# วิธีการทดลอง

## เชื้อจุลินทรีย์

### เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* M30

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการหมักไวน์ คือ เชื้อยีสต์ *Saccharomyce cerevisiae* M30 ซึ่งต่อไปในรายงานจะเรียกว่า "**เชื้อยีสต์ M30**" เป็นเชื้อยีสต์ในกลุ่มเชื้อยีสต์ตกตะกอน (Flocculate yeast) ซึ่งได้รับอนุเคราะห์จาก ดร.จรูญ คำนวนตา อดีตผู้อำนวยการ สกว. ฝ่ายอุตสาหกรรม และ ศ.ดร. สาวิตรี ลิ่มทอง ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

ในการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ทำโดยการเขี่ย"**เชื้อยีสต์ M30**" ที่เลี้ยงในอาหาร MY agar slant นาน 24 ชั่วโมง ที่อุณหภูมิห้อง ลงในอาหารเหลว MY 100 มล. นำไปเขย่าที่ความเร็วรอบ 100 rpm นาน 24 ชั่วโมง เพื่อใช้เป็นหัวเชื้อในการหมักไวน์ต่อไป

### แบคทีเรีย *Acetobacter aceti* WK

หัวเชื้อที่ใช้ คือ *A. aceti* WK (ซึ่งต่อไปจะเรียกว่า "**หัวเชื้อน้ำส้ม WK**") เป็นหัวเชื้อน้ำส้มสายชูที่คัดเลือกและปรับปรุงตั้งแต่ปี พ.ศ. 2545 - ปัจจุบัน ที่ห้องปฏิบัติการเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

## การผลิตไวน์จากกากแครอท

ทำการหมักไวน์กากแครอทโดยใช้กากแครอทในปริมาณ 5% (Krusong and Vichitraka, 2009) ปรับสภาพความหวานในน้ำหมักเท่ากับ 20% pH เท่ากับ 5.5 และเติมแอมโมเนียมไดไฮโดรเจนฟอสเฟต 0.05% และแมกนีเซียมซัลเฟต 0.2% (ดัดแปลงจาก Kumnuanta and Vongsuvanlert, 1982) จากนั้นนำไปผ่านการฆ่าเชื้อด้วย KMS ความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม เป็นเวลา 6 ชั่วโมง แล้วจึงนำไปหมักด้วย"**เชื้อยีสต์ M30**" เป็นเวลา 5-7 วัน ที่อุณหภูมิ 30-32 องศาเซลเซียส

เมื่อการหมักสิ้นสุดให้นำน้ำไวน์ที่ได้ไปผ่านขั้นตอนการพาสเจอไรส์ก่อนที่จะนำไปใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชูต่อไป

## การปรับสภาพ "หัวเชื้อน้ำส้ม WK" ให้เหมาะสมกับการหมักไวน์กากแครอท

นำสารละลายไวน์กากแครอทที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% มาปรับสภาพด้วยการเติมน้ำส้มสายชูในปริมาณกรดอะซิติก 4.5% ก่อนที่นำไปเลี้ยง **"หัวเชื้อน้ำส้ม WK"** ที่อุณหภูมิห้อง (30-32 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 7-15 วัน ก่อนที่จะนำ**"หัวเชื้อน้ำส้ม WK"** ไปถ่ายต่อเนื่องกันเป็นเวลา 3 เดือน

## การหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์กากแครอท

ทำการปรับสภาพน้ำไวน์กากแครอทด้วยน้ำส้มสายชูหมักให้มีความเข้มข้นของกรดอะซิติก 4.5% ปริมาณแอลกอฮอล์ 3.5% และเติมยีสต์สกัด 0.5% (วราวุฒิ ครูส่ง, Unpublished data) ก่อนที่จะถ่าย **"หัวเชื้อน้ำส้ม WK"** ที่ผ่านการปรับสภาพให้เหมาะสมกับไวน์กากแครอทแล้ว ทำการหมักในถังหมัก"ระบบการหมักผสมน้ำหมักเข้ากับอากาศ" ขนาด 50 ลิตร ทำการหมักแบบ Semi-continuous fermentation ตามวิธีการของ Krusong *et al.* (2007) ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

ทำการติดตามการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ด้วยเครื่อง Ebulliometer พร้อมทั้งวัดค่าความเป็นกรด(ในรูปของกรดอะซิติก) ด้วยการไตเตรชั่นตามวิธีการของ AOAC (1995) ตลอดระยะเวลาการหมัก

**การวิเคราะห์ปริมาณเบต้า-แคโรทีนในผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากกากแครอท (Carrot pomace vinegar)**

จัดส่งตัวอย่างน้ำไวน์และน้ำส้มสายชูจากกากแครอทเพื่อวิเคราะห์หาปริมาณเบต้า-แคโรทีนไปยัง บริษัท ห้องปฏิบัติการกลาง (ประเทศไทย) จำกัด

**การวิเคราะห์ทางสถิติ**

ทำการทดลอง 3 ซ้ำ โดยวางแผนการทดลองแบบ CRD ทำการหาค่าเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation) โดยวิธีวิเคราะห์ความแตกต่างทางสถิติด้วยโปรแกรม SPSS (Statistical Package for Social Science)