

3.6 ถ่ายทอดเทคโนโลยีองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัยสู่กลุ่มเป้าหมาย

#### 4. ทฤษฎี สมมุติฐาน (ถ้ามี) และกรอบแนวความคิดของโครงการวิจัย

4.1 วัสดุเหลือทิ้งสามารถนำมาผลิตเป็นอาหารที่มีมูลค่าเพิ่มได้

4.2 เศษกล้วยเป็นวัสดุเหลือทิ้งจากการผลิตผลิตภัณฑ์จากกล้วย ซึ่งเป็นทรัพยากรต้นทุนของชุมชนที่มีอยู่แล้ว สามารถนำกลับมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตน้ำส้มสายชูได้เป็นการลดขยะที่ก่อให้เกิดมลพิษในสิ่งแวดล้อม และเพิ่มมูลค่าให้กับวัสดุเหลือทิ้ง

4.3 น้ำส้มสายชู (vinegar) เป็นผลิตภัณฑ์ที่ผลิตมาจากกระบวนการหมัก

โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลวจากเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Acetobacter* ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดอะซิติกในสภาพที่มีออกซิเจน

4.4 การลดปัญหาที่ก่อให้เกิดมลพิษต่อสิ่งแวดล้อม เป็นการลดปัญหาทางด้านสาธารณสุข

4.5 ถ่ายทอดเทคโนโลยีองค์ความรู้ที่ได้จากการวิจัย สู่กลุ่มเป้าหมายเป็นการให้ความรู้แก่กลุ่มเป้าหมาย เพื่อให้บรรลุวัตถุประสงค์สูงสุดของโครงการ

#### 5. การทบทวนวรรณกรรม/สารสนเทศ (information) ที่เกี่ยวข้อง

##### 5.1 น้ำส้มสายชู

น้ำส้มสายชู (vinegar) หรือกรดอะซิติก (acetic acid) เป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่ง

ผลิตมาจากกระบวนการหมัก โดยเฉพาะอย่างยิ่งกระบวนการหมักในสภาพอาหารเหลวน้ำส้มสายชูรู้จักกันมาตั้งแต่สมัยโบราณเช่นเดียวกับไวน์ การค้นพบเกิดจากการปนเปื้อนของเชื้อแบคทีเรียในสกุล *Acetobacter* ซึ่งก่อให้เกิดปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในไวน์ให้เป็นกรดอะซิติกในสภาพที่มีออกซิเจนทำให้ไวน์มีรสเปรี้ยว ดังนั้นจึงทำให้เรียกผลิตภัณฑ์นี้ว่า “น้ำส้มสายชู : vinegar” มาจากภาษาฝรั่งเศสว่า “vinaigre” ซึ่งหมายความว่าไวน์เปรี้ยว (sour wine) นั่นเอง

### 5.1.1 คุณสมบัติของน้ำส้มสายชู

คุณสมบัติของน้ำส้มสายชูที่เป็นเครื่องปรุงอาหาร จะต้องเป็นของเหลวที่ปราศจากสีและสิ่งเจือปน ในกรณีที่มีสีจะต้องเป็นสีของวัตถุดิบที่ใช้เท่านั้น นอกจากนี้แล้วปริมาณของตัวทำละลาย (solutes) ต่าง ๆ ในน้ำส้มสายชูจะต้องขึ้นอยู่กับสารประกอบต่าง ๆ ที่มีอยู่ในวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก ส่วนคุณสมบัติของน้ำส้มสายชู เช่น ความหนาแน่น (density) จุดเดือด (boiling point) จุดเยือกแข็ง (freezing point) ความตึงผิว (surface tension) และความหนืด (viscosity) เป็นต้น อาจจะมีมากหรือน้อยเมื่อเปรียบเทียบกับคุณสมบัติดังกล่าวของน้ำบริสุทธิ์ขึ้นกับความเข้มข้นของกรดอะซิติก และชนิดของวัตถุดิบที่ใช้เป็นสำคัญ ค่า pH ของน้ำส้มสายชูควรอยู่ระหว่าง 2-3.5

### 5.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู

วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู (raw material use in vinegar production)

สามารถแบ่งออกได้ดังนี้

5.1.2.1 ผลไม้ เช่น องุ่น แอปเปิ้ล ส้ม แพร์ เป็นต้น

5.1.2.2 ผัก และพืชหัวใต้ดิน ที่มีแป้งเป็นองค์ประกอบหลัก เช่น มันเทศ มันฝรั่ง

และ มันสำปะหลัง ทั้งนี้แป้งที่มีอยู่ในผักและพืชหัวใต้ดินจะต้องถูกนำมาผ่านการแปรสภาพ (pretreatment) เพื่อเปลี่ยนเป็นน้ำตาลเสียก่อน

5.1.2.3 ธัญพืชต่าง ๆ เช่น ข้าวบาร์เลย์ ข้าวไรย์ ข้าวมอลต์ ข้าวสาลี ข้าวเหนียว ข้าวเจ้า และข้าวโพด เป็นต้น

5.1.2.4 วัตถุดิบพวกน้ำตาล เช่น กากน้ำตาล น้ำผึ้ง น้ำอ้อย และน้ำเชื่อม เป็นต้น

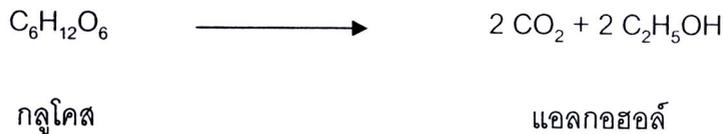
5.1.2.5 แอลกอฮอล์ เพื่อใช้ในการหมักโดยตรง เช่น แอลกอฮอล์เจือจาง แอลกอฮอล์ที่สูญเสียสภาพธรรมชาติแล้ว (denature ethyl alcohol) รวมถึง น้ำทิ้งจากโรงงานเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เช่น โรงงานเบียร์ ซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอล์เหลืออยู่

วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตกรดอะซิติกหรือน้ำส้มสายชูนี้จะเป็นตัวบ่งชี้ถึงคุณภาพของน้ำส้มสายชูที่ได้ ดังนั้นในการผลิตจึงจำเป็นต้องเลือกใช้วัตถุดิบที่มีคุณภาพ เช่น ถ้าใช้ผลไม้เป็นวัตถุดิบ ผลไม้จะต้องสุกและแก่จัด แต่ถ้าไวน์หรือแอลกอฮอล์เป็นวัตถุดิบ ไวน์หรือแอลกอฮอล์นั้นจะต้องสะอาด ใส และปราศจากสิ่งปนเปื้อน เป็นต้น

### 5.1.3 กลไกการผลิตน้ำส้มสายชู (mechanism in vinegar production)

กลไกการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาล มี 2 ขั้นตอนด้วยกัน คือ

5.1.3.1 การหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจนและอาศัยเชื้อยีสต์ในสกุล *Saccharomyces cerevisiae* var. *ellipsoideus* ดังสมการที่แสดงอย่างง่าย ๆ คือ



อย่างไรก็ตาม ในความจริงแล้ว การหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาลนี้ต้องอาศัยปฏิกิริยาหลายขั้นตอนประกอบกันอย่างต่อเนื่อง รวมทั้งจะเกิดผลพลอยได้หลายชนิด เช่น

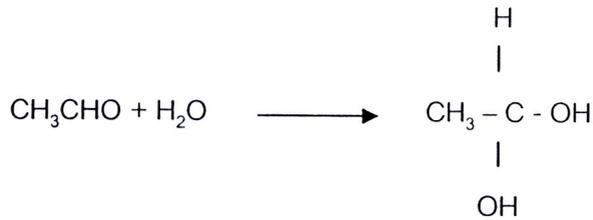
กลีเซอรอล รวมทั้งกรดอะซิติกอีกด้วย แต่มีในปริมาณน้อย

5.1.3.2 การเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม acetic acid bacteria ทำการหมักในสภาพมีอากาศ สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นแบ่งออกเป็น 3 ขั้นตอน ดังนี้

(1) ขั้นตอนแรก เป็นการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นอะเซตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์แอลกอฮอล์ ดีไฮโดรจีเนส (alcohol dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยาดังนี้



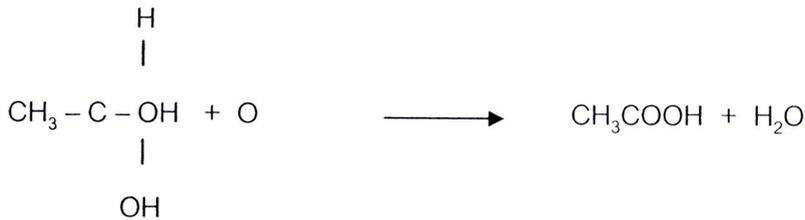
(2) ขั้นตอนที่สอง เป็นการเปลี่ยนอะเซทัลดีไฮด์ให้เป็นไฮเดรตอะเซทัลดีไฮด์ (hydrate acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์ อะเซทัลดีไฮด์ ดีไฮโดรเจเนส (acetaldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้



อะเซทัลดีไฮด์

ไฮเดรต อะเซทัลดีไฮด์

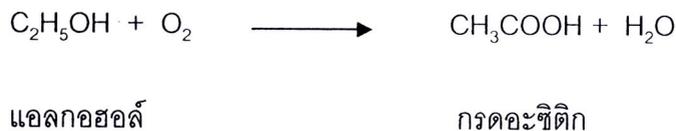
(3) ขั้นตอนที่สาม เป็นขั้นตอนการสร้างกรดอะซิติก โดยที่เกิดปฏิกิริยาการส่งโปรตอน 2 ตัวของ ไฮเดรต อะเซทัลดีไฮด์ ไปยังอะตอมของออกซิเจนเกิดกรดอะซิติกออกมา ทั้งนี้โดยอาศัยเอนไซม์ อัลดีไฮด์ ดีไฮโดรเจเนส



ไฮเดรต อะเซทัลดีไฮด์

กรดอะซิติก

อย่างไรก็ตามสามารถที่จะสรุปปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกได้ดังนี้



นอกจากนี้แล้วการสังเคราะห์กรดอะซิติก อาจเกิดขึ้นได้โดยอาศัยปฏิกิริยาการรวมตัวของอะเซทัล- ดีไฮด์ 2 โมเลกุล เราเรียกปฏิกิริยานี้ว่า Cannizzaro reaction ดังแสดงในสมการ



มักจะเติมอาหารเสริม เช่น มอลท์สกัด (malt extract) หรือยีสต์แห้ง (dried yeast) ความเข้มข้นไม่เกิน 0.2 กรัมต่อน้ำหมัก 1 ลิตร ทั้งนี้เพื่อก่อให้เกิดการหมักอีกอย่างรวดเร็ว ในกรณีที่มีการหมักถูกทำให้หยุดหรือชะงัก เนื่องจากขาดความเข้มข้นของแหล่งพลังงาน (powder supply) ที่ใช้ในการทำงานของอุปกรณ์ต่าง ๆ ของถังหมัก

นอกจากสารอาหารต่าง ๆ ที่ใช้เติมลงไปให้น้ำหมักแล้ว สิ่งที่เป็นต้องคำนึงถึงอีกก็คือ น้ำที่ใช้ในการเตรียมน้ำหมัก (mashes) นั้น จะต้องเป็นน้ำที่สะอาดปราศจากสิ่งปนเปื้อน ไม่มีสี ไม่มีกลิ่น และไม่มีอนุภาคของสารที่กระจายอยู่หรืออาจตกลงมาในน้ำหมักได้ นอกจากนี้แล้วน้ำที่ใช้นี้จำเป็นต้องอย่างยิ่งที่จะต้องแยกเอาเกลือแร่ต่าง ๆ ออกมาก่อน (demineralized) แล้วจึงเติมเกลือแร่ที่ต้องการลงไปภายหลัง อย่างไรก็ตาม ในบางครั้งน้ำที่ใช้ อาจเป็นน้ำประปาที่ใช้ตามบ้านเรือน ก็จำเป็นต้องนำไปผ่านการกำจัดคลอรีนออกไปเสียก่อน มิฉะนั้นอาจก่อให้เกิดผลกระทบต่อเชื้อแบคทีเรียที่ใช้ในการผลิตกรดอะซิติกได้

#### 5.2.3.2 เชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้อง (acetic acid-producing microorganism)

ในการผลิตน้ำส้มสายชู ถ้าใช้วัตถุดิบประเภทต่าง ๆ ที่ไม่ใช่แอลกอฮอล์จะต้องมีการนำวัตถุดิบนั้นมาหมักให้ได้แอลกอฮอล์ก่อนด้วยเชื้อยีสต์ จากนั้นจึงนำเอาแอลกอฮอล์ที่ได้มาใช้ในการหมักเพื่อผลิตกรดอะซิติกอีกต่อหนึ่ง โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติกได้ ดังนั้นเชื้อจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในการผลิตกรดอะซิติก แบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

##### (1) ยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตกรดอะซิติก หรือน้ำส้มสายชูเป็นชนิดเดียวกับที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ ทั้งนี้เพราะเราต้องการที่จะได้แอลกอฮอล์เพื่อใช้เป็นวัตถุดิบในการหมักด้วยแบคทีเรียต่อหนึ่ง อย่างไรก็ตามในปัจจุบันได้มีการคัดเลือกยีสต์สำหรับผลิตแอลกอฮอล์เพื่อนำไปผลิตกรดอะซิติกโดยตรง เช่น ในกรณีของการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์หรือ wine vinegar ยีสต์ที่ใช้ คือ *Saccharomyces ellipsoideus* ซึ่งเป็นเชื้อที่คัดเลือกขึ้นมาให้หมักไวน์ และได้ น้ำส้มสายชูที่มีกลิ่นและรสชาติ เมื่อนำไวน์นั้นมาหมักที่อุณหภูมิ 25-30 องศาเซลเซียส

นอกจากนี้แล้วยังมียีสต์ที่สามารถใช้หมักแอลกอฮอล์เพื่อเป็นวัตถุดิบในการหมัก น้ำส้มสายชูอีกหลายสายพันธุ์ โดยอยู่ในสกุล *Saccharomyces* เช่นเดียวกัน ได้แก่

*S. cerevisiae*, *S. diastaticus* และ *S. carlsbergensis* เป็นต้น

(2) แบคทีเรียในกลุ่มที่ผลิตกรดอะซิติก

แบคทีเรียที่มีบทบาทในการผลิตกรดอะซิติก หรือน้ำส้มสายชูอยู่ในสกุล *Acetobacter* โดยแต่เดิมค้นพบเชื้อชนิดนี้จากไวน์ที่เกิดรสเปรี้ยว เชื้อ *Acetobacter* มีลักษณะเซลล์มีรูปร่าง รูปไข่ (ellipsoidal-shaped) หรือรูปแท่ง (rod-shaped) มีขนาด 0.6-0.8 x 1.0-3.0 ไมโครเมตร เซลล์อาจจะอยู่เป็นเซลล์เดี่ยว หรืออยู่เป็นคู่ หรืออยู่เป็นเส้นสาย

สำหรับคุณสมบัติของเชื้อในสกุล *Acetobacter* พบว่าเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดอะซิติกได้ คือ *Acetobacter* และ *Gluconobacter* แต่ต่างกันตรงที่ *Acetobacter* ผลิตขึ้นมากกว่า *Gluconobacter*

เชื้อ *Acetobacter* ที่ในอุตสาหกรรมการผลิตน้ำส้มสายชูจำเป็นจะต้องได้รับการคัดเลือก มาเพื่อให้ได้คุณสมบัติที่ดี ดังนี้

- ก. สามารถทนต่อความเข้มข้นของกรดอะซิติกในระดับสูง
- ข. สามารถทนต่อความเข้มข้นทั้งหมดของกรดอะซิติกและแอลกอฮอล์ที่มีอยู่ในน้ำหมัก (total concentration) ได้สูง
- ค. ต้องการสารอาหารเพิ่มเติมเพียงเล็กน้อย
- ง. ไม่ก่อให้เกิดปฏิกิริยา overoxidation ซึ่งจะเปลี่ยนกรดอะซิติกให้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำ ในช่วงการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก (ปฏิกิริยาออกซิเดชัน) นี้ไม่ขึ้นกับการเพิ่มจำนวนเซลล์ (cell multiplication) ของเชื้อ *Acetobacter* คือ หลังจากเซลล์หยุดการเจริญเติบโตแล้วเซลล์จะเปลี่ยนแอลกอฮอล์ ให้เป็นกรดอะซิติกในช่วง

ระยะเวลาหนึ่งเท่านั้น จนกระทั่งความเข้มข้นของกรดอะซิติกสูงสุดแล้ว เซลล์จะตายอย่างรวดเร็ว และทำให้ปฏิกิริยาออกซิเดชันหยุดลงทันทีเช่นกัน

#### 5.2.4 ชนิดและราคาของน้ำส้มสายชู

พระราชบัญญัติอาหาร ปี พ.ศ.2522 ได้กำหนดให้น้ำส้มสายชูเป็นอาหารควบคุมเฉพาะ จึงบังคับว่าต้องมีฉลาก โดยให้ใช้อักษรที่แสดงชนิดผลิตภัณฑ์เป็น “ช” ดังจะเห็นอักษรที่แสดงในเครื่องหมาย อย. เป็น “ผช” และ “สช” สำหรับผลิตภัณฑ์ที่ผลิตในประเทศและสั่งเข้าจากต่างประเทศตามลำดับ

กฎหมายได้แบ่งผลิตภัณฑ์นี้ออกเป็น 3 ชนิด คือ



##### 5.2.4.1 น้ำส้มสายชูหมัก เป็นการนำวัตถุดิบที่

เหมาะสม เช่น ธัญพืช ผัก ผลไม้ น้ำตาล หรือกากน้ำตาลมาหมักกับส่าเหล้า แล้วนำมาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชูตามวิธีผลิต

##### 5.2.4.2 น้ำส้มสายชูกลั่น ผลิตจากแอลกอฮอล์บริสุทธิ์ ซึ่งหาซื้อได้จากโรงงานผลิต

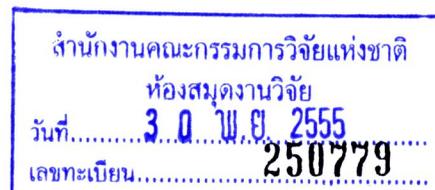
สุราหรือเอทานอล ควบคุมสภาวะการหมักและผลิตกรดน้ำส้มได้ 10-12% ใน 1 วัน แต่เครื่องมืออุปกรณ์อุปกรณ์เชื้อน้ำส้ม นำเข้ามาจากต่างประเทศ

##### 5.2.4.3 น้ำส้มสายชูเทียม ซึ่งได้จากการเอากรดน้ำส้มมาทำให้เจือจาง

ถึงแม้ว่าน้ำส้มสายชูจะเป็นเครื่องปรุงรสที่มีกลิ่นและรสที่รุนแรงจากตัวกรดอะซิติก แต่น้ำส้มสายชูทั้งสามชนิดก็ยังมี ความแตกต่างในแง่รสชาติ จนสามารถสังเกตเห็นน้ำส้มสายชูหมักมีกลิ่น รส ที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตามชนิดวัตถุดิบเริ่มต้นที่ใช้ผลิต เช่น ธัญพืช ผลไม้ เป็นต้น เสน่ห์ของผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูที่ผ่านการหมัก คือ สารอื่นๆที่ทำให้เกิดกลิ่นรส ร่วมกับกรดอะซิติกนั่นเอง โดยมากมักมีสีน้ำตาล ซึ่งอาจเกิดจากการหมักและแต่งสีด้วยคาราเมล ประกอบกัน

ส่วนน้ำส้มสายชูกลั่นมีกลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์ลดลงตามวัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตเหมือนกัน คือ แอลกอฮอล์กลั่น ซึ่งปกติชนิดกลั่นจะมีคุณภาพใกล้เคียงกัน

น้ำส้มสายชูเทียมผลิตจากกรดน้ำส้มเข้มข้นที่ค่อนข้างบริสุทธิ์ และไม่ได้ผ่านการหมัก จึงมีรสชาติเป็นกรดอะซิติกแท้มากที่สุด



ราคาของผลิตภัณฑ์เหล่านี้จึงขึ้นกับเอกลักษณ์ของผลิตภัณฑ์เป็นหลัก

- น้ำส้มสายชูหมักมีราคาสูงที่สุด คือประมาณ 60 บาทต่อลิตร
  - น้ำส้มสายชุกลิ้น (ในประเทศ) มีราคาประมาณ 16-22 บาทต่อลิตร
- นอกจากนี้ยังพบว่าน้ำส้มสายชุกลิ้นที่สั่งเข้าจากต่างประเทศมีราคาสูงถึง 70-120 บาทต่อลิตร
- น้ำส้มสายชูเทียมมีราคาต่ำสุดคือประมาณ 6-7 บาทต่อลิตร

### 5.3 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สิริพร แก้วสุริยะ (2527) พบว่าการทำน้ำส้มสายชูหมักจากสับปะรด เป็นการนำวัตถุดิบที่มีมากในท้องถิ่นจังหวัดลำปางมาแปรรูป โดยการหมักวิธีธรรมชาติและการใช้เครื่องหมัก ใช้น้ำสับปะรดความหวานเริ่มต้น 10 และ 20 องศาบริกซ์ ความเป็นกรดต่าง 4.0 ใช้เวลาหมัก 45 วัน ได้ไวน์มีปริมาณแอลกอฮอล์ เฉลี่ยร้อยละ 8.8 และ 12.6 ตามลำดับ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ย 6.8 และ 6.3 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ความเป็นกรดต่างเฉลี่ย 2.34 และ 2.91 ตามลำดับ นำไวน์ที่ได้ไปหมักเป็นน้ำส้มสายชูโดยวิธีธรรมชาติ ให้กระบวนการเกิดขึ้นอย่างช้าๆ เป็นเวลา 16 สัปดาห์ ได้น้ำส้มสายชูซึ่งมีกรดน้ำส้มเฉลี่ยร้อยละ 4.11 และ 4.27 ตามลำดับ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ย 12.3 และ 13.1 องศาบริกซ์ ตามลำดับ น้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักโดยใช้เครื่องหมักใช้เวลาหมัก 24 ชั่วโมง พบว่ามีกรดน้ำส้มเกิดขึ้นอย่างรวดเร็วเฉลี่ยร้อยละ 4.11 และ 4.12 ตามลำดับ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเฉลี่ย 11.3 และ 12.4 องศาบริกซ์ ตามลำดับ น้ำส้มสายชูหมักที่นำมีสีเหลืองใส รสเปรี้ยวถึงเปรี้ยวจัดมาก จากการเปรียบเทียบกรรมวิธีการหมักพบว่า คุณภาพของน้ำส้มสายชูที่ได้มีคุณภาพใกล้เคียงกับการหมักโดยธรรมชาติและประหยัดเวลาในการหมักมากกว่า แต่สามารถผลิตได้ในปริมาณมาก

นันทนิตย์ คงวัน (2541) ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักโดยใช้ระบบแบบฟักด์เบด วัสดุตัวกลางที่ใช้คือ PVC raching rings การหมักแบ่งออกเป็น 2 ขั้นตอน กล่าวคือ ขั้นตอนแรกเป็นการหมักแอลกอฮอล์ในสภาวะไม่ใช้อากาศ จากน้ำที่บีบจากเปลือกสับปะรด โดยเชื้อยีสต์ในสกุล *Saccharomyces cerevisiae* ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากขั้นตอนนี้เรียกว่า “น้ำสา” ซึ่งจะได้ปริมาณของแอลกอฮอล์ในสารละลายสูงสุดร้อยละ 13 โดยปริมาตร เมื่อใช้เวลาการหมัก 7 วัน ส่วนขั้นตอนที่

2 เป็นการหมักกรดน้ำส้ม (กรดอะซิติก) จากน้ำสาในสภาวะมีอากาศ โดยเชื้อแบคทีเรียสกุล *Acetobacter aceti* ในถังหมักแบบฟีดแบดที่มีการป้อนสารละลายจากทางด้านบนในขณะที่ให้อากาศตลอดเวลาในลักษณะพ่นฝอยจากทางด้านล่างของถังหมัก ผลการทดลองพบว่า การใช้ระบบหมักแบบกึ่งต่อเนื่อง ที่มีอัตราส่วนของปริมาณน้ำสา กับปริมาณเชื้อน้ำส้มเริ่มต้นเท่ากับ 1:1 และเติมสารประกอบฟอสเฟตพวก  $\text{NH}_4\text{H}_2\text{PO}_4$  ลงในน้ำสา ร้อยละ 0.5 จะได้ความเข้มข้นของกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่าร้อยละ 4 น้ำหนักโดยปริมาตร ในระยะเวลาการหมัก 5 วัน น้ำส้มสายชูหมักที่ได้มีลักษณะใส สีเหลืองทอง และมีกลิ่นหอม

มาลัย บุญรัตนกรกิจ และคณะ (2548) ได้ศึกษาการแปรรูปน้ำมะพร้าว น้ำหอมเป็นน้ำส้มสายชูหมัก ซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ที่มีมูลค่าและอายุการเก็บนานกว่ามะพร้าวผลสด โดยศึกษากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำมะพร้าว น้ำหอมแบบครบวงจร คือ ศึกษาการผลิตและการเก็บรักษาหัวเชื้อน้ำส้มสายชูด้วยน้ำมะพร้าว น้ำหอม การผลิตไวน์จากน้ำมะพร้าว น้ำหอม การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำมะพร้าว น้ำหอม ได้ศึกษาองค์ประกอบของสูตรอาหารและกรรมวิธีการเพาะเลี้ยงที่เหมาะสมต่อการผลิตน้ำส้มสายชู ผลการศึกษาพบว่าสามารถเพาะเลี้ยงและเก็บรักษาหัวเชื้อน้ำส้มสายชูหมักในอาหารน้ำมะพร้าว น้ำหอมที่เติม yeast extract ได้นานกว่า 3 เดือน โดยมีเซลล์มีชีวิตที่  $10^4$  cfu/ml และใช้ในการหมักได้ดี ส่วนการผลิตน้ำส้มสายชูโดยเชื้อ *Acetobacter aceti* พบว่าสามารถผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์น้ำมะพร้าว น้ำหอมได้กรดน้ำส้มร้อยละ 6.5 - 7.0 ภายในเวลา 5 วัน และมีอัตราการการเปลี่ยนไวน์เป็นน้ำส้มสายชูได้ที่ระดับใกล้เคียง 1 : 1 ปัจจุบันมีการนำน้ำส้มสายชูหมักมาใช้ประโยชน์หลายอย่าง ทั้งใช้เป็นเครื่องปรุงอาหารและเป็นส่วนผสมของอาหารเพื่อสุขภาพ ดังนั้นการแปรรูปน้ำมะพร้าว น้ำหอมนำมาผลิตเป็นน้ำส้มสายชู จึงเป็นแนวทางหนึ่งที่สามารถเพิ่มมูลค่ามะพร้าว น้ำหอมได้

สิทธิสน บวรสมบัติ และคณะ (2550) พบว่ากระบวนการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูมะเขี๋ยง จำเป็นต้องใช้กระบวนการหมัก 2 ขั้นตอน คือ การหมักไวน์ด้วยยีสต์ และกาทหมักกรดอะซิติกด้วยเชื้อแบคทีเรียอะซิติก พบว่าเมื่อใช้ *Saccharomyces cerevisiae* เป็นกล้าเชื้อที่ความเข้มข้น 10 13 และ 16 % ตามลำดับ ภายในเวลา 5 วัน เมื่อนำไวน์ที่ได้มาหมักต่อด้วย *Acetobacter aceti* โดยใช้ปริมาณกล้าเชื้อ 3 ระดับ คือ 5 10 และ 15 % พบว่า ปริมาณกรดอะซิติกที่ได้มีค่า 0.42 3.21 และ 3.29 % ตามลำดับ ภายในระยะเวลา 10 วัน การผลิต

กรดอะซิติกจากไวน์มะเขือเทศโดยใช้เครื่องกวนที่ความเร็วรอบ 200 400 และ 600 rpm จะได้ปริมาณกรดอะซิติก 2.38 2.37 และ 1.72 ตามลำดับ ผลิตภัณฑ์ที่ได้จะถูกทำให้ใสขึ้นโดยใช้เครื่องปั่นเหวี่ยง ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิต่ำ และกรองด้วยกระดาษกรอง สำหรับการทดสอบการยอมรับของผู้บริโภคเมื่อปรุงแต่งด้วยสารให้ความหวาน 5 ชนิด น้ำเชื่อมข้าวโพด น้ำผึ้ง น้ำตาลกรวด และน้ำตาลทรายขาว ได้รับคะแนนการยอมรับด้านสีในระดับ 5.96 – 6.24 น้ำผึ้งได้รับคะแนนการยอมรับด้านกลิ่น 6.24 น้ำตาลกรวดได้รับคะแนนการยอมรับด้านรสชาติ 5.28 และน้ำผึ้งและน้ำตาลกรวดได้รับคะแนนการยอมรับด้านความชอบโดยรวมอยู่ในช่วง 5.60 และ 5.16 ตามลำดับ

สุวรรณยา เม็งเกร็ด และคณะ (2551) ได้ทำการศึกษาการผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากละมุด โดยศึกษาอัตราส่วนระหว่างเนื้อละมุดต่อน้ำที่ 1:2 1:3 และ 1:4 พบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมในการทำไวน์ละมุด คือ 1:4 มีค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์เท่ากับ 10.4% เมื่อนำมาผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากละมุดด้วยการหมักในถาดสแตนเลส (Rapid tray method) จาก *Acetobacter acetii* สายพันธุ์ 102 ในเวลาหมัก 3 วัน น้ำส้มสายชูที่ได้มีค่าเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติกเท่ากับ 5.76% จากนั้นนำมาผลิตเครื่องดื่มน้ำส้มสายชูหมักจากละมุดผสมน้ำลูกหม่อนและทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส พบว่าน้ำส้มสายชูหมักจากละมุด 5% ผสมน้ำส้มสายชูหมัก 3% และฟรุกโตสไซรัป 8% ผู้บริโภคให้คะแนนความชอบทางด้านสี รสชาติ กลิ่น ความเปรี้ยวของน้ำส้มสายชูและความชอบโดยรวมมากที่สุด

นอกจากนี้แล้วยังมีน้ำส้มสายชูอีกหลายชนิด เช่น fruit vinegar (ทำจากผลไม้) sugar vinegar (ใช้น้ำเชื่อมหรือกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบ) เป็นต้น

ที่กล่าวมาจะเห็นได้ว่าน้ำส้มสายชูเป็นผลิตภัณฑ์ชนิดหนึ่งที่ได้จากการหมักและมีผลิตภัณฑ์แทบทุกประเทศทั่วโลก แต่อย่างไรก็ตามพัฒนาการทางด้านกระบวนการหมักที่ใช้ก็ยังจำเป็นที่จะต้องพัฒนาอยู่ตลอดไป เพื่อให้ประสิทธิภาพของการผลิตสูงขึ้นกว่าที่เป็นอยู่ ซึ่งจะทำให้ค่าใช้จ่ายในการผลิตต่ำลงให้มากที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้นั่นเอง



## 6. แผนการดำเนินงานวิจัย

โดยใช้วัตถุดิบเหลือทิ้ง คือ เศษกล้วย ศึกษากรรมวิธีการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากเศษกล้วยและ อย่างครบวงจร ซึ่งงานวิจัยประกอบด้วย 3 ขั้นตอน ในการศึกษาดังต่อไปนี้

### 6.1 ศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการผลิตไวน์จากน้ำเศษกล้วย

#### 6.1.1 อัตราส่วนเนื้อต่อน้ำ

#### 6.1.2 ปริมาณกล้าเชื้อยีสต์

โดยศึกษาอัตราส่วนของเนื้อกล้วยจากวัตถุดิบ 2 แหล่งคือ เศษกล้วยและ ต่อน้ำ 4 อัตราส่วน ได้แก่ 1:2 1:3 1:4 และ 1:5 และปริมาณกล้าเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR5049 (*S. cerevisiae*) 3 ระดับ เพื่อหาอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์ (2x4x3 Factorial in CRD = 24 treatment) วิเคราะห์ ปริมาณแอลกอฮอล์ ความหวาน ค่า pH ทำการคัดเลือกตัวอย่างที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูง

### 6.2 ศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสมในการผลิตกรดอะซิติก

#### 6.2.1 ศึกษาปริมาณของกล้าเชื้อแบคทีเรียที่เหมาะสม

โดยใช้กล้าเชื้อแบคทีเรีย *Acetobacter aceti* TISTR 103 (*A. aceti*) 3 ระดับ ได้แก่ 5 10 และ 15 % ซึ่งมีวิธีการดังนี้ นำน้ำไวน์ส่วนเสที่มีแอลกอฮอล์ประมาณ 10% แล้วทำการเติมกล้าเชื้อ *A. aceti* ลงไปโดยให้มีปริมาตร 5 10 และ 15 % แล้วทำการหมักเป็นเวลา 48 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าความหวาน ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่า pH ปริมาณกรดอะซิติก และการเจริญของแบคทีเรียด้วยเทคนิค spread plate วิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ ความหวาน ค่า pH และค่าเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติก ทำการคัดเลือกตัวอย่างที่มีค่าเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติกสูงสุด

#### 6.2.2 ศึกษากระบวนการหมักน้ำส้มสายชูที่เหมาะสม

นำหัวเชื่อน้ำส้มสายชูเติมในไวน์จากเศษกล้วยในข้อ 6.1 โดยแปรระดับหัวเชื่อน้ำส้มสายชู 3 ระดับ ได้แก่ 10 15 และ 20% เพื่อหมักเป็นน้ำส้มสายชู ตรวจวิเคราะห์ค่าความหวาน ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เหลืออยู่ และค่าเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติก จนมีค่าเปอร์เซ็นต์กรด

ปริมาณ 4% (ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ฉบับที่ 204, 2543) ทำการคัดเลือกตัวอย่างที่มีเปอร์เซ็นต์กรดอะซิติกสูงสุด ทำให้น้ำส้มสายชูใส โดยนำน้ำส้มสายชูที่หมักได้ผลดีที่สุดมาทำการแยกตะกอนออกด้วยวิธีการกรองผ่านแผ่นกรอง การปั่นเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 6,000 rpm นาน 2 นาที และวิธีการเก็บรักษาไว้ในห้องเย็นนาน 1 สัปดาห์ จากนั้นนำแต่ละวิธีมาตรวจสอบความขุ่นของเหลวที่แยกได้ด้วยเครื่อง Nephelometer

### 6.3 ศึกษาการผลิตและการเก็บรักษาหัวเชื้อที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชู

เพื่อให้สามารถผลิตหัวเชื้อยีสต์และแบคทีเรียที่ใช้ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูที่สามารถนำมาใช้ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูสำหรับชุมชนได้

#### 6.3.1 สูตรและเทคโนโลยีการผลิตลูกแป้งยีสต์

ปั้นลูกแป้งด้วยแป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำ 59 มิลลิลิตร เครื่องเทศ 1 กรัม กระเทียม 12 กรัม ข่าแก่บด 36 กรัม และเติมกล้าเชื้อ *S. cerevisiae* บ่มที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง แล้วอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำลูกแป้งยีสต์ที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค spread plate แล้วนำไปทดลองหมักน้ำส้มสายชู

#### 6.3.2 สูตรและเทคโนโลยีการผลิตลูกแป้งแบคทีเรีย

ปั้นลูกแป้งด้วยแป้งข้าวเจ้า 100 กรัม น้ำมะพร้าว 80-85 มิลลิลิตร พริกไทยขาว 3 กรัม ดอกจันทร์ 3 กรัม ลูกจันทร์ 1 กรัม เติมกล้าเชื้อ *A. aceti* และกรดโปรปิโอนิก 0.2% บ่มที่อุณหภูมิห้อง 48 ชั่วโมง แล้วอบที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส นาน 24 ชั่วโมง นำลูกแป้งแบคทีเรียที่ได้ไปตรวจวิเคราะห์การเจริญของเชื้อจุลินทรีย์ด้วยเทคนิค spread plate แล้วนำไปทดลองหมักน้ำส้มสายชู

### 6.4 การประเมินคุณค่าทางเศรษฐศาสตร์ของผลิตภัณฑ์

ประเมินค่าทางเศรษฐศาสตร์ของผลิตภัณฑ์ที่ได้จากงานวิจัย 3 ชนิด ได้แก่ น้ำส้มสายชูหมักจากเศษกล้วย ลูกแป้งยีสต์ และ ลูกแป้งแบคทีเรีย

6.5 เปรียบเทียบคุณภาพน้ำส้มสายชูที่ผลิตจากลูกแบ่งที่ผลิตได้ เปรียบเทียบกับน้ำส้มสายชูหมักในทางการค้า

โดยวิเคราะห์คุณลักษณะต่าง ๆ ดังต่อไปนี้

6.5.1 ปริมาณกรดน้ำส้มต้องไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตรที่อุณหภูมิ 27 องศาเซลเซียส

6.5.2 แอลกอฮอล์ตกค้าง (Residual alcohol) ไม่เกิน 0.5%

6.5.3 ไม่มีกรดกำมะถัน (sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

6.5.4 ใส และไม่มีตะกอน