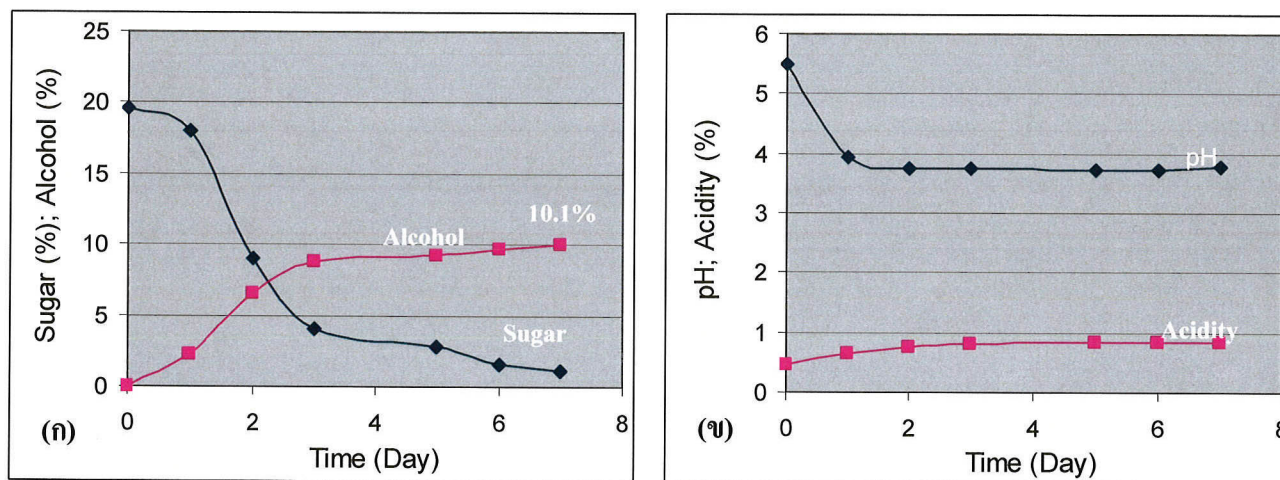


ผลการทดลอง

การผลิตไวน์จากกากแครอท

ในการหมักไวน์จากกากแครอทตามวิธีของ Krusong and Vichitraka (2009) ได้ผลดังแสดงในภาพที่ 1 พบว่า กากแครอทเป็นสารอาหารที่ดีต่อการหมักของยีสต์ *S. cerevisiae* M30 (“เชื้อยีสต์ M30”) “เชื้อยีสต์ M30” สามารถทำการหมักได้อย่างรวดเร็วโดยสามารถผลิตไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ 10.1% ภายใน 7 วัน ที่อุณหภูมิห้อง (30-32 องศาเซลเซียส) ในขณะที่มีการปนเปื้อนจากแบคทีเรียที่น้อยมากสังเกตได้จากค่า pH ลดลงอยู่ในเกณฑ์ที่เหมาะสมต่อการหมักของยีสต์ (pH ประมาณ 3.7) โดยมีค่าความเป็นกรด (Acidity) ประมาณ 0.8%



ภาพที่ 1 ผลของการหมักไวน์จากกากแครอทด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30 ที่อุณหภูมิห้อง :
การเปลี่ยนแปลงของ (ก) น้ำตาลและแอลกอฮอล์; (ข) pH และค่าความเป็นกรด (acidity)

อนึ่งสำหรับลักษณะของการหมักไวน์จากกากแครอทนั้น ในเบื้องต้นทำการหมักในขวดแก้วขนาด 2 ลิตร (ภาพที่ 2ก; ไม่ได้แสดงผลการทดลอง) ส่วนภาพที่ 2ข เป็นลักษณะของถังหมักที่ใช้ในการหมักไวน์กากแครอท (ตามผลที่แสดงในภาพที่ 1) ซึ่งเป็นระบบการหมักแบบหมุนวนเซลล์ (Cell recycle fermentation system) เนื่องจาก“เชื้อยีสต์ M30” เป็นเชื้อยีสต์ตกตะกอน การหมุนวนเซลล์ยีสต์ที่ตกตะกอนจะช่วยทำให้ประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ในน้ำไวน์สูงขึ้น



ภาพที่ 2 ลักษณะถังหมักที่ใช้ในการหมักไวน์จากกากแครอทด้วยเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30 :
(ก) ขวดแก้วที่ใช้ในการทดลองความเป็นไปได้; (ข) ถังหมักระบบหมุนวนเซลล์

สำหรับไวน์กากแครอทที่ผ่านการกรองก่อนที่จะนำไปใช้งานได้บรรจุไว้ในขวดเพื่อนำไปเปรียบเทียบกับน้ำส้มสายชูจากไวน์กากแครอทดังแสดงในภาพที่ 3



ภาพที่ 3 ตัวอย่างของไวน์กากแครอทบรรจุขวด (ภายหลังจากการกรอง)

การปรับสภาพ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ให้เหมาะสมกับการหมักไวน์กากแครอท

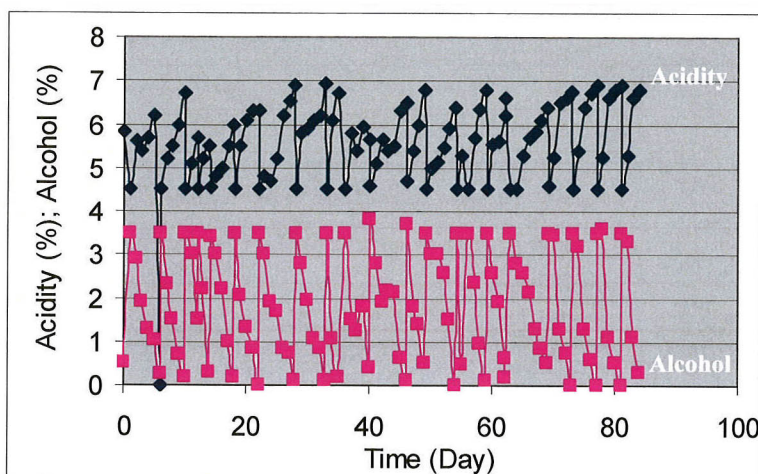
จากเดิมได้วางแผนการทดลองโดยจะนำสารละลายไวน์กากแครอทที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 8% มาปรับสภาพด้วยการเติมน้ำส้มสายชูความเข้มข้น 1% ก่อนที่จะนำไปเลี้ยง “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” (สายพันธุ์ที่ผ่านการคัดเลือกและเลี้ยงไว้ในอาหาร GYP Broth) โดยนำสารละลายเชื้อไปถ่ายต่อเนื่องกันเป็นเวลา 3 เดือน แต่เนื่องจากได้ดำเนินการพัฒนาการปรับสภาพหัวเชื้อน้ำส้ม พบว่า การปรับสภาพหัวเชื้อ ควรปรับให้หัวเชื้ออยู่ในสภาพทนกรดและสภาพทนแอลกอฮอล์ ดังนั้นการปรับสภาพ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” จึงได้ดำเนินการทดลองเป็นการปรับสภาพหัวเชื้อน้ำส้มสายชูให้ทนสภาพกรดและสามารถหมักไวน์แครอทได้

ในการปรับสภาพ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ให้ทนสภาพกรดนั้น ได้นำไวน์กากแครอทมาปรับปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และปรับปริมาณกรดเริ่มต้น 4.5% ซึ่งเรียกว่า “การปรับความเข้มข้นทั้งหมด (Total concentration; TC) เท่ากับ 8” จากนั้นจึงทำการถ่าย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ซึ่งเก็บรักษาอยู่ใน Stock culture ของห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของค่าความเป็นกรด (Acidity) และปริมาณแอลกอฮอล์ทุกวัน เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักลดลงเหลือเท่ากับหรือต่ำกว่า 0.5% จึงทำการเพิ่มปรับสภาพน้ำหมักให้กลับมามีค่า TC เท่ากับ 8 ดำเนินการปรับสภาพติดต่อกันประมาณ 3 เดือน ก่อนที่จะเก็บเชื้อไปใช้ในการปรับสภาพมาทำการหมักเพื่อผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์กากแครอทต่อไป ลักษณะของขั้นตอนการปรับสภาพ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” นี้แสดงในภาพที่ 4



ภาพที่ 4 ลักษณะของขั้นตอนการปรับสภาพ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ให้มีความสามารถทนกรด

ผลของการปรับสภาพ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ให้ทนสภาพกรด แสดงอยู่ในภาพที่ 5 พบว่า ในช่วงเริ่มต้น (รอบการหมักที่ 1; Cycle 1) “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ต้องใช้เวลาในการปรับสภาพเพียง 6 วัน ซึ่งแสดงว่า “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” สามารถปรับตัวให้เข้ากับไวน์กากแครอทได้เป็นอย่างดี หรือ อาจจะกล่าวอีกนัยถึงได้ว่าไวน์กากแครอทมีสารอาหารที่เหมาะสมต่อการปรับตัวของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” นั่นเอง นอกจากนี้แล้วในการปรับ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ใน ระหว่างรอบการหมักที่ 2-18 ใช้ระยะเวลาสั้นที่สุด เท่ากับ 3 วัน นานที่สุดอยู่ที่ 6 วัน โดยที่ปริมาณกรดที่ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” สร้างขึ้นอยู่ระหว่าง 5.5-6.8% “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” จารอบการหมักที่ 18 นำไปใช้ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์กากแครอทต่อไป



ภาพที่ 5 ประสิทธิภาพการทนกรดของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” เมื่อทำการปรับสภาพจำนวน 18 รอบการหมัก เป็นเวลา 84 วัน โดยใช้ความเข้มข้นทั้งหมด (Total concentration) เท่ากับ 8

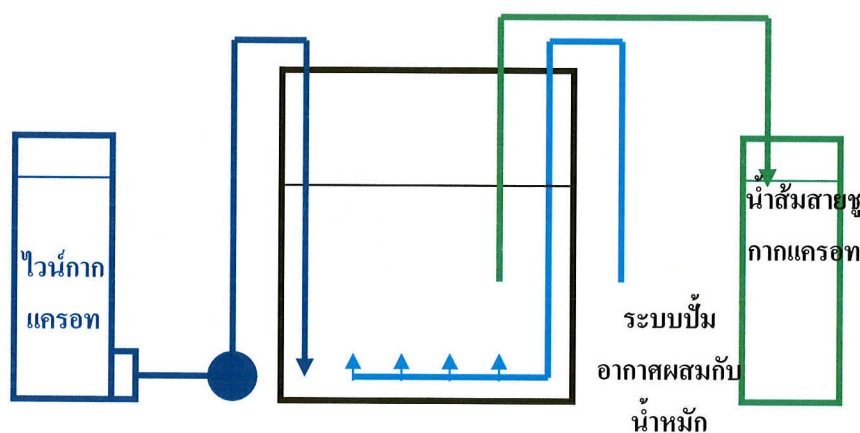
การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์แครอทในถังหมัก “ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ” ขนาด 50 ลิตร

ถังหมัก “ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ” ขนาด 50 ลิตร ที่ใช้ในการศึกษาแสดงอยู่ในภาพที่ 6 ซึ่งเป็นหนึ่งในถังหมักต้นแบบที่ผู้วิจัยได้พัฒนาและยื่นจดสิทธิบัตรในนามของสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง เมื่อวันที่ 13 ตุลาคม 2551

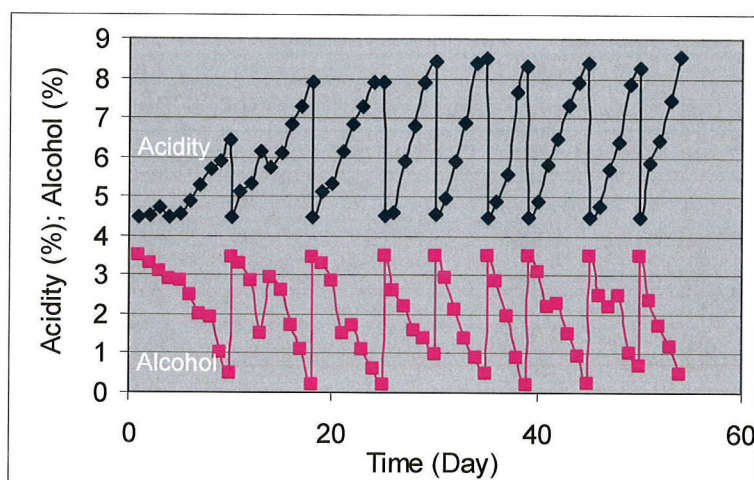


ภาพที่ 6 ลักษณะของถังหมัก “ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ” ขนาด 50 ลิตร ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์กากแครอท

ในการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์กากแครอทต้องทำการเตรียมการหมัก 20 ลิตร ประกอบด้วย ไวน์กากแครอทที่ปรับแอลกอฮอล์เท่ากับ 3.5% ปริมาณกรด 4.5% เติมนิยัสต์สกัด 0.5% แอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05% และ $\text{MgSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ 0.02% ถ้าย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” เท่ากับ 5% ทำการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ทำการหมักในลักษณะ **Semi-continuous Fermentation** โดย Cycle แรกเริ่มต้นจากขั้นตอนการถ่าย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ลงในน้ำหมักจากไวน์แครอทเมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมักลดลงถึงประมาณ 0.5% ให้ดึงน้ำหมักออกมา 40% (ตามวิธีการของ Krusong *et al.*, 2007; 2010) ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมัก จากนั้นจึงเติมน้ำไวน์กากแครอทใหม่ที่ปรับสภาพแล้วเข้าไปในปริมาณเท่ากัน ลักษณะการหมักแบบ Semi-continuous แสดงในภาพที่ 7 ส่วนผลการหมักแสดงในภาพที่ 8



ภาพที่ 7 แผนภาพแสดงลักษณะการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์กากแครอทด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ในลักษณะการหมักแบบ Semi – continuous Fermentation



ภาพที่ 8 ผลของการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากไวน์กากแครอทถึงหมัก “ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ” ขนาด 50 ลิตร ด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” โดยใช้ระบบการหมักแบบ Semi-continuous fermentation จำนวนรอบการหมัก 9 รอบ เป็นระยะเวลา 54 วัน

ในการเริ่มต้นระบบการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์กากแครอทด้วย “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ในรอบการหมักที่ 1 (Cycle 1) เป็นช่วงเวลาของการปรับตัวของ “หัวเชื้อน้ำส้ม WK” ให้เข้ากับสภาพการหมักในถังหมัก “ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ” ขนาด 50 ลิตรที่ใช้ ช่วงนี้จะทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์จนกระทั่งลดลงถึงประมาณ 0.5% ซึ่งแสดงว่า

“หัวเขื่อน้ำส้ม WK” สามารถปรับตัวเข้ากับสภาพการหมักในถังหมักได้อย่างสมบูรณ์แล้ว จึงทำการหมักในรอบการหมักที่ 2 โดยเริ่มต้นด้วยการเติมหัวเขื่อน้ำส้ม WK ใหม่เข้าไปในถังหมักจนถึงระดับที่กำหนดไว้ในการหมักซึ่งถือเป็นการเริ่มต้นการผลิตหัวเขื่อน้ำส้มสายชูหมักในระบบ Semi-continuous fermentation

ในรอบการหมักที่ 1 พบว่า “หัวเขื่อน้ำส้ม WK” ใช้เวลาในการปรับตัวเท่ากับ 10 วัน (ดังแสดงในภาพที่ 8) ซึ่งจัดได้ว่าอยู่ในเกณฑ์ปกติ เนื่องจากธรรมชาติของแบคทีเรียอะซิติกจะใช้เวลาในการปรับสภาพในสภาพแวดล้อมใหม่อยู่ในช่วง 7-15 วัน (Fregapane *et al.*, 2001; de Ory *et al.*, 2004) ในช่วงของการผลิตหัวเขื่อน้ำส้มสายชูหมักในรอบการหมักที่ 2-9 (ดังแสดงในภาพที่ 8) พบว่า “หัวเขื่อน้ำส้ม WK” ได้พัฒนาการผลิตโดยสามารถผลิตกรดได้อยู่ระหว่าง 7.9% ถึง 8.55% โดยที่ระยะเวลาตั้งแต่รอบการหมักที่ 4 ลดลงอยู่ในช่วง 4 ถึง 6 วัน โดยมีอัตราการสร้างกรด (acidification rate; ETA) อยู่ในช่วง 0.0179%/h ถึง 0.0421 %/h (ตารางที่ 1) ซึ่งถือว่าอยู่ในเกณฑ์ที่สูงกว่าที่ “หัวเขื่อน้ำส้ม WK” ผลิตได้ใน corn vinegar ที่มีค่าอยู่ระหว่าง 0.0028%/h ถึง 0.0067%/h (Krusong *et al.*, 2010) ส่วนผลิตภัณฑ์หัวเขื่อน้ำส้มสายชูหมักจากหัวเขื่อน้ำส้มสายชู หรือ เรียกว่า “Carrot Pomace Vinegar” แสดงอยู่ในภาพที่ 9

ตารางที่ 1 อัตราการสร้างกรด (acidification rate) ของ “หัวเขื่อน้ำส้ม WK” ในหัวเขื่อน้ำส้มสายชูจากหัวเขื่อน้ำส้มสายชูหมักด้วยระบบ Semi-continuous fermentation ในถังหมัก “ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ” จำนวน 9 รอบของการหมัก

รอบการหมัก	ปริมาณกรดเมื่อ การหมักเริ่มต้น (%)	ปริมาณกรดเมื่อ การหมักสิ้นสุด (%)	ระยะเวลาในการสร้างกรด (วัน)	Acidification rate (ETA)**	
				%/d	%/h
1*	4.50	6.44	10	0.194	0.0081
2	4.46	7.90	8	0.430	0.0179
3	4.46	7.89	7	0.490	0.0204
4	4.52	8.41	5	0.778	0.0324
5	4.55	8.51	5	0.792	0.0330
6	4.50	8.32	4	0.955	0.0398
7	4.50	8.37	6	0.645	0.0269
8	4.50	8.27	5	0.754	0.0314
9	4.50	8.55	4	1.010	0.0421

* รอบการหมักที่ 1 เป็นระยะเวลาที่ “หัวเขื่อน้ำส้ม WK” ใช้ในการปรับตัวให้เข้ากับสภาพการหมัก

** Acidification rate (ETA) คำนวณจากปริมาณกรดที่สร้างขึ้นในรอบการหมักหารด้วยระยะเวลาที่ใช้ในการสร้างกรดในแต่ละรอบการหมัก

นอกจากที่ได้รับผลิตภัณฑ์ “Carrot Pomace Vinegar” แล้ว ผู้วิจัยได้ส่งตัวอย่างของหัวเขื่อน้ำส้มสายชู (Carrot Pomace Wine) และ “Carrot Pomace Vinegar” เพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเบต้าแคโรทีน ที่บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด ผลการวิเคราะห์ที่แสดงในภาพที่ 10 และ 11 พบว่า ทั้งหัวเขื่อน้ำส้มสายชูและ “Carrot Pomace Vinegar” ไม่สามารถตรวจพบเบต้าแคโรทีน ทั้งนี้เนื่องจากว่าเบต้าแคโรทีน ได้ถูกสกัดออกไปเป็นส่วนใหญ่ในช่วงขั้นตอนการเตรียมน้ำแครอท



ภาพที่ 9 ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากไวน์กากแครอท หรือ เรียกว่า “Carrot Pomace Vinegar”



บริษัท พิธีปฏิบัติทางอาหาร ประเทศไทย จำกัด
 101 หมู่ 10 ต.บางพลีใหญ่ อ.บางพลี จ.สมุทรปราการ 10540
 โทร : 02-027-5611, 02-027-5612, 02-027-5613, 02-027-5614, 02-027-5615, 02-027-5616, 02-027-5617, 02-027-5618, 02-027-5619, 02-027-5620
 Email : info@good-safety.com, sales@good-safety.com

Central Lab

วันที่ออก : 09 เมษายน 2553
 เลขที่รายงาน : TR 5309188
 หน้า : 1 / 1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อผู้ประกอบการ	ศูนย์อุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณเทพรัตนนคร มี ถนนตองกรู เขตคลองกระบุรี กรุงเทพมหานคร 10520
รายละเอียดตัวอย่าง	ไวน์แครอท
รหัสตัวอย่าง	5305382-001
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : ไวน์แครอท ภาชนะบรรจุ : ขวดแก้ว ฝาพลาสติก, จำนวน : 1 ขวด, น้ำหนักปริมาตร : 200 มิลลิกรัม อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	31 มีนาคม 2553
วันที่ทดสอบ	01 เมษายน 2553 - 09 เมษายน 2553

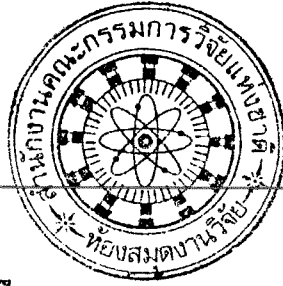
ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Vitamin A- Beta carotene	Not Detected	µg/100g	-	In house method based on Journal of AOAC International Vol. 80 No. 5 (1997)


 ผู้อำนวยการปฏิบัติการ
 ศูนย์อุตสาหกรรม

รายงานฉบับนี้มีผลเฉพาะกับตัวอย่างที่นำมาทดสอบเท่านั้น
 รายละเอียดการทดสอบจะขึ้นอยู่กับรายละเอียดของตัวอย่าง โดยไม่ได้รับความเห็นชอบจากสถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณเทพรัตนนคร
 E-MAIL: info@good-safety.com, sales@good-safety.com

ภาพที่ 10 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนในไวน์กากแครอท (Carrot Pomace Wine)





บริษัท พิธีปฏิบัติวิทยาศาสตร์ ประเทศไทย จำกัด
Science & Technology Practice (Thailand) Co., Ltd.
 36 ถนนสุขุมวิท แขวงคลองเตย เขตคลองเตย กรุงเทพฯ 10110
 Bangkok Branch : 88 Petchaburi Rd., Lumpini, Bangkok 10330 Thailand
 Tel : 0662 394 4288-9, 0662 340 8888-9 Ext. 104, 318 Fax : 0662 374 4895, 0662 340 8888-9 Ext. 200
 E-Mail: service@nisti.co.th

วันที่ออก : 09 เมษายน 2553
 เลขที่รายงาน (TR) : 5309109
 หน้า : 1 / 1

ใบรายงานผลการทดสอบ

ชื่อและที่อยู่ลูกค้า	คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี ถนนเทอดวงศ์ เขตท่าวหาราช กรุงเทพมหานคร 10530
รายละเอียดสินค้า	น้ำส้มสายชูหมัก
รหัสตัวอย่าง	5309109-002
ลักษณะและสภาพตัวอย่าง	ประเภทตัวอย่าง : น้ำส้มสายชูหมัก ภาชนะบรรจุ : ขวดแก้ว จำนวน : 2 ขวด, น้ำหนักบรรจุ : 330 มิลลิกรัม/ขวด อุณหภูมิ : อุณหภูมิห้อง, สภาพตัวอย่างปกติ
วันที่รับตัวอย่าง	31 มีนาคม 2553
วันที่ทดสอบ	01 เมษายน 2553 - 09 เมษายน 2553

ผลการทดสอบ

รายการทดสอบ	ผลการทดสอบ	หน่วย	LOD	วิธีทดสอบอ้างอิง
Vitamin A, Beta carotene	Not Detected	µg/100g	-	In house method based on Journal of AOAC International Vol. 80, No. 5 (1997)


ผู้แทนผู้มีอำนาจลงนาม
(นางสาว) จุฬพรพร

รายงานฉบับนี้เป็นเอกสารที่ออกให้เพื่อใช้ในการทดสอบเท่านั้น
 รายงานผลการวิเคราะห์เป็นเอกสารลับ ไม่ควรเปิดเผยต่อสาธารณชนโดยไม่ได้รับอนุญาตจากทางบริษัท
 PNF-QP-24-01-001 R252106511F51

ภาพที่ 11 ผลการวิเคราะห์ปริมาณเบต้าแคโรทีนในน้ำส้มสายชูจากแครอท (Carrot Pomace Vinegar)