาหารสังเคราะห์ Hoyer พบว่า *A. aceti* IRFPD และ TISTR 102 กับ *A. aceti* IFRPD ในอัตราส่วน 1 : 1 ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์ 8% ค่า pH เริ่มต้นของไวน์สับปะรด 5.5 ที่อุณหภูมิ

30 องศาเซลเซียสสามารถผลิตกรดอะซิตริกได้สูงสุดเท่ากับ 42.37 กรัมต่อลิตร โดยมีอัตราการผลิตกรดอะซิตริกเชิงปริมาตรที่ได้ คือ 0.80 กรัมต่อลิตร ชั่วโมง และการผลิตกรดอะซิตริกในถังหมักระดับห้องปฏิบัติการ ภายใต้สภาวะที่เหมาะสม เมื่อพิจารณาจากอัตราการผลิตกรดอะซิตริกในเชิงปริมาณสามารถผลิตกรดอะซิตริกได้สูงสุดเท่ากับ 48.08 กรัมต่อลิตร โดยมีอัตราการผลิตกรดอะซิตริกเชิงปริมาณเท่ากับ 0.60 กรัมต่อลิตร ชั่วโมง

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% และฟรุกโตส

ไซรัป 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

บทที่ 3
วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 สารเคมี และวัตถุดิบ

3.1.1 สับปะรด พันธุ์ห้วยมุ่น

3.1.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide ; NaOH)

3.1.3 ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphthalein)

3.1.4 โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium metabisulfite (KMS))

3.1.5 สารละลายเปปโตน (Peptone)

3.1.6 20% เมตาฟอสฟอริกแอซิด (20% Metaphosphoric acid)

3.1.7 อะซิโตน (Acetone)

3.1.8 สารละลายอินโดฟีนอล (Indophenol dye)

3.1.9 สารละลายมาตรฐานของวิตามินซี (Ascorbic acid)

3.1.10 น้ำตาลทราย (Sucrose)

3.1.11 น้ำผึ้ง (Fructose syrup)

3.1.12 กลูโคสไซรัป (Glucose syrup)

3.1.13 น้ำกลั่น

3.2 วัสดุ และอุปกรณ์

3.2.1 เครื่องชั่งแบบละเอียด 4 ตำแหน่ง

3.2.2 เครื่องวัดแอลกอฮอล์ (Hand alcohol meter)

3.2.3 เครื่องวัดของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Hand refractometer)

3.2.4 เครื่องวัดความเป็นกรด – ด่าง (pH meter)

3.2.5 เครื่องปั่น (Blender)

3.2.6 ถังพลาสติกที่มีฝาปิด

3.2.7 เทอร์โมมิเตอร์ (Thermometer)

3.2.8 ปิเปตขนาด 10 มิลลิลิตร พร้อมจุกยาง

3.2.9 บิวเรต พร้อมขาตั้ง

3.2.10 ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask) ขนาด 100 มิลลิลิตร

3.2.11 บีกเกอร์ (Beaker)

3.2.12 จานเพาะเชื้อ (Petridish)

3.2.13 ไมโครปิเปต (Micropipette)

3.2.14 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.15 เครื่องนับจำนวนโคโลนี

3.2.16 ตู้ถ่ายเชื้อ (Laminar air-flow cabinet)

3.2.17 หม้อนึ่งฆ่าเชื้อโรค (Autoclave)

3.3 อาหารเลี้ยงเชื้อจุลินทริย์

3.3.1. สูตรอาหาร Potato dextrose agar (PDA)

3.3.2. สูตรอาหาร Plate count agar (PCA)

3.4 วิธีการทดลอง

ในการทดลองสกัดเพคตินจากกะหล่ำปลีจากภูทับเบิก อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์ ในการศึกษาครั้งนี้จะดำเนินการวิจัยเป็น 6 ขั้นตอน คือ

ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

ตอนที่ 2 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

(1) กระบวนการหมักแอลกอฮอล์

(2) กระบวนการหมักกรดอะซิตริก

ตอนที่ 3 การผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และทางจุลชีววิทยาของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม

ตอนที่ 5 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

ตอนที่ 6 การวิเคราะห์ข้อมูล

ตอนที่ 1 การเตรียมตัวอย่าง

นำเปลือกสับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่นที่มีอายุในการเก็บเกี่ยวภายใน 8-12 เดือน มาทำความสะอาดโดยการล้างด้วยน้ำเปล่าให้สะอาด ตัดส่วนที่มีตำหนิทิ้งไป นำไปสับแบบหยาบๆ เพื่อให้ง่ายต่อการนำไปปั่น นำไปปั่นให้ละเอียดโดยใช้อัตราส่วนระหว่างน้ำ : เปลือกสับปะรด ในอัตรา 1 : 1 กรองแล้วเก็บสารละลายส่วนใสเพื่อนำไปใช้ในกระบวนการหมักต่อไป

ตอนที่ 2 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

1. กระบวนการหมักแอลกอฮอล์

เมื่อนำเปลือกสับปะรดมาทำความสะอาดแล้ว นำไปปั่นเพื่อแยกกากแล้วกรองเอาน้ำ จากนั้นเพิ่มปริมาณน้ำให้เพิ่มเท่าตัว ตรวจปริมาณน้ำตาลปรับความหวานให้ได้ 20 % และตรวจ/ปรับค่า pH ให้ได้ 4.5 จากนั้นเติม KMS ปิดภาชนะหมักด้วยจุกสำลีทิ้งไว้ 1 คืน เติมเชื้อยีสต์หรือสตาร์ทเตอร์อายุ 2 วัน ปริมาณ

10% อุดจุกสำลี นำไปหมักที่อุณหภูมิห้อง กรองน้ำผลไม้ที่หมักที่ได้ ใส่ภาชนะใหม่ หยุดการหมักด้วยการเติม KMS ได้ผลิตภัณฑ์เป็นไวน์ นำไปบรรจุขวด (ดัดแปลงจาก แสงไทย เค้าภูไทย, 2545)

2. กระบวนการหมักกรดอะซิตริก

(1) นำไวน์ที่ได้จากขั้นตอนการหมักแอลกอฮอล์มาหมักให้เป็นกรดอะซิติก โดยทำการเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้น

(2) การเตรียมหัวเชื้อชนิดที่ 1 เชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ในปริมาณความเข้มข้น 10 % ใส่ในน้ำเปลือกสับปะรดปริมาณ 350 มิลลิลิตร บ่ม 48 ชม.

(3) การเตรียมหัวเชื้อชนิดที่ 2 เชื้อ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 ในปริมาณความเข้มข้น 10 % ใส่ในน้ำเปลือกสับปะรดปริมาณ 350 มิลลิลิตร บ่ม 48 ชม.

(4) นำหัวเชื้อเชื้อชนิดที่ 1 ที่ความเข้มข้น 10% ปริมาณ 350 มิลลิลิตร น้ำเปลือกสับปะรด ปริมาณ 350 มิลลิลิตร และไวน์เปลือกสับปะรด ปริมาณ 300 มิลลิลิตร ลงในถาดสแตนเลส

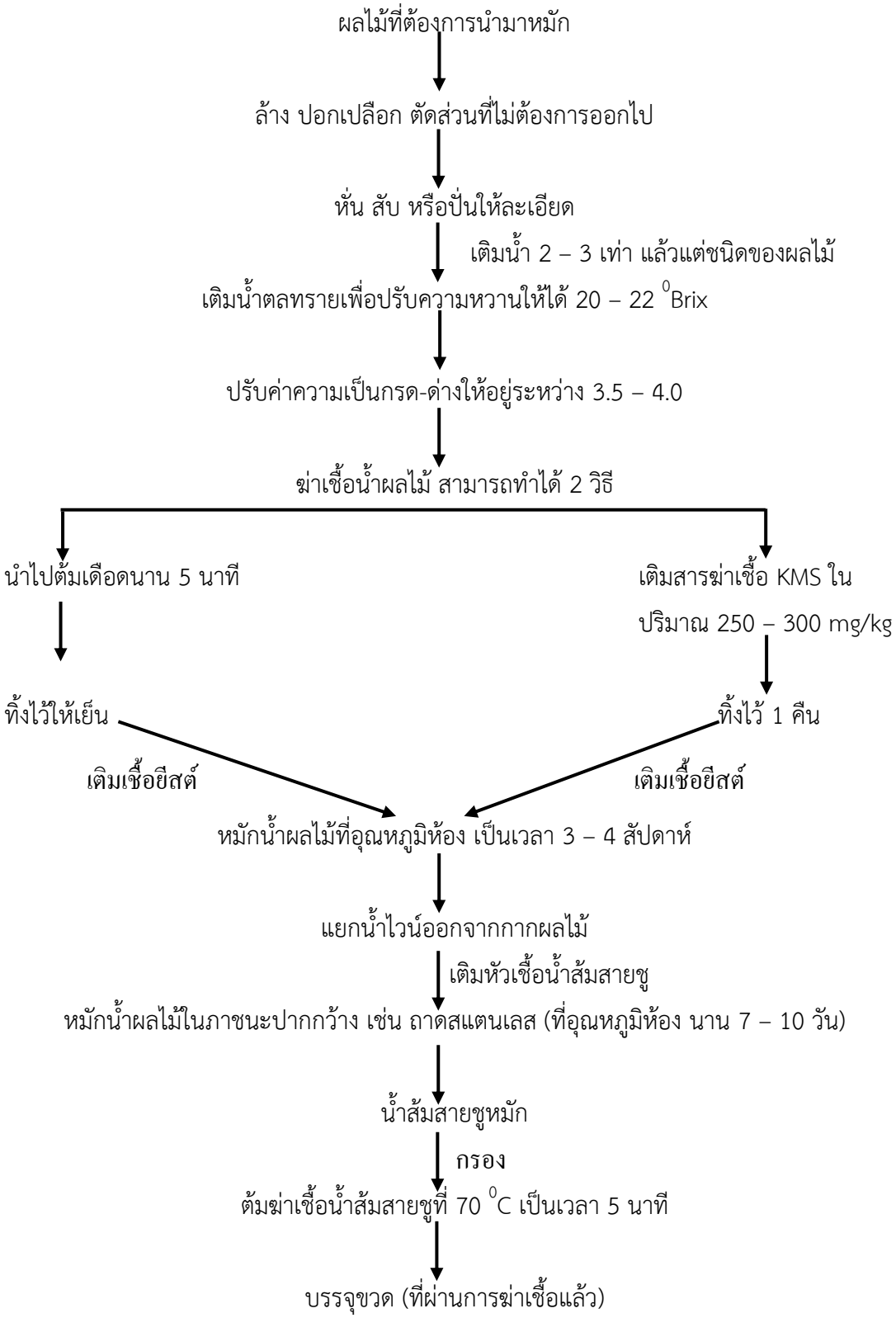
(5) คลุมด้วยถุงพลาสติกเจาะรู (หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 - 4 วัน) ได้หัวน้ำส้มสายชูหมัก

(6) จากนั้นนำหัวน้ำส้มสายชูหมักปริมาตร 1 ลิตร จากข้อ 6 มาเทรวมกับไวน์จากเปลือกสับปะรด ปริมาณ 1 ลิตร ลงในถาดสแตนเลส

(7) คลุมด้วยถุงพลาสติกเจาะรู (หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 7 วัน) ได้น้ำส้มสายชูหมัก

(8) นำมากรองและต้มฆ่าเชื้อที่ 70 °C นาน 5 นาที นำบรรจุขวดที่ผ่านการฆ่าเชื้อ

(9) นำหัวเชื้อเชื้อชนิดที่ 2 ที่ความเข้มข้น 10% ดำเนินวิธีขั้นตอนเช่นเดียวกับหัวเชื่อชนิดที่ 1 ตั้งแต่ข้อ 3 – 6 (ดัดแปลงจาก มาลัย เมืองน้อยและพิสมัย ศรีชาเยช, 2555)



ภาพที่ 3.1 กระบวนการผลิตน้ำส้มสายชู

ที่มา : มาลัย และพิสมัย, 2555

ตอนที่ 3 การผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม

จากการวิจัยได้ทำการศึกษาสูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่นที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 ในสภาวะที่เหมาะสม โดยทำการใช้สารให้ความหวาน (Sweetener) ในการผลิตน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย (Sucrose) น้ำผึ้ง (Fructose syrup) และกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) ที่ความเข้มข้น 3 % จากนั้นนำไปทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสต่อไป สูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มแสดงดังตารางที่ 3.1

ตารางที่ 3.1 สูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากกระบวนการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 (A) และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 (G)

Treatment	Acetic acid bacteria (10%)	Sweetener (3%)
1	*Acetobacter aceti* TISTR 102 (A)	Sucrose (S_1)
2		Fructose syrup (S_2)
3		Glucose syrup (S_3)
4	*Gluconobacter oxydans* TISTR 402 (G)	Sucrose (S_1)
5		Fructose syrup (S_2)
6		Glucose syrup (S_3)

หมายเหตุ : A = *Acetobacter aceti* TISTR 102 , G = *Gluconobacter oxydans* TISTR 402

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

ตอนที่ 4 การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เคมี และทางจุลชีววิทยาของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* และ *Gluconobacter oxydans* ในระดับความเข้มข้น 10 %

ก. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)

การวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ เป็นการทดสอบลักษณะของสี โดยการนำตัวอย่างการทดลองมาเทลงในแก้วใสโดยมีกระดาษสีขาวเป็นฉากหลัง ตรวจสอบโดยการสังเกตสีของผลิตภัณฑ์ การทดสอบลักษณะของกลิ่น โดยการนำตัวอย่างการทดลองมาเทลงในแก้วใส โดยทดสอบด้วยการดม การทดสอบลักษณะของทั่วไปโดยการนำตัวอย่างการทดลองมาเทลงในแก้วใสแล้ววางทิ้งไว้ 10 นาที หลังจากนั้นตรวจสอบลักษณะที่ได้ว่ามีสารตกตะกอนหรือปนเปื้อนหรือไม่

ข. การวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

1. การวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิติก (%)

1.1. ปิเปตน้ำส้มสายชูที่เจือจางแล้ว 20 ml ลงใน erlenmeyer flask จำนวน 3 flask

1.2 เติมน้ำกลั่น flask ละ 10 ml

1.3 เติมฟีนอล์ฟทาลีน flask ละ 5 หยด

1.4 ไทเทรตด้วยสารละลาย NaOH จากบิวเรต จนกระทั่งได้สารละลายสีชมพูอ่อนๆ คงที่ภายในเวลา 20 วินาทีเป็นจุดยุติของการไทเทรต

1.5 บันทึกปริมาตรของสารละลาย NaOH

1.6 ในทำนองเดียวกันเตรียม blank แต่ไม่ใส่น้ำสมสายชู

2. การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ (Alcohol content)

การตรวจวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (Hand alcohol refractometer) วิธีการวัดค่าทำได้โดยการหยด สารละลายที่ต้องการทราบค่า บนแผ่นปริซึม ปิดด้วยแผ่นปิด แล้วส่องมองผ่านช่อง ในที่มีแสง จะมองเห็นเป็นแถบสี ที่อ่านค่าตัวเลขได้ ตามเสกลที่เครื่องกำหนดไว้ ปริมาณแอลกอฮอล์ในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (alcoholic beverage) มีหน่วยเป็น Alcohol by Volume หรือ % ABV แล้วทำการบันทึกผล

3. การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solid)

การตรวจวิเคราะห์ของแข็งที่ละลายได้ (Total Soluble solid) โดยใช้เครื่อง Hand Refractometer วิธีการวัดค่าทำได้โดยการหยด สารละลายที่ต้องการทราบค่า บนแผ่นปริซึม ปิดด้วยแผ่นปิด แล้วส่องมองผ่านช่อง ในที่มีแสง จะมองเห็นเป็นแถบสี ที่อ่านค่าตัวเลขได้ ตามเสกล ที่เครื่องกำหนดไว้ ที่วัดได้ มีหน่วยเป็น °Brix แล้วทำการบันทึกผล

4. การวิเคราะห์ปริมาณความเป็นกรด-ด่าง (pH)

การวิเคราะห์หาปริมาณความเป็นกรด-ด่าง โดยการใช้งานจะต้องปรับเทียบมาตรฐานก่อนการใช้ โดยการปรับเทียบกับสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน (pH 4 ,7 หรือ 10) อย่างน้อย 2 ค่า ที่มีค่าครอบคลุมในช่วงที่เราต้องการวัด วิธีการวัดทำได้โดยล้างอิเล็กโทรดด้วยน้ำปราศจากไอออน (deionized water) หรือน้ำกลั่น (distilled water) และซับด้วยกระดาษทิชชู แล้วรีบจุ่มอิเล็กโทรดลงในสารละลายที่ต้องการวัดอย่างรวดเร็ว จากนั้นรอให้ค่า pH แสดงเป็นตัวเลขขึ้นบนหน้าจอเครื่อง ทำการบันทึกผล

5. การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม (Vitamin C content)

การวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร โดยนำน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มมาทำการไตเตรทกับสารละลาย indophenol dye จนกระทั่งถึงจุดยุติที่มีการเปลี่ยนแปลงสีของสารละลายเป็นสีชมพูจาง ๆ ประมาณ 15 วินาที จดปริมาตรของสารละลายที่ถูกใช้ไป แล้วนำมาเปรียบเทียบกับปริมาตรของสารละลาย indophenol dye ที่ไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานของวิตามินซี แล้วนำมาคำนวณหาปริมาณวิตามินซีที่มีอยู่ในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูพร้อมดื่มในแต่ละสูตร จำนวน 3 ซ้ำ

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

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

ตอนที่ 5 การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evaluation)

จากการศึกษาสูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 จำนวน 6 สูตร นำมาทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคทางด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมจากผู้เข้าร่วมทดสอบจำนวน 30 คน ในการทดสอบชิมผลิตภัณฑ์แบบ 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

ตอนที่ 6 การวิเคราะห์ข้อมูล (Data Analysis)

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

3.5 ระยะเวลา และสถานที่ทำการวิจัย

3.5.1 ระยะเวลาในการทำวิจัย คือ 7 เดือน ตั้งแต่เดือนมีนาคม 2556 ถึงกันยายน 2557

3.5.2 สถานที่ทำการทดลองและเก็บข้อมูลสำหรับการทดลองนี้ คือ ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา อาคารสิรินธร คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

บทที่ 4
ผลการวิจัยและวิจารณ์

จากการศึกษาการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 โดยเปรียบเทียบสารที่ให้ความหวานจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย (Sucrose) 3% , น้ำผึ้ง (Fructose syrup) 3% และกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) 3% นำมาเป็นส่วนผสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ทั้งหมด 6 สูตร ดังนี้

ตารางที่ 4.1 สูตรน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร

สูตรที่	
1	*Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3% (AS_1)
2	*Acetobacter aceti* TISTR 102 + Fructose syrup 3% (AS_2)
3	*Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3% (AS_3)
4	*Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3% (GS_1)
5	*Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Fructose syrup 3% (GS_2)
6	*Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3% (GS_3)

นอกจากนี้ได้นำมาวิเคราะห์คุณค่าทางโภชนาการและคุณภาพของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตรทั้งทางด้านกายภาพ เคมี ชีวภาพ และการทดสอบทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค ดังต่อไปนี้

4.1 ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)

จากการศึกษาน้ำส้มสายชูหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 ที่ระดับความเข้มข้น 10% เป็นเวลา 12 วัน และได้นำมาผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร ที่เปรียบเทียบชนิดของสารให้ความหวานในการปรุงแต่งรสชาติจากนั้นก็นำมาตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพด้านสี กลิ่น รสชาติ และลักษณะทั่วไปของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มโดยการสังเกตด้วยตา ได้ผลดังตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402

สูตร	ลักษณะทางกายภาพ			
	สี	กลิ่น	รสชาติ	ลักษณะทั่วไป
AS_1	มีสีเหลืองอ่อน ๆ	มีกลิ่นหมักอ่อน ๆ	รสชาติเปรี้ยวอ่อนๆ	เป็นของเหลวใส ไม่มีตะกอน
AS_2	มีสีเหลือง	มีกลิ่นหอมของน้ำผึ้ง	หวานอมเปรี้ยว	เป็นของเหลวใส และตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้
AS_3	มีสีเหลืองขุ่น	ไม่มีกลิ่น	เปรี้ยว	เป็นของเหลวขุ่น และตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้
GS_1	มีสีเหลือง	มีกลิ่นหมักอ่อน ๆ	มีความหวานมาก	เป็นของเหลวใส ไม่มีตะกอน
GS_2	มีสีเหลืองเข้ม	มีกลิ่นหอมของน้ำผึ้งอ่อน ๆ	หวานอมเปรี้ยวพอดี	เป็นของเหลวใส และตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้
GS_3	มีสีเหลืองเข้ม	ไม่มีกลิ่น	เปรี้ยวอ่อน	เป็นของเหลวใส และตกตะกอนเมื่อวางทิ้งไว้

หมายเหตุ : AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

GS_2 = *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพทางด้านสีกลิ่น รสชาติ และลักษณะทั่วไปของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 และเปรียบเทียบสารให้ความหวานทั้ง 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย 3% , น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรัป 3% พบว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตรที่ดัดแปลงมาจากน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรมาตรฐานมีสีเหลือง และรสชาติเปรี้ยวอมหวาน น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ที่ผสมกับกลูโคสไซรัป 3% จะได้ของเหลวสีเหลืองขุ่น และเมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดการตกตะกอน ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 ที่ผสมกับน้ำตาลทราย 3% จะได้ของเหลวที่มีสี

เหลืองใส ไม่มีตะกอน สำหรับน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อทั้ง 2 ชนิด และมีส่วนประกอบของน้ำผึ้ง 3% จะมีกลิ่นหอมของน้ำผึ้งอ่อน ๆ และมีรสชาติเปรี้ยวอมหวานซึ่งเป็นสูตรที่มีรสชาติกลมกล่อมมากที่สุด น้ำส้มสายชู (Vinegar) จัดเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ได้จากกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว จะได้กรดน้ำส้มหรือกรดอะซิตริก (acetic acid) ที่มีลักษณะเป็นสารละลายใส มีสีหรือไม่มีสีขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต (ปราณี นิมิบุตร,2552) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย นอกจากจะใช้ในการปรุงแต่งรสชาติอาหารแล้ว ยังช่วยในระบบการย่อย การดูดซึมอาหารของร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย (ดุษณี ธนะบริพัฒน์, 2546)

4.2 ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

จากการศึกษาการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 เมื่อสิ้นสุดขั้นตอนการหมักกรดอะซิตริกแล้ว นำน้ำส้มสายชูหมักมาผลิตเป็นเครื่องดื่มพร้อมบริโภคโดยมีส่วนผสมของสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย (Sucrose) 3% , น้ำผึ้ง (Fructose syrup) 3% และกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) 3% มาทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร เพื่อให้ได้คุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน ซึ่งทำการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีต่าง ๆ ดังนี้ ปริมาณกรดอะซิตริก (%) ปริมาณแอลกอฮอล์ (^{O}Brix) ค่า pH ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (^{O}Brix) และปริมาณวิตามินซี (mg/100 ml) ซึ่งคุณสมบัติของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิดจะมีคุณภาพแตกต่างกัน ดังแสดงในตารางที่ 4.3

ตารางที่ 4.3 ผลการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร

Microbial	Sweetener	Formula	Acetic acid (%)	pH	Vitamin C (mg/100 ml)	TSS (^{0}Brix)	Alcohol (^{0}Brix)
Acetobacter aceti TISTR 102	Sucrose 3%	AS_1	6.16±0.39^{b}	3.57±0.06^{b}	30.50±0.50^{c}	3.60±0.20^{b}	3.23±0.06^{b}
	Fructose 3%	AS_2	5.28±0.36^{d}	3.80±0.00^{a}	37.00±0.50^{a}	3.80±0.20^{a}	3.43±0.12^{a}
	Glucose syrup 3%	AS_3	5.60±0.07^{c}	3.53±0.06^{bc}	30.58±0.38^{c}	3.50±0.10^{c}	3.23±0.06^{b}
Gluconobacter oxydans TISTR 402	Sucrose 3%	GS_1	6.52±0.48^{a}	3.43±0.15^{d}	29.25±0.66^{e}	3.80±0.00^{a}	3.00±0.20^{c}
	Fructose 3%	GS_2	6.68±0.07^{a}	3.27±0.06^{e}	33.25±0.25^{b}	3.80±0.10^{a}	2.67±0.29^{d}
	Glucose syrup 3%	GS_3	5.60±0.25^{c}	3.53±0.06^{bc}	30.17±0.76^{d}	3.40±0.00^{d}	3.27±0.12^{b}

หมายเหตุ* $^{a-h}$ ตัวอักษรที่กำกับที่แตกต่างกันตามแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

^{ns} ตัวอักษรที่กำกับที่แตกต่างกันตามแนวตั้งเดียวกันแสดงถึงความแตกต่างกันอย่างไม่มีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$)

AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

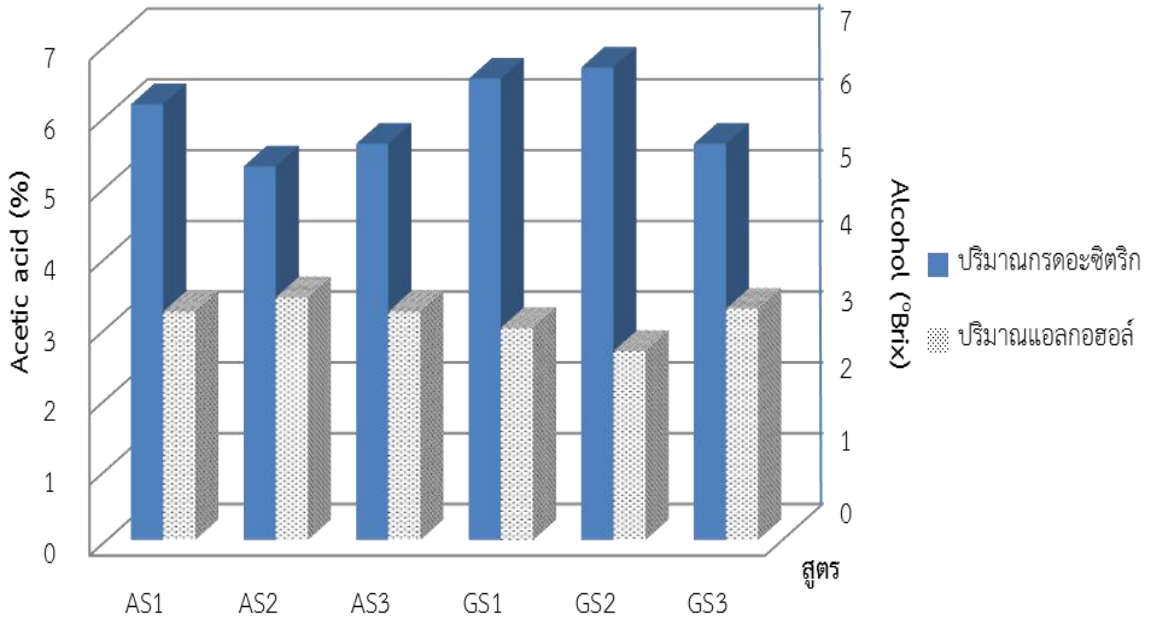
GS_2= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากตารางที่ 4.3 เป็นผลจากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด และมีการปรับแต่งกลิ่น และรสชาติของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด จะได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักที่มีปริมาณกรดอะซิตริกสูงสุด คือ น้ำส้มสายชูที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 และปรับแต่งรสชาติด้วยน้ำตาลทราย 3% มีปริมาณกรดอะซิตริก ร้อยละ 6.52 สำหรับค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณวิตามินซี ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณแอลกอฮอล์จะมีปริมาณสูงสุดในน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 2 ที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ที่มีการปรับแต่งรสชาติด้วย Frucrose 3% มีค่าเท่ากับ 3.80 , 37.0 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร , 3.80 องศาบริกซ์ และ 3.23 องศาบริกซ์ ตามลำดับ

4.2.1 ผลการวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิตริกกับปริมาณแอลกอฮอล์

จากการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มด้วยเชื้อแบคทีเรียอะซิตริก 2 สายพันธุ์นำมาปรับแต่งกลิ่นและรสชาติด้วยสารให้ความหวาน จะได้น้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม 6 สูตร จากนั้นนำมาวิเคราะห์หาปริมาณกรดอะซิตริกกับปริมาณแอลกอฮอล์ ได้ผลดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดอะซิตริก และปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำส้มสายชูหมัก

หมายเหตุ : AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

GS_2= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

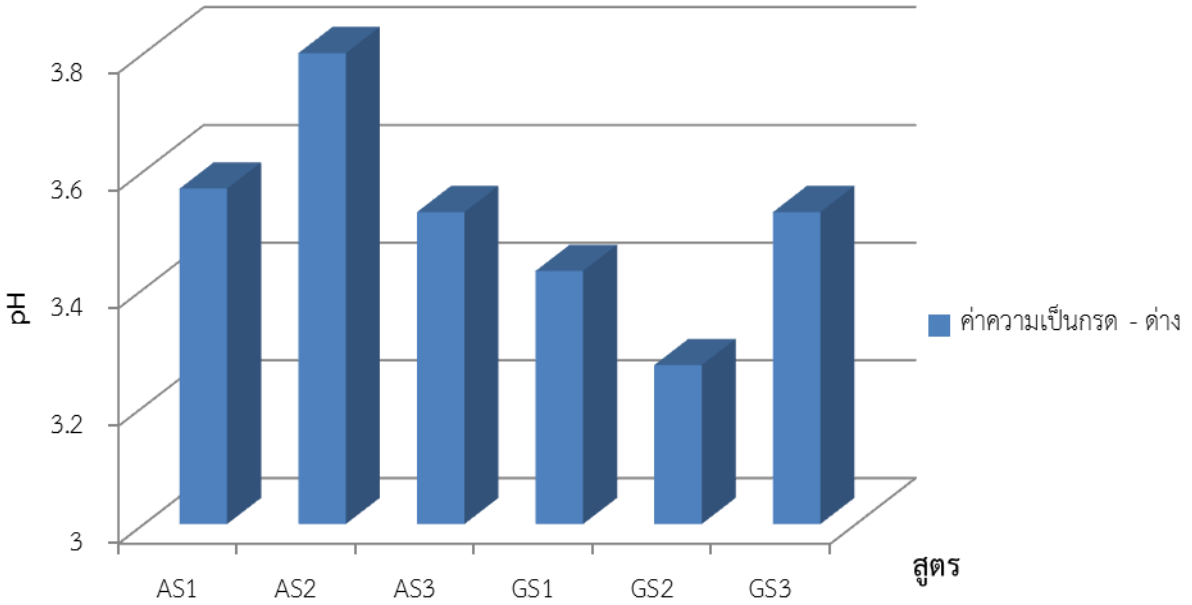
GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากภาพที่ 4.1 แสดงปริมาณกรดอะซิติก และปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร พบว่าน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มจะมีปริมาณกรดอะซิตริกอยู่ระหว่าง 5.60 – 6.68 % โดยน้ำส้มสายชูที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 จะมีปริมาณกรดอะซิตริกมากกว่าการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* TISTR 102 เนื่องจากเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 จะเกิดกระบวนการหมักแบบ overoxidze ทำให้กระบวนการหมักกรดอะซิตริกเป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์กับน้ำเป็นผลิตภัณฑ์สุดท้าย (สมใจ ศิริโภค,2555) น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 5 ที่หมักด้วยเชื้อ *G. oxydans* TISTR 402 และปรับแต่งรสชาติด้วยน้ำผึ้งความเข้มข้น 3% จะมีปริมาณกรดอะซิตริกสูงสุดร้อยละ 6.68 ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 2 มีปริมาณกรดอะซิตริกน้อยที่สุดร้อยละ 5.28 ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักต้องมีกรดอะซิตริกไม่น้อยกว่า 4% โดยปริมาตร (พระราชบัญญัติควบคุมอาหาร, 2543) และมีเอทานอล (ethanol) ได้ไม่เกิน 0.5% โดยปริมาตร แต่น้ำส้มสายชูที่ได้จากกระบวนการหมักจะมีความเข้มข้นมากกว่านี้จึงต้องมีการเจือจางด้วยน้ำ (กำเนิด สุภัณวงษ์,2534)

ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือจากกระบวนการหมักกรด อะซิตริกนั้นเกิดจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิตริกโดยพบว่าจะมีปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ระหว่าง 2.67 – 3.43 ^{0}Brix ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 2 จะมีปริมาณแอลกอฮอล์มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.43 ^{0}Brix ส่วนสูตรที่มีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยที่สุด คือ สูตรที่ 5 มีค่าเท่ากับ 2.67 ^{0}Brix ซึ่งจากการศึกษาความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณกรดอะซิตริกกับปริมาณแอลกอฮอล์พบว่าน้ำส้มสายชูสูตรที่มีปริมาณกรดอะซิตริกมากจะมีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยลงซึ่งเป็นไปตามกระบวนการเปลี่ยนแปลงทางเคมีของการหมักดองที่ทำให้เกิดกรดอะซิตริกหรือการเกิดน้ำส้มสายชูจะเกิดขึ้นภายหลังจากที่เกิดแอลกอฮอล์ แล้วแอลกอฮอล์จะถูกเปลี่ยนเป็นกรดอะซิตริกอีกต่อหนึ่งด้วยแบคทีเรียพวก *Acetobacter aceti* ในสภาพที่ไม่มีออกซิเจน (มาลัย เมืองน้อย และพิสมัย ศรีชาเยช,2555)

4.2.2 ผลการวิเคราะห์หาค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH)

จากผลการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ของผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ได้ผลดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.2



ภาพที่ 4.2 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าความเป็นกรด - ด่างของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม 6 สูตร

หมายเหตุ : AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

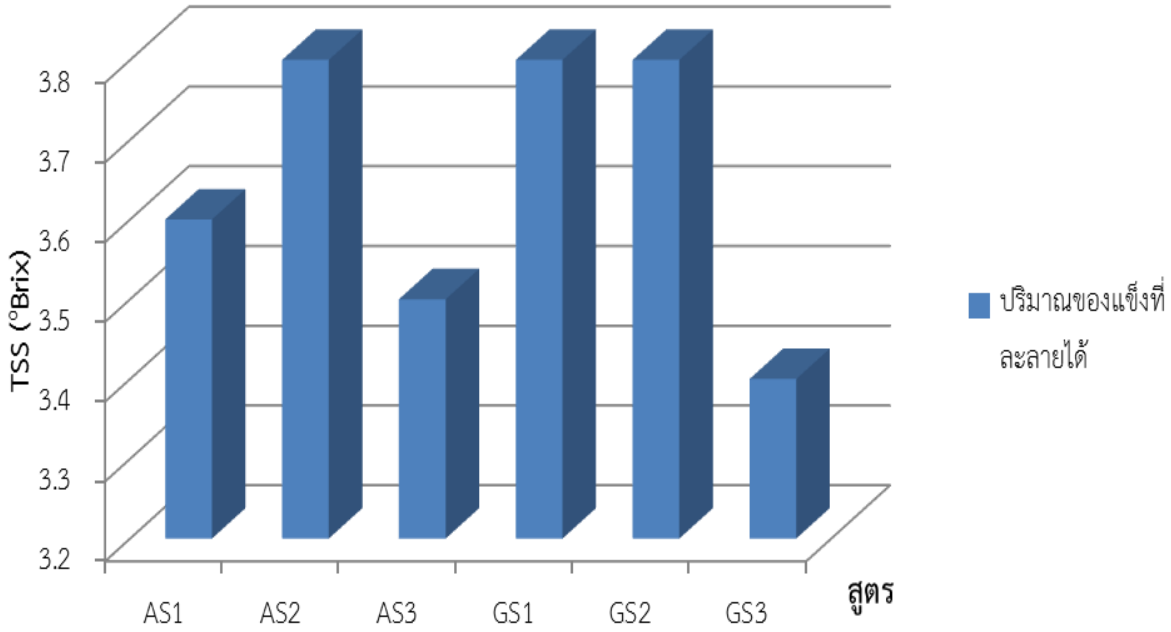
GS_2= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากภาพที่ 4.2 แสดงปริมาณค่าความเป็นกรด – ด่างของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร พบว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจะมีปริมาณความเป็นกรด – ด่างอยู่ระหว่าง 3.27 – 3.80 % โดยน้ำส้มสายชูที่มีค่าความเป็นกรด – ด่างสูงที่สุด คือ น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 2 คือ น้ำส้มสายชูที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Acetobacter aceti* TISTR 102 และน้ำส้มสายชูหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียสายพันธุ์ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 จะมีปริมาณค่าความเป็นกรด-ด่างน้อยที่สุด ซึ่งสอดคล้องกับปริมาณกรดอะซิตริกในน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม ยิ่งมีปริมาณกรดมากยิ่งมีผลทำให้ค่าความเป็นกรด – ด่าง หรือค่า pH ต่ำกว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่มีปริมาณกรดอะซิตริกน้อยกว่า

4.2.3 ผลการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มจากน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ที่มีการปรับแต่งกลิ่นและรสชาติด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด คือ น้ำตาลทราย 3% น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรับ 3% สามารถนำมาวัดค่าความหวานในรูปของของแข็งที่ละลายได้โดยวิธี Hand Refectometer ได้ผลดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.3



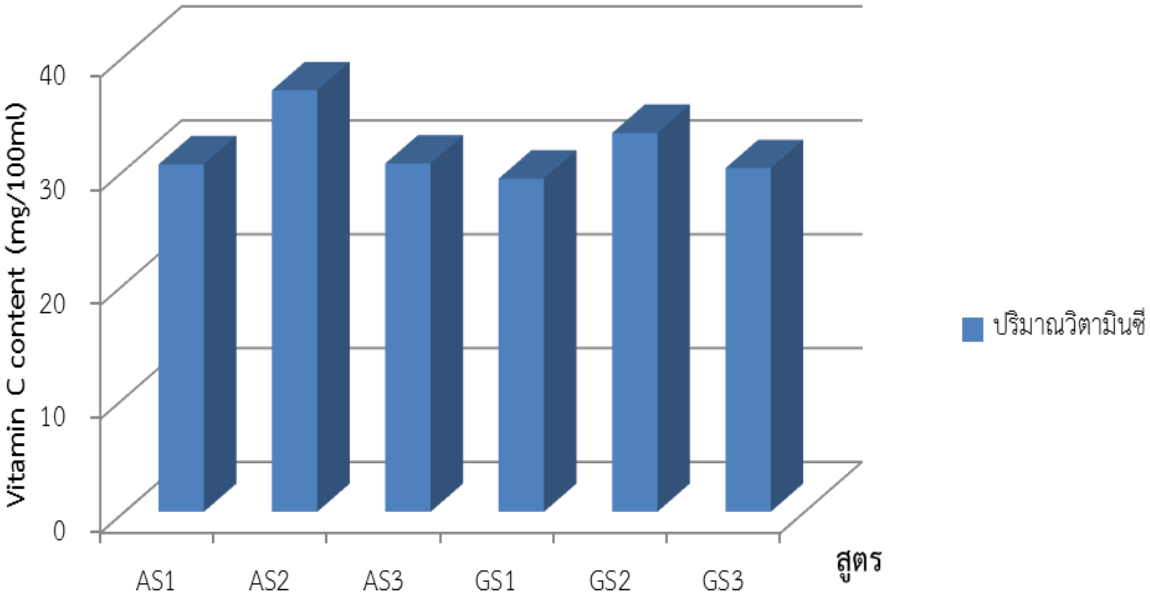
ภาพที่ 4.3 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม 6 สูตร

หมายเหตุ : AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%
AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%
AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%
GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%
GS_2= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%
GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากภาพที่ 4.3 เป็นการศึกษาหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร พบว่าน้ำส้มสายชูหมักสูตรที่ 2 , 4 และสูตรที่ 5 จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงสุด มีค่าเท่ากับ 3.80 ^{0}Brix ส่วนน้ำส้มสายชูหมักสูตรที่ 6 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่ำที่สุด เท่ากับ 3.4 ^{0}Brix ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าเทียบเท่ากับค่าความหวานของสารละลายน้ำตาล

4.2.4 ผลการวิเคราะห์หาค่าปริมาณวิตามินซีในเครื่องดื่ม

จากการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ได้นำมาวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีการปรับแต่งกลิ่นและรสชาติด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด คือ น้ำตาลทราย 3% น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรับ 3% สามารถนำมาหาปริมาณวิตามินซีโดยวิธีการไตเตรทกับสารละลาย Indophenol dye ได้ผลดังตารางที่ 4.3 และภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.4 แสดงความสัมพันธ์ระหว่างปริมาณวิตามินซีในเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

หมายเหตุ : AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

GS_2= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากผลการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีโดยการไตเตรทผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มกับสารละลาย indophenol dye แล้วนำมาเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานของวิตามินซีในหน่วยมิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร พบว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจะมีปริมาณวิตามินซีโดยประมาณ 29.25 – 37 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยสูตรที่ 2 จะมีปริมาณวิตามินซีสูงสุด เท่ากับ 37 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 4 จะมีปริมาณวิตามินซีน้อยที่สุดเท่ากับ 29.25 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร วิตามินซีมีคุณสมบัติเป็นสารต้านอนุมูลอิสระมีประโยชน์ต่าง ๆ เช่น ช่วยขยายเลือด กระตุ้นภูมิคุ้มกัน ต้านมะเร็ง ซึ่งจัดเป็นวิตามินที่ละลายได้ในน้ำ ร่างกายไม่สามารถสร้างเองได้จึงจำเป็นต้องรับประทานเข้าไป

โดยเฉพาะอาหารที่มีรสเปรี้ยวหรือได้จากกระบวนการหมักดอง (Shahidi et al., 1992; Kinsella et al., 1993; Chen et al., 1996)

4.3 ผลการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties)

จากการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด ที่มีส่วนผสมของสารให้ความหวานที่ต่างชนิดกัน ได้แก่ น้ำตาลทราย 3% น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรับ 3% จะได้เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจำนวนทั้งหมด 6 สูตร จึงได้นำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา ได้แก่ การตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณยีสต์ รา

4.3.1 การนับจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (Total bacteria)

โดยทำการเก็บตัวอย่างมาตรวจหาจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด โดยนำน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มหลังจากสิ้นสุดกระบวนการหมัก จำนวนทั้งหมด 6 สูตร มาทำการเพาะเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารสูตร PCA เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ด้วยเทคนิคการ pour plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ได้ผลดังตารางที่ 4.4.

ตารางที่ 4.4 ปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมดของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PCA

สูตร	ปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (cfu/ml)			ปริมาณจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (cfu/ml)
	1	2	3	
AS_1	5.83 ± 0.13^{b}	5.98 ± 0.08^{b}	5.96 ± 0.16^{b}	5.92 ± 0.12^{b}
AS_2	5.94 ± 0.01^{b}	5.86 ± 0.05^{b}	6.15 ± 0.02^{b}	5.98 ± 0.02^{b}
AS_3	5.90 ± 0.11^{b}	6.20 ± 0.05^{b}	6.28 ± 0.03^{a}	6.12 ± 0.04^{a}
GS_1	7.09 ± 0.02^{a}	5.48 ± 0.07^{d}	6.01 ± 0.00^{b}	6.19 ± 0.03^{a}
GS_2	6.10 ± 0.10^{d}	5.69 ± 0.07^{c}	6.02 ± 0.13^{b}	5.93 ± 0.10^{b}
GS_3	5.04 ± 0.13^{c}	5.86 ± 0.05^{b}	5.72 ± 0.03^{c}	5.54 ± 0.05^{c}

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

GS_2 = *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากการตรวจวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม โดยนำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร มาทำการนับจำนวนแบคทีเรียทั้งหมดโดยวิธีการ pour plate ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PCA แล้วบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง หลังจากบ่มแล้วพบว่าปริมาณเชื้อจุลินทรีย์รวมทั้งหมดของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร จะมีปริมาณ 5.54 – 6.19 โคโลนีต่อมิลลิลิตร ซึ่งมีค่าไม่เกินมาตรฐานที่กำหนดไว้ เนื่องจากก่อนที่จะทำการบรรจุน้ำส้มสายชูใส่ขวดโดยมากมักจะนำส้มสายชูไปผ่านความร้อนในระดับพาสเจอร์ไรเซชั่นเพื่อทำลายสิ่งปนเปื้อนที่อาจเป็นสาเหตุให้น้ำส้มสายชูเกิดการเสื่อมเสียได้ และนอกจากนี้น้ำส้มสายชูหมักมีสมบัติความเป็นกรดค่อนข้างสูงจึงจัดเป็น preservative food คือ เกิดการเสื่อมเสียหรือทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเนื่องจากสาเหตุของเชื้อจุลินทรีย์ได้ยาก (ศูนย์เครือข่ายข้อมูลอาหารครบวงจร,สืบค้นเมื่อวันที่ 25 สิงหาคม 2557)

4.3.2 การนับปริมาณยีสต์ และรา (Yeast and mould)

เก็บตัวอย่างน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร มาทำการตรวจนับหาปริมาณยีสต์ รา โดยเพาะเลี้ยงในอาหารสูตร PDA เป็นเวลา 3 – 5 วัน ด้วยเทคนิคการ pour plate แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยทำการตรวจนับเชื้อในน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มสูตรละ 3 ซ้ำ ได้ผลดังตารางที่ 4.5

ตารางที่ 4.5 ปริมาณยีสต์ และราของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ที่เพาะเลี้ยงในอาหาร PDA

สูตร	ปริมาณยีสต์ และรา (cfu/ml)
AS_1	ND
AS_2	ND
AS_3	ND
GS_1	ND
GS_2	ND
GS_3	ND

หมายเหตุ : ND = Not Detected

AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

GS_2= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากผลการตรวจนับจำนวนยีสต์ และราในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร โดยใช้ระยะเวลาในการหมักน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 12 วัน และนำน้ำส้มสายชูไปฆ่าเชื้อจุลินทรีย์และนำมา

ปรับแต่งกลิ่นรสด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่น้ำตาลทราย 3% , น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรัป 3% โดยผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักที่ปรับแต่งกลิ่นรสเรียบร้อยแล้วนำมาฆ่าเชื้อด้วยวิธีการพาสเจอร์ไรส์เซชั่น หลังจากนั้นนำมาตรวจหาปริมาณยีสต์ และราด้วยเทคนิค pour plate พบว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร ตรวจไม่พบจำนวนยีสต์ และราในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มทุกสูตรซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักมีปริมาณความเป็นกรดค่อนข้างต่ำ และมีปริมาณแอลกอฮอล์หลงเหลืออยู่ในระดับหนึ่งจึงส่งผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์และรา (นภา โล่ห์ทอง,2534)

4.4 ผลการทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)

จากการศึกษาคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดด้วยเชื้อแบคทีเรียทั้ง 2 ชนิด จำนวน 6 สูตร ได้มีการนำผลิตภัณฑ์มาทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภคแบบ 9 – point hedonic scale ทำการทดสอบด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะเนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวม จากผู้ทดสอบชิมจำนวน 30 คน ได้ผลดังตารางที่ 4.6

ตารางที่ 4.6 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร

สูตร	คุณภาพทางประสาทสัมผัส				
	สี	กลิ่น	รสชาติ	เนื้อสัมผัส	ความชอบโดยรวม
AS_1	5.97 ^{c}	5.33 ^{d}	5.67 ^{e}	6.27 ^{d}	6.33 ^{c}
AS_2	7.23 ^{a}	7.87 ^{a}	8.07 ^{a}	7.83 ^{a}	8.07 ^{a}
AS_3	4.67 ^{e}	5.10 ^{e}	5.43 ^{f}	5.50 ^{e}	5.50 ^{e}
GS_1	6.23 ^{b}	6.03 ^{c}	6.27 ^{c}	6.20 ^{d}	6.20 ^{d}
GS_2	6.27 ^{b}	6.83 ^{b}	7.17 ^{b}	7.10 ^{b}	7.10 ^{b}
GS_3	5.83 ^{d}	5.43 ^{d}	5.97 ^{d}	6.37 ^{c}	6.37 ^{c}

หมายเหตุ : แสดงค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน

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

AS_1 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Frucrose 3%

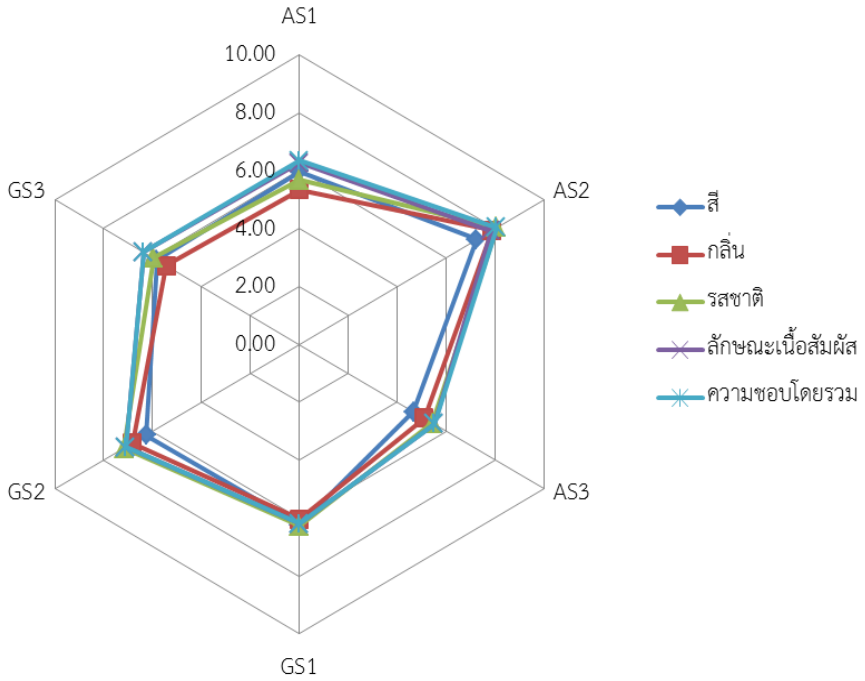
AS_3 = *Acetobacter aceti* TISTR 102 + Glucose syrup 3%

GS_1= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Sucrose 3%

GS_2 = *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Frucrose 3%

GS_3= *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 + Glucose syrup 3%

จากผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตรที่มีความแตกต่างกันในกระบวนการหมักที่เชื้อจุลินทรีย์กรดอะซิตริกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 และมีการปรับแต่งสีและกลิ่นรสน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย 3% , น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรัป 3% นำมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคจำนวน 30 คน พบว่าผู้บริโภคมีความชอบเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักทั้ง 6 สูตร ทั้งด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมอยู่ในระดับ 4 – 8 มีผลการประเมินความชอบตั้งแต่ระดับเฉย ๆ ถึงระดับชอบมาก ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม สูตรที่ 2 คือ การหมักน้ำส้มสายชูหมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 แล้วปรับแต่งกลิ่นรสของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มด้วยน้ำผึ้ง (Frucrose) ที่ความเข้มข้น 3% มีความชอบมากที่สุดในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมซึ่งมีคะแนนความชอบเท่ากับ 7.23 , 7.87 , 8.07 , 7.83 และ 8.07 ตามลำดับ ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 3 คือ การหมักน้ำส้มสายชูหมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 แล้วปรับแต่งกลิ่นรสของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มด้วยกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) ที่ความเข้มข้น 3% จะมีคะแนนความชอบน้อยที่สุดทั้ง 5 ด้าน การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร สามารถแสดงได้ดังกราฟที่ 4.5



ภาพที่ 4.5 ผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

AS_1 = *Acetobacter aceti*+Sucrose 3% GS_1 = *Gluconobacter oxydas*+Sucrose 3%

AS_2 = *Acetobacter aceti*+Fructose 3% GS_1 = *Gluconobacter oxydas*+Fructose 3%

AS_3 =*Acetobacter aceti*+Glucose syrup 3% GS_1 = *Gluconobacter oxydas*+Glucose syrup 3%

จากภาพที่ 4.5 แสดงผลการประเมินทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ได้จากการใช้วัตถุดิบเป็นเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้งจากกระบวนการผลิตในทางอุตสาหกรรมและจากการตัดแต่งสับปะรดพร้อมบริโภคสามารถนำมาเพิ่มมูลค่าให้กับของเหลือทิ้งทางการเกษตรมาเป็นผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มสุขภาพที่มีคุณภาพได้ เนื่องจากน้ำส้มสายชูที่หมักจากน้ำผลไม้จัดเป็นน้ำส้มสายชูคุณภาพเยี่ยม มีกลิ่นหอม รสชาติกลมกล่อม มีขั้นตอนในการเตรียมมาก ผลไม้ที่ใช้ในการหมัก เช่น แอปเปิล องุ่น ส้ม ลูกแพร์ สับปะรด และอื่น ๆ ซึ่งวัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตกรดอะซิตริกหรือน้ำส้มสายชูใช้เป็นตัวบ่งชี้คุณภาพของน้ำส้มสายชูได้จึงจำเป็นต้องเลือกใช้ผลไม้ที่เป็นวัตถุดิบต้องสุกและแก่จัด สำหรับไวน์หรือแอลกอฮอล์นั้นก็ต้องมีความสะอาด ใส และปราศจากสิ่งปนเปื้อน (เสาวนีย์ ธรรมสถิติ,2547) เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูผสมน้ำผลไม้เป็นผลิตภัณฑ์ประเภทเครื่องดื่มเพื่อสุขภาพที่มีส่วนผสมของน้ำส้มสายชูหมักจากผลไม้ น้ำผลไม้ มีรสออกเปรี้ยว หวานเล็กน้อย มีกลิ่นหอมเฉพาะของน้ำผลไม้ที่นำมาเป็นส่วนประกอบหลัก ไม่แต่งกลิ่น ไม่แต่งสี และไม่ใส่วัตถุกันเสีย เป็นเครื่องดื่มที่ให้ความสดชื่นและมีประโยชน์ต่อสุขภาพ (นิภา พวงทอง,2551)

บทที่ 5
สรุปผลการวิจัยและข้อเสนอแนะ

จากการศึกษาการประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดที่เหลือทิ้ง ที่หมักโดยเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 ที่ใช้เวลาในการหมักน้ำส้มสายชูเป็นเวลา 12 วัน และนำมาผลิตเป็นน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มโดยได้ทำการเปรียบเทียบสารที่ให้ความหวานจำนวน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย (Sucrose) 3% , น้ำผึ้ง (Fructose syrup) 3% และกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) 3% ได้ทั้งหมด 6 สูตร จากนั้นได้นำมาทำการศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties) ทางเคมี (Chemical Properties) ทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties) และศึกษาลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)

5.1 การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางกายภาพ (Physical Properties)

จากการตรวจสอบคุณสมบัติทางกายภาพด้านสี กลิ่น รสชาติ และลักษณะทั่วไปของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มโดยการสังเกตด้วยตาของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตรที่ดัดแปลงมาจากน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรมาตรฐาน มีลักษณะเป็นของเหลวสีเหลือง และรสชาติเปรี้ยวอมหวาน โดยน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ที่ผสมกับกลูโคสไซรัป 3% จะได้ของเหลวสีเหลืองขุ่น และเมื่อตั้งทิ้งไว้จะเกิดการตกตะกอน ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 ที่ผสมกับน้ำตาลทราย 3% จะได้ของเหลวที่มีสีเหลืองใส ไม่มีตะกอน สำหรับน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่มีส่วนผสมของน้ำผึ้ง 3% จะมีกลิ่นหอมของน้ำผึ้งอ่อน ๆ และมีรสชาติเปรี้ยวอมหวานซึ่งเป็นสูตรที่มีรสชาติกลมกล่อมมากที่สุด น้ำส้มสายชู (Vinegar) จัดเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ได้จากกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลว จะได้กรดน้ำส้มหรือกรดอะซิตริก (acetic acid) ที่มีลักษณะเป็นสารละลายใส มีสีหรือไม่มีสีขึ้นอยู่กับชนิดของวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิต (ปราณี นิมิบุตร,2552) ซึ่งมีประโยชน์ต่อร่างกาย นอกจากจะใช้ในการปรุงแต่งรสชาติอาหารแล้ว ยังช่วยในระบบการย่อย การดูดซึมอาหารของร่างกายได้อย่างมีประสิทธิภาพอีกด้วย (ดุษณี ธนะบริพัฒน์, 2546)

5.2 การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย 2 ชนิด และมีการปรับแต่งกลิ่น และรสชาติของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด จะได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้งหมด 6 สูตร พบว่าผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักที่มีปริมาณกรดอะซิตริกสูงสุด คือ น้ำส้มสายชูที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 และปรับแต่งรสชาติด้วยน้ำตาลทราย 3% มีปริมาณกรดอะซิตริก ร้อยละ 6.52 สำหรับค่าความเป็นกรดด่าง

ปริมาณวิตามินซี ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณแอลกอฮอล์จะมีปริมาณสูงสุดในน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 2 ที่หมักด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 ที่มีการปรับแต่งรสชาติด้วย Frucrose 3% มีค่าเท่ากับ 3.80 , 37.0 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร , 3.80 องศาบริกซ์ และ 3.23 องศาบริกซ์ ตามลำดับ

จากการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูทั้ง 6 สูตร พบว่าสูตรที่มีปริมาณกรดอะซิตริกมากจะมีปริมาณแอลกอฮอล์น้อย ปริมาณกรดอะซิตริกที่หมักด้วยเชื้อแบคทีเรีย *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 จะมีปริมาณกรดอะซิตริกมากกว่าการหมักด้วยเชื้อแบคทีเรียอีกสายพันธุ์หนึ่ง ซึ่งมีค่าแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) เมื่อพิจารณาสูตรน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มในแต่ละสูตรในสูตรที่ 4 และ 5 มีปริมาณกรดอะซิตริกไม่แตกต่างกัน ส่วนสูตรที่ 3 และสูตรที่ 6 มีปริมาณกรดอะซิตริกไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเช่นกัน

ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ที่หลงเหลือจากกระบวนการหมักกรด อะซิตริกนั้นเกิดจากกระบวนการเปลี่ยนแปลงจากแอลกอฮอล์ไปเป็นกรดอะซิตริกโดยพบว่าจะมีปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ระหว่าง 2.67 – 3.43 ^{0}Brix ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 2 จะมีปริมาณแอลกอฮอล์มากที่สุด มีค่าเท่ากับ 3.43 ^{0}Brix ส่วนสูตรที่มีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยที่สุด คือ สูตรที่ 5 มีค่าเท่ากับ 2.67 ^{0}Brix ซึ่งคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรดมีคุณภาพเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน น้ำส้มสายชูหมัก (มผช 326/2547) และประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 เรื่อง น้ำส้มสายชูหมัก โดยระบุว่าน้ำส้มสายชูหมักต้องมีลักษณะทั่วไปเป็นของเหลวใสให้สีตามธรรมชาติของน้ำส้มสายชูหมัก ต้องมีกลิ่นของกรดอะซิตริกหรืออาจมีกลิ่นของวัตถุดิบ ปริมาณกรดอะซิตริกต้องไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 ลูกบาศ์เซนติเมตร และมีปริมาณเอทานอลต้องไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร (มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน 326/2557)

สำหรับการตรวจวัดปริมาณค่าความเป็นกรด – ด่างของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร พบว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจะมีปริมาณความเป็นกรด – ด่างอยู่ระหว่าง 3.27 – 3.80 % การวิเคราะห์หาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร พบว่าน้ำส้มสายชูหมักสูตรที่ 2 , 4 และสูตรที่ 5 จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงสุด มีค่าเท่ากับ 3.80 ^{0}Brix ซึ่งมีค่าไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$) ส่วนน้ำส้มสายชูหมักสูตรที่ 6 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ต่ำที่สุด เท่ากับ 3.4 ^{0}Brix ซึ่งปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าเทียบเท่ากับค่าความหวานของสารละลายน้ำตาล

นอกจากนี้การประเมินคุณค่าสารอาหารทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพได้มีการวิเคราะห์หาปริมาณวิตามินซีในน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร จะมีปริมาณวิตามินซีโดยประมาณ 29.25 – 37 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยสูตรที่ 2 จะมีปริมาณวิตามินซีสูงสุด เท่ากับ 37 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 4 จะมีปริมาณวิตามินซีน้อยที่สุดเท่ากับ 29.25 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร

5.3 การศึกษาวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties)

จากการวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยาเพื่อตรวจสอบคุณภาพของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มมาทำการตรวจนับจำนวนเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด และปริมาณยีสต์ รา ในผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 สูตร จากการตรวจวิเคราะห์พบเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด (Total Plate Count) ปริมาณ 5.54 – 6.19 โคโลนีต่อกรัม แต่ไม่พบปริมาณยีสต์ และราในผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มทั้ง 6 สูตร ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม (มอก. 932-2533) ของผลิตภัณฑ์วัตถุปรุงแต่งรส และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีข้อกำหนดในการตรวจสอบคุณภาพทางด้านจุลินทรีย์รวมทั้งหมด (Total Plate Count) ไม่เกิน $1.0x10^5$ โคโลนีต่อกรัม และปริมาณยีสต์ รา (Total Mold Count) ไม่เกิน $1.0x10^2$ โคโลนีต่อกรัม (หลักเกณฑ์และมาตรฐานประกอบการตรวจรับรองสินค้าเกษตรด้านพืช,2556) จากผลการวิเคราะห์คุณภาพทางจุลชีววิทยาที่มีปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจพบในเกณฑ์มาตรฐานที่กำหนดเนื่องจากน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีปริมาณกรดอะซิตริกค่อนข้างสูงจึงมีผลทำให้เชื้อจุลินทรีย์ที่จะทำให้เกิดการเสื่อมเสียมีโอกาสเจริญเติบโตได้ยากเพราะความเป็นกรดสูงจะไปทำลายโครงสร้างของผนังเซลล์จุลินทรีย์ทำให้จุลินทรีย์ไม่สามารถเจริญเติบโตและเพิ่มจำนวนได้ การเสื่อมเสียเนื่องจากเชื้อจุลินทรีย์มีผลทำให้กลิ่นรสผิดปกติไป และอาจจะส่งผลให้มีการสร้างเมือกในปริมาณมากซึ่งส่งผลให้อัตราการผลิตกรดอะซิตริกลดลง (ดุษณี ธนะบริพัฒน์,2555)

5.4 การศึกษาลักษณะทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค (Sensory Evalution)

จากการศึกษาความชอบของผู้บริโภคที่มีต่อผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตรที่มีความแตกต่างกันในกระบวนการหมักน้ำส้มสายชูที่ใช้เชื้อจุลินทรีย์ผลิตกรดอะซิตริกต่างกัน 2 ชนิด ได้แก่ แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 102 และ *Gluconobacter oxydans* TISTR 402 และมีการปรับแต่งกลิ่นรสของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มด้วยสารให้ความหวาน 3 ชนิด ได้แก่ น้ำตาลทราย 3% , น้ำผึ้ง 3% และกลูโคสไซรัป 3% หลังจากนั้นนำมาทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัสจากผู้บริโภคจำนวน 30 คน พบว่าผู้บริโภคมีการให้คะแนนความชอบของเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักทั้ง 6 สูตร ทั้งด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมอยู่ในระดับ 4 – 8 มีผลการประเมินความชอบตั้งแต่ระดับเฉย ๆ ถึงระดับชอบมาก ซึ่งน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม สูตรที่ 2 คือ การหมักน้ำส้มสายชูด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 แล้วปรับแต่งกลิ่นรสของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มด้วยน้ำผึ้ง (Frucrose) ที่ความเข้มข้น 3% มีความชอบมากที่สุดในด้านสี กลิ่น รสชาติ เนื้อสัมผัส และความชอบโดยรวมซึ่งมีคะแนนความชอบเท่ากับ 7.23 , 7.87 , 8.07 , 7.83 และ 8.07 ตามลำดับ ส่วนน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่ 3 คือ การหมักน้ำส้มสายชูด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 แล้วปรับแต่งกลิ่นรสของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มด้วยกลูโคสไซรัป (Glucose syrup) ที่ความเข้มข้น 3% จะมีคะแนนความชอบน้อยที่สุดทั้ง 5 ด้าน แต่ถ้าเปรียบเทียบคุณภาพทางประสาทสัมผัสเฉพาะด้านความชอบโดยรวมพบว่าน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มสูตรที่มีความชอบโดยรวมสูงที่สุด คือ สูตรที่ 2 คือ สูตรที่หมักน้ำส้มสายชูด้วยเชื้อ *Acetobacter aceti* TISTR 102 แล้วปรับแต่งกลิ่นรสของน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มด้วยน้ำผึ้ง (Frucrose) ที่ความเข้มข้น 3% มีคะแนนความชอบ

โดยรวมเท่ากับ 8.07 มีผลการประเมิน คือ ชอบมาก เนื่องจากน้ำผึ้งจัดเป็นสารให้ความหวานที่ให้กลิ่นและรสชาติที่หอมและมีความหวานมากกว่าน้ำตาลทรายและกลูโคสไซรัปจึงส่งผลให้ผู้บริโภคมีความชอบสูงสุด และสูตรที่มีความชอบโดยรวมที่มีผลคะแนนรองลงมา ได้แก่ สูตรที่ 5 , สูตรที่ 6 ,สูตรที่ 1 , สูตรที่ 4 และสูตรที่มีความชอบโดยรวมน้อยที่สุด คือ สูตรที่ 3 โดยมีคะแนนความชอบโดยรวมเท่ากับ 7.10 , 6.37 , 6.33 , 6.20 และ 5.50 ตามลำดับ โดยสูตรที่ 1 และสูตรที่ 3 มีคะแนนความชอบไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($p<0.05$)

5.6 ข้อเสนอแนะ

1. ควรปรับกระบวนการหมักด้วยวิธีการหมักรูปแบบอื่น ๆ เช่น กระบวนการหมักแบบตรึงเซลล์เพื่อช่วยในการเพิ่มผลผลิตให้มีปริมาณมากขึ้น

3. ควรศึกษาการประยุกต์ใช้ผลไม้ในท้องถิ่นที่มีปริมาณมากและราคาถูกมาเป็นวัตถุดิบในการแปรรูปเป็นน้ำส้มสายชูพร้อมดื่มเพื่อเพิ่มมูลค่าให้กลายเป็นผลิตภัณฑ์ของชุมชนได้

4. ควรศึกษาปริมาณเสารอาหารที่มีประโยชน์ที่ส่งผลต่อสุขภาพให้มีความหลากหลายมากขึ้น

5. ควรนำข้อมูลที่ได้ไปต่อยอดในการผลิตในรูปแบบเชิงการค้า

บรรณานุกรม

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

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

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

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

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

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

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.

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

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

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

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

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

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

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

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.

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

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.

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

A.O.A.C. (1995). *Official Methods of Analysis 16thed.* 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.

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. แหล่งที่มา http://enologyaccess.org/EA2/images/stories/Microbes/g.oxydans40xps.jpg. สืบค้นเมื่อวันที่ 26 สิงหาคม 2557

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

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.

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.

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

.

ภาคผนวก

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมี (Chemical Properties)

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

1.1 การเตรียมสารเคมี

<u>สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ (Sodium hydroxide) 0.1 N</u>

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

<u>สารละลายฟีนอล์ฟธาลีน (Phenolpthalein) 1%</u>

ชั่งผงฟีนอล์ฟทาลีน จำนวน 1 กรัม นำมาละลายในเอทานอล 95% ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

<u>สารละลายมาตรฐานโพแทสเซียมทาเลต ($KHC_8H_4O_4$)</u>

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 ทำการวิเคราะห์ปริมาณกรดอะซิตริกในผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 สูตร

1.3.5 นำมาคำนวณหาปริมาณกรดอะซิตริกในน้ำส้มสายชู ตามสูตร ดังต่อไปนี้

สูตรคำนวณหาน้ำหนักสมมูล

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

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

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

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

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

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้ซึ่งมีความแตกต่างกันไม่เกิน ± 3% นำมาหาค่าเฉลี่ยของปริมาณของกรดอะซิตริกในตัวอย่าง

2. การหาปริมาณวิตามินซี (Vitamin C content)

2.1 การเตรียมสารเคมี

<u>สารละลายอินโดฟีนอล (Indophenol dye) 0.5%</u>

ชั่งผง 2,6-dichlorophenlindophenol จำนวน 0.5 กรัม นำมาละลายในน้ำเย็นและทำแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

<u>สารละลายกรดเมตาฟอสฟอริก (Metaphosphoric acid) 20%</u>

ชั่งผงเมตาฟอสฟอริก จำนวน 20 กรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรให้ครบ 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร

<u>สารละลายมาตรฐานของวิตามินซี (Ascorbic acid) 0.2 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร</u>

ชั่งผง Ascorbic acid จำนวน 0.05 กรัม นำมาละลายใน 20% metaphosphoric acid ปริมาตร 60 มิลลิลิตร แล้วปรับปริมาตรให้ครบ 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น ในขวดปรับปริมาตร

สารละลายมาตรฐานของวิตามินซี 1 มิลลิลิตร = 0.2 มิลลิกรัมของ Ascorbic acid

2.2 วิธีการทดลอง

เครื่องมือ ชุดไตเตรทกับ 0.02 N Indophenol dye

2.2.1 ปิเปตตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร ใส่ลงในขวดวัดปริมาตรขนาด 100 มิลลิลิตร เติมสารละลาย 20% metaphosphoric acid 25 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร แล้วเจือจางด้วยน้ำกลั่นจนถึงขีดผสมให้เข้ากัน

2.2.2 ปิเปตสารละลายเจือจางนี้ 10 มิลลิลิตร ใส่ลงใน flask เติมอะซิโตน 2.5 มิลลิลิตร แล้วไตเตรทกับสารละลาย indophenol dye จนกระทั่งได้สีชมพูจาง ๆ คงตัวประมาณ 15 วินาที จดปริมาตรของ Indophenol dye ที่ใช้ (V_1)

2.2.3 ทำการเปรียบเทียบกับสารละลายมาตรฐานกับวิตามินซี นำมาไตเตรทกับ indophenol dye จนกระทั่งได้สีชมพูจาง ๆ จดปริมาตรของ Indophenol dye ที่ใช้ (V_2)

2.2.4 ทำการวิเคราะห์ปริมาณวิตามินซีในผลิตภัณฑ์ทั้ง 6 สูตร

2.2.5 นำมาทำการเปรียบเทียบกับวิตามินซี ตามสูตร ดังต่อไปนี้

สูตรคำนวณหาน้ำหนักสมมูล

$$\text{ปริมาณของวิตามินซี (มิลลิกรัม)} = \frac{2 \times V_2}{V_1}$$

กำหนดให้ V_1 = ปริมาตรของ Ihdophenol dye ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายมาตรฐานกับวิตามินซี (มิลลิลิตร)

V_2 = ปริมาตรของ Ihdophenol dye ที่ใช้ในการไตเตรทกับสารละลายตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

ทำการทดลองซ้ำ 3 ครั้ง แล้วนำค่าที่ได้ซึ่งมีความแตกต่างกันไม่เกิน ± 3% นำมาหาค่าเฉลี่ยของปริมาณวิตามินซีในตัวอย่าง

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 ข

วิธีวิเคราะห์คุณสมบัติทางจุลชีววิทยา (Microbiological Properties)

1. การวิเคราะห์หาปริมาณจุลินทรีย์ทั้งหมด (Total bacteria count) โดยวิธี pour plate

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 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 มิลลิลิตร หมุนจานเพาะเชื้อเบา ๆ ให้อาหารเลี้ยงเชื้อและตัวอย่างผสมให้เข้ากันเป็นวงกลม แล้วตั้งทิ้งไว้ให้วุ้นแข็งตัว

1.2.4 นำจานเพาะเชื้อที่อาหารวุ้นแข็งตัวแล้วไปอบในตู้เพาะเชื้อจุลินทรีย์ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส โดยคว่ำจานเพาะเชื้อให้อาหารวุ้นอยู่ด้านบน โดยใช้เวลาในการบ่มเลี้ยงเชื้อจุลินทรีย์เป็นเวลา 24 – 48 ชั่วโมง

1.2.5 จากนั้นนำมาตรวจนับจำนวนโคโลนีของเชื้อแบคทีเรียทั้งหมด โดยเลือกเฉพาะจานเพาะเชื้อที่มีจำนวนเชื้อจุลินทรีย์อยู่ระหว่าง 30 – 300 โคโลนี รายงานผลเป็นจำนวนโคโลนีต่อมิลลิลิตรตัวอย่าง (cfu/ml)

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

2.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

อาหารสูตร PDA (Potato Dextrose Agar) ประกอบด้วย

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

สารละลายเปปโตน (peptone solution) 0.1%

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 pour 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 ค

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัส ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูพร้อมดื่ม

การทดสอบ 9 – point hedonic scale

หมายเลขผู้ทดสอบ.....

วันที่.....

<u>คำชี้แจง</u> ให้ผู้ทดสอบประเมินตัวอย่างจำนวน 6 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

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 จ

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 รัฐมนตรีว่าการกระทรวงสาธารณสุขออกประกาศไว้ 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 ฉ

รายละเอียดของรายวิชา

ชื่อสถาบันอุดมศึกษา	มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์
วิทยาเขต/คณะ/ภาควิชา	ชีววิทยา

หมวดที่ 1 ข้อมูลโดยทั่วไป

1. รหัสและชื่อรายวิชา

BIOL506 จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม (Industrial Microbiology)

2. จำนวนหน่วยกิต

3(2-3-6)

3. หลักสูตรและประเภทของรายวิชา

วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาชีววิทยา และวิชาเฉพาะด้านเอกเลือก

4. อาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชาและอาจารย์ผู้สอน

อาจารย์ธนาวรรณ สุขเกษม และคณาจารย์ผู้สอนหลักสูตรสาขาชีววิทยา

5. ภาคการศึกษา/ชั้นปีที่เรียน

ระดับปริญญาตรี

6. รายวิชาที่ต้องเรียนมาก่อน (Pre-requisites) (ถ้ามี)

4032601 จุลชีววิทยา

7. รายวิชาที่ต้องเรียนพร้อมกัน (Co-requisites) (ถ้ามี)

ไม่มี

8. สถานที่เรียน

สาขาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์

9. วันที่จัดทำรายละเอียดของรายวิชา หรือวันที่มีการปรับปรุงครั้งล่าสุด

วันที่ 16 กรกฎาคม 2557

หมวดที่ 2 จุดมุ่งหมายและวัตถุประสงค์

1. จุดมุ่งหมายของรายวิชา

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

2. วัตถุประสงค์ในการพัฒนา/ปรับปรุงรายวิชา

เพื่อให้สอดคล้องกับสาระวิชาในกรอบมาตรฐานหลักสูตรกลุ่มวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์ สอดคล้องกับอัตลักษณ์และลักษณะที่พึงประสงค์ของนักศึกษาตามมาตรฐานผลการเรียนรู้ของหมวดวิชาเฉพาะและเปิดโอกาสให้แต่ละหลักสูตรได้เลือกเรียนวิชาในกลุ่มวิทยาศาสตร์และคณิตศาสตร์มากขึ้น

หมวดที่ 3 ลักษณะและการดำเนินการ

1. คำอธิบายรายวิชา

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

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

2. จำนวนชั่วโมงที่ใช้/ภาคการศึกษา

บรรยาย	สอนเสริม	การฝึกปฏิบัติ/งานภาคสนาม/การฝึกงาน	การศึกษาด้วยตนเอง
30 ชั่วโมง	มี	45	90 ชั่วโมง

3. จำนวนชั่วโมงต่อสัปดาห์ที่อาจารย์ให้คำปรึกษาและแนะนำทางวิชาการแก่นักศึกษาเป็นรายบุคคล

1 ชั่วโมง/สัปดาห์

หมวดที่ 4 การพัฒนาการเรียนรู้ของนักศึกษา

1. คุณธรรม จริยธรรม

1.1 คุณธรรม จริยธรรมที่ต้องพัฒนา

1.1.1 มีวินัยตรงต่อเวลา และมีความรับผิดชอบทั้งต่อตนเอง วิชาชีพและสังคม

1.1.2 เคารพสิทธิและรับฟังความคิดเห็นของผู้อื่นรวมทั้งเคารพในคุณค่าและศักดิ์ศรีของความเป็นมนุษย์

1.1.3 มีจรรยาบรรณทางวิชาการและวิชาชีพ

1.2 วิธีการสอนที่จะใช้พัฒนาการเรียนรู้

1.2.1 กำหนดให้มีวัฒนธรรมองค์กรเพื่อปลูกฝังความมีระเบียบวินัย เคารพในกฎระเบียบของมหาวิทยาลัย เช่น การเข้าชั้นเรียนตรงเวลา แต่งกายตามระเบียบของมหาวิทยาลัย มีความซื่อสัตย์ไม่ทุจริตในการสอบหรือการลอกการบ้าน

1.2.2 จัดกิจกรรมเสริมหลักสูตรและสอนสอดแทรกตามโอกาสอันควรเพื่อเน้นย้ำให้ผู้เรียนเข้าใจเข้าถึงคุณธรรมจริยธรรมที่ต้องการปลูกฝังบ่มเพาะให้ปรากฏในตัวผู้เรียนอย่างเป็นรูปธรรม

1.3 วิธีการประเมินผล

1.3.1 ประเมินจากการตรงเวลาของนักศึกษาในการเข้าชั้นเรียน การส่งงานที่ได้รับมอบหมายตามกำหนดเวลา และการร่วมกิจกรรม

1.3.2 ประเมินจากการมีวินัย และพร้อมเพรียงของนักศึกษาในการเข้าร่วมกิจกรรม

1.3.3 ประเมินจากการกระทำทุจริตในการสอบ และความรับผิดชอบในหน้าที่ที่ได้รับมอบหมาย

2. ความรู้

2.1 ความรู้ที่ต้องได้รับ

2.1.1 มีความรู้ความเข้าใจในหลักการ ทฤษฎีที่สำคัญของชีววิทยาสาขาต่าง ๆ รวมทั้งการนำไปประยุกต์ใช้ให้มีความก้าวหน้าทางวิชาการอยู่เสมอ

2.1.2 มีความรู้และเข้าใจเกี่ยวกับกฎ ระเบียบ ข้อบังคับที่เกี่ยวข้องกับทางชีววิทยา

2.2 วิธีการสอน

2.2.1 จัดการเรียนการสอนที่มีลักษณะยึดผู้เรียนเป็นสำคัญโดยจัดกิจกรรมในลักษณะการบรรยาย ค้นคว้า เน้นทฤษฎี และกฎเกณฑ์ต่าง ๆ ในเชิงวิเคราะห์

2.2.2 มีการมอบหมายงานให้ผู้เรียนฝึกฝนทักษะให้รู้จักคิด วางแผนการทดลอง วิจัย วิเคราะห์ และแก้ปัญหาด้วยตนเอง

2.3 วิธีการประเมินผล

2.3.1 ประเมินด้วยการสอบย่อย สอบปฏิบัติการ สอบกลางภาคการศึกษาและสอบปลายภาคการศึกษา

2.3.2 ประเมินจากการปฏิบัติกิจกรรมต่างๆ ของรายวิชา เช่น การนำเสนอ รายงาน โครงการวิจัย

2.3.3 ประเมินจากการแก้ปัญหาที่ได้รับมอบหมาย และจากการฝึกประสบการณ์วิชาชีพหรือสหกิจศึกษา

3. ทักษะทางปัญญา

3.1 ทักษะทางปัญญาที่ต้องพัฒนา

3.1.1 สามารถนำความรู้และความเข้าใจเกี่ยวกับหลักการและทฤษฎีทางชีววิทยามาแก้ปัญหาได้อย่างเหมาะสม

3.1.2 มีทักษะในการทำปฏิบัติการด้วยวิธีมาตรฐานที่ทันสมัย

3.2 วิธีการสอน

3.2.1 การทำรายงาน และการนำเสนอ

3.2.2 การอภิปรายกลุ่ม

3.2.3 การฝึกให้นักศึกษามีโอกาสปฏิบัติจริง

3.3 วิธีการประเมินผล

3.3.1 ประเมินตามสภาพจริงจากผลงาน และการปฏิบัติของนักศึกษา

3.3.2 ประเมินจากการนำเสนอรายงานหน้าชั้นเรียน การทดสอบ การสัมภาษณ์ การทดลอง

4. ทักษะความสัมพันธ์ระหว่างบุคคลและความรับผิดชอบ

4.1.ทักษะความสัมพันธ์ระหว่างบุคคลและความรับผิดชอบที่ต้องพัฒนา

4.1.1 การมีมนุษย์สัมพันธ์ในการทำงานและพร้อมมีส่วนร่วมในกิจกรรมในทางสร้างสรรค์ทั้งในฐานะผู้นำและผู้ตาม

4.1.2 มีส่วนร่วมในการกิจกรรม การเรียน การแสวงหาความรู้

4.2.วิธีการสอน

4.2.1 จัดกิจกรรมให้มีการทำงานเป็นกลุ่ม และการทำงานที่ต้องประสานกับผู้อื่น

4.2.2 ค้นคว้าหาข้อมูลจากการสัมภาษณ์บุคคลอื่น หรือผู้มีประสบการณ์

4.3.วิธีการประเมินผล

4.3.1 ประเมินจากพฤติกรรม และการแสดงออกของนักศึกษาในการนำเสนอรายงานในชั้นเรียน

4.3.2 สังเกตจากพฤติกรรมที่แสดงออกจากการร่วมกิจกรรมต่าง ๆ

5. ทักษะการวิเคราะห์เชิงตัวเลข การสื่อสาร และการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศ
5.1.ทักษะการวิเคราะห์เชิงตัวเลข การสื่อสาร และการใช้เทคโนโลยีสารสนเทศที่ต้องพัฒนา 5.1.1 ทักษะในการสืบค้นข้อมูลโดยใช้เทคโนโลยีสารสนเทศทั้งในและต่างประเทศได้อย่างเหมาะสม 5.1.2 ทักษะในการเข้าถึงแหล่งข้อมูลใหม่ ๆ เก็บรวบรวม วิเคราะห์ และประมวลผลโดยใช้เครื่องมือสารสนเทศได้เหมาะสม
5.2.วิธีการสอน 5.2.1 จัดกิจกรรมการเรียนการสอนด้วยการวิเคราะห์สถานการณ์จำลอง และเสมือนจริง 5.2.2 การนำเสนอการแก้ปัญหาที่เหมาะสม ประยุกต์ใช้เทคโนโลยีสารสนเทศที่หลากหลายสถานการณ์
5.3.วิธีการประเมินผล 5.3.1 ประเมินจากเทคนิค และการใช้เทคโนโลยีในการนำเสนอ 5.3.2 ประเมินจากความสามารถในการอภิปราย นำเสนอต่อชั้นเรียน

หมวดที่ 5 แผนการสอนและการประเมินผล

1. แผนการสอน

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	จำนวนชั่วโมง	กิจกรรมการเรียนการสอน สื่อที่ใช้	ผู้สอน
1	**ปฐมนิเทศการเรียนรู้** (Pre-school) - แนะนำการเรียนและการประเมินผล - แนะนำแหล่งเรียนรู้และเอกสารการค้นคว้า - วิเคราะห์ความรู้พื้นฐานผู้เรียน - วิเคราะห์รูปแบบการเรียนรู้ผู้เรียน	5	- อธิบายประมวลการสอนรายวิชา - อธิบายแผนการเรียนวิธีการเรียน การให้คะแนน - กำหนดกิจกรรมการเรียน - Power Point	อ.ธนาวรรณ
2	**บทที่ 1 บทนำ การแยกและการเก็บรักษาจุลินทรีย์** - ขอบเขต ความสำคัญ ความหมายและชนิดของการหมัก - ปัจจัยในการคัดเลือกจุลินทรีย์ แหล่ง	5	- ทดสอบก่อนเรียน - บรรยายประกอบ - Power Point	อ.ธนาวรรณ

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	จำนวนชั่วโมง	กิจกรรมการเรียนการสอน สื่อที่ใช้	ผู้สอน
	จุลินทรีย์ - วิธีการแยกเชื้อ และการเก็บรักษาจุลินทรีย์			
3	**บทที่ 2 การวิเคราะห์ผลผลิต** - การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีการทางเคมี – ฟิสิกส์ - การวิเคราะห์ผลผลิตโดยวิธีการทางชีววิทยา	5	- บรรยายประกอบ - Power Point - สอบย่อยครั้งที่ 1	อ.ธนาวรรณ
4	**บทที่ 3 อาหารเลี้ยงเชื้อ และการเตรียมเชื้อเริ่มต้น** - ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับอาหารเลี้ยงเชื้อ - การเตรียมเชื้อเริ่มต้นในกระบวนการหมัก	5	- บรรยายประกอบ - Power Point	อ.ธนาวรรณ
5	**บทที่ 4 การเก็บเกี่ยวผลผลิตและการทำให้บริสุทธิ์** - การเก็บเกี่ยวผลผลิตภายนอกเซลล์ - การเก็บเกี่ยวผลผลิตภายในเซลล์	5	- บรรยายประกอบ - Power Point	อ.ธนาวรรณ
6	**บทปฏิบัติการที่ 1 การผลิตอาหารหมักดองท้องถิ่น**	5	- คู่มือบทปฏิบัติการที่ 1 - รายงาน และการนำเสนอ	อ.ธนาวรรณ
7	**บทที่ 5 การใช้ยีสต์ในทางอุตสาหกรรม** - การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ - การผลิตยีสต์ที่ใช้ทำขนมปัง	5	- บรรยายประกอบ - Power Point	อ.ธนาวรรณ
8	**บทปฏิบัติการที่ 2 การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ท้องถิ่น**	5	- คู่มือบทปฏิบัติการที่ 2 - รายงาน และการนำเสนอ - การอภิปราย	อ.ธนาวรรณ
9	**บทที่ 6 การใช้แบคทีเรียในทางอุตสาหกรรม**	5	- บรรยายประกอบ - Power Point	อ.ธนาวรรณ

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	จำนวนชั่วโมง	กิจกรรมการเรียนการสอน สื่อที่ใช้	ผู้สอน
	- การผลิตกรดแล็กติก - การผลิตกรดอะซิตริก		**- สอบเก็บคะแนนระหว่างภาค*** **	
10	**บทปฏิบัติการที่ 3 การผลิตกรดอินทรีย์**	5	- คู่มือบทปฏิบัติการที่ 3 เรื่อง การผลิตน้ำส้มสายชูจากเปลือกสับปะรด ที่บูรณาการจากงานวิจัย เรื่อง การประเมินคุณค่าทางโภชนาการของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มจากเปลือกสับปะรด - รายงาน และการนำเสนอ	อ.ธนาวรรณ
11	**บทที่ 7 การใช้ราในทางอุตสาหกรรม** - การผลิตเอนไซม์ การผลิตยาปฏิชีวนะ - การผลิต SCP และกรดซิตริก	5	- บรรยายประกอบ - Power Point - สอบย่อยครั้งที่ 2	อ.ธนาวรรณ
12	**บทปฏิบัติการที่ 4 การผลิต SCP**	5	- คู่มือบทปฏิบัติการที่ 4 - รายงาน และการนำเสนอ - การอภิปราย	อ.ธนาวรรณ
13	**บทที่ 8 การบำบัดน้ำเสีย** - พารามิเตอร์ และมาตรฐานที่ใช้แสดงคุณภาพน้ำทิ้ง - วิธีการบำบัดน้ำเสีย และขั้นตอนบำบัดน้ำเสีย	5	- บรรยายประกอบ - Power Point	อ.ธนาวรรณ
14	**บทปฏิบัติการที่ 5 การบำบัดน้ำเสีย**	5	- คู่มือบทปฏิบัติการที่ 5 การใช้ประโยชน์จากการบำบัดน้ำเสีย ที่บูรณาการมาจากงานโครงการบริการวิชาการ เรื่อง การปลูกผักไม่ง้อดิน สร้างอาชีพเสริมตาม	อ.ธนาวรรณ

สัปดาห์ที่	หัวข้อ/รายละเอียด	จำนวนชั่วโมง	กิจกรรมการเรียนการสอน สื่อที่ใช้	ผู้สอน
			แนวเศรษฐกิจพอเพียง - รายงาน และการนำเสนอ - การอภิปราย	
15	นำเสนองานเกี่ยวกับการประยุกต์ใช้จุลชีววิทยาอุตสาหกรรมในปัจจุบัน		- การอภิปราย - การนำเสนอรายกลุ่ม/เดี่ยว	อ.ธนาวรรณ
16	**สอบปลายภาค**			

2. แผนการประเมินผลการเรียนรู้

ที่	ผลการเรียนรู้	วิธีการประเมิน	สัปดาห์ที่ประเมิน	สัดส่วนของการประเมินผล
1	1.3, 2.3, 3.3	**สังเกตและจดบันทึก** - การเข้าเรียน - การตรงต่อเวลา - การรับผิดชอบต่องานที่มอบหมาย	2 - 7 9 - 15	**20 %**
2	2.3, 3.3	**สอบเก็บคะแนน**	9	**20 %**
3	1.3, 2.3, 3.3, 4.3, 5.3	**สังเกตและสอบปากเปล่า** - การนำเสนอ - การสื่อความหมาย - การแสดงเหตุผลจากการอภิปรายและนำเสนอ	14 - 15	**20 %**
4	1.3, 2.3, 3.3, 4.3	**สอบบทปฏิบัติการ**	15	**20%**
5	2.3, 3.3	**สอบปลายภาค**	16	**20 %**

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 การสนทนากลุ่มระหว่างผู้สอนและผู้เรียน

1.2 การสังเกตการณ์จากพฤติกรรมของผู้เรียน

1.3 แบบประเมินผู้สอนและแบบประเมินรายวิชา

1.4 ขอเสนอแนะผ่านเว็บบอร์ดที่อาจารย์ผู้สอนได้จัดทำเป็นช่องทางการสื่อสารกับนักศึกษา

2. กลยุทธ์การประเมินการสอน

2.1 สังเกตการสอนของผู้ร่วมทีมการสอน

2.2 ผลการสอบ

2.3 การทวนสอบผลประเมินการเรียนรู้

2.4 การตอบสนองและการมีส่วนร่วมในการทำกิจกรรม

3. การปรับปรุงการสอน

หลังจากผลการประเมินการสอนในข้อ 2 จึงมีการปรับปรุงการสอนโดยการจัดกิจกรรมในการระดมสมองและหาข้อมูลเพิ่มเติมในการปรับปรุงการสอน ดังนี้

3.1 มีการศึกษานอกสถานที่เกี่ยวข้องกับหัวข้อของรายวิชา

3.2 การวิจัยในและนอกชั้นเรียน

3.3 ใช้สื่อการสอนที่มีความหลากหลาย

4. การทวนสอบมาตรฐานผลสัมฤทธิ์ของนักศึกษาในรายวิชา

ในระหว่างกระบวนการสอนรายวิชา มีการทวนสอบผลสัมฤทธิ์ในรายหัวข้อ ตามที่คาดหวังจากการเรียนรู้ในวิชา ได้จากการสอบถามนักศึกษา หรือการสุ่มตรวจผลงานของนักศึกษา รวมถึงพิจารณาจากผลการทดสอบย่อย และหลังการออกผลการเรียนรายวิชา มีการทวนสอบผลสัมฤทธิ์โดยรวมในวิชาได้ ดังนี้

4.1 การทวนสอบการให้คะแนนจากการสุ่มตรวจผลงานของนักศึกษาโดยอาจารย์อื่น หรือผู้ทรงคุณวุฒิ ที่ไม่ใช่อาจารย์ประจำหลักสูตร

4.3 ทวนสอบจากการประเมินพฤติกรรมของผู้เรียน (ลักษณะนิสัย ได้แก่ การเข้าเรียน และการสังเกตพฤติกรรม) โดยอาจารย์ผู้รับผิดชอบรายวิชา

4.2 มีการตั้งคณะกรรมการในสาขาวิชาตรวจสอบผลการประเมินการเรียนรู้ของนักศึกษา โดยตรวจสอบข้อสอบ รายงานวิธีการให้คะแนนสอบและการให้คะแนนพฤติกรรม รวมถึงประเมินผลการเรียน

5. การดำเนินการทบทวนและการวางแผนปรับปรุงประสิทธิผลของรายวิชา

จากผลการประเมิน และทวนสอบผลสัมฤทธิ์ประสิทธิผลรายวิชา ได้มีการวางแผนการปรับปรุงการสอน และรายละเอียดวิชาเพื่อให้เกิดคุณภาพมากขึ้น ดังนี้

5.1 ปรับปรุงรายวิชาทุก 3 ปีหรือตามข้อเสนอแนะและผลการทวนสอบมาตรฐานผลสัมฤทธิ์ตามข้อ4

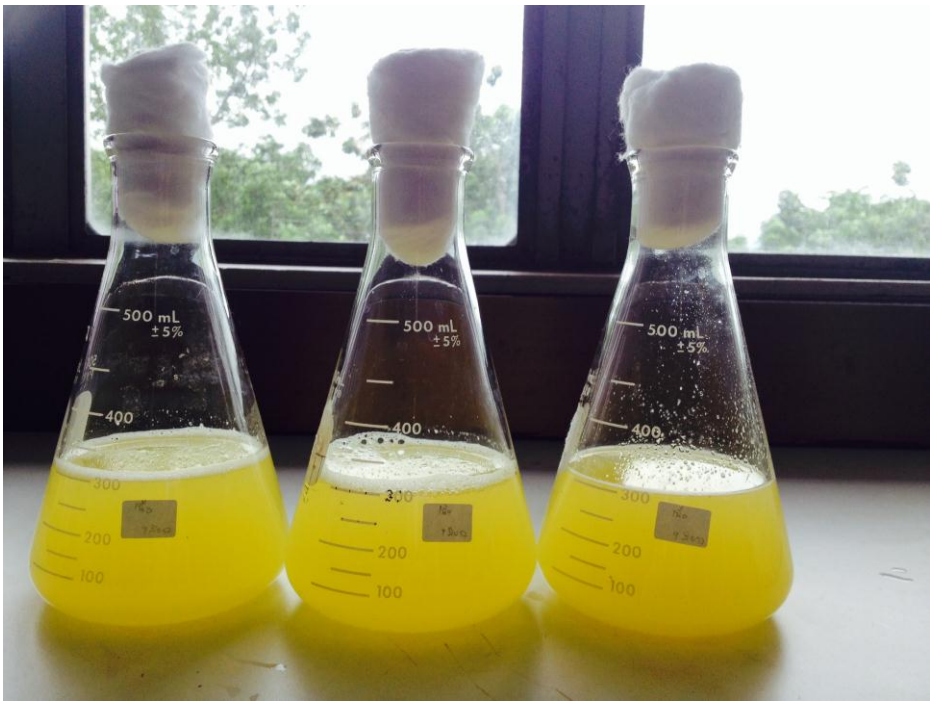
5.2 เปลี่ยนหรือสลับอาจารย์ผู้สอน เพื่อให้นักศึกษามีมุมมองในเรื่องการประยุกต์ความรู้นี้กับปัญหาที่มาจากงานวิจัยของอาจารย์หรืออุตสาหกรรมต่าง ๆ

5.3 นำผลประเมินจากนักศึกษามาปรับปรุงแก้ไขในการสอน

ภาคผนวก ช

ภาพประกอบการทำวิจัย

ภาพที่ 1-ช ตัวอย่างเปลือกสับปะรดพันธุ์ห้วยมุ่น



ภาพที่ 2-ช การเตรียมน้ำสับปะรดที่ใช้เตรียมหัวเชื้อผลิตไวน์เปลือกสับปะรด

ภาพที่ 3-ช การเตรียมหัวเชื้อผลิตไวน์จากเปลือกสับปะรด

ภาพที่ 4-ช การเตรียมไวน์จากเปลือกสับปะรด

ภาพที่ 5-ช ขั้นตอนการผลิตกรดน้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกสับปะรด

ภาพที่ 6-ช น้ำส้มสายชูหมักจากเปลือกสับปะรด

ภาพที่ 7-ช น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มทั้ง 6 สูตร

ภาพที่ 8-ช น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่มที่ใช้ทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส

ภาพที่ 9-ช การเตรียมตัวอย่างทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัส

ภาพที่ 10-ช การทดสอบลักษณะทางประสาทสัมผัสของน้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

ภาพที่ 11-ช น้ำส้มสายชูหมักพร้อมดื่ม

ภาพที่ 12-ช การทดสอบคุณสมบัติทางจุลชีววิทยา

ภาคผนวก ช

ประวัตินักวิจัย

1. ชื่อ-นามสกุล (ภาษาไทย) นางสาวธนาวรรณ สุขเกษม
   ชื่อ-นามสกุล (ภาษาอังกฤษ) Miss Tanawan Sukkasem
2. หมายเลขบัตรประจำตัวประชาชน 5-6707-00001-44-7
3. ตำแหน่งปัจจุบัน อาจารย์
4. หน่วยงานและสถานที่อยู่ที่ติดต่อได้สะดวก สาขาวิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ อ.เมือง จ. เพชรบูรณ์ 76000 โทรศัพท์ 056-717100 ต่อ 2709 E-mail : tan_awan@hotmail.com
5. ประวัติการศึกษา กศ.บ. (ธุรกิจการเกษตร) บช.บ. (บัญชี) วท.บ. (เทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร) วทม. (อุตสาหกรรมเกษตร)
6. สาขาวิชาการที่มีความชำนาญพิเศษ จุลอุตสาหกรรม จุลชีววิทยาทางอาหาร และเทคโนโลยีชีวภาพอาหารและโภชนาการสุขภาพ
7. ประสบการณ์ที่เกี่ยวข้องกับการบริหารงานวิจัย

   - วิทยานิพนธ์ เรื่อง การศึกษาวิธีการยืดอายุการเก็บรักษาส้มโอตัดแต่งโดยใช้ฟิล์มห่อหุ้มและสารเคลือบผิว
   - โครงงานวิจัย เรื่อง การศึกษาสูตรอาหารที่เหมาะสมต่อกระบวนการผลิตเอนไซม์ Xylanase โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งทางการเกษตร
   - ทุนวิจัยเพื่อพัฒนา เรื่อง ข้าวหอมมะลิเสริมสมุนไพรไทยพื้นบ้านภายในท้องถิ่น
   - ทุนวิจัยภายในสถาบัน เรื่อง รูปแบบการบริหารจัดการงานวิจัย
   - ทุนวิจัยภายในมหาวิทยาลัย ปี 2553 เรื่อง การพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าวแตนเคลือบสาหร่ายสไปรูลิน่าเพื่อสุขภาพ
   - ทุนวิจัย วช. ปี 2553 เรื่อง การศึกษาระบบนิเวศบริเวณสวนรุกขชาติผาเมืองเพื่อใช้เป็นฐานข้อมูลในการรักษาระบบนิเวศให้สมดุล เหมาะสมกับการใช้เป็นแหล่งศึกษาความหลากหลายของชีวภาพในชุมชน
   - ทุนวิจัยในชั้นเรียน เรื่อง ความพึงพอใจของนักศึกษาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหารในระดับชั้นปีที่ 3 ที่มีต่อรูปแบบการจัดกิจกรรมการเรียนการสอนที่เน้นผู้เรียนเป็นสำคัญในรายวิชา วิศวกรรมอาหาร 1
   - ทุนวิจัย สกอ. ปี 2556 เรื่อง การศึกษาความหลากชนิดของเห็ดป่าในชุมชนพัฒนวรพงษ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ ภายใต้โครงการวิจัย การศึกษาความหลากชนิดของเห็ดในป่าชุมชนพัฒนวรพงษ์ จังหวัดเพชรบูรณ์ และแนวทางการนำมาใช้ประโยชน์

- ทุนวิจัยภายในมหาวิทยาลัยราชภัฏเพชรบูรณ์ ประจำปีงบประมาณ 2556 เรื่อง การสกัดเพคตินจากกะหล่ำปลี (*Brassica oleracea* L.var.*capitata* L.) ภูทับเบิก ตำบลวังบาล อำเภอหล่มเก่า จังหวัดเพชรบูรณ์