**ชื่อเรื่องวิทยานิพนธ์** การผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็ง

**ผู้เขียน** นางสาวกุลวดี คตชนะเลขา

**ปริญญา** วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (ชีววิทยา)

**อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์** รองศาสตราจารย์ อภิญญา ผลิโกมล

## บทคัดย่อ

ได้ศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็งโดยใช้ยีสต์หมักน้ำตาลในน้ำเวย์ให้เป็นเอทธานอล จากนั้นใช้ acetic acid bacteria ออกซิไดซ์เอทธานอลเป็นกรดอะซิติก โดยคัดเลือก acetic acid bacteria จากตัวอย่างผลไม้ 7 ชนิด ได้แก่ สับปะรด เงาะ องุ่น ลำไย เสาวรส มะละกอ และมังคุด โดยใช้เทคนิค enrichment culture เลือกโคโลนีที่เปลี่ยนสีอาหาร bromocresol purple ethanol agar จากสีม่วงเป็นสีเหลืองมาตรวจสอบลักษณะทางสัณฐานวิทยา พบว่ามีทั้งหมด 35 ไอโซเลทจากตัวอย่างสับปะรด เงาะ ลำไย และมะละกอที่เป็นแบคทีเรียแกรมลบรูปแท่ง เมื่อนำเชื้อทั้ง 35 ไอโซเลทมาทดสอบคุณสมบัติการเกิดปฏิกิริยา overoxidation บน bromocresol green ethanol agar เพื่อบ่งบอกเชื้อในระดับจีนัส พบ *Acetobacter* 27 ไอโซเลท เลือกไอโซเลท K7, K8, K10 และ K12 ซึ่งให้ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลางของวงสีเหลืองกว้างที่สุดในระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อศึกษาความสามารถในการผลิตกรดอะซิติก โดยเลี้ยงใน ethanol-yeast extract medium บนเครื่องเขย่าความเร็ว 120 รอบ/นาที อุณหภูมิ 30°C เป็นเวลา 14 วัน แล้วไทเทรตน้ำหมักพบว่าไอโซเลท K10 ที่แยกได้จากสับปะรดผลิตกรดได้สูงสุดในวันที่ 7 เท่ากับ 13.37 g/l และเมื่อนำ K10 มาทดสอบคุณสมบัติทางชีวเคมีบางประการ พบว่าเป็น *Acetobacter aceti* K10

เมื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็ง พบว่า *Saccharomyces cerevisiae* V1116 และ *Kluyveromyces marxianus* TISTR 5116 ให้ปริมาณแอลกอฮอล์ใกล้เคียงกันประมาณ 8.5% ในวันที่ 15 ของการหมัก จึงเลือก *Saccharomyces cerevisiae* TISTR V1116 หมักแอลกอฮอล์จากน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็งปริมาตร 30 ลิตร บ่มตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 15 วัน จากนั้นเติมเชื้อตั้งต้น *Acetobacter aceti* K10 ลงไปในน้ำหมัก 1.5 ลิตร ปริมาณ 3%, 6% และ 9% ของน้ำหมักเพื่อหมักกรดอะซิติก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 15 วัน เมื่อเปรียบเทียบกับ *Acetobacter aceti* TISTR 103 ซึ่งเป็นสายพันธุ์อ้างอิง พบว่า

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

ปริมาณเชื้อตั้งต้น *Acetobacter aceti* K10 6% สามารถผลิตน้ำส้มสายชูหมักที่มีกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4% (w/v) และปริมาณกรดสูงสุดในน้ำเวย์เต้าหู้และน้ำเวย์เนยแข็งเท่ากับ 4.44% และ 4.56% (w/v) ตามลำดับ เมื่อใช้ เชื้อตั้งต้น *Acetobacter aceti* K10 9% นอกจากนี้ น้ำส้มสายชูหมักที่ได้จะมีสี กลิ่น และรสชาติเฉพาะตัวของน้ำเวย์ที่เป็นสารตั้งต้น

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

**Thesis Title** Vinegar Production from Soybean Curd Whey and Cheese Whey

**Author** Ms. Kulwadee Khotchanalekha

**Degree** Master of Science (Biology)

**Thesis Advisor** Assoc. Prof. Abhinya Plikomol

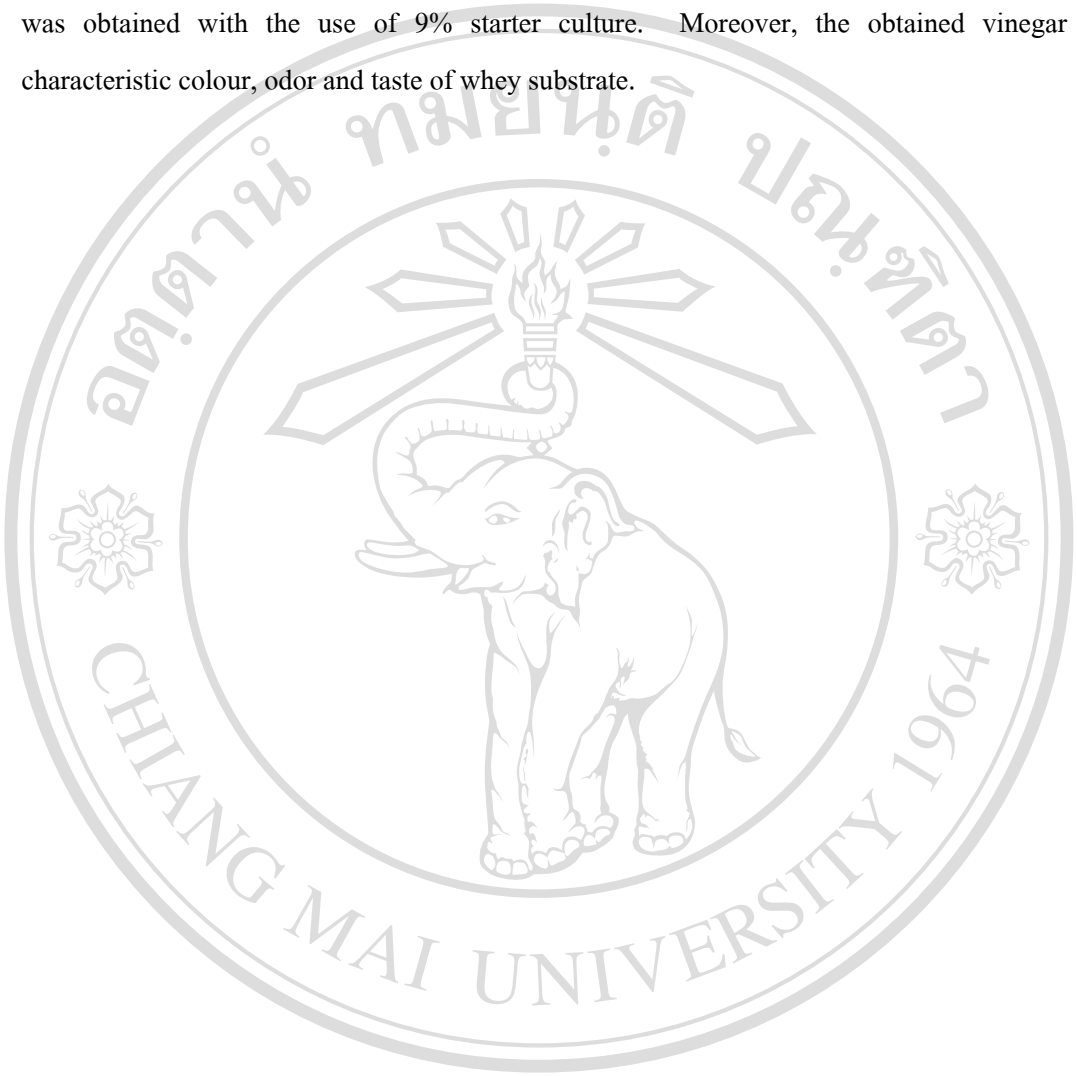
## Abstract

Vinegar production from soybean curd whey and cheese whey was investigated. The sugar in whey was first fermented into ethanol by yeast and further oxidized to acetic acid by acetic acid bacteria. Acetic acid bacteria were isolated from 7 kinds of fruit namely pineapple, rambutan, grape, longan, passion fruit, papaya and mangosteen by enrichment culture technique. A total of 35 Gram negative rods isolated from pineapple, rambutan, longan and papaya that changed the indicator in bromocresol purple ethanol agar from purple to yellow were selected. Overoxidation test on bromocresol green ethanol agar revealed that 27 isolates were member of the genus *Acetobacte*r. Isolate K7, K8, K10 and K12 which gave the widest yellow zone within 24 hours were selected for the production of acetic acid. They were cultivated in ethanol-yeast extract medium on a shaking incubator at 120 rpm, 30$^{o}$C for 14 days and the culture broth were titrated. Isolate K10 from pineapple gave the highest acetic acid yield of 13.37 g/l on day 7. Examination of some biochemical properties revealed that it was *Acetobacter aceti* K10.

Optimization for vinegar production from soybean curd whey and cheese whey revealed that *Saccharomyces cerevisiae* V1116 and *Kluyveromyces marxianus* TISTR 5116 both gave about the same yield of alcohol, approximately 8.5% within 15 days. *Saccharomyces cerevisiae* V1116 was then selected for alcoholic fermentation of 30 L of soybean curd whey and cheese whey at room temperature for 15 days. *Acetobacter aceti* K10 was then added into 1.5 L of the fermented broth at 3%, 6% and 9% and incubates at room temperature for 15 days. *Acetobacter aceti* TISTR 103 was used as control for comparison. It was found that 6% starter culture of

ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved

*Acetobacter aceti* K10 yielded a vinegar with at least 4% (w/v) acetic acid content. The highest acetic acid of 4.44% and 4.56% (w/v) from soybean curd whey and cheese whey, respectively was obtained with the use of 9% starter culture. Moreover, the obtained vinegar had characteristic colour, odor and taste of whey substrate.



ลิขสิทธิ์มหาวิทยาลัยเชียงใหม่
Copyright© by Chiang Mai University
All rights reserved