



## ปัญหาพิเศษ

การผลิตสาโทโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์กับเอนไซม์ทางการค้า

(Sato Production by Pure Cultures and Commercial Enzyme Preparations)

จัดทำโดย

นางสาวอัญชลี สระสาดี

รหัส 43040670

นายอุทาน บุญมี

รหัส 43040671

โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร

**Faculty of Agricultural Industry**

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า  
เจ้าคุณทหารลาดกระบัง  
กรุงเทพฯ 10520

**King Mongkut's Institute of  
Technology Ladkrabang  
Bangkok 10520 Thailand**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



ใบรับรองปัญหาพิเศษ

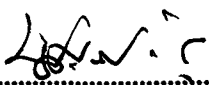
เรื่อง

การผลิตสาโทโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้า  
(Sato Production by Pure Cultures and Commercial Enzyme Preparations)

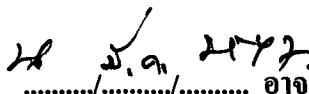
โดย

นางสาวอัญชลี สระสาดี รหัส 43040670  
นายอุทาน บุญมี รหัส 43040671

ได้รับพิจารณาเห็นชอบจาก

  
.....

(ดร. บุญเทียม พันธุ์เฟื่อง)

  
..... อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

19742

**วิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง**

**การผลิตสาคูโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์กับเอนไซม์ทางการค้า**

(Sato Production by Pure Cultures and Commercial Enzyme Preparations)

นางสาวอัญชลี สระสาลี

รหัส 43040670

นายอุทาน บุญมี

รหัส 43040671



T096896

**โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร**

**สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง**

**เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)**

ป.พ.

พ.ศ. 2547

๑5๖๓

๒54๗

เลขหมู่.....**96896**

เลขทะเบียน.....**5 ๖๖๗ 2009**

วัน เดือน ปี.....

ที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อัญชลี สระสาถิ และ อุทาน บุญมี 2547 : การผลิตสาโทโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์กับเอนไซม์ทางการค้า (Sato Production by Pure Cultures and Commercial Enzyme Preparations). ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาอุตสาหกรรมเกษตร โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง : ดร. บุญเทียม พันธุ์เพ็ง, 54 หน้า

การผลิตสาโทในปัจจุบันมักพบปัญหาในความไม่แน่นอนในการผลิต เนื่องจากหัวเชื้อที่เป็นลูกแป้งซึ่งมีความไม่แน่นอน การใช้เชื้อบริสุทธิ์จึงเป็นทางเลือกที่ดี การผลิตโดยใช้เชื้อราบริสุทธิ์ ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสที่ผลิตทางการค้าในการหมักสาโทในสูตรต่างๆ ผลการวิเคราะห์ในด้านปริมาณกรดและแอลกอฮอล์ของสาโทที่ผลิตได้พบว่า สูตรที่ใช้เชื้อราบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.15 มีคุณภาพที่ดีกว่าสูตรอื่น แต่พิเศษ ไม่มีความแตกต่างจากสูตรอื่นๆอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ การทดสอบทางประสาทสัมผัสเปรียบเทียบกับสาโทสูตรควบคุมพบว่า สีและกลิ่นของสาโทที่ผลิตได้ไม่แตกต่างแต่รสชาติแตกต่างจากสาโทสูตรควบคุม โดยสาโทที่ได้มีความเปรี้ยวมากกว่าสาโทสูตรควบคุม ทำให้มีผลต่อการยอมรับของผู้ทดสอบ อย่างไรก็ตามผลทดสอบสาโทที่ผลิตได้อยู่ในเกณฑ์สาโทคุณภาพดีที่ผู้บริโภคยอมรับได้

..... อัญชลี .....  
..... อุทาน .....  
.....

.....  
.....

..... ๒๖ มี.ค. ๒๕๔๗ .....

ลายเซ็นต์นักศึกษา

ลายมือชื่ออาจารย์ที่ปรึกษา

วัน/เดือน/ปี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## กิตติกรรมประกาศ

ในการทำปัญหาพิเศษ เรื่อง “การผลิตสาโทโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์กับเอนไซม์ทางการค้า” คณะผู้จัดทำขอกราบขอบพระคุณ ดร.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง เป็นอย่างสูงที่ได้กรุณาให้เกียรติเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ และให้เวลาอย่างมากในการทำปัญหาพิเศษ ซึ่งมีส่วนอย่างมากในการทำให้ปัญหาพิเศษเรื่องนี้เสร็จสมบูรณ์ได้ด้วยดี และขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร.วราวุฒิ ทรูสง และ ผศ.ดร.ประภาพร ขอไพบุลย์ ที่กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่ามาเป็นกรรมการสอบปัญหาพิเศษนี้ กราบขอบพระคุณ บิดา และมารดา เป็นอย่างยิ่งที่คอยให้การสนับสนุนไม่ว่าในด้านกำลังใจและกำลังทรัพย์ และขอขอบใจ เพื่อน ๆ ที่คอยให้ความช่วยเหลือและให้กำลังใจตลอดมา



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อ	ก.
กิตติกรรมประกาศ	ง.
สารบัญ	จ.
สารบัญตาราง	ช.
สารบัญรูปภาพ	ซ.
บทที่ 1.	
บทนำ	1.
วัตถุประสงค์	2.
บทที่ 2.	
วารสารปริทัศน์	3.
บทที่ 3.	
วิธีทดลอง	11.
3.1 เครื่องมือ	11.
3.2 อุปกรณ์	11.
3.3 สาเคมี	12.
3.4 วัตถุประสงค์และสารอาหาร	12.
3.5 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	14.
3.5.1 การเตรียมเชื้อรา	14.
3.5.2 การเตรียมเชื้อยีสต์ NK-6	15.
3.5.3 การผลิตสาโทจากลูกแป้ง	14.
3.5.4 การผลิตสาโทจากเชื้อราและยีสต์เอ็นไซม์	
ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส	15
3.5.5 การทดสอบทางประสาทสัมผัส	16.
บทที่ 4.	
ผลการทดลอง	17.
4.1 การติดตามผลการเปลี่ยนแปลงของสาโทขณะหมัก	17.
4.2 ผลการเปรียบเทียบองค์ประกอบของสาโทที่ผลิตได้	27.
4.3 ผลทดสอบทางประสาทสัมผัส	28.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 5.

สรุปลผลการทดลอง	30.
ข้อเสนอแนะ	31.
เอกสารอ้างอิง	32.
ภาคผนวก	34.
ภาคผนวก ก	35.
ภาคผนวก ข	39.
ภาคผนวก ค	45.
ประวัติผู้เขียน	54.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
1 แสดงองค์ประกอบของเสาโทที่ผลิตได้	28.
2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสเสาโทที่ผลิตได้	29.



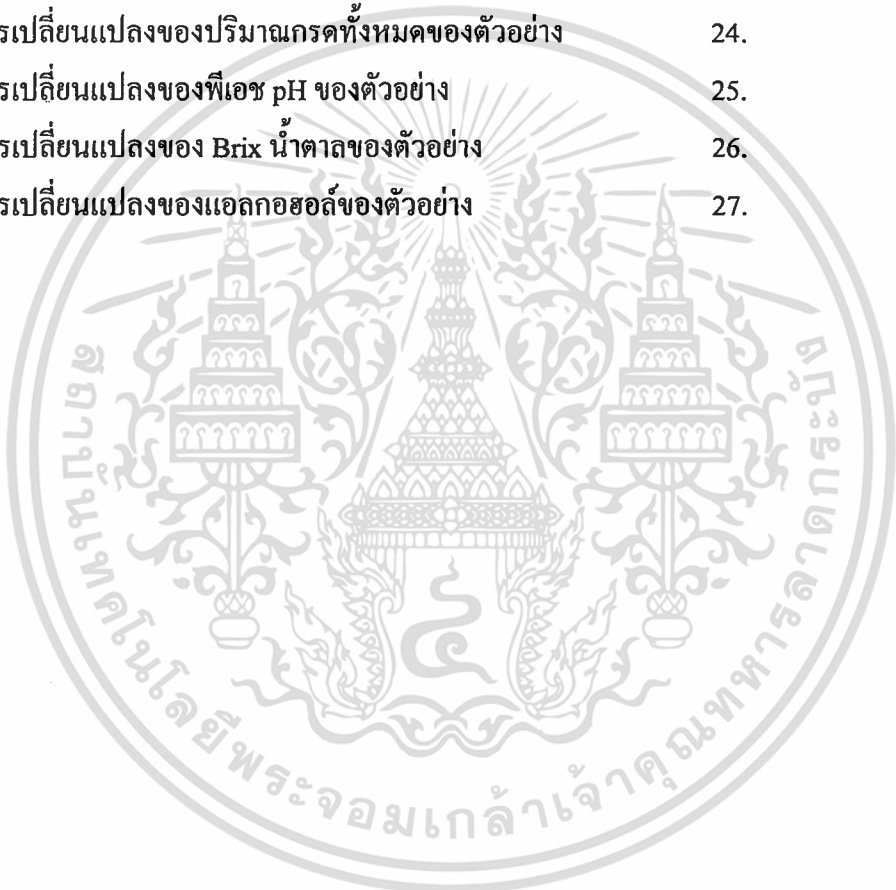
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## สารบัญรูปภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แสดงการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลโดยราในสภาวะที่ต้องการอากาศ	9.
2	แสดงกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์จากการหมัก โดยใช้ยีสต์ในสภาวะไร้อากาศ	10
3	เอ็นไซม์กลูโคอะไมเลส	13.
4	เอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส	13.
5	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0	17.
6	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05	18.
7	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10	18.
8	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15	19.
9	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05	19.
10	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10	20.
11	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์ แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15	20.
12	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอ็นไซม์	

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05	21.
13	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์	
	แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10	21.
14	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์	
	แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15	22.
15	กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ของสาโทที่ผลิตโดยลูกแป้ง	22.
16	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่าง	24.
17	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของพีเอช pH ของตัวอย่าง	25.
18	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของ Brix น้ำตาลของตัวอย่าง	26.
19	กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์ของตัวอย่าง	27.



## บทที่ 1

### บทนำ

สุราแช่พื้นเมืองของไทยประเภทสาโท เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักข้าว ไม่ว่าจะ เป็นข้าวเหนียวขาว ข้าวเหนียวดำ หรือแม้แต่ข้าวเจ้า โดยใช้ลูกแป้ง ซึ่งเป็นแหล่งของจุลินทรีย์หลาย ชนิด ประกอบไปด้วยรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ทั้งชนิดที่จำเป็นที่มีประโยชน์ต่อการหมัก และชนิดที่ไม่ จำเป็นที่ไม่มีประโยชน์ต่อการหมักอยู่ร่วมกันในสภาพของเซลล์ที่พัวพันและสปอร์ที่สามารถมีการเจริญ เติบโตได้ถ้าอยู่ในสภาวะที่เหมาะสมและเกิดกระบวนการหมัก โดยกลุ่มจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์จะทำ หน้าที่เปลี่ยนแปลงในข้าวให้เป็นน้ำตาลและเป็นแอลกอฮอล์ตามลำดับ การผลิตสาโทแบบดั้งเดิมของ ชาวบ้านเป็นการแสดงออกถึงภูมิปัญญาทางศาสตร์และศิลป์ แสดงถึงวัฒนธรรมการดื่มกินที่สืบทอด กันมาจากบรรพบุรุษ มีความเป็นเอกลักษณ์ในตัวตน มีประวัติความเป็นมา และเป็นส่วนหนึ่งของวิถี การดำรงชีวิตของชาวไทยกว่าร้อยละ 80 ที่อยู่ในภาคเกษตรกรรม ไม่ว่าจะอยู่ในภูมิภาคใดของประเทศ ไทยต่างก็มีรูปแบบและวิธีการผลิตสุราแช่ประเภทสาโทที่คล้ายคลึงกัน จะต่างไปที่ชื่อเรียกเท่านั้นที่จะ แตกต่างไปบ้างในแต่ละภูมิภาค เช่น ในภาคตะวันออกเฉียงเหนือ เรียก “เหล้าโท” “อุ” “ซ้าง” ภาค กลางเรียก “น้ำขาว” ภาคตะวันตกและภาคใต้ตอนบนเรียก “กระแช่” ซึ่งพ้องกับน้ำตาลเมาที่หมักจาก น้ำตาลสด อุปสรรคสำคัญสองประการที่ทำให้การผลิตสาโทขาดการพัฒนาคุณภาพ และรสชาติอัน เป็นมาตรฐานเดียวกัน ให้เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคตลอดระยะเวลาเก็บรักษาและบริโภค นอกเหนือ ไปจากประการที่ไม่สามารถรักษาคุณภาพและมาตรฐานของผลิตภัณฑ์ให้คงที่ได้ เนื่องจากวิธีการผลิต แม้ในปัจจุบันก็ยังคงการใช้หัวเชื้อในรูปของลูกแป้ง และประการที่สอง คือการไม่สามารถผลิตได้ อย่างอิสระเช่นเดิมตั้งแต่พุทธศักราช 2589 เป็นต้นมา เพราะเริ่มมีการจัดเก็บภาษีทั้งสองส่วน คือ ภาษี อุตสาหกรรม และภาษีการค้าภายใต้ความดูแลของกระทรวงอุตสาหกรรม การผลิตจะทำได้ก็ต่อเมื่อขอ อนุญาตตามกฎหมายเสียก่อน จึงทำให้อุตสาหกรรมการผลิตสาโทไม่ก้าวหน้าเท่าที่ควร ชาวบ้านทำได้ เพียงแอบลักลอบทำกินกันแต่ในครัวเรือนเพราะกลัวความผิด และยังต่อมากระทรวงการคลังได้ออกคำสั่ง รัชสมัยที่ 172/2534 เพิ่มข้อจำกัดทางกฎหมาย กำหนดวงเงินลงทุนจดทะเบียนจัดตั้งโรงงานในกิจการ สุราทั้งหมด ซึ่งรวมถึง “สุราแช่” อันหมายรวมถึง สาโท น้ำขาว อุ กระแช่ ที่ผลิตจากวัตถุดิบประเภท ข้าว และ “สุรา” ที่ผลิตจากวัตถุดิบประเภทโมลาส (molasses) ไปด้วยกัน ยิ่งเท่ากับเป็นการเพิ่มเงื่อนไข การผลิต ที่ต้องขอทั้งใบอนุญาตผลิต และใบขออนุญาตจำหน่าย ที่ชาวบ้านหรือบุคคลธรรมดาทั่วไป ไม่มีทุนทรัพย์พอที่จะผลิตได้ ข้อจำกัดดังกล่าวจึงปิดทางการผลิต และปิดทางการพัฒนาสาโท ให้ เติบโตในระดับอุตสาหกรรม ส่งผลให้สุราแช่พื้นเมืองของไทยชนิดนี้ไม่เป็นที่รู้จักและนิยมกัน โดยทั่ว ไป ยิ่งไปกว่านั้นผู้ประกอบการเข้าซื้อโรงงานการผลิตแต่เพียงรายแรก และรายเดียวของประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คือ โรงงานสุราไทยเดิม ต้องประสบกับปัญหาที่ทำให้อุตสาหกรรมดังกล่าวไปไม่รอด และต้องเลิกกิจการไปตั้งแต่ปี พ.ศ.2520 ด้วยสาเหตุสำคัญมาจากผลิตภัณฑ์ของโรงงานเสื่อมเสียในระยะเวลาอันรวดเร็ว กรรมวิธีในการผลิตไม่มีความแน่นอน ทำให้คุณภาพของผลิตภัณฑ์ในแต่ละรุ่นไม่คงที่ และไม่ได้รับการยอมรับจากผู้บริโภค ซึ่งจากนั้นเป็นต้นมาก็ไม่มีการผลิตสุราแช่ในระดับอุตสาหกรรมอีกเป็นเวลากว่า 22 ปี จนกระทั่งปัจจุบันได้มีการอนุญาตให้มีการผลิตสุราแช่ได้อย่างถูกต้องตามกฎหมาย จึงมีผู้ผลิตสาโทเพิ่มขึ้นเป็นจำนวนมาก ดังจะเห็นได้จากผลิตภัณฑ์ที่ออกสู่ท้องตลาดอย่างมากมาย ซึ่งปัญหาที่เกิดขึ้นจากกระบวนการผลิตแบบใช้ลูกแป้งก็คือ คุณภาพของสาโทไม่สามารถควบคุมให้มีความสม่ำเสมอ และคงตัวได้ ทำให้การควบคุมการผลิตเป็นไปอย่างลำบาก และยังมีผลต่อการยอมรับของผู้บริโภคด้วย ทั้งนี้เนื่องจากลูกแป้งที่ใช้เป็นหัวเชื้ออยู่ในลักษณะเชื้อผสม มีความหลากหลายทางชีวภาพด้านจุลินทรีย์สูงทั้งชนิดและจำนวน อีกทั้งเชื้อราที่อยู่ในลูกแป้งส่วนใหญ่จะผลิตเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Glucoamylase) เป็นส่วนใหญ่ ซึ่งเอนไซม์ชนิดนี้จะย่อยโมเลกุลของคาร์โบไฮเดรตที่เฉพาะปลายสายเท่านั้น ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยไม่ดีเท่าที่ควร ดังนั้นปัญหาพิเศษนี้จึงทำการทดลองผลิตสาโทโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ คือ *Rhizopus oryzae* และ ยีสต์ NK-6 ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส โดยต้องการจะเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิต และให้ผลิตภัณฑ์มีคุณภาพที่สม่ำเสมอกันทุกรุ่นการผลิต โดยเทียบกับสาโทที่ผลิตจากลูกแป้ง โดยเน้นที่ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้ ร่วมกับการทดสอบการยอมรับด้านประสาทสัมผัสของผู้บริโภคต่อผลิตภัณฑ์นี้

### วัตถุประสงค์

- 1.1 เพื่อศึกษาผลผลิตสาโทที่ผลิตจากลูกแป้งเทียบกับเชื้อบริสุทธิ์
- 1.2 เพื่อศึกษาผลของเอนไซม์ แอลฟา-อะไมเลส กลูโคอะไมเลส ต่อการผลิตสาโทโดยเชื้อรา กับเชื้อ NK-6 ในอัตราส่วนต่างๆ
- 1.3 เพื่อศึกษาเปรียบเทียบด้านประสาทสัมผัสของสาโทที่ผลิตได้

## บทที่ 2

### วารสารปริทัศน์

สาโท จัดเป็นสุราแช่พื้นเมืองดั้งเดิมประเภทหนึ่งของไทย หมักขึ้นมาจากวัตถุดิบข้าวเหนียวที่มีการผลิตกันอย่างอิสระ จนกระทั่งเริ่มมีการเก็บภาษีอุตสาหกรรมและภาษีการค้า และได้มาเป็นของรัฐบาลในรัชสมัยพระบาทสมเด็จพระมงกุฎเกล้าเจ้าอยู่หัวรัชกาลที่ 6 จนกระทั่งปัจจุบันได้มีการอนุญาตให้ผลิตสุราแช่ได้อย่างเสรี แต่ต้องมีการเสียภาษีอย่างถูกต้องตามกฎหมาย

ความหมายของคำว่าสุราแช่ในพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ.2493 มาตรา 4 ได้ให้คำนิยามได้ว่าสุราแช่ หมายความว่า สุราที่ไม่ได้กลั่นและให้ความหมายรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลับแล้ว แต่ยังมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกินสิบห้าดีกรี (สยามจดหมายเหตุ 2490)

การผลิตสาโทแบบดั้งเดิมที่ทำต่อเนื่องมาจนถึงปัจจุบันจะใช้ลูกแป้งหรือแป้งเชื้อราซึ่งเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ช่วยให้เกิดการหมัก ในนิยามของพระราชบัญญัติสุราฉบับเดียวกัน ได้ให้ความหมายของคำว่า ลูกแป้งไว้ว่า หมายถึง เชื้อสุรา แป้งเชื้อสุรา แป้งข้าวหมักหรือเชื้อใด ๆ เมื่อนำมาหมักกับวัตถุดิบหรือของเหลวอื่น ๆ แล้วสามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ที่ทำสุราได้ ลูกแป้งสุราจะแตกต่างจากลูกแป้งข้าวมักที่ชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ การทำลูกแป้งในแต่ละภูมิภาคจะมีกรรมวิธีและสูตรที่เป็นความลับแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่น และถ่ายทอดจากบรรพบุรุษต่อเนื่องกันมาเรื่อย ๆ ลูกแป้งอาจผสมสมุนไพรหรือเครื่องเทศหรือไม่ก็ได้ เป็นผลให้ผลิตภัณฑ์ไม่มีความคงที่

ปัจจัยที่เกี่ยวข้องกับคุณภาพของผลิตภัณฑ์แบบดั้งเดิมที่ใช้วัตถุดิบ คือ ข้าวเหนียว ลูกแป้ง กรรมวิธีการผลิต ซึ่งถือเป็นศาสตร์และศิลป์ จัดเป็นวัฒนธรรมเชิงภูมิปัญญาชาวบ้านที่ควรค่าแก่การยกย่อง นำมาศึกษาหาข้อมูลให้ลึกซึ้งและนำไปสู่การผลิตคืนให้สาโทเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ประจำชาติ เช่น สาเกของประเทศญี่ปุ่น ซึ่งวัตถุดิบที่สำคัญของการผลิตสาโทมีดังนี้

#### 2.1 ข้าวเหนียว

คุณค่าทางโภชนาการของข้าว

1. คาร์โบไฮเดรต ข้าวส่วนใหญ่มีคาร์โบไฮเดรต อยู่ระหว่างร้อยละ 70-80 ซึ่งเป็นแป้งเกือบทั้งหมด
2. โปรตีน มีโปรตีนเฉลี่ยร้อยละ 11 โปรตีนในข้าวเป็นโปรตีนที่ไม่สมบูรณ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ไขมัน มีน้อยในจมูกข้าว ไขมันในข้าวจะอยู่ในรูปของกรดไขมัน
4. วิตามิน ข้าวเป็นแหล่งที่อุดมไปด้วยวิตามิน
5. เกล็ดแร่ ข้าวมีเหล็ก และฟอสฟอรัสมาก แต่มีแคลเซียมน้อย จะพบว่าส่วนประกอบหลักของข้าวคือ แป้ง ภายในลิพโคพลาสต์ของเซลล์แป้งเป็นโมเลกุลใหญ่ จัดอยู่ในจำพวกน้ำตาลหลายชั้น โครงสร้างของแป้งประกอบด้วยกลูโคสหลายหน่วยมาเป็นสายยาว แป้งได้เป็น 2 ชนิด คือ

1. Amylose ประกอบด้วยกลูโคสสาย  $\alpha$ -1,4 glucosidic linkage 1,100-4,400 หน่วย เกาะกันเป็นลูกโซ่โดยไม่มีการแตกแขนง และให้ปฏิกิริยาการเกิดสีกับไอโอดีนเป็นสีน้ำเงิน Amylose มีน้ำหนักโมเลกุลต่ำ โดย 1 โมเลกุลของ non-reducing end group จะมี anhydroglucose อยู่ 100-800 หน่วย
2. Amylopectin ประกอบด้วยกลูโคส เกาะกันเป็นแขนง ๆ ที่ 1, 6 และ 1, 3 glucosidic linkages ละ 20 – 25 หน่วย เพิ่มเติมจากลูกโซ่ปกติ ทำให้โมเลกุลของ Amylopectin มีขนาดใหญ่กว่าโมเลกุลของ Amylose มาก และมีค่า degree of polymerize สูงถึงหนึ่งล้าน นอกจากนี้ยังให้ปฏิกิริยาการเกิดสีกับไอโอดีนเป็นสีม่วงน้ำตาล Amylopectin มีน้ำหนักโมเลกุลสูง โดย 1 โมเลกุลของ non-reducing end group จะมี anhydroglucose อยู่ 500-2,000

ประเทศไทยยังไม่มีงานวิจัยใดที่ทำการค้นคว้าคัดเลือกพันธุ์ข้าวสำหรับผลิตสาโท แต่มีรายงานในประเทศญี่ปุ่นที่ทำการคัดเลือกสายพันธุ์ข้าวเพื่อทำเหล้าสาเกของ Kodama (Kodama, 1970) ได้กล่าวถึงคุณสมบัติของพันธุ์ข้าวที่เหมาะสมในการผลิตเหล้าสาเกไว้ดังนี้

1. ต้องมีค่า unavailable polishing ratio น้อยที่สุดเท่าที่จะเป็นไปได้ unavailable polishing ratio หมายถึง ความแตกต่างระหว่างอัตราส่วนโดยน้ำหนักของเมล็ดข้าว 1,000 เมล็ด ภายหลังและก่อนการขัดสีข้าว ค่านี้จะแตกต่างกันประมาณ 0.5 – 7 %
2. ต้องมีความนุ่มของเมล็ดภายหลังการนึ่งสุก เพื่อให้ง่ายต่อการแทงเส้นใยของเชื้อราเข้าสู่เมล็ดข้าว
3. ต้องมีอัตราการดูดซึมน้ำได้มากและเร็วเมื่อนำไปแช่น้ำ ซึ่งข้าวที่มีคุณสมบัติแบบนี้เมื่อนำไปนึ่งจะทำให้เมล็ดข้าวอ่อนนุ่ม ง่ายต่อการย่อยใน mash โดยเอนไซม์ใน Koji นอกจากปริมาณแป้งที่มีอยู่ในข้าวแล้ว ราและยีสต์ต้องการสารอาหารที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโต และทวีจำนวนเซลล์ ในระหว่างการหมัก เช่น วิตามิน แร่ธาตุ ซึ่งสิ่งเหล่านี้มีอยู่แล้วในข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุราแช่พื้นเมืองไทยประเภทสาโท มีการผลิตในระดับภูมิปัญญาชาวบ้านมาเป็น ระยะเวลาานาน โดยใช้ข้าวเหนียวเป็นวัตถุดิบ และใช้ลูกแป้ง ซึ่งประกอบด้วย ยีสต์ รา และแบคทีเรีย ในการหมักโดยใช้ลูกแป้ง ปฏิกิริยาจะเกิด 3 ขั้นตอน คือ

1. กระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล (Saccharification) โดยราจะผลิตเอนไซม์ออกมาย่อย แป้งและเปลี่ยนเป็นน้ำตาล โดยเอนไซม์ที่ราสามารถผลิตได้ คือ Protease, Amylase และ Cellulase
2. กระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ เป็นขั้นตอนการหมักโดยยีสต์ ซึ่งจะทำหน้าที่ เปลี่ยนน้ำตาลที่ได้เป็นแอลกอฮอล์ เป็นสถานะที่ไม่ต้องการอากาศ แต่ควรมีออกซิเจน จำนวนเล็กน้อยประมาณ 0.7 มิลลิเมตรปรอท ซึ่งจะกระตุ้นการหมักของยีสต์ให้เกิดได้ดี และไม่ทำให้เกิดสถานะของเมตาบอลิซึมที่มี  $O_2$
3. กระบวนการเปลี่ยนแอลกอฮอล์เป็นกรด โดยเชื้อแบคทีเรียซึ่งจะทำให้สุราแช่กลายเป็นน้ำ ส้มสายชูได้ เพราะฉะนั้นในการใช้ลูกแป้ง ซึ่งเป็นเชื้อผสมในการผลิตสุราแช่จะทำให้มี ผลต่อผลิตภัณฑ์ คือ
  1. ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีคุณภาพไม่แน่นอน
  2. ไม่สามารถปรับปรุงประสิทธิภาพในหมักได้
  3. การขยายกำลังการผลิตให้สูงขึ้น เป็นไปได้ยาก
  4. เสี่ยงต่อการปนเปื้อนของเชื้อโรค หรือจุลินทรีย์ที่สร้างสารพิษ

## 2.2 ลูกแป้งและประวัติความเป็นมา

การผลิตสาโทแต่ดั้งเดิมใช้ลูกแป้งหรือแป้งเชื้อสุรา ซึ่งเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ช่วยให้เกิดการ หมักลูกแป้งของจีน มีชื่อเรียกว่า Chinese yeast, Chinese yeast cake หรือ chinese koji มีชื่อตามท้องถิ่นว่า “Chiu-yao”, “Tsiu-yah”, “Chiu-ping” เข้าใจว่าเป็นต้นแบบของลูกแป้งที่ต่อมาได้แพร่หลายไปสู่ ประเทศอื่น ๆ ในเอเชียตะวันออกเฉียงใต้ ได้แก่

“Ragi” หรือ “Raggi” ในประเทศมาเลเซีย

“Igorot” และ “Ifugao” ในประเทศอินโดนีเซีย

“Buboa” หรือ “Binakbok” ในเวียดนาม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การผลิตลูกแป้งของแต่ละประเทศ มีกรรมวิธีที่คล้ายคลึงกัน ต่างกันเพียงองค์ประกอบของวัตถุดิบ ขนาด รูปร่าง ตลอดจนชนิดและสายพันธุ์จุลินทรีย์ อาจมีการผสมกับเครื่องเทศหรือสมุนไพร อาทิ ลูกจันทร์ กระวาน กานพลู เพื่อช่วยยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการขณะเดียวกันก็ช่วยส่งเสริมการเจริญของจุลินทรีย์ที่ต้องการ และเสริมให้ essential oil กลิ่นรสในผลิตภัณฑ์ดีขึ้น

ลูกแป้งที่ผลิตในภาคกลางของประเทศไทยที่ อ.เสนา จ.พระนครศรีอยุธยา มีวิธีทำดังนี้ ใช้ปลายข้าวเหนียวบดละเอียดแล้วผสมกับเครื่องเทศ ได้แก่ ข่า ตะไคร้ และพริกแห้ง จากนั้นปั้นให้เป็นก้อนเล็กๆ ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1.5 เซนติเมตร นำมาเรียงบนภาชนะแบนและโปร่ง เช่น กระด้งไม้ไผ่ โรยด้วยผงลูกแป้งเดิมจนทั่ว คลุมด้วยผ้าขาวบางและบ่มในที่แห้งและเย็นประมาณ 1 สัปดาห์ เพื่อให้เชื้อมีการเจริญ เมื่อครบกำหนดก็นำไปผึ่งแดดให้แห้งเพื่อเก็บไว้ใช้ต่อไป

ลักษณะลูกแป้งที่ดีควรแห้ง มีน้ำหนักเบา มีกลิ่นหอมอ่อน ๆ ไม่มีกลิ่นเหม็นบูดหรือเหม็นเปรี้ยว เมื่อบีบดูจะต้องมีความร่วนละเอียด ภายในมีเส้นใยของเชื้อรากระจายอย่างสม่ำเสมอ และให้ประสิทธิภาพในการหมักเร็ว และมีปริมาณดีกรีสูง สำหรับเหล้าสาเก จะใช้ในลักษณะของเชื้อบริสุทธิ์ (Pure culture) ของเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ในลักษณะของ Japanese rice koji มีกรรมวิธีในการเตรียม ดังนี้ ใช้ข้าวญี่ปุ่น ซึ่งเป็นข้าวในกลุ่ม Japonica Type มีลักษณะของข้าวเป็นกิ่งข้าวเจ้าและข้าวเหนียวหนึ่งสูกเป็นสับสเตรต (substrate) เพาะเชื้อราบริสุทธิ์โดยไม่มีการผสมสมุนไพร หรือเครื่องเทศ

### 2.3 เอนไซม์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักสาโท

1. กลุ่มเอนไซม์อะไมเลส (Amylase) จากราที่ย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล Amylolytic enzyme
2. กลุ่มเอนไซม์ไซเมส (Zymase) จากยีสต์ที่ย่อยน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์

เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการหมักสาโท คือ อะไมเลส (Amylase) ที่ได้จากจุลินทรีย์ และเป็น Extracellular enzyme พบในธรรมชาติ สัตว์ เซลล์ของพืช และจากการสังเคราะห์โดยจุลินทรีย์ Amylase สามารถแบ่งชนิดตามลักษณะการย่อย (Action pattern) ได้เป็น 4 ชนิด

1. Alpha-amylase
2. Beta-amylase
3. Glucoamylase
4. Oligosaccharide hydrolase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่เอนไซม์ที่มีความสำคัญในการหมักสาโท คือ Alpha-amylase, Beta-amylase และ Gluco-amylase

Alpha-amylase พบในพืช สัตว์ และจุลินทรีย์ โดยทั่วไปมีน้ำหนักโมเลกุลประมาณ 50,000 และมี  $Ca^{2+}$  เป็นโคแฟกเตอร์เกาะติดแน่นกับโมเลกุลของเอนไซม์ สามารถ hydrolyse แบ่งที่  $\alpha$ -D-(1,4) linkage แบบ random เกิดผลิตภัณฑ์จากการ hydrolyse แบ่งชนิดได้ ดังนี้

- ถ้า hydrolyse ไม่สมบูรณ์ จะได้ limit dextrin, maltose และ glucose
- ถ้า hydrolyse สมบูรณ์ จะได้ maltose และ glucose

Beta-amylase พบในพืชชั้นสูงประเภทธัญพืชและมันเทศ สามารถ hydrolyse แบ่งที่  $\alpha$ -D-(1,4) linkage จาก non-reducing terminal bond ในแบบ stepwise (break alternate bond) แต่ไม่สามารถ hydrolyse หรือข้ามพันธะแบบ by pass ที่ต่อแบบ  $\alpha$ -D-(1,6) bond แล้ว ยังสามารถ hydrolyse อย่างสมบูรณ์ จะได้ maltose และ high molecular weight limit dextrin

Glucoamylase หรือในชื่ออื่น ๆ เช่น Amhioglucosidase หรือ Gamma-amylase (ปัจจุบันเลิกใช้ชื่อนี้แล้ว) พบครั้งแรกในจุลินทรีย์และพบว่าในเนื้อเยื่อของสัตว์ด้วยสามารถ hydrolyse แบ่งได้อย่างสมบูรณ์จาก non-reducing terminal bond ซึ่งนอกจากจะ hydrolyse  $\alpha$ -D-(1,4) bond แล้ว ยังสามารถ hydrolyse  $\alpha$ -D-(1,6) bond และ  $\alpha$ -D-(1,3) bond ได้ประสิทธิภาพสูงพอ ๆ กับ  $\alpha$ -D-(1,4) ด้วย ผลที่ได้จากการ hydrolyse อย่างสมบูรณ์ จะได้ D-glucose (Whistler R.C. and Paschall, E.F 1976)

#### 2.4 จุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์อะไมโลไลติก (Amyolytic enzyme)

แหล่งสำคัญ คือ แบคทีเรียตระกูล Bacillaceae ได้แก่ *Bacillus sp.* และ *Clostridium sp.* อาทิ *Bacillus subtilis*, *B. mesentericus*, *B. stearothermophilus*, *B. macerans*, *B. polymyxa* และ *Clostridium acetobutylicum* ส่วนเชื้อรา ได้แก่ *Aspergillus oryzae*, *A. niger*, *penicillium sp.*, *Monilia sp.* ในกลุ่ม Deuteromycetes และกลุ่มราใน Rhizopus groups ได้แก่ *Rhizopus sp.*, *Chlamydomucou sp.* และ *Mucor sp.* อาทิ *Rhizopus japonicus*, *R. tonkinensis*, *R. delemar*, *R. niveus*, *R. formosaensis var. multecesperus*, *R. chinensis*, *R. pseudochinensis*, *R. rhyzopodifermes*, *R. microsporus*, *F. niveus*, *R. arrhyzus*, *R. oryzae* และ *Chlamydomucor rouxii*, *Mucor rouxii*, *M. fragillis*, *M. javanicus* ในกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่นิยญาติให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Zygomycetes นอกจากนี้ ยีสต์ในสกุล Endomycopsis ได้แก่ *Endomycopsis fibuligera* แยกจาก Ragi มีคุณสมบัติสร้าง Extracellular high glucoamylase activity โดยพัชรา และคณะ (2520) ได้วิจัยคัดเลือก สายพันธุ์ยีสต์ที่ย่อยแป้งได้ดีจากแหล่งต่าง ๆ เช่น ลูกแป้ง ข้าวหมาก น้ำทิ้ง ดิน กากมันสำปะหลัง ฯลฯ ไว้ในรายงานของเขาวลัทธิ (เขาวลัทธิ, 2524) ว่าพบยีสต์ที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งได้ดี ได้แก่ *Endomycopsis fibuligera*, *E. durtonii*, *Endomycopsis sp.*, *Trichosporon varianlc.* *Trichosporon sp.* *Candida sp.*, *Sporobolomyces sp.*, *Torulopsis sp.*, *Torulopsis magjii*, *Torulopsis morvegica*, *Saccharomyces diastaticus*, *pichia sp.*, *pichia acuciae*, *Pichia farinosa* และ *Hansenular sp.*

### ลักษณะโดยทั่วไปของจุลินทรีย์ที่ต้องการคัดเลือก

1. เชื้อราย่อยแป้ง *Rhizopus oryzae* เป็นเชื้อราที่จัดอยู่ในคลาส Zygomycetes, order Mucorales และ family Mucoraceae มีลักษณะทาง Macroscopic คือ มีการเจริญอย่างรวดเร็ว ลักษณะไมซีเลียมระยะแรกมีความฟูคล้ายฟูฝ้ายหรือสำลี มีสีขาว ต่อมาจะเข้าสู่ระยะสร้างเซลล์สืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศ สีของโคโลนีจะเข้าขึ้นเป็นเหลืองน้ำตาลจนถึงสีเทา และมีลักษณะทาง Microscopic คือ เส้นใยเป็นแบบ non-septate hypha สืบพันธุ์โดยการสร้าง Sporangiospore จาก terminal sporangia ซึ่งมี columella เค่นชัด และมีการสร้าง Sporangiphore บน Stolon
2. ยีสต์หมักสาเก NK-6 เป็นยีสต์ที่ไม่สร้าง True mycelium แต่อาจจะสร้าง pseudomycelium สืบพันธุ์แบบไม่มีเพศและแบบมีเพศ แบบไม่มีเพศอาศัยวิธี multilateral budding แบบมีเพศจะสร้าง ascospore จำนวน 4 อันในถุง ascus (ในภาวะปกติ) asci ที่เจริญเต็มที่แล้วจะไม่แตกออก เซลล์มีลักษณะกลม รูปไข่

การคัดเลือกสายพันธุ์จุลินทรีย์มีหลักการดังนี้ คือ

1. สามารถทนต่อความเข้มข้นของสับสเตรทได้
2. ให้ผลิตภัณฑ์ได้ในปริมาณมากและเร็ว
3. สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์
4. มีความเสถียรทางพันธุกรรม
5. ไม่สร้างสารพิษและทนต่อสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี
6. ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสเป็นที่อมรับของผู้บริโภค (ยุพกนิษฐ์, 2536)

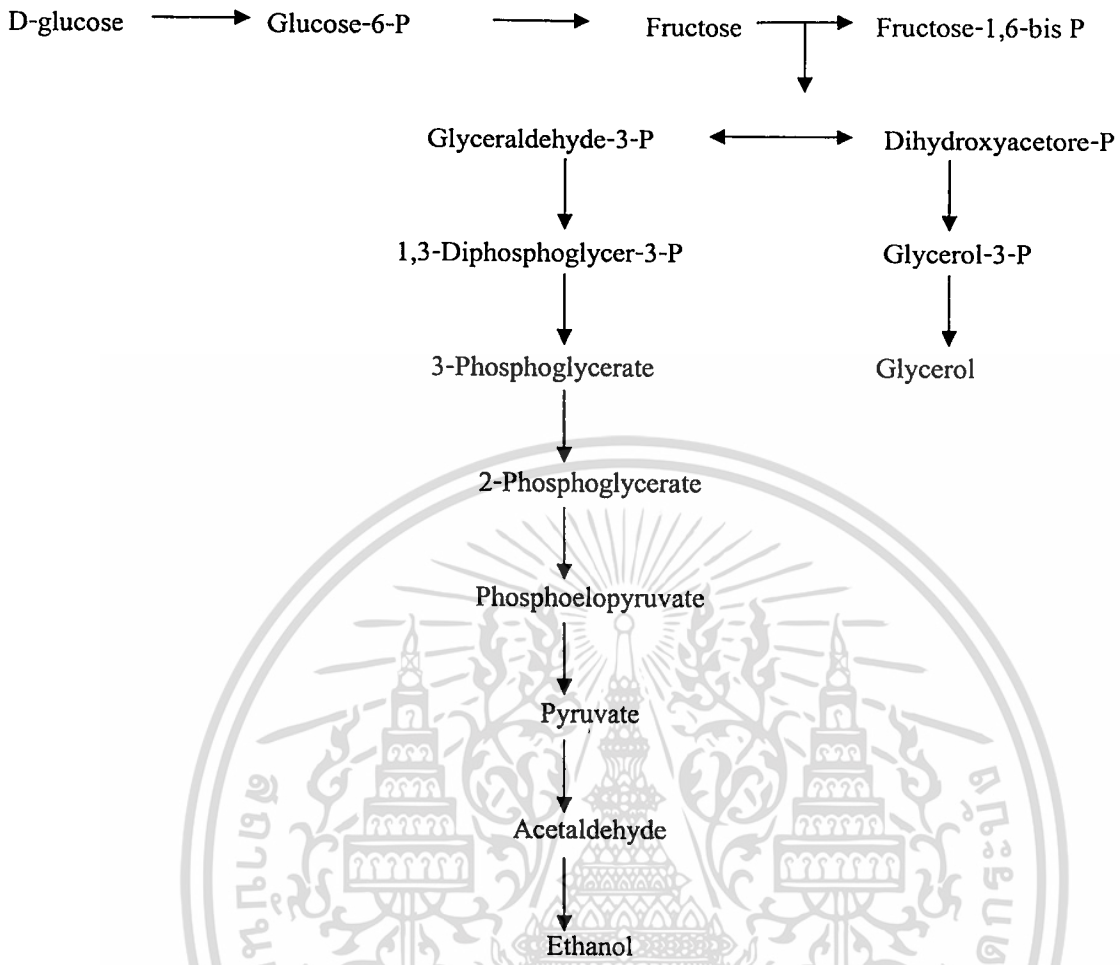
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5. ไม่สร้างสารพิษและทนต่อสภาวะแวดล้อมต่าง ๆ ได้ดี
6. ทำให้ผลิตภัณฑ์มีกลิ่นรสและเนื้อสัมผัสเป็นที่อมรับของผู้บริโภค (ยุพกนิษฐ, 2536)

เมื่อทำการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์จากเชื้อราแล้วจะเติมยีสต์เพื่อเปลี่ยนน้ำตาลที่ได้จากการย่อยสลายแป้งให้เป็นแอลกอฮอล์ โดยในขั้นตอนแรกยีสต์จะต้องการอากาศเพื่อเจริญเติบโต จากนั้นจะสร้างแอลกอฮอล์ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน หรือมีเล็กน้อย โดยในขั้นตอนของการเปลี่ยนแป้งไปเป็นน้ำตาล และขั้นตอนการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ เป็นดังนี้



ภาพที่ 1 แสดงการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลโดยราในสภาวะที่ต้องการอากาศ



ภาพที่ 2 แสดงกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์จากการหมักโดยใช้ยีสต์ในสภาวะไร้อากาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## บทที่ 3

### วิธีการทดลอง

#### 3.1 เครื่องมือ

- เครื่องฆ่าเชื้อ (Auto clave)
- ตู้กลั่น Micro Kjeldahl apparatus
- ไมโครเวฟ (Microwave)
- ตู้บ่มเชื้อ
- เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง และ 4 ตำแหน่ง
- อ่างน้ำร้อน (Water bath)
- เครื่องเขย่า
- ตู้เย็น
- เครื่องวัด pH
- Hot plate
- Hand refractometer
- อุปกรณ์นั่งข่าว

#### 3.2 อุปกรณ์

- หลอดทดลอง (test tubes) ขนาด 16×150 และ 16×100 มิลลิเมตร
- Pipette ขนาด 1.0 , 10.0 มิลลิเมตร
- บิวเรตขนาด 50 มิลลิเมตร
- ปีกเกอร์ (beaker) ขนาด 100 , 250 และ 1000 มิลลิเมตร
- ขวดตวงปริมาตร 100, 1000 มิลลิเมตร
- กระบอกตวง 100 มิลลิเมตร
- จานอาหารเลี้ยงเชื้อ (plate)
- กรวยแก้วขนาดกลาง
- ขวดแก้วสีชาขนาด 1 ลิตร
- ขวดพลาสติก 1 ลิตร
- ขวดหยดขนาด 60 มิลลิเมตร
- แท่งแก้วคน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ลวดเข็มเข็ (loop)
- เข็มเข็มเข็ (needle)
- ซ้อนตักสาร
- ตะเกียงแอลกอฮอล์
- ขวดน้ำกลั่น
- ขวดบรรจุอาหารเลี้ยงเข็ขนาด 250 มิลลิลิตร
- ลูกยาง
- ที่ใส่หลอดทดลอง (rack)
- กระดาษมั่ง
- ถังหมัก
- ผ้าขาวบาง
- ถุงทนร้อน
- คอขวดพลาสติก
- สำลี

### 3.3 สารเคมี

Sodium hydroxide 0.1 N ( 0.1 N NaOH )

Phenolphthalein

Ethanol

Potassium phthalate ( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ )

Potassium dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )

Ammonium ferrous sulfate ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 6\text{H}_2\text{O}$ )

Sulfuric acid (cone.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

1,10-Phenanthroline

Ferrous sulfate ( $\text{Fe SO}_4 7\text{H}_2\text{O}$ )

อาหารเลี้ยงเข็ PDA

### 3.4 วัสดุคิบ และสารอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้าวเหนียวแข็งวุ้น

รำข้าวหยาบและละเอียด

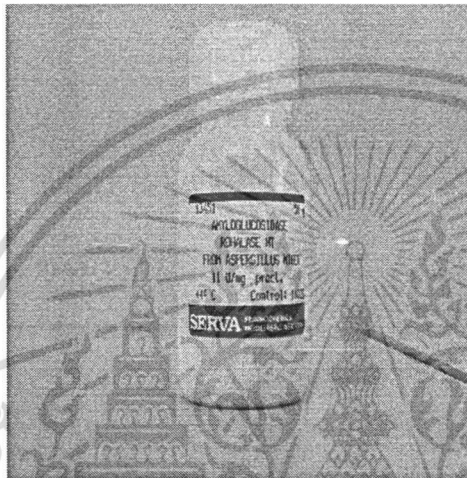
ปลายข้าว

เอนไซม์  $\alpha$ -amylase Thermamyl 120 L from *Bacillus micheuiformis*

เอนไซม์ Amyloglucoamylase Rohalase HT from *Aspergillus niger* 11 U/mg.

เชื้อรา *Rhizopus oryzae*

เชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6



ภาพที่ 3 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส



ภาพที่ 4 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

### 3.5 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 3.5.1 ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อรา *Rhizopus oryzae*

1. ชั่งปลายข้าว รำหยาบ รำละเอียด และน้ำ ในอัตราส่วน 1:1:1 คนให้เข้าเป็นเนื้อเดียวกัน
2. ตักใส่ในถุงทนร้อน ในปริมาณที่พอดี (ให้หนาประมาณ 1.5 นิ้ว) เพื่อให้เชื้อเจริญได้ดีที่สุด ใส่คอกขวดที่ปากถุงรัดด้วยยาง ปิดคอกขวดด้วยสำลีใช้กระดาษปิดเพื่อกันเปียก
3. นึ่งฆ่าเชื้อด้วย autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียสที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
4. พักให้เย็น แล้วเชื้อเชื้อรา *Rhizopus oryzae* ที่มีในหลอดลงไป ทำในสภาพปลอดเชื้อ
5. เก็บบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้อง 2-3 วัน หรือ สังเกตการเจริญที่เส้นใยของเชื้อรา

### 3.5.2 ขั้นตอนการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ NK-6

1. นำสับประดมาปอกเปลือกสับให้เป็นชิ้นๆ คั้นน้ำ นำน้ำที่ได้มาปรับปริมาณน้ำตาลให้ได้ 18 °Brix
2. เทใส่ในพลาสติก 100 มิลลิตร ปิดด้วยสำลี นึ่งฆ่าเชื้อด้วย Autoclave ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที
3. พักให้เย็น แล้วเชื้อยีสต์ NK-6 ที่มีในหลอดลงไป 1 – 2 loop ทำในสภาพปลอดเชื้อ
4. เชย้าให้อากาศด้วยเครื่องเขย้าที่ 120 รอบต่อนาที เป็นเวลา 24- 36 ชั่วโมง

### 3.5.3 การการผลิตสาโทจากลูกแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1. นำข้าวเหนียวมาแช่น้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นึ่งให้สุกโดยใช้เวลาประมาณ 30 นาที นำออกมาพิ้งให้เย็น แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ทำให้สะเด็ดน้ำ และพักให้หมาดๆ มาตลุกเคล้ากับลูกแป้งในอัตราร้อยละ 0.5

2. บรรจุใส่ถังหมักปิดด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน

3. ทำการเติมน้ำในวันที่ 4 ในอัตรา น้ำ 1.5 ส่วนต่อข้าว 1 ส่วน ปิดฝาให้สนิท

4. หมักต่ออีก 7 วัน ในระยะเวลาการหมักให้ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อตามผลการเปลี่ยนแปลงของ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ( $^{\circ}$ Brix) ร้อยละกรดทั้งหมด พีเอช (pH) ปริมาณแอลกอฮอล์ ทุกๆ 2 วัน

5. เก็บน้ำสาโทลงในขวดปิดฝาให้สนิทเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอการทดสอบทางประสาทสัมผัส

### 3.5.4 การผลิตสาโทจากเชื้อราและยีสต์เอ็นไซม์ ร่วมกับแอลฟาอะไมเลส และ กลูโคอะไมเลส

1. นำข้าวเหนียวมาแช่น้ำเป็นเวลา 3 ชั่วโมง นึ่งให้สุกโดยใช้เวลาประมาณ 30 นาที นำออกมาพิ้งให้เย็น แล้วล้างด้วยน้ำสะอาด ทำให้สะเด็ดน้ำ และพักให้หมาดๆ มาตลุกเคล้ากับหัวเชื้อราในอัตราร้อยละ 0.5

2. บรรจุใส่ถังหมักปิดด้วยผ้าขาวบางทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 4 วัน

3. ทำการเติมน้ำในวันที่ 4 ในอัตรา น้ำ 1.5 ส่วนต่อข้าว 1 ส่วน

4. เติมเอ็นไซม์ แอลฟา-อะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ตามตารางที่ เติมเชื้อยีสต์ NK-6 ที่เตรียมไว้ลงไป ในอัตราร้อยละ 10 ปิดฝาให้สนิท

5. หมักต่ออีก 7 วัน ในระยะเวลาการหมักให้ทำการเก็บตัวอย่างเพื่อตามผลการเปลี่ยนแปลงของ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ( $^{\circ}$ Brix) ร้อยละกรดทั้งหมด พีเอช (pH) ปริมาณแอลกอฮอล์ ทุกๆ 2 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. เก็บน้ำสาโทลงในขวดปิดฝาให้สนิทเก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อรอการทดสอบทางประสาทสัมผัส

### 3.5.4 การทดสอบทางประสาทสัมผัส

ทำการทดสอบทางประสาทสัมผัส ของสาโทที่ผลิตด้วยเชื้อบริสุทธิ์ ร่วมกับเอนไซม์ทางการน้้า โดยมีสาโทที่ผลิตจากลูกแป้งและสาโทที่มีในท้องตลาดคือสาโทสยาม เป็นตัวควบคุม โดยวิธีการให้คะแนนด้วยวิธี Scoring Test โดยผู้ชิมที่มีการคุ้นเคยในการดื่มสาโท โดยมีคะแนนรวมทั้งหมดเท่ากับ 100 คะแนนโดยอ้างอิงจากช่วงคะแนน ดังนี้

91 – 100	สาโทคุณภาพยอดเยี่ยม
81 – 90	สาโทคุณภาพดีมาก
71 – 80	สาโทคุณภาพดี
61 – 70	สาโทมีคุณภาพ
ต่ำกว่า 60	สาโทด้อยคุณภาพ

โดยมีการให้คะแนน ในด้าน

สี	10	คะแนน
กลิ่น	30	คะแนน
รสชาติ	40	คะแนน
ความพึงพอใจ	20	คะแนน
คะแนนโดยรวม		

และทำการวิเคราะห์ทางสถิติโดย SPSS โดยใช้แผนการทดลองแบบ CRD ที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ในการหาความแตกต่างของการยอมรับทางประสาทสัมผัสของผู้บริโภค

- ตัวอย่างที่ 1 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.00 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.00
- ตัวอย่างที่ 2 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05
- ตัวอย่างที่ 3 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10
- ตัวอย่างที่ 4 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15
- ตัวอย่างที่ 5 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05
- ตัวอย่างที่ 6 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10
- ตัวอย่างที่ 7 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15
- ตัวอย่างที่ 8 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05
- ตัวอย่างที่ 9 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10
- ตัวอย่างที่ 10 การผลิตสาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* NK-6  
ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15
- ตัวอย่างที่ 11 การผลิตสาโทจากลูกแป้ง

## บทที่ 4

### ผลการทดลองและวิจารณ์ผล

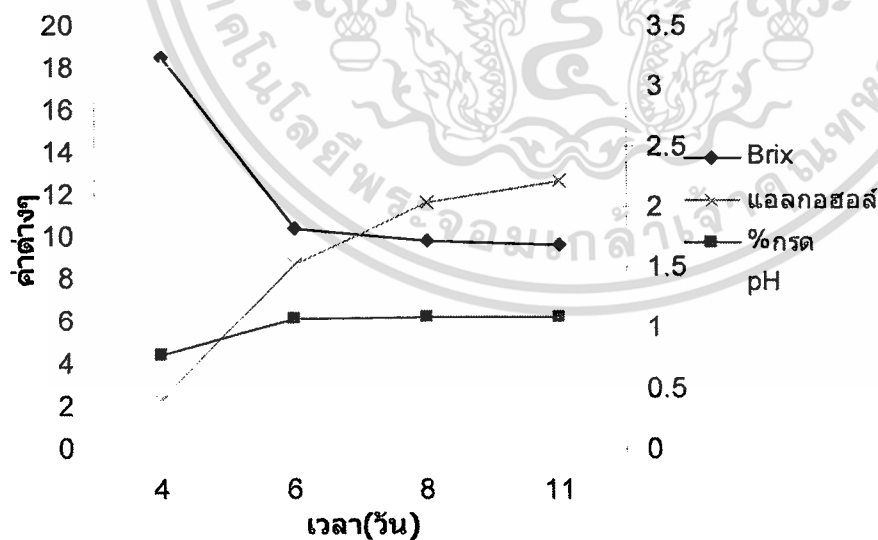
ในการทดลองทำการผลิตสาโทโดยเชื้อบริสุทธิ์ ร่วมกับเอนไซม์ทางการน้้า ได้ทำการแบ่งการติดตามผลการทดลองออกเป็น

- 4.1 การติดตามผลการเปลี่ยนแปลงของสาโทขณะหมัก
- 4.2 ผลการเปรียบเทียบขององค์ประกอบของสาโทที่ผลิตได้
- 4.3 ผลทดสอบทางประสาทสัมผัส

เพื่อให้ทราบปัจจัยและผลการทดลองที่มีผลมากที่สุด

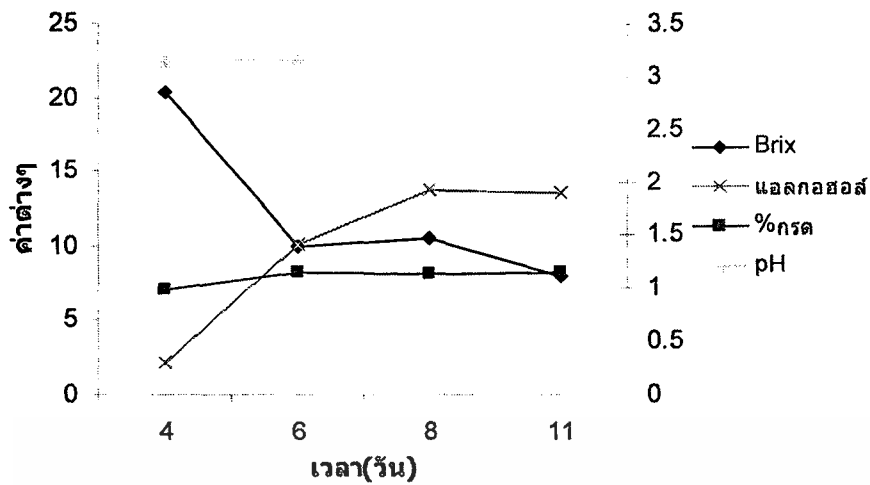
#### 4.1 การติดตามผลการเปลี่ยนแปลงของสาโทขณะหมัก

เมื่อทำการหมักสาโทตามวิธีการทดลองและติดตามผลการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางกายภาพ และทางเคมี ของสาโทในระหว่างการหมัก ของสาโทที่ผลิตโดยเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทางการน้้าในสูตรต่างๆ และสาโทที่ผลิตโดยใช้ลูกแป้งพบว่า

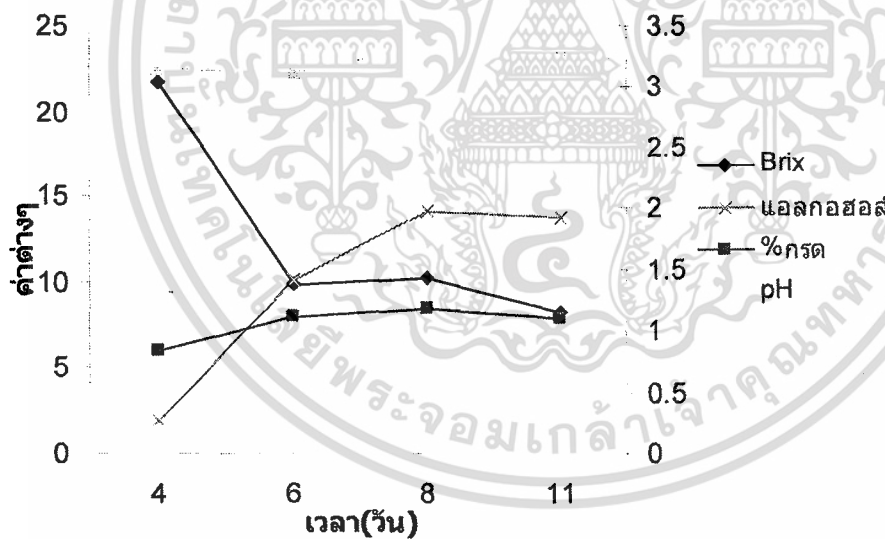


ภาพที่ 5 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา (วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

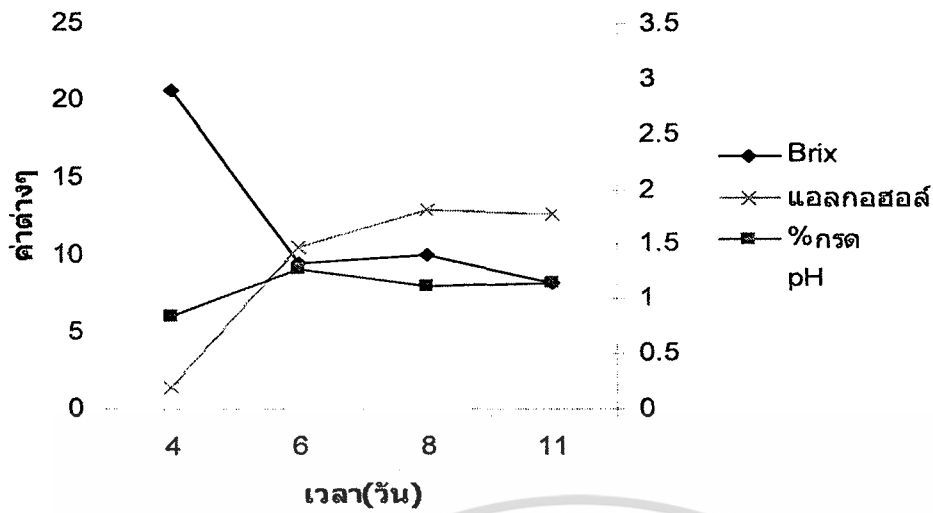


ภาพที่ 6 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, % กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05

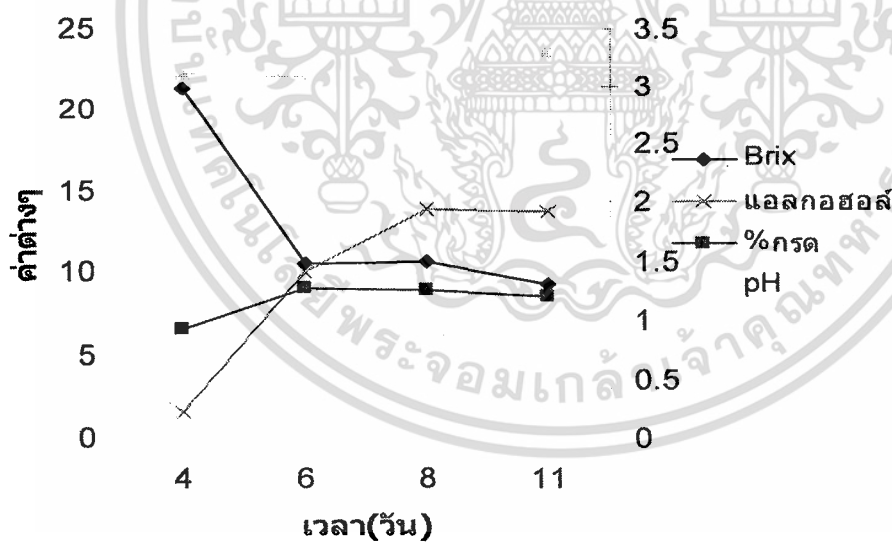


ภาพที่ 7 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

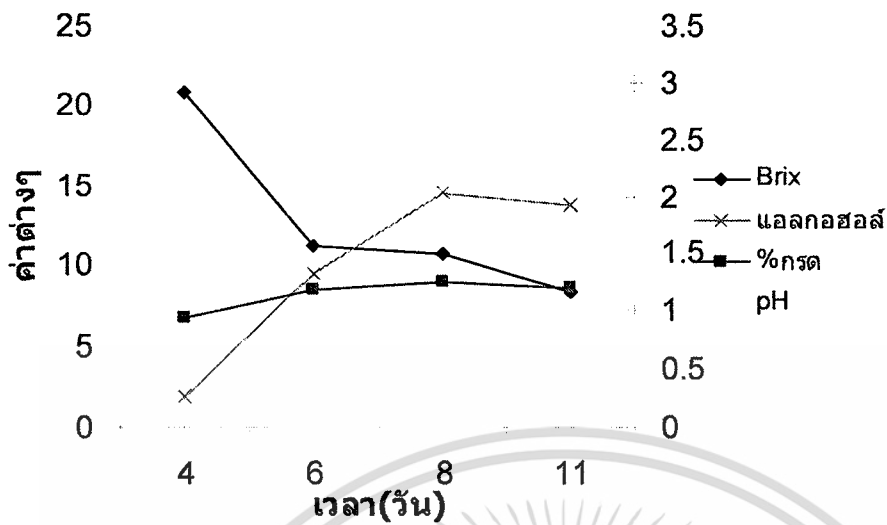


ภาพที่ 8 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15

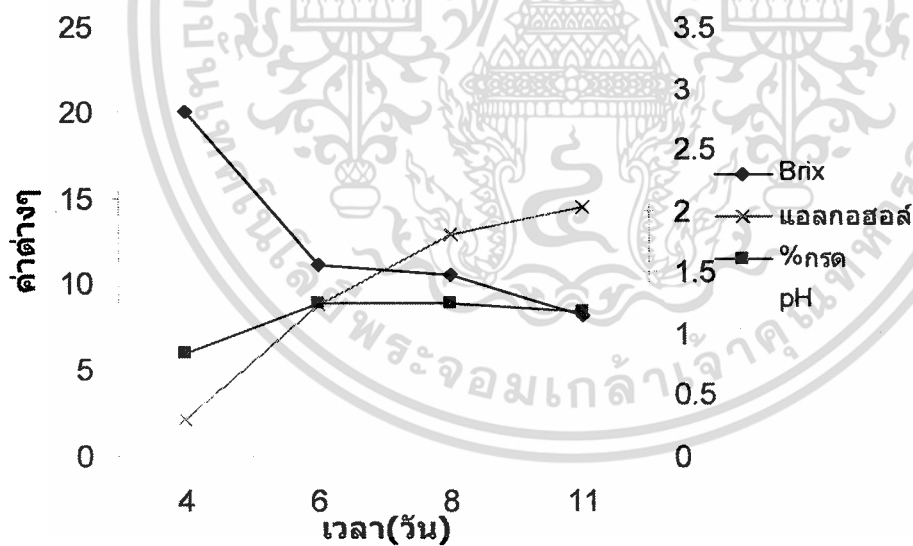


ภาพที่ 9 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

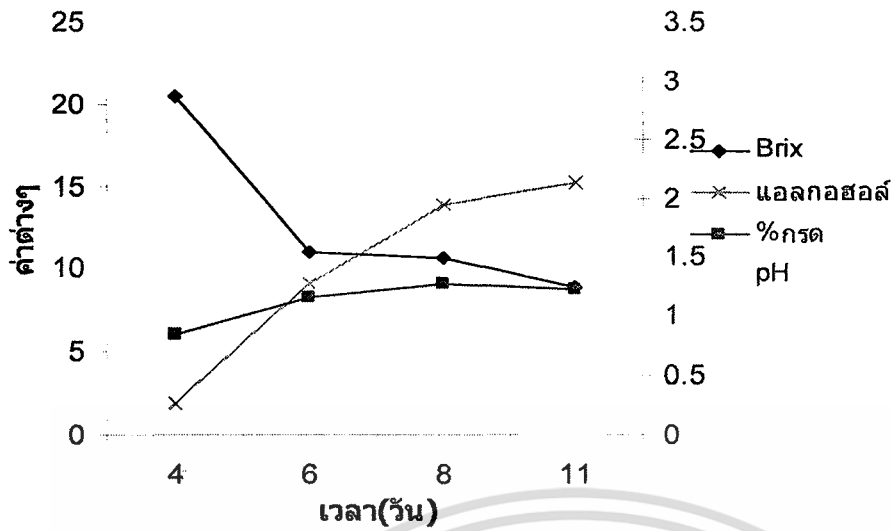


ภาพที่ 10 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10

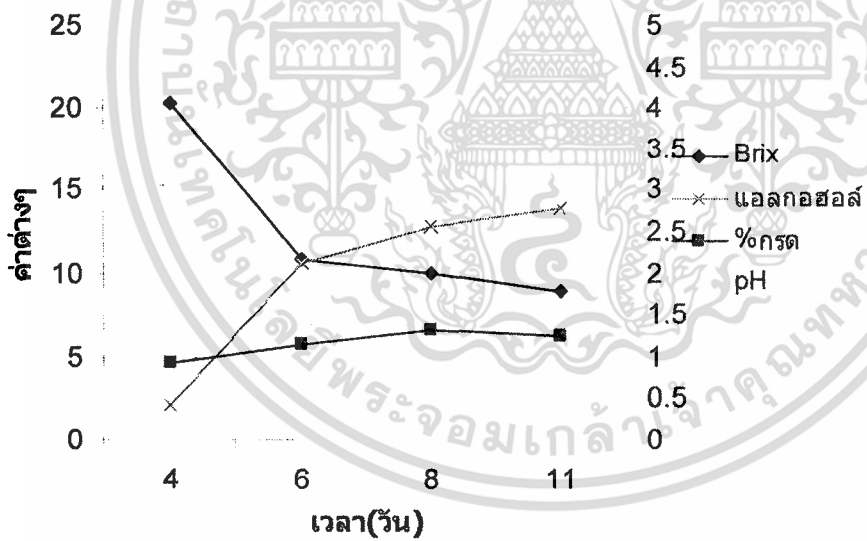


ภาพที่ 11 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 12 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05

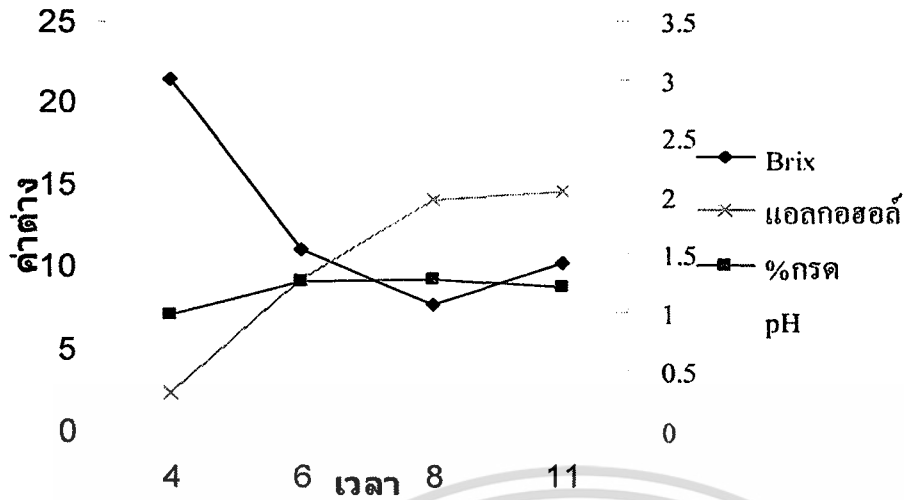


ภาพที่ 13 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10

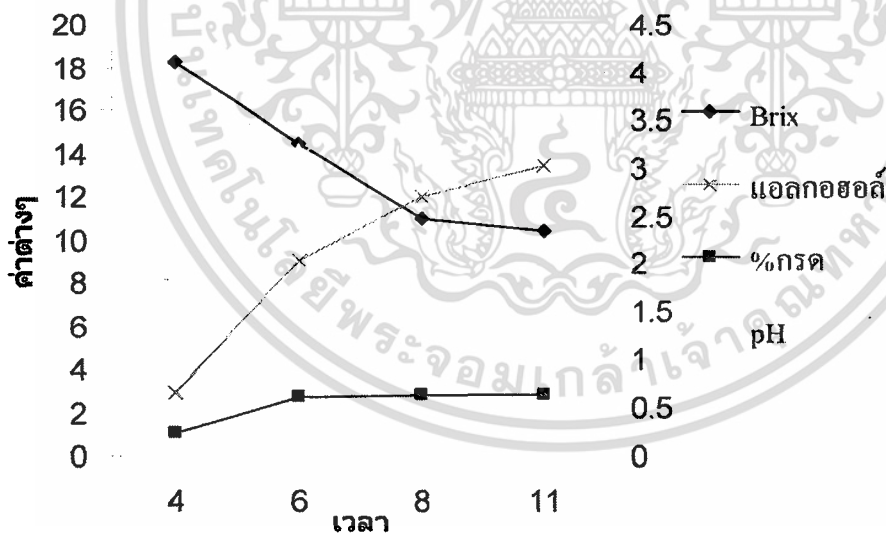
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร**

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าฯ ลาดกระบัง



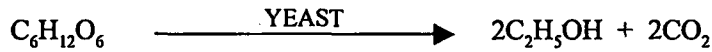
ภาพที่ 14 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ที่ความเข้มข้นของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15



ภาพที่ 15 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่าง Brix, %กรด, pH และ alcohol กับเวลา(วัน) ของสาโทที่ผลิตโดยลูกแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

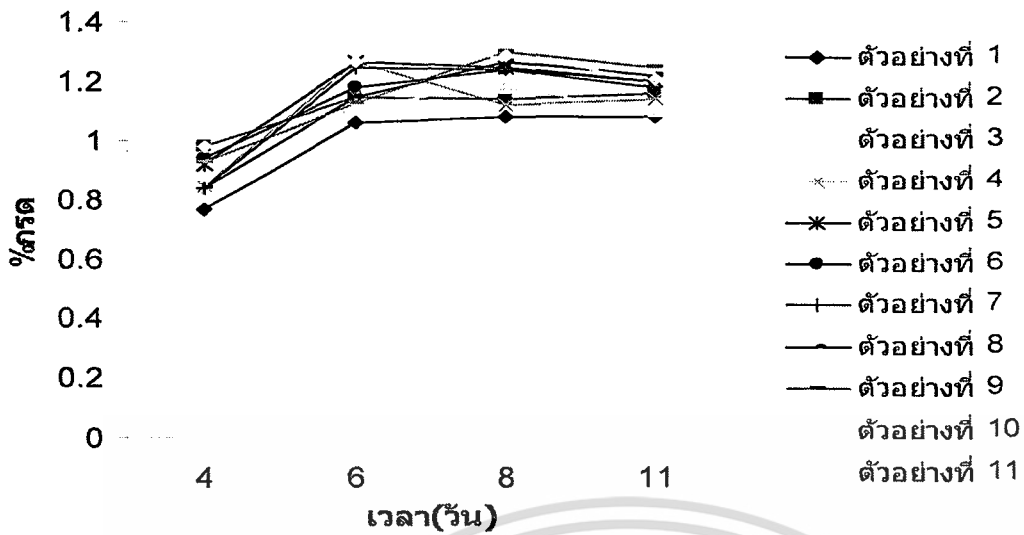
จากกราฟจะเห็นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะมีแนวโน้มลดลงอย่างมากในช่วงแรกแต่ละค่อยๆ คงที่ในช่วงหลังๆ ซึ่งสัมพันธ์กับการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ที่จะเพิ่มขึ้นอย่างมากในช่วงแรกและจะค่อยๆ เพิ่มในอัตราที่ลดลงในตอนท้ายๆ หากพิจารณาในส่วนของการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ นั้นจะพบความไม่สมเหตุสมผลในส่วนนี้ที่ดูแล้วไม่เป็นไปตามสมการ



ในส่วนนี้เราได้ตั้งข้อสังเกตว่าแป้งหรือข้าวที่เราใช้ในการผลิตนั้น มีการย่อยที่ยังไม่หมดและเมื่อได้ทำการเติมเอนไซม์ลงไป ทำให้เอนไซม์ทำการย่อยแป้งส่วนที่เหลือนั้น ทำให้ได้น้ำตาลออกมาในตอนหลังเพิ่มอีกจากตอนที่เราได้เติมน้ำและทำการตรวจวัดปริมาณของแข็งทั้งหมด โดยเห็นจากการที่ปริมาณแอลกอฮอล์ได้เพิ่มขึ้นแต่ปริมาณน้ำตาลหรือของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดกลับคงที่หรือลดลงน้อยมาก

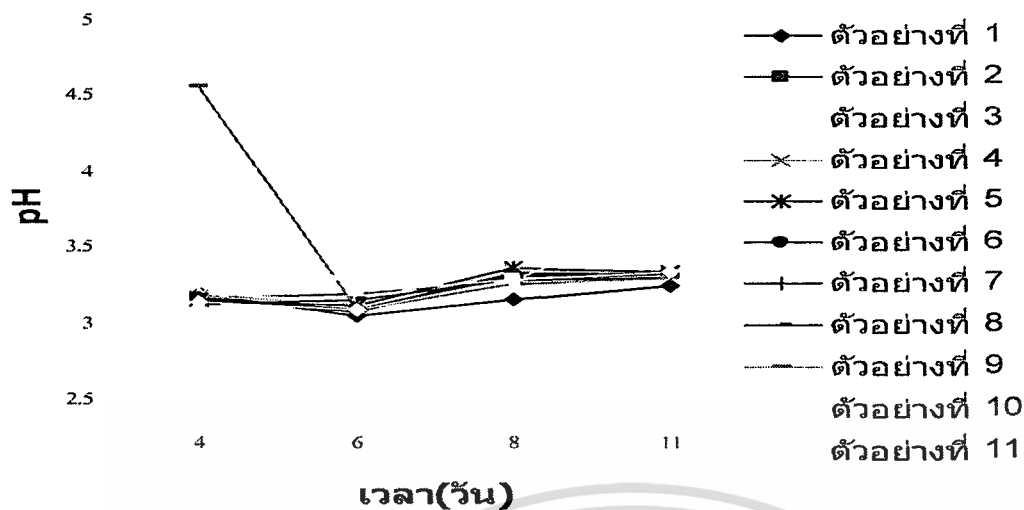
ในส่วนของการตรวจหาปริมาณกรดทั้งหมด เราพบได้ชัดเจนว่าในส่วนของสาโทที่ผลิตจากเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้ามีปริมาณกรดทั้งหมดที่มากกว่าสาโทจากลูกแป้งอย่างเห็นได้ชัดเจน เมื่อดูจากเริ่มต้นจะสังเกตได้ว่าสาโทที่ผลิตจากเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้ามีปริมาณกรดทั้งหมดที่มากกว่าสาโทจากลูกแป้ง ทำให้เห็นได้ว่ากรดส่วนที่มีมากกว่าสาโทลูกแป้งนี้น่าจะมาจากการสร้างกรดของเชื้อรา *Rhizopus oryzae* ที่สร้างขึ้นมาระหว่างการเจริญ และอีกส่วนนั้นก็มาจากการส้างกรดของเชื้อแบคทีเรียที่ปนเปื้อน และแนวโน้มของความเป็นกรดต่างก็ได้สัมพันธ์กันกับปริมาณกรดทั้งหมด

เมื่อมีกรดอยู่ในสาโท ความเป็นกรดค้างยอมอยู่ในช่วงพีเอชต่ำ



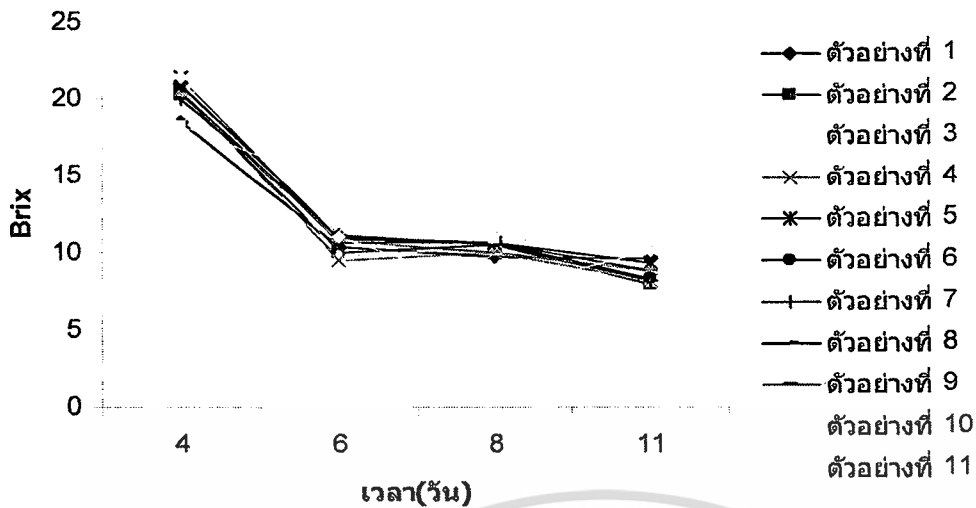
ภาพที่ 16 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่าง

ปริมาณกรดทั้งหมดของตัวอย่างที่ผลิตจากเชื้อบริสุทธิ์รวมกลับเอ็นไซม์ทางการค้าจะมีมากตั้งแต่เริ่มต้นและค่อยๆ สูงขึ้นในช่วงแรกและจะค่อยๆ คงที่ไม่เพิ่มปริมาณมากเท่าช่วงแรก อันเนื่องมาจากการที่เชื้อราที่เป็นตัวสร้างกรดนั้น ได้หยุดการเจริญไปแล้ว และในส่วนของผลผลิตด้วยลูกแป้งนั้นจะมีปริมาณกรดต่ำกว่าอย่างเห็นได้ชัดเจน



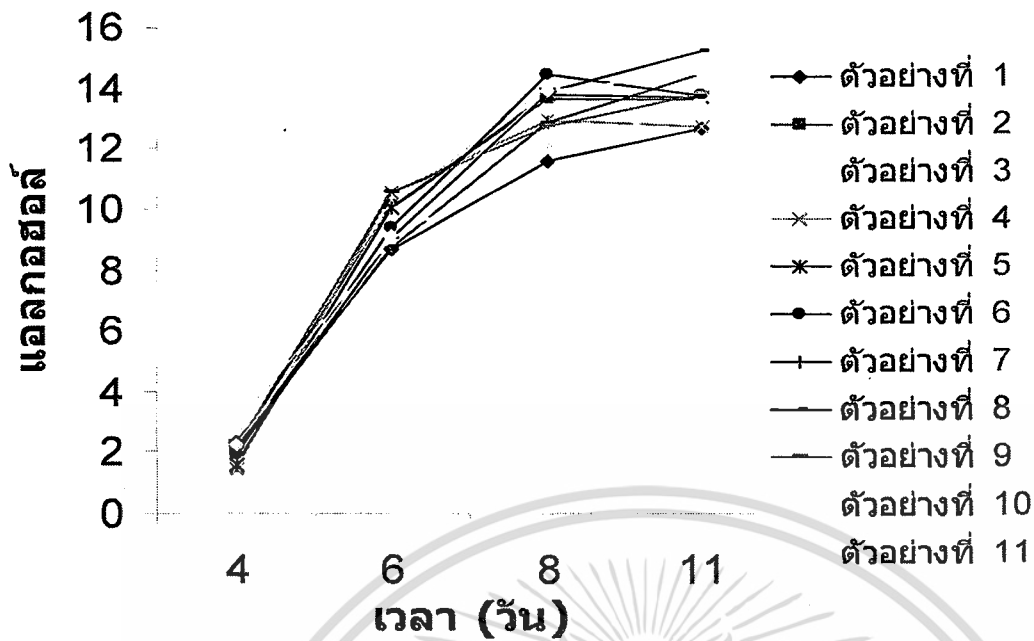
ภาพที่ 17 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของพีเอช pH ของตัวอย่าง

จากกราฟเห็นได้ว่าพีเอชของแต่ละตัวอย่างนั้นจะมีการเริ่มต้นที่เท่าๆ กันและมีการเปลี่ยนแปลงไปในทิศทางเดียวกัน แต่ในตัวอย่างที่ 9 และ 11 ที่เริ่มต้นที่มีค่ามากกว่าตัวอย่างอื่นในตัวอย่างที่ 11 นั้นเป็นผลมาจากการที่มีปริมาณกรดทั้งหมดที่น้อยกว่าตัวอย่างอื่นๆ ทำให้ความเป็นกรดน้อยกว่าในตอนเริ่มต้น ในตัวอย่างที่ 9 นั้นเป็นไปได้ที่อาจมีความผิดพลาดในการวัดเพราะหากดูจากปริมาณกรดทั้งหมด ปริมาณกรดนั้นมีมากกว่าตัวอย่างที่ 11



ภาพที่ 18 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของ Brix น้ำตาลของตัวอย่าง

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้นั้นเห็นได้ชัดว่ามีการลดลงอย่างมากในช่วงแรกของการหมักซึ่งเป็นช่วงที่เชื้อเจริญได้ดีมากทำให้มีกิจกรรมของเชื้อที่รวดเร็ว ทำให้การใช้น้ำตาลที่สูงการลดลงจึงค่อนข้างชัน และจะเริ่มลดลงในตอนท้ายซึ่งเชื้อจะไม่ค่อยทำกิจกรรมแล้วเพราะแอลกอฮอล์ที่สูงขึ้นการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด จะเห็นว่าตัวอย่างที่ 11 จะลดลงในลักษณะที่ไม่ชันมากอาจเป็นเพราะน้ำตาลที่ย่อยออกมานั้นเชื้อไม่สามารถใช้ได้ทันที แต่แบบที่มีการเติมเอนไซม์ เอนไซม์จะย่อยแบ่งให้เป็นน้ำตาลกลูโคสซึ่งเชื้อสามารถใช้ได้ทันที



ภาพที่ 19 กราฟแสดงการเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์ของตัวอย่าง

ปริมาณแอลกอฮอล์ที่เพิ่มขึ้นเรื่อยๆ นั้นเป็นผลมาจากกระบวนการทำงานของยีสต์ในทุกระยะการทดลองจะมีลักษณะคล้ายๆ กันคือค่อยๆ เพิ่มขึ้นไป และจะเห็นตัวอย่างที่ 7 และ 8 จะมีค่ามากที่สุดเมื่อเทียบกับตัวอื่นๆ และจะคล้ายกับองค์ประกอบอื่นๆ คือจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในวันที่เริ่มหมักใหม่ คือวันที่ 4 ที่เริ่มมีการเติมน้ำและยีสต์

#### 4.2 ผลการเปรียบเทียบขององค์ประกอบของสาโทที่ผลิตได้

สาโทที่ผลิตได้เมื่อนำมาทดสอบคุณภาพด้านเคมี โดยวิธีการต่างๆ ตามวิธีในบทที่ 3 และนำไปวิเคราะห์หาความแตกต่างทางสถิติ ได้ผลการทดลองออกมาดังตารางที่

ตารางที่ 1 แสดงองค์ประกอบของสาโทที่ผลิตได้

ตัวอย่าง	เปอร์เซ็นต์กรด	pH	°Brix	แอลกอฮอล์
1	1.08 <sup>b</sup>	3.22 <sup>a</sup>	9.60 <sup>b</sup>	12.68 <sup>b</sup>
2	1.16 <sup>b</sup>	3.30 <sup>a</sup>	8.00 <sup>ab</sup>	13.63 <sup>ab</sup>
3	1.10 <sup>b</sup>	3.30 <sup>a</sup>	8.20 <sup>b</sup>	13.74 <sup>ab</sup>
4	1.40 <sup>ab</sup>	3.29 <sup>a</sup>	8.25 <sup>b</sup>	12.71 <sup>b</sup>
5	1.20 <sup>b</sup>	3.31 <sup>a</sup>	9.33 <sup>b</sup>	13.74 <sup>ab</sup>
6	1.20 <sup>b</sup>	3.29 <sup>a</sup>	8.33 <sup>b</sup>	13.77 <sup>ab</sup>
7	1.18 <sup>b</sup>	3.30 <sup>a</sup>	8.20 <sup>b</sup>	14.63 <sup>a</sup>
8	1.22 <sup>b</sup>	3.27 <sup>a</sup>	8.83 <sup>b</sup>	15.22 <sup>a</sup>
9	1.25 <sup>b</sup>	3.27 <sup>a</sup>	8.88 <sup>b</sup>	13.84 <sup>ab</sup>
10	1.21 <sup>b</sup>	3.31 <sup>a</sup>	10.15 <sup>a</sup>	14.48 <sup>a</sup>
11	0.63 <sup>a</sup>	3.34 <sup>a</sup>	10.45 <sup>a</sup>	13.44 <sup>ab</sup>

#### 4.3 ผลทดสอบทางประสาทสัมผัส

จากผลการทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยวิธี Scoring Test จากผู้ชิมจำนวน 30 คนแสดงผลที่ตารางที่ 3 พบว่าผู้ทดสอบยอมรับสาโทในระดับสาโทคุณภาพดี ในทุกแบบที่ใช้เชื้อบริสุทธิ์ทำการผลิตและด้าน สี และ กลิ่น ก็ไม่พบความแตกต่างจากแบบที่ใช้ลูกแป้ง ด้านรสชาติและการยอมรับโดยรวมเท่ากันที่พบความแตกต่างจากแบบที่ใช้ลูกแป้ง เป็นผลมาเนื่องจากปริมาณกรดที่มากกว่าทำให้รสชาติออกมาเปรี้ยว และรสเปรี้ยวนั้นก็เนื่องมาจาก การสร้างกรดของรา และเมื่อรวมคะแนนทั้งหมดพบว่าสาโทที่ได้จัดอยู่ในระดับสาโทคุณภาพดี

ตารางที่ 2 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสสาขาโทที่ผลิตได้

ตัวอย่างที่	สี	กลิ่น	รส	ความพึงพอใจ	รวม
1	8.20 <sup>a</sup>	25.17 <sup>a</sup>	26.30 <sup>b</sup>	13.27 <sup>b</sup>	72.30 <sup>b</sup>
2	8.03 <sup>b</sup>	25.40 <sup>a</sup>	26.00 <sup>b</sup>	12.70 <sup>b</sup>	74.33 <sup>b</sup>
3	8.17 <sup>a</sup>	25.50 <sup>a</sup>	27.00 <sup>b</sup>	13.03 <sup>b</sup>	72.33 <sup>b</sup>
4	8.27 <sup>a</sup>	25.23 <sup>a</sup>	26.03 <sup>b</sup>	13.07 <sup>b</sup>	72.60 <sup>b</sup>
5	8.20 <sup>a</sup>	25.50 <sup>a</sup>	27.00 <sup>b</sup>	12.67 <sup>b</sup>	74.33 <sup>b</sup>
6	8.47 <sup>a</sup>	25.80 <sup>a</sup>	26.30 <sup>b</sup>	13.57 <sup>b</sup>	73.87 <sup>b</sup>
7	7.80 <sup>b</sup>	24.67 <sup>a</sup>	26.20 <sup>b</sup>	12.80 <sup>b</sup>	71.63 <sup>b</sup>
8	8.27 <sup>a</sup>	24.87 <sup>a</sup>	26.53 <sup>b</sup>	12.87 <sup>b</sup>	72.90 <sup>b</sup>
9	8.33 <sup>a</sup>	25.20 <sup>a</sup>	25.93 <sup>b</sup>	12.83 <sup>b</sup>	72.27 <sup>b</sup>
10	8.40 <sup>a</sup>	25.67 <sup>a</sup>	27.90 <sup>b</sup>	13.43 <sup>b</sup>	75.50 <sup>b</sup>
11	8.53 <sup>a</sup>	25.20 <sup>a</sup>	35.50 <sup>a</sup>	17.67 <sup>a</sup>	85.53 <sup>a</sup>
12	8.63 <sup>a</sup>	26.10 <sup>a</sup>	34.63 <sup>a</sup>	16.97 <sup>a</sup>	86.20 <sup>a</sup>

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ตัวอย่างที่ 1 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.00 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.00
- ตัวอย่างที่ 2 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05
- ตัวอย่างที่ 3 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10
- ตัวอย่างที่ 4 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.05 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15
- ตัวอย่างที่ 5 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05
- ตัวอย่างที่ 6 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10
- ตัวอย่างที่ 7 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15
- ตัวอย่างที่ 8 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.05
- ตัวอย่างที่ 9 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.10
- ตัวอย่างที่ 10 สาโทจากเชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ *Saccharomycis ceveviciae* NK-6 ร่วมกับ เอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.15 และกลูโคอะไมเลส เท่ากับร้อยละ 0.15
- ตัวอย่างที่ 11 สาโทจากลูกแป้ง
- ตัวอย่างที่ 12 สาโทในท้องตลาด สาโทสยาม

## บทที่ 5

### สรุปผลการทดลอง

การผลิตสาโทโดยเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้า เพื่อเปรียบเทียบคุณภาพของสาโทที่ผลิตได้เทียบกับสาโทที่ผลิตจากลูกแป้ง โดยการติดตามลักษณะคุณภาพทางองค์ประกอบของสาโท ที่ผลิตได้ จากแบบการใช้เชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้าในการผลิต เทียบกับแบบที่ผลิตได้จากลูกแป้ง พบความแตกต่างในด้านปริมาณกรดทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ทุกสูตรการทดลองเมื่อเทียบกับสูตรลูกแป้ง ปริมาณแอลกอฮอล์พบความแตกต่างในสูตรการทดลองที่ 7, 8 และ 10 ความเป็นกรดต่าง pH ไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญที่ความเข้มข้นที่ร้อยละ 95

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยวิธีให้คะแนนแบบ Scoring Test ในผลการประเมินสาโทที่ผลิตจากเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทุกสูตรการทดลองเป็นสาโท คุณภาพดีเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคโดยพบความแตกต่างในด้านรสชาติและการยอมรับของผู้บริโภคเท่านั้น ในด้าน สี และกลิ่นไม่พบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ โดยพบว่าสูตรการทดลองที่ 7 ที่ใช้เชื้อรา *Rhizopus oryzae* และเชื้อยีสต์ NK-6 ร่วมกับเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสร้อยละ 0.10 และเอนไซม์กลูโคอะไมเลสร้อยละ 0.15 ในการผลิตสาโท มีความเหมาะสมที่จะนำมาใช้ในกาผลิตสาโทมากที่สุด โดยสูตรดังกล่าวมีคุณภาพด้านปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณกรดที่ดี และไม่แตกต่างจากสูตรที่ 8 และ 10 แต่สูตรที่ 7 เป็นสูตรที่ใช้เอนไซม์ที่น้อยกว่าทั้งสองสูตร

## ข้อเสนอแนะ

การศึกษาการผลิตสาโทโดยเชื้อบริสุทธิ์ร่วมกับเอนไซม์ทางการค้าเป็นแนวทางหนึ่งที่จะใช้ในการปรับปรุงและพัฒนาคุณภาพสาโทให้มีคุณภาพยิ่งขึ้น ซึ่งหากมีการศึกษาการลดความเปรี้ยวลด โดยการลดเวลาการเลี้ยงเชื้อรา เพื่อที่จะลดความเปรี้ยวลง หรือการศึกษาการใช้เชื้อราตัวอื่นๆ ที่มีการสร้างเอนไซม์ที่เฝ้าในการย่อยแป้งที่ดีที่ไม่มีการสร้างกรด หรือใช้แนวทางในการเติมข้าวในเวลาหมัก และหากมีการศึกษาเวลาในการหมักที่น้อยลงเพื่อให้ลดความเปรี้ยว



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## เอกสารอ้างอิง

ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม. 2544. เอนไซม์ทางอาหาร. เอกสารประกอบการสอนวิชาเอนไซม์ทางอาหาร  
โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า  
คุณทหารลาดกระบัง

เทพนิตร์ มะลิพวง และ นคโรจน์. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส  
โดยใช้เชื้อ *Bacillus subtilis* (TESTR25) โดยใช้วัสดุเหลือใช้จากขบวนการ. ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์.  
คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปราบสยบ ภูมิพานิชย์ และคณะ. การผลิตเอนไซม์อะไมเลสจากแป้งมันสำปะหลังโดยใช้เชื้อ *Aspergillus*  
*oryzae* (TESTR3068). ภาควิชาชีววิทยาประยุกต์. คณะวิทยาศาสตร์. สถาบันเทคโนโลยีพระ  
จอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ต่อศักดิ์ สิงห์ศักดิ์ภักดี และ กิตติภักดิ์ นามประสพ. ผลของสมุนไพรในลูกแป้งเห็ดและการเติมสมุนไพร  
ในระหว่างการหมักต่อคุณภาพของสาโท. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร  
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

บุญเทียม พันธุ์เพ็ง. 2546. บทปฏิบัติการวิเคราะห์ไวน์ผลไม้และสุราแช่พื้นบ้าน. เอกสารประกอบการ  
ฝึกอบรมการทำไวน์ผลไม้และสุราแช่พื้นบ้าน ของ สสว. 2546 สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้า  
คุณทหารลาดกระบัง

ประพันธ์ ปิ่นศิริโรดม. 2545. คู่มือปฏิบัติการวิเคราะห์ผลิตภัณฑ์หมัก. สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก  
โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

[http:// มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน สาโท ออนไลน์. เข้าถึงได้จาก](http://มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน สาโท ออนไลน์. เข้าถึงได้จาก)

[www.tisi.go.th/otop/pdf\\_file/tep3\\_46.pdf](http://www.tisi.go.th/otop/pdf_file/tep3_46.pdf).

เขาวลัทธิ สุธรรณพิศิษฐ์. 2524. การศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวฟ่างโดยใช้ลูกแป้งและเชื้อ  
บริสุทธิ์ของราบางสายพันธุ์และ *Saccharomyces cerevisiae* (Y-90) วิทยานิพนธ์ปริญญา  
โทวิทยาศาสตร์การอาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ศิริลักษณ์ สิ้นชวลัย. 2522. ทฤษฎีการหมักในอุตสาหกรรมอาหาร. ทฤษฎีอาหาร เล่ม 3. : 44

อัมมาร สยามวาลา และวิโรจน์ ณ ระนอง. คุณภาพข้าว.2533 ประมวลความรู้เรื่องข้าว. สถาบันวิจัย  
เพื่อการพัฒนาแห่งประเทศไทย. : 178-179.

Fergus, C.L.1996. The production of amylase by some thermophilic fungi. Mycologia..  
61 : 1171-1175

Juliano, B.C. 1966. Physiochemical properties of rice in Southeast Asia. Cereal Chemistry.  
: 41.

Oso, B.A. 1990. The production of Amylase by Thermophilic fungi.. Mycologia. 70 : 577-  
585.



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### 1. ชนิดของแบบทดสอบ แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสในการประเมินคุณภาพสาโททำได้ 4 วิธี ดังนี้

1. Difference Tests แบบนี้เป็นวิธีให้ผู้ชิมตัดสินว่าสาโทที่เขากำลังชิมมีความแตกต่างหรือเหมือนกับสาโทที่ใช้เป็นตัวควบคุมหรือไม่
2. Ranking Tests แบบนี้ให้ผู้ชิมเรียงลำดับสาโท อาจเรียงลำดับจากสูงสุดไปต่ำสุดในเรื่องใดเรื่องหนึ่ง เช่น ความหวาน ความเป็นกรด เป็นต้น
3. Scoring Tests แบบนี้เป็นวิธีให้ผู้ชิมให้คะแนนไวน์โดยการเปรียบเทียบกัน มีค่าแสดงระดับคะแนนที่ตั้งเป็นมาตรฐานจากสาโทที่มีคุณภาพดีเด่นไว้เป็นตัวเลข แสดงระดับคะแนนในการประเมินผล เป็นการทดสอบหาความชอบโดยรวมจากค่าแสดงระดับที่ได้ของตัวอย่างสาโทตามคุณสมบัติที่กำหนดไว้

### 5 ประเภทผู้ชิม

#### ประเภทผู้ชิม แบ่งเป็น

1. ผู้ชิมอาชีพ หมายถึงผู้ที่มีความคุ้นเคยกับอาหารที่จะชิมเป็นอย่างดี ต้องเป็นผู้มีความรู้เรื่องสาโท การผลิตสาโท และคุณภาพของสาโทในภูมิภาคต่าง ๆ รู้วิธีการให้คะแนนหรือเคยมีประสบการณ์ในการตัดสินให้คะแนนสาโทเมื่อมีการประกวดสาโทระดับท้องถิ่น หรือระดับประเทศมาแล้ว
2. ผู้ชิมที่รับการฝึก หมายถึง ผู้ที่ได้รับการฝึกให้มีความคุ้นเคยกับอาหารที่จะชิม และต้องทราบถึงคุณภาพหรือลักษณะที่ดีของอาหารนั้นว่ามีอะไรเป็นองค์ประกอบ ผู้ชิมกลุ่มนี้จะต้องได้รับข้อมูลเกี่ยวกับมาตรฐานของอาหารที่จะชิมและผ่านการฝึกประเมินอาหารชนิดนั้นที่ได้มาตรฐานมาก่อน
3. ผู้ชิม หมายถึง ผู้ชิมทั่วไปที่ไม่เข้าข่าย ข้อ 1 และ ข้อ 2

## 6 จำนวนตัวอย่างสาโท

ตัวอย่างสาโท ถ้าเป็นผู้ชิมอาชีพ สามารถประเมินได้นับ 100 ตัวอย่าง และชิมได้ 3 หรือ 4 ซ้ำ ในการชิมครั้งหนึ่งๆ ถ้าเป็นผู้ชิมทั่วไปและใช้หลักการชิมในวิธี Scoring Tests การชิมในแต่ละครั้งควรมีสาโทตัวอย่างไม่เกิน 5-6 ตัวอย่าง

ทฤษฎีของจำนวนตัวอย่างอาหารในการชิม (หน้า 44 หนังสือทฤษฎีอาหารเล่ม 3 ศิริลักษณ์ สินชรวัลย์) กล่าวว่าในการประเมินผลครั้งหนึ่ง ๆ จะต้องจำกัดจำนวนตัวอย่าง แต่ไม่ข้อกำหนดที่จะระบุจำนวนตัวอย่างไว้เท่าใด ทั้งนี้ขึ้นกับ

1. ลักษณะของอาหาร อาหารที่มีรสจัดชิมได้มากกว่าอาหารที่มีรสจืด
2. วิธีการคะแนน ถ้าเป็นการให้คะแนนสีหรือเนื้อสัมผัสของอาหาร จะทำได้มากกว่าการให้คะแนนด้านรสชาติ แบบคะแนนที่สั้นเข้าใจง่าย ทำได้มากกว่าแบบประเมินที่ยุ่งยาก
3. ประสบการณ์ของผู้ชิม ต้องมาจากความเต็มใจชิม มีสุขภาพดี สามารถปลีกเวลามาชิมได้ทุกครั้ง มีความสามารถรู้ได้ถึงเหตุแห่งความรู้สึกในรสชาตินั้น มีความสามารถที่จะตัดสินใจได้คงที่และเชื่อถือได้

### 4. จำนวนผู้ชิม

จำนวนผู้ชิมขึ้นกับประเภทของผู้ชิม

1. ผู้ชิมอาชีพใช้ 4 คน
2. ผู้ชิมที่ได้รับการฝึกใช้ 8-10 คน
3. ผู้ชิมทั่วไปไม่กำหนดไว้ หากยังมาก จะยังมีผลลดความคลาดเคลื่อนจากการทดลอง

### 5. ปริมาณสาโทที่ชิม

ปริมาณสาโทที่ชิม 15-20 มิลลิลิตร หรือสามารถจิบได้ 3 จิบ

### 6. บรรยากาศของการชิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรยากาศของการชิม ห้องปรับอากาศไม่มีกลิ่น เสียงแปลกปลอมรบกวนสมาธิผู้ชิม จะสร้างเป็นคูหาติดกัน ผู้ชิมนั่งคูหาละ 1 คน มีช่องเจาะด้านหน้าสำหรับเลื่อนแก้วสาโทเข้าออก มีกระโถนหรือภาชนะสำหรับบ้วนปากหรือเทสาโทที่เหลือทิ้ง มีแสงสว่างอย่างเพียงพอ มีดินสอ กระดาษให้คะแนน รวมทั้งกับแกล้มเล็ก ๆ น้อย ๆ สำหรับชบน้ำลายและลบรสชาติที่เหลือค้างในปาก มีน้ำดื่มอุณหภูมิห้อง 1 แก้ว เพื่อล้างปาก ไม่ควรใช้น้ำเย็นเพราะน้ำเย็นจะทำให้ประสาทรับรสเฉื่อยลง

## 7. เวลาที่เหมาะสมในการชิม

เวลาที่เหมาะสมในการชิมสาโท มี 2 ช่วง มีความเหมาะสมเนื่องจากผู้ชิมจะเริ่มหิว ประสาทในการรับรู้ตอบสนองได้เต็มที่

ช่วงเช้า ระหว่าง 10.00 – 12.00 น.

ช่วงบ่าย ระหว่าง 16.00 -18.00 น.

## 8. ลำดับการชิม

ลำดับการชิม ชิมสาโทรสอ่อนก่อนสาโทรสแรง สาโทไม่หวานก่อนสาโทหวาน และ เสิร์ฟเย็น 15 องศาเซลเซียส

## 9. การประเมิน

แบบการให้คะแนนในการชิมสาโท และคำอธิบายวิธีให้คะแนนในการชิมสาโทที่ใช้ใน ปัญหาพิเศษ ดัดแปลงมาจากเอกสารประกอบการสอน อ.บุญเทียม พันธุ์เพ็ง



**ภาคผนวก ข.**  
**สารอาหาร สารเคมี และวิธีวิเคราะห์**

**ข. 1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ**

**ข. 1.1 Potato dextrose agar (PDA)**

**ส่วนประกอบ Potato dextrose agar (PDA)**

มันฝรั่ง	200 กรัม
dextrose	20 กรัม
วุ้น (agar)	15 กรัม

**วิธีเตรียม**

ปอกเปลือกมันฝรั่ง หั่นเป็นลูกเต๋ขนาดประมาณ 1 ซม. ต้มในน้ำกลั่น 500 มิลลิตร จนเดือดนาน 15 นาที กรองผ่านผ้าขาวบาง นำส่วนที่กรองได้เติม dextrose คนให้ละลาย เติม Agar วุ้น เติมน้ำกลั่นอีก 500 มิลลิตร นำไปต้มจนละลาย (ต้องคนจนละลายไปเรื่อยๆ จนกว่าวุ้นจะละลายหมดเพื่อไม่ให้วุ้นจับตัวจนเป็นก้อน) ปรับปริมาตรสุดท้ายให้เป็น 1000 มิลลิตรใส่ในขวดปิดฝาฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส 15 บรรยายภาศ

**ข. 2 การเตรียมสารเคมี**

**ข. 2.1 NaOH 0.1 N**

**สารเคมี**

1. Sodium hydroxide 0.1 N ( 0.1 N NaOH )
2. Potassium phthalate ( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ )
3. Ethanol
4. Phenolphthalein

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### วิธีเตรียม

1. สารละลาย NaOH 0.1 N ชั่ง NaOH 4 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิตร คนให้ละลาย จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิตร จากนั้นทำ Standardize ด้วยสารละลายมาตรฐาน Potassium phthalate ( $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$ )
2. สารละลาย Phenolphthalein 1% ละลาย Phenolphthalein 1 กรัม ใน ethanol 95 % 100 มิลลิตร

### วิธีทำ Standardize สารละลาย NaOH ทำโดย

1. ละลาย  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  ที่ผ่านการอบแห้งที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง และทำให้เย็นใน desiccator ชั่งปริมาณ 0.6000 – 0.7000 กรัม ในน้ำกลั่น 50 – 70 มิลลิตร ในขวดรูปชมพู่
2. หยดสารละลาย Phenolphthalein 1 % (ใน 95 % ethanol) ในสารละลาย  $\text{KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4$  จำนวน 2 หยด
3. นำไปไทเตรตกับสารละลาย NaOH ที่บรรจุอยู่ในบิวเรต จนกระทั่งสารละลายทำปฏิกิริยาเปลี่ยนสีจากไม่มีสีเป็นสีชมพูอ่อนที่คงตัว โดยทำการไทเตรต 3 ครั้ง บันทึกปริมาตรของสารละลาย NaOH ที่ใช้

$$\text{Normality ของ NaOH} = \frac{\text{จำนวนกรัม KHC}_8\text{H}_4\text{O}_4 \times 1000}{\text{มิลลิตรของ NaOH} \times 204.229}$$

### ข. 2.2 สารละลาย Potassium dichromate

#### สารเคมี

1. Potassium dichromate ( $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7$ )
2. Sulfuric acid (cone.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

#### วิธีเตรียม

1. เติมกรด Sulfuric acid (cone.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 325 มิลลิตร ลงในน้ำกลั่น 400 มิลลิตร ในบิกเกอร์ขนาด 1 ลิตร อย่างช้าๆ คนเบาๆ ทำให้เย็นลงโดย แช่ในอ่างบิกเกอร์

2. เติม Sulfuric acid (cone.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 33.7680 กรัม (primary standard) คนให้ละลาย ถ่ายใส่ในขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตรค่อยๆเติมน้ำกลั่นให้ถึงขีด ทำให้เย็นโดยแช่ในอ่างน้ำเย็น จากนั้นปรับปริมาตรให้ถึงขีด ด้วยน้ำกลั่น

### ข. 2.3 สารละลาย Ammonium ferrous sulfate

#### สารเคมี

1. Ammonium ferrous sulfate ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 6\text{H}_2\text{O}$ )
2. Sulfuric acid (cone.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ )

#### วิธีเตรียม

1. ละลาย Ammonium ferrous sulfate ( $\text{Fe}(\text{NH}_4)_2 6\text{H}_2\text{O}$ ) 135.5 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตรในบีกเกอร์ ขนาด 1 ลิตร
2. เติม Sulfuric acid (cone.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ ) 30 มิลลิลิตร คนให้เข้ากันถ่ายใส่ขวดวัดปริมาตรขนาด 1 ลิตร ปรับปริมาตรให้ถึงขีดด้วยน้ำกลั่น

### ข. 2.4 สารละลาย 1,10-Phenanthroline

#### สารเคมี

1. Ferrous sulfate ( $\text{Fe SO}_4 7\text{H}_2\text{O}$ )
2. 0-Phenanthroline  $\text{H}_2\text{O}$

#### วิธีเตรียม

1. ละลาย Ferrous sulfate ( $\text{Fe SO}_4 7\text{H}_2\text{O}$ ) 0.695 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร
2. เติม 0-Phenanthroline  $\text{H}_2\text{O}$  1.485 กรัม คนให้ละลายปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดวัดปริมาตร

## ข. 3 การวิเคราะห์

### ข. 3.1 การหาปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

1. ใช้แท่งแก้วจุ่มสารละลายตัวอย่างหยดลงบนปริซึมของเครื่อง Hand refractometer

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. ค่อยๆ ปิดแผ่นใสให้แสงผ่านสารละลายตัวอย่างต้องกระจายทั่วผิวปริซึม ไม่ให้มีฟองอากาศ
3. ดูสเกลในเครื่องผ่านช่องมองของเครื่อง อ่านค่า OBrix ที่สเกลตรงรอยต่อระหว่างสีขาวและสีฟ้า
4. ล้างเครื่องด้วยน้ำกลั่นและเช็ดด้วยกระดาษทิชชูให้แห้ง

### ข. 3.2 การวัดความเป็นกรดต่าง พีเอช (pH)

1. รินสารละลายตัวอย่างสาโทลงในบีกเกอร์ขนาด 50 มิลลิลิตร
2. ฉีดน้ำกลั่นล้างกระเปาะแท่งพีเอชอิเล็กโทรด เช็ดให้แห้งจุ่มแท่งพีเอชอิเล็กโทรดลงในตัวอย่างสาโทที่ต้องการวัด
3. รอให้ตัวเลขบนหน้าปัด รอให้คงที่ประมาณ 5 วินาที อ่านค่าพีเอชที่ได้
4. นำแท่งวัดพีเอชออกจากสารละลายสาโทตัวอย่าง ฉีดน้ำกลั่นล้างกระเปาะแท่งพีเอชอิเล็กโทรดแล้ววัดตัวอย่างต่อไป
5. เมื่อทำการวัดตัวอย่างเสร็จ ให้ล้างให้สะอาดด้วยน้ำกลั่นและเก็บแท่งพีเอชอิเล็กโทรดไว้แช่ในสารละลายโพแทสเซียมคลอไรด์(KCl)

### ข. 3.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดทั้งหมด

1. ตวงน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมสารละลาย phenolphthalein 2 – 3 หยด
2. ไตเตรตด้วยสารละลายมาตรฐาน NaOH จนได้สีชมพูจางๆ บันทึกปริมาณของสารละลาย NaOH ที่ใช้ ซึ่งเป็นค่า Blank
3. ปิเปิดตัวอย่างสาโท 5 มิลลิลิตร ใส่ขวดรูปชมพู่ ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 75 มิลลิลิตร หยดสารละลาย Phenolphthalein 2 – 3 หยด
4. ไตเตรตด้วยสารละลาย NaOH มาตรฐาน จนได้สีชมพูจางๆ บันทึกปริมาณของสารละลาย NaOH ที่ใช้ ทำการทดลอง 3 ซ้ำการทดลอง
5. คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดในตัวอย่างอาหาร

$$\text{ปริมาณกรดทั้งหมด (\%)} = \frac{(V) (N) (\text{eq. Wt.}) (100)}{(1000) (V)}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- V = ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH  
 N = Normality ของ สารละลายมาตรฐาน NaOH  
 v = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (5 มิลลิตร)  
 eq. Wt. = น้ำหนักสมมูลของกรดเป็นกรัม (lactic = 90 )  
 หมายถึง = น้ำกลั่นที่ใช้ควรต้มไล่ CO<sub>2</sub> ออกก่อนและทิ้งให้เย็น

### ข. 3.4 การวิเคราะห์หาปริมาณแอลกอฮอล์

#### 1. การกลั่นตัวอย่างโดยใช้ micro kjeldahl apparatus

ต้มน้ำใน steam generator ให้เดือดเปิดน้ำเย็นไหลผ่าน condenser ปิดเตาละลาย Potassium dichromate (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>) 25 มิลลิตร ใส่ในขวดรูปชมพู่ แล้วนำไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้จากปลาย condenser โดยให้ปลาย condenser จุ่มอยู่ในสารละลาย Potassium dichromate (K<sub>2</sub>Cr<sub>2</sub>O<sub>7</sub>)

เปิดตัวอย่าง 1 มิลลิตร เช็ดตัวอย่างที่เป็นอนอยู่ด้านบนนอกเปิดให้แห้ง ถ่ายตัวอย่างลงในหลอดกลั่นตัวอย่าง ใช้กระบอกกลั่นฉีดล้างด้านในของเปิดให้ไหลลงในหลอดกลั่นตัวอย่างจนแน่ใจว่าไม่มีตัวอย่างตกค้างเปิด

นำหลอดกลั่นต่อเข้ากับเครื่องกลั่น แล้วเปิดเครื่องให้น้ำไหลเข้าในหลอดกลั่นตัวอย่าง กลั่นตัวอย่างจนกระทั่งปริมาตรของสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่ใช้รองรับเพิ่มขึ้นเป็น 40 มิลลิตร หยุดการกลั่นและใช้กระบอกน้ำกลั่นฉีดล้างปลาย condenser ให้สารละลายที่ติดค้างอยู่ไหลรวมกันในขวดรูปชมพู่ ปิดจุกแล้วนำขวดรูปชมพู่ดังกล่าวไปแช่ในอ่างควบคุมอุณหภูมิ 60 ± 2 องศาเซลเซียส นาน 20 – 30 นาที เพื่อให้ทำปฏิกิริยา oxidation สมบูรณ์

#### 2. การไตเตรต

นำสารละลายในขวดรูปชมพู่ที่ได้จากขั้นตอนในข้อ 1 มาไตเตรตกับสารละลาย Ammonium ferrous sulfate (Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O) จนได้สารละลายสีเขียวซีม้ำ จากนั้นเติม 0.5 มิลลิตร แล้วไตเตรตต่อไป จนได้สารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาลแดง ซึ่งเป็นจุดยุติบันทึกปริมาณของสารละลาย Ammonium ferrous sulfate (Fe (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub> 6H<sub>2</sub>O) ที่ใช้ (A)

ไตเตรต blank โดยใช้สารละลาย Potassium dichromate ( $K_2Cr_2O_7$ ) 25 มิลลิตร  
 โดยนำมาไตเตรตตรงกับสารละลาย Ammonium ferrous sulfate ( $Fe(NH_4)_2$   
 $6H_2O$ ) และบันทึกปริมาตร Ammonium ferrous sulfate ( $Fe(NH_4)_2 6H_2O$ ) ที่ใช้ (B)  
 คำนวณหาปริมาณ เอลิแอสอลล์ ดังนี้

$$\text{ปริมาณ เอลิแอสอลล์} = 25 - [(25)(A/B)]$$

(%น้ำหนัก / ปริมาตร)

หมายเหตุ : สารละลาย Ammonium ferrous sulfate ( $Fe(NH_4)_2 6H_2O$ ) สามารถถูก  
 oxidize อย่างช้าๆ โดยอากาศ ดังนั้นจึงควรหาค่า blank ทุกวันที่ทำการวิเคราะห์ และ  
 ไม่ควรใช้สารละลาย ที่ปล่อยทิ้งไว้ในบิวเรตนานเกิน 30 นาที



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
 ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ก

### มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน สาโท

#### 1. ขอบข่าย

1.1 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ไม่ครอบคลุมถึงสุราแช่ชนิดเบียร์ และสุราแช่อื่นที่ได้มีการกำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนขึ้น

#### 2. บทนิยาม

ความหมายของคำที่ใช้ในมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้ มีดังต่อไปนี้

- 2.1 สาโท หมายถึง สุราแช่ชนิดหนึ่งที่ทำจากการนำข้าวมาผ่านกรรมวิธีการผลิตสาโท แล้วมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี/ร้อยละ โดยปริมาตร
- 2.2 สุราแช่ หมายถึง สุราที่ไม่ได้กลั่น และให้หมายรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุราก่อนแล้ว แต่มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี/ร้อยละ โดยปริมาตร
- 2.3 กรรมวิธีการผลิตสาโท หมายถึง การหมักข้าวต่าง ๆ ด้วยเชื้อราและยีสต์ หรือลูกแป้งเพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งหมักไว้ระยะหนึ่งจากนั้นเติมน้ำสะอาดในอัตราส่วนที่เหมาะสม และอาจเติมน้ำตาลทรายขาวให้เหมาะสมกับการหมักสาโท หมักต่ออีกระยะหนึ่ง เพื่อให้ได้แรงแอลกอฮอล์ตามต้องการ
- 2.4 ลูกแป้ง หมายถึง เชื้อสุรา แป้งสุรา แป้งข้าวหมัก หรือเชื้อใด ๆ เมื่อนำมาหมักกับวัตถุดิบหรือของเหลวอื่น ๆ แล้วสามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำสุรา ลูกแป้งอาจผสมสมุนไพรหรือเครื่องเทศด้วยหรือไม่ก็ได้
- 2.5 รา หมายถึง จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ใช้ในการหมักสาโท มีหน้าที่เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.6 ยีสต์ หมายถึง จุลินทรีย์ชนิดหนึ่งที่ใช้ในการหมัก มีหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็น แอลกอฮอล์

### 3. คุณลักษณะที่ต้องการ

#### 3.1 คุณลักษณะทางเคมี

- 3.1.1 แรงแอลกอฮอล์ต้องไม่เกิน 15 ดีกรี/ร้อยละ โดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ที่ฉลากได้ไม่เกิน  $\pm 1$  ดีกรี/ร้อยละ โดยปริมาตร
- 3.1.2 เมทิลแอลกอฮอล์ ต้องไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.3 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด ต้องไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.4 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก (คำนวณเป็นกรดซอร์บิก) ต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.5 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก (คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก) ต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.6 ทองแดง ต้องไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.7 เหล็ก ต้องไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.8 ตะกั่ว ต้องไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.9 สารหนู ต้องไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
- 3.1.10 เฟอร์โรไซยาไนด์ ต้องไม่พบ

#### 3.2 คุณลักษณะทางกายภาพ

- 3.2.1 ความใส/ขุ่น  
ให้เป็นไปตามลักษณะการผลิตเฉพาะของสาโทที่ผลิตได้
- 3.2.2 สี  
มีสีเป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ
- 3.2.3 กลิ่น  
มีกลิ่นหอมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ
- 3.2.4 รสชาติ  
กลมกล่อมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ
- 3.2.5 คุณภาพโดยรวมของสาโท  
มีความใส/ขุ่น สี กลิ่น และรสชาติ เป็นที่ยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อตรวจสอบวิธีให้คะแนนตามข้อ 8.2 แล้ว ต้องได้คะแนนเฉลี่ยของแต่ละลักษณะจากผู้ตรวจสอบทุกคนไม่น้อยกว่าร้อยละ 60 และไม่มีลักษณะใดได้น้อยกว่าร้อยละ 30 ของคะแนนเต็มจากผู้ตรวจสอบคนใดคนหนึ่ง

### 3.3 สิ่งแปลกปลอม

ต้องไม่พบสิ่งแปลกปลอมที่ไม่ใช่วัตถุที่ใช้ทำ

### 3.4 ความเสถียร

ต้องไม่ปรากฏฟองในภาชนะบรรจุอันเนื่องมาจากการหมักซ้ำ

## 4. สุขลักษณะ

4.1 สุขลักษณะในการทำสาโท ให้เป็นไปตามคำแนะนำตามภาคผนวก ก.1

## 5. การบรรจุ

5.1 ให้บรรจุสาโทในภาชนะบรรจุที่เหมาะสม สะอาด แห้ง ปิดได้สนิท และไม่ทำปฏิกิริยากับสาโทที่บรรจุอยู่

5.2 ขนาดบรรจุของสาโทในแต่ละภาชนะบรรจุต้องไม่น้อยกว่าที่ระบุไว้ที่ฉลาก

## 6. เครื่องหมายและฉลาก

6.1 ที่ภาชนะบรรจุสาโททุกหน่วย อย่างน้อยต้องมี เลข อักษร หรือเครื่องหมายแจ้งรายละเอียดต่อไปนี้ให้เห็นได้ง่าย ชัดเจน

(1) ชื่อเรียกผลิตภัณฑ์ เช่น สาโทข้าวเหนียว

(2) แรเงแอลกอฮอล์ เป็นดีกรี หรือ ร้อยละโดยปริมาตร

(3) ขนาดบรรจุ

(4) ส่วนประกอบหลัก หรือวัตถุที่ใช้ทำ

(5) คำเตือนตามกฎหมายที่เกี่ยวข้องกำหนด เช่น การดื่มสุรทำให้ความสามารถในการขับขี่ยานพาหนะลดลง

(6) วัน เดือน ปีที่บรรจุ

(7) ชื่อผู้ทำ หรือสถานที่ทำ พร้อมสถานที่ตั้ง หรือเครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีความหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดไว้ข้างต้น ยกเว้นข้อ (5) ต้องเป็นภาษาไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## 7. การชักตัวอย่างและเกณฑ์ตัดสิน

- 7.1 รุ่น ในที่นี้ หมายถึง สาโทที่ทำจากวัตถุดิบและกรรมวิธีเดียวกัน ที่ทำหรือซื้อขายหรือส่งมอบในระยะเวลาเดียวกัน
- 7.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับ ให้เป็นไปตามแผนการชักตัวอย่างที่กำหนดต่อไปนี้
- 7.2.1 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางเคมี ถึงแปลกปลอม ความเสถียร การบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน 3 หน่วย ภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.1 ข้อ 3.3 ข้อ 3.4 ข้อ 5. และ ข้อ 6. จึงจะถือว่าสาโทรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด
- 7.2.2 การชักตัวอย่างและการยอมรับสำหรับการทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพ ให้ชักตัวอย่างโดยวิธีสุ่มจากรุ่นเดียวกันจำนวน 5 หน่วยภาชนะบรรจุ เมื่อตรวจสอบแล้วทุกตัวอย่างต้องเป็นไปตามข้อ 3.2 จึงจะถือว่าสาโทรุ่นนั้นเป็นไปตามเกณฑ์ที่กำหนด
- 7.3 เกณฑ์ตัดสิน  
ตัวอย่างสาโทต้องเป็นไปตามข้อ 7.1.1 และข้อ 7.1.2 ทุกข้อ จึงจะถือว่าสาโทรุ่นนั้นเป็นไปตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนี้

## 8. การทดสอบ

- 8.1 การทดสอบคุณลักษณะทางเคมี และขนาดบรรจุ ให้ปฏิบัติตามวิธีวิเคราะห์ที่หน่วยตรวจสอบให้ปฏิบัติอยู่เป็นประจำ
- 8.2 การทดสอบคุณลักษณะทางกายภาพ
- 8.2.1 ให้แต่งตั้งคณะผู้ตรวจสอบ 10 คน แต่ละคนจะแยกกันตรวจและให้คะแนนโดยอิสระ
- 8.2.2 คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ ให้เป็นไปตามภาคผนวก ค.2
- 8.2.3 หลักเกณฑ์การให้คะแนน ให้เป็นไปตามภาคผนวก ค.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

### 8.3 การทดสอบสิ่งแปลกล้อม ความเสถียร ภาชนะบรรจุ และเครื่องหมายและฉลาก ให้ ตรวจพินิจ



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค. 1

### สัญลักษณ์

(ข้อ 4.1)

#### 1. สถานที่ตั้งและอาคารผลิต

- 1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและที่ใกล้เคียง ควรอยู่ในที่ที่จะไม่ทำให้สาโทที่ผลิตเกิดการปนเปื้อนได้ง่ายโดย
  - 1.1.1 สถานที่ตั้งตัวอาคารและบริเวณโดยรอบ สะอาด ไม่มีน้ำขังแฉะและสกปรก
  - 1.1.2 ควรอยู่ห่างจากบริเวณหรือสถานที่ที่มีฝุ่นมากผิดปกติ
  - 1.1.3 ไม่ควรอยู่ใกล้เคียงกับสถานที่น่ารังเกียจ
- 1.2 อาคารผลิตมีขนาดเหมาะสม มีการออกแบบและก่อสร้างในลักษณะที่ง่ายแก่การบำรุงรักษา การทำความสะอาด และสะดวกในการปฏิบัติงาน โดย
  - 1.2.1 พื้น ฝาผนัง และเพดานของอาคารสถานที่ผลิต ควรก่อสร้างด้วยวัสดุที่คงทน ทำความสะอาด และซ่อมแซมให้อยู่ในสภาพที่ติดตลอดเวลา
  - 1.2.2 ควรแยกบริเวณผลิตสาโทออกเป็นสัดส่วน ไม่ควรอยู่ใกล้ห้องสุขา ไม่ควรมีสิ่งของที่ไมใช้แล้วหรือไม่เกี่ยวข้องกับการผลิตอยู่ในบริเวณผลิต
  - 1.2.3 พื้นที่ปฏิบัติ ควรมีบริเวณเพียงพอ แสงสว่าง และการระบายอากาศที่เหมาะสม

#### 2. เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ในการผลิต

- 2.1 ภาชนะหรืออุปกรณ์ในการผลิตที่สัมผัสกับสาโท ทำจากวัสดุมีผิวเรียบ ไม่เป็นสนิม ไม่กัดกร่อนหรือทำปฏิกิริยากับสาโท ล้างทำความสะอาดได้ง่าย
- 2.2 เครื่องมือ เครื่องจักร และอุปกรณ์ที่ใช้สะอาด และเหมาะสมกับการใช้งาน ไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อน ติดตั้งได้ง่าย มีปริมาณเพียงพอ รวมทั้งสามารถทำความสะอาดได้ง่ายและทั่วถึง

#### 3. การควบคุมกระบวนการผลิต

- 2.3 วัตถุดิบและส่วนผสมในการผลิตสาโท สะอาด มีคุณภาพดี มีการล้างหรือทำความสะอาดก่อนนำไปใช้
- 2.4 น้ำที่ใช้ในการผลิต สะอาด มีคุณภาพดี ให้ผ่านการต้มหรือกรองก่อนนำมาใช้ในการผลิตสาโท
- 2.5 การผลิต การเก็บรักษา ขนย้าย และขนส่งสาโท มีการป้องกันการปนเปื้อนและการเสื่อมเสียของสาโท

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

#### 4. การสุขาภิบาล การบำรุงรักษา และการทำความสะอาด

น้ำที่ใช้ล้างทำความสะอาดเครื่องมือ เครื่องจักร อุปกรณ์ และมือผู้ประกอบการสาโท ควรเป็นน้ำสะอาด และมีปริมาณเพียงพอ

4.1 มีวิธีการป้องกันและกำจัดสัตว์นำเชื้อ แมลงและฝุ่นผง ไม่ให้เข้าไปในบริเวณผลิตตามความเหมาะสม

4.2 มีการกำจัดขยะ สิ่งสกปรก และน้ำทิ้ง อย่างเหมาะสม เพื่อไม่ก่อให้เกิดการปนเปื้อนกลับลงสู่สาโท

4.3 สารเคมีที่ใช้ล้างทำความสะอาด และใช้กำจัดสัตว์นำเชื้อและแมลง ควรใช้ในปริมาณที่เหมาะสม และเก็บแยกจากบริเวณที่ผลิตสาโท เพื่อไม่ให้ปนเปื้อนลงสู่สาโทได้

#### 5. บุคลากรและสุขลักษณะผู้ปฏิบัติงาน

ผู้ทำสาโททุกคนต้องรักษาความสะอาดส่วนบุคคลให้ดี เช่น สวมเสื้อผ้าที่สะอาด ควรมีผ้าคลุมผมเพื่อป้องกันไม่ให้เส้นผมหล่นลงในอาหาร ไม่ไว้เล็บยาว และล้างมือให้สะอาดก่อนสัมผัสสาโททุกครั้ง



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

**ภาคผนวก ก. 2**  
**คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ**  
(ข้อ 8.2.2)

**1. คุณสมบัติของคณะผู้ตรวจสอบ**

- 1.1 มีความชำนาญในการตรวจสอบสาขา
- 1.2 ประกอบด้วยผู้แทนจากกลุ่มบุคคลต่าง ๆ จำนวน 10 คน ดังนี้
  - 1.2.1 ผู้ผลิต 2 คน
  - 1.2.2 นักวิชาการ/ผู้ทรงคุณวุฒิ 3 คน
  - 1.2.3 ผู้บริโภค 4 คน
  - 1.2.3 ภาครัฐที่เกี่ยวข้อง 1 คน



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ภาคผนวก ค.3

หลักเกณฑ์การให้คะแนนในการทดสอบความใส/ขุ่น สี กลิ่น รสชาติและคุณภาพโดยรวมของสาโท  
(ข้อ 8.2.3)

ลักษณะที่ตรวจ	เกณฑ์ที่กำหนด	คะแนนเต็ม
ความใส/ขุ่น	เป็นไปตามลักษณะการผลิตเฉพาะของสาโทที่ผลิตได้	10
สี	สีเป็นไปตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ และ เป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก	10
กลิ่น	มีกลิ่นหอมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ	30
รสชาติ	กลมกล่อมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ	30
คุณภาพโดยรวมของสาโท	มีความใส/ขุ่น สี กลิ่น และรสชาติเป็นที่ยอมรับ	20

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า  
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

## ประวัติผู้เขียน

นางสาวอชลิ สระสาตี เกิดเมื่อวันที่ 18 มกราคม 2524 จังหวัดกรุงเทพมหานคร สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย เมื่อปี 2543 จากโรงเรียนพรตพิทยพยัต ลาดกระบัง จังหวัดกรุงเทพมหานคร และปี พ.ศ. 2547 จบการศึกษาอยู่ในระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต

นายอุทาน บุญมี เกิดเมื่อวันที่ 8 กุมภาพันธ์ 2524 จังหวัดเชียงราย สำเร็จการศึกษาระดับมัธยมศึกษาตอนปลาย เมื่อปี 2543 จากโรงเรียนปลื้มวิทยาคม อ.เทิง จังหวัดเชียงราย และปี พ.ศ. 2547 จบศึกษาอยู่ในระดับปริญญาตรี สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก โครงการคณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง หลักสูตรวิทยาศาสตร์บัณฑิต



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่าจะกรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้