สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

อิทธิพลของราและยีสต์จากลูกแป้งต่อสารให้กลิ่นรสในกระบวนการหมักข้าว

INFLUENCE OF MOULDS AND YEASTS FROM LOOK-PANG ON FLAVOUR COMPOUNDS IN RICE FERMENTATION PROCESS

T110613

มาวิณี แย้มจันทรามาศ

MAWINEE YAEMCHANTRAMART

สน.
วิ5250
2553

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน.....110613
วัน,เดือน,ปี.....- 9 พ.ย. 2553

b.....12255250.....
i.....

วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ.2553

KMITL-2010-SC-M-020-026

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

INFLUENCE OF MOULDS AND YEASTS FROM LOOK-PANG ON FLAVOUR COMPOUNDS IN RICE FERMENTATION PROCESS

MAWINEE YAEMCHANTRAMART

A THESIS SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT

OF THE REQUIREMENT FOR THE DEGREE OF

MASTER OF SCIENCE IN BIOTECHNOLOGY

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

2010

KMITL-2010-SC-M-020-026

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

COPYRIGHT 2010

FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ใบรับรองวิทยานิพนธ์

หัวข้อวิทยานิพนธ์ อิทธิพลของราและยีสต์จากลูกแป้งต่อสารให้กลิ่นรสในกระบวนการหมักข้าว

Influence of Moulds and Yeasts from Look-Pang on Flavour Compounds in Rice Fermentation Process

นักศึกษา นางสาวมาวิณี แย้มจันทรามาศ

รหัสประจำตัว 49068309

ปริญญา วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชา เทคโนโลยีชีวภาพ

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ รศ.ดวงใจ โอชัยกุล

อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม ผศ.ดร.เจริญ เจริญชัย

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์		ลายมือชื่อ
รศ.ดร.นวลพรรณ	ณ ระนอง	
รศ.ดวงใจ	โอชัยกุล	
ผศ.ดร.เจริญ	เจริญชัย	
ผศ.ดร.สาวิตรี	วทัญญูไพศาล	

วัน / เดือน/ ปี ที่สอบ 18 พฤษภาคม พ.ศ. 2553 เวลา 13.00-16.00 น.

สถานที่สอบ ณ อาคารจุฬาภรณ 1 คณะวิทยาศาสตร์ ห้อง 424

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

คณะวิทยาศาสตร์รับรองแล้ว

(รองศาสตราจารย์ ดร.ดุษณี ธนะมฤรีพัฒน์)

คณบดีคณะวิทยาศาสตร์

วันที่ 31 **เดือน** พค. **พ.ศ.** 53

สำนักทะเบียนและประมวลผล สจล.
วันที่ส่งเล่มวิทยานิพนธ์ฉบับสมบูรณ์
วันที่ 11 เดือน มิ.ย. พ.ศ. 2553
ลงชื่อ

ห้องสมุดนี้เป็นแหล่งเก็บรวบรวมวิทยานิพนธ์เพื่อการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อวิทยานิพนธ์	อิทธิพลของราและยีสต์จากลูกแป้งต่อสารให้กลิ่นรสในกระบวนการหมักข้าว
ชื่อนักศึกษา	นางสาว มาวิณี แย้มจันทรามาศ
รหัสประจำตัว	49068309
ปริญญา	วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชา	เทคโนโลยีชีวภาพ
พ.ศ.	2553
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์	รศ. ดวงใจ โอชัยกุล
อาจารย์ผู้ควบคุมวิทยานิพนธ์ร่วม	ผศ. ดร. เจริญ เจริญชัย

บทคัดย่อ

จากการศึกษาบทบาทของรา *Amylomyces rouxii* MNT 037 และ *Rhizopus oryzae* MNT 006 ที่แยกได้จากลูกแป้ง เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในการย่อยข้าวเหนียว พบว่า *A. rouxii* MNT 037 มีความสามารถในการย่อยแป้งสูงกว่า *R. oryzae* MNT 006 และการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ตามลำดับ โดยมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้น มีค่า 302.64 253.35 และ 222.05 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ส่วนการผลิตสารให้กลิ่นรสจากการหมักข้าว พบว่า *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตฟูเซลออยล์และเอสเทอร์ รวมทั้งกรดอินทรีย์ได้มากกว่า *A. rouxii* MNT 037 และการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบ 20 คน พบว่าการหมักข้าวเหนียวด้วย *A. rouxii* MNT 037 มีคะแนนด้านรสชาติสูงสุด ในขณะที่น้ำเชื่อมข้าวจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *R. oryzae* MNT 006 มีคะแนนด้านกลิ่นสูงสุด จากการหมักข้าวเหนียวโดยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ที่แยกได้จากลูกแป้ง และ *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5033 พบว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีความสามารถสูงในการย่อยแป้งข้าวเหนียวเป็นกลูโคสและสามารถผลิตเอทานอลได้เล็กน้อย ขณะที่ *S. cerevisiae* YRK 017 มีความสามารถในการผลิตแอลกฮอล์ได้สูง และเมื่อใช้ยีสต์สองชนิดร่วมกันในอัตราส่วน 1:1 พบว่ามีการผลิตเอทานอลได้น้อยกว่าการใช้ *S. cerevisiae* YRK 017 เพียงอย่างเดียว สารให้กลิ่นรสที่เกิดจากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์เป็นเวลา 10 วัน พบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตฟูเซลออยล์และเอสเทอร์และปริมาณกรดอินทรีย์มากกว่า *Sc. fibuligera* TISTR 5033 แต่เมื่อใช้ยีสต์สองชนิดหมักร่วมกันพบว่าให้ฟูเซลออยล์และเอสเทอร์ รวมทั้งปริมาณกรดอินทรีย์สูงสุด การหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส พบว่าการหมักที่อุณหภูมิต่ำทำให้ระยะเวลาในการหมักนานขึ้น การหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสทำให้ปริมาณฟูเซลออยล์และกรดอินทรีย์มีค่ามากขึ้นขณะที่ปริมาณเอสเทอร์น้อยลง เอสเทอร์มีปริมาณสูงสุดเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสและลดลงเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 และ 30 องศาเซลเซียส เมื่อนำเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 หมักข้าวเหนียวเป็นเวลา 3 วันจากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน ไวน์ข้าวที่ได้มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 6.78 โดยปริมาตร ปริมาณฟูเซลออยล์ ได้แก่ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ไอโซบิวทานอล และโพรพานอล เท่ากับ 378.55 มิลลิกรัมต่อลิตร เอสเทอร์ ได้แก่ เอทิลอะซีเตท มีปริมาณ 9.37 มิลลิกรัมต่อลิตร รวมทั้งพบกรดอินทรีย์ ได้แก่ กรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดอะซีติก จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบ 20 คน พบว่าไวน์ข้าวมีคะแนนด้านกลิ่น สี และลักษณะปรากฏสูง ขณะที่มีคะแนนด้านรสชาติน้อย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Thesis	Influence of Moulds and Yeasts from Look-Pang on Flavour Compounds in Rice Fermentation Process
Student	Miss Mawinee Yaemchantramart
Student ID	49068309
Degree	Master of science
Program	Biotechnology
Year	2010
Thesis Advisor	Assoc. Prof. Duangjai Ochaikul
Thesis Co-advisor	Asst. Prof. Charoen Charoenchai

ABSTRACT

The role of starch-degrading moulds, *Amylomyces rouxii* MNT 037 and *Rhizopus oryzae* MNT 006 from Look-Pang, and commercial glucoamylase in glutinous rice were examined. The starch degradation was carried out for 120 hours at room temperature by moulds and 60 °C by commercial glucoamylase. *A. rouxii* MNT 037 was superior in starch degradation, glucose production and glucoamylase activity than *R. oryzae* MNT 006 and commercial glucoamylase during the saccharification of glutinous rice. *A. rouxii* MNT 037, *R. oryzae* MNT 006 and commercial glucoamylase were able to produced 302.64, 253.35 and 222.05 g/L of glucose, respectively. The contents of fusel oils, ester and organic acids from *R. oryzae* MNT 006 starch degradation were higher than *A. rouxii* MNT 037 and commercial glucoamylase, respectively. The sensory evaluation from 20 panelists showed that the taste of *A. rouxii* MNT 037 rice syrup was the best score while rice syrup of *R. oryzae* MNT 006 showed the best score of aroma. *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 from Look-Pang and *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5033 were studied on the ability of glutinous rice fermentation for 10 days. *S. cerevisiae* YRK 017 was superior in alcohol productivity while *Sc. fibuligera* TISTR 5033 showed amylolytic activity but was poor alcohol producer. The ethanol content from co-culture of *S. cerevisiae* YRK 017 and *Sc. fibuligera* TISTR 5033 on ratio 1:1, was less than individual *S. cerevisiae* YRK 017. The highest contents of fusel oils, ester and organic acids were found in co-culture of two yeasts,

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. cerevisiae YRK 017 and *Sc. fibuligera* TISTR 5033, respectively. The effect of temperature on flavor formation by *S. cerevisiae* YRK 017 and *Sc. fibuligera* TISTR 5033 were carried out at 10, 25 and 30 $^{\circ}$C and found that low temperature lengthened the fermentations. The fusel oils and organics acids were found to have the highest concentrations at 30°C. The concentration of ester was highest at 25 $^{\circ}$C but decreased at 10°C and 30°C. The strong amylolytic activity moulds, *A. rouxii* MNT 037 was incubated with glutinous rice for 3 days. After that, *S. cerevisiae* YRK 017 was added and incubated at 25 $^{\circ}$C for 14 days. The glutinous rice wine gave the content of ethanol 6.78 % (v/v). The total content of fusel oils (isoamyl alcohol, isobutanol and propanol) and ester were 378.55 mg/L and 9.37 mg/L, respectively. Organic acids found in the glutinous rice wine such as succinic acid, malic acid, lactic acic and acetic acid. The sensory evaluation from 20 panelists showed that aroma, color and appearance were higher than taste.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยความกรุณาและคำแนะนำจากอาจารย์ที่ปรึกษา รศ.ดวงใจ โอชัยกุล และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม ผศ.ดร. เจริญ เจริญชัย ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำตลอดจนให้ความรู้และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า ข้าพเจ้ามีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากอาจารย์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ รศ.ดร. นวลพรรณ ณ ระนอง ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ผศ.ดร.สาวิตรี วทัญญูไพศาล กรรมการสอบวิทยานิพนธ์ ที่สละเวลาอันมีค่าเพื่อเป็นกรรมการในการสอบวิทยานิพนธ์ รวมทั้งให้คำแนะนำตรวจสอบตลอดจนชี้แนะในการแก้ไขวิทยานิพนธ์ให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการสาขาวิชาชีววิทยา และเจ้าหน้าที่ฝ่ายอาคารสถานที่ทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านการติดต่อประสานงาน อำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์ สารเคมี และการขอใช้ห้องปฏิบัติการนอกเวลาราชการ

ขอขอบคุณ พี่วิมลักษณ์ รัตนปรีดากุล ที่อนุเคราะห์เชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

ขอขอบคุณเพื่อน พี่ น้อง และบุคคลที่ไม่สามารถเอ่ยถึงได้ทั้งหมด ที่คอยให้ความช่วยเหลือทั้งในด้านแรงงาน กำลังใจ ข้อคิดเห็น และมีมิตรภาพที่ดีให้กันตลอดมา

ขอกราบขอบพระคุณ บิดา มารดา ที่ให้คำแนะนำและสนับสนุนในด้านการศึกษา เป็นกำลังใจให้สู้โดยไม่ท้อถอย ขอขอบคุณน้องชายที่คอยช่วยเหลือด้านแรงงานและความปลอดภัยในเวลาใช้ห้องปฏิบัติการยามวิกาล

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากวิทยานิพนธ์ฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

มาวิณี แย้มจันทรามาศ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....I

บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....III

กิตติกรรมประกาศ.....V

สารบัญ.....VI

สารบัญตาราง.....XI

สารบัญรูป.....XIV

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....2

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา.....2

1.3 ขอบเขตการวิจัย.....2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 ไวน์ข้าว.....3

2.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตสาโท.....4

2.2.1 เชื้อรา.....5

2.2.2 ยีสต์.....6

2.2.3 แลคติกแอสิดแบคทีเรีย.....7

2.3 กระบวนการผลิตสาโท.....7

2.3.1 ขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อ.....7

2.3.1.1 การใช้ลูกแป้ง.....7

2.3.1.2 การใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์.....8

2.3.2 ขั้นตอนการหมัก.....11

2.3.3 การกรองและการทำให้ใส.....11

2.3.4 การฆ่าเชื้อ.....11

2.3.5 ขั้นตอนการเก็บบ่มและการผสมปรุงแต่ง.....12

2.4 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีที่สำคัญในการผลิตสาโท.....12

2.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยเชื้อรา.....14

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

2.4.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยยีสต์....14
2.4.3 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยแลคติกแอสิดแบคทีเรีย....15
2.5 สารเคมีที่มีผลต่อกลิ่นรสของสาโท....16
2.5.1 เอทิลแอลกอฮอล์....16
2.5.2 ฟูเซลออยล์....17
2.5.3 เมทิลแอลกอฮอล์....18
2.5.4 อัลดีไฮด์....18
2.5.5 เอสเทอร์....19
2.5.6 กรด....20
2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง....20
บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย....26
3.1 อุปกรณ์และสารเคมี
3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง....26
3.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง....26
3.1.3 อุปกรณ์....26
3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ....27
3.1.5 สารเคมี....27
3.2 วิธีการวิจัย
3.2.1 ศึกษาการเจริญ ความสามารถในการย่อยข้าวเหนียว และการผลิตกรดอินทรีย์ของเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า....28
3.2.1.1 การเตรียมสปอร์แขวนลอย (Spore suspension) ของเชื้อรา....28
3.2.1.2 การเตรียมข้าวเหนียวนึ่ง....29
3.2.1.3 ศึกษาการเจริญ ความสามารถในการย่อยข้าวเหนียว และการผลิตกรดอินทรีย์ของเชื้อรา....29
3.2.2 เปรียบเทียบการใช้เชื้อราและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว....29
3.2.2.1 ปริมาณและความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว....29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

3.2.2.2 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส.....30
3.2.3 ศึกษาบทบาทของเชื้อราต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก.....30
3.2.4 ศึกษาบทบาทในการย่อยแป้งและการผลิตแอลกอฮอล์ของเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า.....31
3.2.4.1 การเตรียมหัวเชื้อบริสุทธิ์.....31
3.2.4.2 บทบาทของเชื้อยีสต์ ในการย่อยแป้ง.....31
3.2.4.3 บทบาทของเชื้อยีสต์ในการผลิตแอลกอฮอล์.....31
3.2.5 บทบาทของเชื้อยีสต์ต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก.....32
3.2.6 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสของเชื้อยีสต์.....32
3.2.7 ศึกษาบทบาทของการใช้เชื้อยีสต์และเชื้อราร่วมกันในการผลิตสารให้กลิ่นรสของไวน์ข้าว.....33
3.3 วิธีการวิเคราะห์.....33
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์.....34
4.1 ศึกษาการเจริญ ความสามารถในการย่อยข้าวเหนียว และการผลิตกรดอินทรีย์ของเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า.....34
4.1.1 การเจริญของเชื้อรา.....35
4.1.2 ปริมาณแป้งที่เหลือ.....37
4.1.3 กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส.....37
4.1.4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคส.....38
4.1.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้.....39
4.1.6 ค่าพีเอชและปริมาณกรดอินทรีย์.....40
4.1.7 กลีเซอรอล.....44
4.2 เปรียบเทียบการใช้เชื้อราและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว.....45
4.2.1 ปริมาณและความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว.....45
4.2.2 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส.....47

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.2.3 เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 กับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส 48

4.3 ศึกษาบทบาทของเชื้อราต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก 50

4.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวและการหมักแอลกอฮอล์ของเชื้อยีสต์ 54

4.4.1 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวของเชื้อยีสต์ 55

4.4.2 ศึกษาความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียวของเชื้อยีสต์ 56

4.4.2.1 ปริมาณเชื้อยีสต์ 57

4.4.2.2 ปริมาณกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 58

4.4.2.3 ค่าพีเอช 59

4.4.2.4 ปริมาณกลีเซอรอล 59

4.4.2.5 ปริมาณเอทานอล 60

4.5 บทบาทของเชื้อยีสต์ต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก 61

4.5.1 ปริมาณเชื้อยีสต์ 61

4.5.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 65

4.5.3 ปริมาณกลูโคส 65

4.5.4 ปริมาณกลีเซอรอล 66

4.5.5 ปริมาณเอทานอล 67

4.5.6 พีเอช 68

4.5.7 กรดอินทรีย์ 69

4.6 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสของเชื้อยีสต์ 73

4.6.1 ปริมาณเชื้อยีสต์ 74

4.6.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 74

4.6.3 ปริมาณกลูโคส 83

4.6.4 ปริมาณกลีเซอรอล 83

4.6.5 ปริมาณเอทานอล 86

4.6.6 ค่าพีเอช 86

4.6.7 กรดอินทรีย์ 89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

หน้า

4.7 ศึกษาบทบาทของการใช้เชื้อยีสต์และเชื้อราร่วมกันในการผลิตสารให้กลิ่นรสของไวน์ข้าว....94
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง....99
เอกสารอ้างอิง....101
ภาคผนวก ก....107
ภาคผนวก ข....109
ภาคผนวก ค....111
ภาคผนวก ง....124
ภาคผนวก จ....125
ประวัติผู้เขียน....127

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ หน้า

2.1 ชื่อเรียกของไวน์ข้าวในแต่ละประเทศ....3

2.2 ชนิดและปริมาณของสารประกอบที่สำคัญที่พบในไวน์....12

4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อรา ปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง....34

4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อรา ปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง.... 35

4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณของกรดอินทรีย์ที่เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ผลิตได้ระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 วัน....42

4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณของกรดอินทรีย์ที่เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ผลิตได้ระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 วัน....42

4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลระหว่างการหมักด้วยข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง....44

4.6 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้เมื่อใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสในความเข้มข้นและปริมาณที่แตกต่างกัน ในการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง.. 46

4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และค่าพีเอช กรดอินทรีย์และกลีเซอรอล โดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง....47

4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และค่าพีเอช โดยใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 รวมทั้งเอนไซม์กลูโคอะไมเลส หมักและย่อยข้าวเหนียว เป็นเวลา 120 ชั่วโมง....48

4.9 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 รวมทั้งน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส... 51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.10 สารระเหยหลักและองค์ประกอบอื่นๆ ในน้ำเชื่อมข้าวจากการ หมักข้าวเหนียว ด้วยเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 *R. oryzae* MNT 006 และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เป็นเวลา 3 วัน 52

4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช และปริมาณกลีเซอรอล ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน.....56

4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อยีสต์ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช ปริมาณกลีเซอรอล และปริมาณเอทานอลระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง.....56

4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อยีสต์ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช ปริมาณกลีเซอรอล และปริมาณเอทานอลระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง.....57

4.14 การหมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง.....62

4.15 การหมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง.....63

4.16 การหมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ร่วมกับ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง.....64

4.17 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์ข้าวที่ได้จากการหมักข้าวเหนียว ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้ยีสต์สองชนิดร่วมกัน ในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิห้อง.....71

4.18 ปริมาณสารระเหยและสารให้กลิ่นรสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้ยีสต์ผสม เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง.....73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง (ต่อ)

ตารางที่ หน้า

4.19 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส....75

4.20 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส....76

4.21 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส....77

4.22 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส....78

4.23 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส....79

4.24 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส....80

4.25 ปริมาณสารระเหยและสารให้กลิ่นรสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส....94

4.26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณกลูโคส กลีเซอรอลและเอทานอล ค่าพีเอชและกรดอินทรีย์ที่พบในไวน์ข้าวจากการหมักด้วย เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน....96

4.27 ปริมาณสารระเหยและสารให้กลิ่นรสที่พบในไวน์ข้าวจากการหมักของเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน....97

4.28 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์ข้าวจากการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นหมักต่อด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 14 วัน โดยใช้ผู้ทดสอบ 20 คน....98

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ หน้า

2.1 แสดงกรรมวิธีการผลิตสาโทแบบดั้งเดิมจากลูกแป้ง....9

2.2 การผลิตสาโทจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์ 10

2.3 การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล....14

2.4 เมแทบอลิซึมของยีสต์ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ 15

2.5 การผลิตสารให้กลิ่นรสของยีสต์ *Sacharomyces cerevisiae*....17

2.6 วิถีการเกิดฟูเซลออยล์หรือแอลกอฮอล์โมเลกุลสูงจากกรดอะมิโนและกรดอัลฟาคีโต....18

2.7 วิถีเมตาบอลิซึมการสร้างสารประกอบให้กลิ่นของยีสต์ *S.cerevisiae*....25

4.1 การเจริญและการผลิตน้ำเชื่อมข้าวของเชื้อ *Amylomyces rouxii* MNT 037 (ซ้าย) และ *Rhizopus oryzae* MNT 006 (ขวา) ปกคลุมบริเวณผิวหน้าของข้าวเหนียวนึ่ง....36

4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ในระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง 36

4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้งที่เหลือจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง.... 37

4.4 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง....38

4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง....39

4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง....40

4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง....43

4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอินทรีย์จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง....43

4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง....45

4.10 การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 (ซ้าย) และ *Sc .fibuligera* TISTR 5033 (ขวา) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน 55

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ในระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน....57

4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน....58

4.13 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน....59

4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน....60

4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน....60

4.16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน....61

4.17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน....65

4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน....66

4.19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน....67

4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน....68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ หน้า

4.21 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน....68

4.22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (ก) ซัคซินิก (ข) มาลิก (ค) แลคติก และ (ง) อะซีติก จากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน....69

4.23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ (ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส....81

4.24 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส....82

4.25 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส....84

4.26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส....85

4.27 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส....87

4.28 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ (ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส....88

4.29 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (ก) ซัคซินิก (ข) มาลิก (ค) แลคติก และ (ง) อะซีติก จากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส....91

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ข้าว เป็นพืชเศรษฐกิจสำคัญในภูมิภาคเอเชีย นอกจากจะเป็นอาหารหลักแล้วยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ได้มากมายไม่ว่าจะเป็นข้าวเจ้าหรือข้าวเหนียว แต่อย่างไรก็ตามการนำเมล็ดข้าวเหนียวมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ต่างๆ ยังมีน้อยกว่าการแปรรูปเมล็ดข้าวเจ้า โดยทั่วไปแล้วข้าวเหนียวนิยมมาแปรรูปเป็นอาหารหลายชนิดเช่น อาหารหวาน และอาหารคาว นอกจากนั้นข้าวเหนียวยังสามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ (Alcoholic beverage) หรือสุราได้อีกด้วย ผลิตภัณฑ์ที่ได้จึงเรียกว่าไวน์ข้าว มีชื่อเรียกต่างๆ กันไป เช่น สาโท กระแช่ และอุ เป็นต้น การผลิตไวน์ข้าวจะใช้จุลินทรีย์ในการหมักข้าว จุลินทรีย์ที่ใช้อยู่ในลูกแป้งซึ่งเป็นเชื้อผสมของเชื้อรา เชื้อยีสต์ และแบคทีเรียผลิตกรดแลคติก ที่มีความหลากหลายและทำให้รสชาติของไวน์ข้าวมีความแตกต่างกันมาก จึงทำให้ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของไวน์ข้าวให้คงที่ได้ จึงจำเป็นต้องนำเอาหลักการและวิธีการทางวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีมาปรับใช้เพื่อต่อยอดภูมิปัญญาไทยนี้เพื่อให้ได้สาโทที่มีคุณภาพและมาตรฐานสูงขึ้น ในขณะที่ยังคงรักษาไว้ซึ่งคุณภาพและการยอมรับของผู้บริโภคต่อไป

การนำจุลินทรีย์บริสุทธิ์มาใช้ในการหมักข้าวเป็นเทคโนโลยีที่ใช้เพื่อพัฒนาคุณภาพของสาโทให้ดีขึ้น จุลินทรีย์ที่นำมาใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์เป็นจุลินทรีย์ชนิดเดียวกับที่แยกได้จากลูกแป้ง ระหว่างการหมักข้าวโดยจุลินทรีย์ในช่วงแรกจะเป็นการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลโดยเชื้อราซึ่งผลิตเอนไซม์อะไมเลสออกมาย่อยแป้ง เชื้อราที่มีบทบาทสำคัญ ได้แก่ *Amylomyces* sp. *Rhizopus* sp. *Mucor* sp. *Aspergillus* sp. ขั้นตอนต่อมาเป็นการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์ จีนัสสำคัญ คือ *Endomycopsis* sp. เช่น *E. fibuligera* ส่วนยีสต์หมักแอลกอฮอล์ ได้แก่ *Saccharomyces* sp. เช่น *S. cerevisiae, S. diastaticus, Hensenula* sp. การคัดเลือกชนิดของจุลินทรีย์เพื่อนำมาผลิตเป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ นอกจากจะพิจารณาคุณสมบัติหลัก ได้แก่ ความสามารถในการย่อยแป้งและการผลิตแอลกอฮอล์ ยังต้องพิจารณาถึงสมบัติรองของจุลินทรีย์อีกด้วย ได้แก่ การผลิตสารให้กลิ่นรส จุลินทรีย์บางชนิดอาจมีคุณสมบัติหลักที่ดีแต่อาจผลิตสารให้กลิ่นรสที่ไม่ดี กลิ่นรสที่เกิดขึ้นนี้สามารถบ่งบอกคุณภาพของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ได้

งานวิจัยนี้มีจุดมุ่งหมายเพื่อศึกษาบทบาทของเชื้อราและเชื้อยีสต์ในการผลิตสารให้กลิ่นรสในไวน์ข้าวและข้าวหมัก และปัจจัยที่มีผลต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสของเชื้อราและเชื้อยีสต์ โดยเลือกใช้เชื้อราและเชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติหลักที่ดีมาทดสอบการผลิตสารให้กลิ่นรสในแต่ละช่วง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของขั้นตอนการหมัก เพื่อนำไปสู่การคัดเลือกจุลินทรีย์ที่จะนำมาใช้เป็นกล้าเชื้อบริสุทธิ์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสมต่อการผลิตไวน์ข้าวที่มีคุณภาพดีต่อไป

1.2 ความมุ่งหมายและวัตถุประสงค์ของการศึกษา

1. ศึกษาบทบาทในการย่อยข้าวและการผลิตกรดอินทรีย์ของเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า
2. ศึกษาบทบาทของเชื้อราต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก
3. ศึกษาบทบาทในการย่อยแป้งของเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า
4. ศึกษาบทบาทของเชื้อยีสต์ต่อกลิ่นรสของไวน์ข้าว
5. ศึกษาบทบาทของการใช้เชื้อยีสต์และเชื้อราร่วมกันในการผลิตสารให้กลิ่นรสของไวน์ข้าว
6. ศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสของเชื้อยีสต์ในไวน์ข้าว

1.3 ขอบเขตการวิจัย

ศึกษาบทบาทในการย่อยแป้งและการผลิตสารให้กลิ่นรสในข้าวหมักของเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า และอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสของเชื้อยีสต์ในไวน์ข้าว

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบชนิดของสารให้กลิ่นรสที่ผลิตได้จากเชื้อราและเชื้อยีสต์ในข้าวหมักและไวน์ข้าว
2. ได้เชื้อราและเชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติที่ดีในการผลิตข้าวหมักและไวน์ข้าว
3. สามารถนำไปพัฒนากระบวนการผลิตในระดับอุตสาหกรรมต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไวน์ข้าว

ไวน์ข้าว เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักข้าวให้เป็นแอลกอฮอล์โดยอาศัยการทำงานของเชื้อราที่ทำหน้าที่ในการผลิตเอนไซม์เพื่อเปลี่ยนแป้งในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาล จากนั้นอาศัยการทำงานของยีสต์เพื่อทำการหมักน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ การผลิตไวน์ข้าวนิยมผลิตกันในประเทศทางตะวันออกซึ่งมีการบริโภคข้าวเป็นอาหารหลัก เช่น จีน เกาหลี ญี่ปุ่น ฟิลิปปินส์ อินโดนีเซีย มาเลเซีย เป็นต้น ซึ่งมีชื่อเรียกต่างกันออกไปในแต่ละประเทศดังตารางที่ 2.1 ส่วนประเทศไทยมีการผลิตไวน์ข้าวกันมากในชนบท มีชื่อเรียกต่างๆ กันตามท้องถิ่น เช่น ภาคกลางเรียกไวน์ข้าวว่า "น้ำขาว" บางท้องถิ่นเรียก "กระแช่" ชาวอีสานเรียกเครื่องดื่มนี้ว่า "สาโท" หรือ "เหล้าโท" อำเภอเรณูในจังหวัดนครพนมผลิตไวน์ข้าวอีกชนิดหนึ่งเรียกว่า "อุ" หรือ "ช้าง" โดยคำจำกัดความของไวน์ข้าวไทย หมายถึง เครื่องดื่มที่ได้จากการหมักแอลกอออล์จากข้าวที่ปลูกในประเทศไทย โดยการใช้ลูกแป้ง หรือ เชื้อบริสุทธิ์ ผ่านกระบวนการหมักตามกรรมวิธีที่กำหนด (ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์. 2547)

ตารางที่ 2.1 ชื่อเรียกของไวน์ข้าวในแต่ละประเทศ

ประเทศที่ผลิต	ชื่อไวน์ข้าว
ญี่ปุ่น	Sake
ฟิลิปปินส์	Tapuy
อินเดีย	Shonti หรือ Sonti Murchacha beer หรือ Bakhar Annam
เกาหลี	Makkari
จีน	Chao-ching-chu, Biityu, Tubityu, Shouhsing Chio
ไทย	กระแช่ น้ำขาว สาโท

ที่มา : มนตรี เชาว์สังเกต (2521)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน มผช. 3/2546 สาโทหรือไวน์ข้าว หมายถึง สุราแช่ชนิดหนึ่งที่ทำมาจากการนำข้าวมาผ่านกรรมวิธีการผลิตสาโทแล้วมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี หรือร้อยละโดยปริมาตร กรรมวิธีการผลิตสาโท หมายถึง การหมักข้าวต่างๆ ด้วยเชื้อราและยีสต์หรือลูกแป้งเพื่อเปลี่ยนแป้งให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งหมักไว้ระยะหนึ่ง จากนั้นเติมน้ำสะอาดในอัตราส่วนที่เหมาะสม และอาจมีการเติมน้ำตาลทรายขาวให้เหมาะสมกับการหมักสาโท หมักต่ออีกระยะหนึ่งเพื่อให้ได้แรงแอลกอฮอล์ตามต้องการ (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และ ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548)

สาโทจะต้องมีคุณลักษณะทางเคมีอยู่ในเกณฑ์ของสุราแช่ตามเกณฑ์ของกรมสรรพสามิตดังนี้ (มผช. 3/2546)

1. แรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี หรือร้อยละโดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ที่ฉลากไม่เกิน 1 ดีกรี หรือร้อยละโดยปริมาตร
2. เมทิลแอลกอฮอล์ ไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร
3. ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมด ไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร
4. กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร
5. กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก ไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร
6. ทองแดง ไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร
7. เหล็ก ไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร
8. ตะกั่ว ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร
9. สารหนู ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร
10. เฟอร์โรไซยาไนด์ ต้องไม่พบ

ส่วนคุณลักษณะทางกายภาพ มีดังนี้

1. ความใส / ขุ่น ให้เป็นไปตามลักษณะการผลิตเฉพาะของสาโทที่ผลิต
2. กลิ่น ต้องมีกลิ่นหอมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ
3. รสชาติ กลมกล่อมตามธรรมชาติของวัตถุดิบที่ใช้ทำ
4. คุณภาพโดยรวมของสาโท มีความใส สี กลิ่น และรสชาติ เป็นที่ยอมรับ

2.2 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตสาโท

จุลินทรีย์ที่มีบทบาทสำคัญในการผลิตสาโทมี 3 ชนิด คือ เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย ซึ่งจุลินทรีย์เหล่านี้มักเก็บรักษาอยู่ในรูปของลูกแป้งซึ่งมีลักษณะของกล้าเชื้อผสม จุลินทรีย์ที่พบจะเป็นจุลินทรีย์เฉพาะบางชนิดเท่านั้น ทั้งนี้เนื่องจากการใช้เครื่องเทศสมุนไพรในส่วนผสมของลูกแป้งมีฤทธิ์ในการยับยั้งจุลินทรีย์บางชนิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1 เชื้อรา

เชื้อราที่ใช้ในการผลิตสาโทเป็นราประเภทที่สร้างเอนไซม์อะไมเลส ซึ่งประกอบด้วย แอลฟาอะไมเลส (α-amylase) เบตาอะไมเลส (β-amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) หรืออะไมโลกลูโคซิเดส (amyloglucosidase) เพื่อใช้ในการย่อยแป้งที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เรียกปฏิกิริยาการเปลี่ยนแปลงนี้ว่าแซคคาริฟิเคชัน (saccharification) เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยกลายเป็นน้ำตาลจึงไม่สามารถอุ้มน้ำเอาไว้ได้ น้ำที่มีอยู่จะซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าว ในช่วงนี้ราจะสร้างกรดทำให้มีค่าพีเอชต่ำลง ทำให้เกิดสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์และยับยั้งแบคทีเรียที่จะทำให้ข้าวเกิดการบูดเน่า

เชื้อราที่สามารถผลิตอะไมเลสและมีบทบาทสำคัญในการผลิตสาโท ได้แก่กลุ่ม *Rhizopus, Amylomyces, Mucor* และ *Aspergillus* (ประดิษฐ์ ครุวัณณา. 2546) แต่เชื้อราที่ตรวจพบเป็นส่วนมาก ได้แก่ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus* sp. (นภา โล่ห์ทอง. 2534)

กลุ่มที่มีความสำคัญและมีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ปริมาณมากได้แก่

1. Class Zygomycetes Order Mucorales Family Mucoraceae ได้แก่ จีนัสสำคัญคือ *Rhizopus* sp. เช่น *R. oligosporus, R. japonicus, R.oryzae, R. arrhizus* จีนัส *Mucor* sp. เช่น *M. rouxii, M. fragilis* และจีนัส *Amylomyces sp.* ได้แก่ *Amylomyces rouxii*

2. Class Deuteromycetes Order Moniliales Family Moniaceae ได้แก่ จีนัสสำคัญคือ *Aspergillus* sp. เช่น *A. oryzae, A. niger* (ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล. 2546a)

คุณสมบัติของราในคลาสแรกคือ สร้างเอนไซม์ที่มีกิจกรรมสูงพร้อมกับสร้างกรดอินทรีย์ เช่น กรดฟูมาริก กรดซิตริกและกรดแลคติก ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโท แต่เกิดการย่อยแป้งไม่สมบูรณ์ คือให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์น้อยกว่าเมื่อเทียบกับราในคลาสหลัง ยกเว้นรา *Amylomyces rouxii* ที่มีระดับการสร้างน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในกลุ่ม เนื่องจากมีเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและไม่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวในสาโท เอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเอนไซม์สำคัญในการหมักไวน์ข้าว สามารถเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลกลูโคสได้โดยตรง เอนไซม์ชนิดนี้จะถูกชักนำโดยกลูโคส แป้ง มอลโตส และกลีเซอรอล และยังสามารถย่อยพอลิแซคคาไรด์ (polysaccharide) ได้หลายชนิด ซึ่งยีสต์สามารถใช้แหล่งคาร์บอนเหล่านี้ต่อไปได้ (Aidoo และคณะ. 2006)

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2520) และพิไลพรรณ พงษ์บูล (2523) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากมีทั้งรา และยีสต์ ราส่วนใหญ่อยู่ใน order Mucorales ได้แก่ *Amylomyces* sp., *Rhizopus* sp., *Mucor* sp. และ *Absidia* sp. นอกจากนี้ยังพบ Imperfect fungi เช่น *Aspergillus* sp., *Penicillium* sp., และ *Hyalodendion* sp.

วิมลักษณ์ รัตนปรีดากุล (2549) ได้ศึกษาการคัดแยกเชื้อราและเชื้อยีสต์จากลูกแป้งเหล้า 20 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกเชื้อราที่มีคุณสมบัติในการย่อยแป้งได้แก่ *Amylomyces rouxii* MNT 037 จากจังหวัดอุบลราชธานี , *Aspergillus oryzae* MNT 029 จากจังหวัดนครราชสีมา และ *Rhizopus*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

oryzae MNT 006 จากจังหวัดสมุทรสาคร โดยเชื้อราเหล่านี้มีกิจกรรมของเอนไซม์อะไมเลสในช่วง 43.60 – 258.96 ยูนิตต่อมิลลิเมตร ส่วนยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 จากจังหวัดหนองบัวลำภู และ *Candida pelliculosa* YRK 025 จากจังหวัดอุดรธานี โดยสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ 7.26 และ 6.36 ร้อยละโดยปริมาตร ตามลำดับ

Shrestha และคณะ (2002) พบว่าเชื้อราประเภท *Mucor* และ *Rhizopus* มีบทบาทสำคัญในการสร้างเอนไซม์ในการผลิตไวน์ข้าวของประเทศอินเดียและเนปาล

Aidoo และคณะ (2005) ศึกษาการเตรียมโคจิในการผลิตสาเก พบว่า *Aspergillus oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ซึ่งย่อยแป้งเป็นเด็กซ์ตริน (dextrin) มอลโตไตรโอส (maltotriose) มอลโตส กลูโคส และกรดอินทรีย์ นอกจากนี้ยังผลิตเอนไซม์อัลคาไลน์ โปรตีเอส (alkaline protease) ซึ่งย่อยโปรตีนเป็นเปปไทด์ (peptides) และกรดอะมิโน ส่วนเชื้อราอื่นๆ ที่มีความสำคัญในสาเก ได้แก่ *Aspergillus usami* และ *Amylomyces rouxii*

2.2.2 ยีสต์

ยีสต์จะทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งโดยราให้เป็นแอลกอฮอล์โดยผ่านกระบวนการหมักที่เรียกว่า กระบวนการหมักแอลกอฮอล์ ซึ่งปฏิกิริยานี้จะเกิดในสภาวะไร้อากาศ ยีสต์สายพันธุ์ที่พบมากในลูกแป้ง คือ *Saccharomycopsis fibuligera* ซึ่งไม่มีความสำคัญในการหมักแต่มีความสำคัญในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (มนตรี เชาว์สังเกต. 2521) โดยมี *S. cerevisiae* ปนมาบ้างเล็กน้อยซึ่งจะมีบทบาทในการหมักน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลรีดิวซ์และกลูโคสให้เป็นแอลกอฮอล์ ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และความร้อนพร้อมๆ กับการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เช่น กรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดแลคติก กรดอะซีติก ฯลฯ นอกจากนี้ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดอื่น เช่น โปรติเอสที่ย่อยสลายโปรตีนเป็นเปบไทด์และกรดอะมิโน และไลเปสที่เปลี่ยนไขมันเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล เกิดเป็นกลิ่นรสที่มีความซับซ้อน

Limtong และคณะ (2002) สามารถแยกเชื้อยีสต์ได้ 43 สายพันธุ์จากลูกแป้งข้าวหมาก 38 ตัวอย่าง และ 49 สายพันธุ์จากลูกแป้งเหล้า 19 ตัวอย่าง โดยพบ *E. fibuligera* ในลูกแป้งข้าวหมาก 31 ตัวอย่าง และลูกแป้งเหล้า 20 ตัวอย่าง ซึ่งมีความสามารถในการผลิตอะไมโลไลติกเอนไซม์ (amylolytic enzyme) นอกจากนั้นในลูกแป้งทั้งสองชนิดยังพบ *Pichia anomala, Issatchenkia orientalis, P.burtonii, P.fabianii, Candida rhagii, C. glabrata, Torulaspora globosa, P. mexicana* และ *S. cerevisiae*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Tsuyoshi และคณะ (2005) ศึกษายีสต์ที่ทำหน้าที่หลักในการเปลี่ยนแป้งข้าวเป็นแอลกอฮอล์ คือ *Pichia burtonii, E. fibuligera, S. cerevisiae, Candida glabata, C. lactosa* และพบว่า *E. fibuligera* สามารถผลิตอะไมโลไลติกเอนไซม์ได้ดี

2.2.3 แลคติกแอสิดแบคทีเรีย

แลคติกแอสิดแบคทีเรียที่พบส่วนใหญ่ ได้แก่ *Pediococcus pentosaceus* โดยพบถึงประมาณ 10^4 – 10^7 เซลล์ต่อกรัม ขึ้นอยู่กับที่มาของลูกแป้ง บางครั้งยังพบ *Lactobacillus* sp. *Acetobacter* sp. และ *gluconobacter* sp. ซึ่งเป็นแบคทีเรียที่สร้างกรดน้ำส้ม (นภา โล่ห์ทอง. 2534) และยังพบ *Bacillus* sp. อยู่บ่อยครั้งซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ ประโยชน์ของการมีกรดแลคติกในน้ำหมักคือทำให้พีเอชลดลง ซึ่งเป็นพีเอชที่เหมาะสมต่อการเจริญและผลิตแอลกอฮอล์ของยีสต์ และการมีกรดในน้ำหมักยังเป็นผลทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่นๆ เจริญได้ช้าลง (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และ ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548)

2.3 กระบวนการผลิตสาโท

2.3.1 ขั้นตอนการเตรียมกล้าเชื้อ

กระบวนการผลิตกล้าเชื้อสามารถแบ่งลักษณะของกล้าเชื้อออกเป็น 2 รูปแบบ ได้แก่ การใช้ลูกแป้ง และการใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์

2.3.1.1 การใช้ลูกแป้ง

ลูกแป้ง คือกล้าเชื้อจุลินทรีย์ที่เก็บอยู่ในรูปเชื้อแห้ง ใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิด ลูกแป้งตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชน (มผช. 3/2546) หมายถึง เชื้อสุรา แป้งเชื้อสุรา แป้งข้าวหมัก หรือเชื้อใดๆ เมื่อหมักกับวัตถุหรือของเหลวอื่นๆ แล้วสามารถทำให้เกิดแอลกอออล์ที่ใช้ทำสุราได้ ลูกแป้งอาจผสมสมุนไพรหรือเครื่องเทศด้วยหรือไม่ก็ได้ วิธีการผลิตสาโทแบบดั้งเดิมนิยมหมักข้าวเหนียวโดยใช้ลูกแป้ง ซึ่งอาจเตรียมขึ้นเองหรือซื้อจากแหล่งผลิตอื่น การผลิตลูกแป้งเพื่อใช้ทำสาโทในภูมิภาคต่างๆ ของประเทศไทยมีรายละเอียดขององค์ประกอบในเรื่องชนิดและปริมาณของเครื่องเทศที่ใช้แตกต่างกันมาก ซึ่งอาจใช้เครื่องเทศเพียง 5 ชนิด จนถึง 23 ชนิด แต่เครื่องเทศหลักที่ใช้กันมาก ได้แก่ กระเทียม ขิง ข่า ชะเอม พริกไทย ดีปลี และเจตมูลเพลิง (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และ ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548) โดยมักใช้ลูกแป้งเก่าบดเป็นผงผสมเข้าไปในการทำลูกแป้ง การหมักสาโทหรือน้ำขาวนั้นอาศัยกิจกรรมของจุลินทรีย์ในลูกแป้งที่มีบทบาทในการเปลี่ยนแป้งในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยจุลินทรีย์ที่สร้างเอนไซม์อะไมเลสและการหมักน้ำตาลที่เกิดขึ้นให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์พวก *Saccharomyces* กิจกรรมของจุลินทรีย์ทั้งสองกลุ่มนี้เกิดขึ้นอย่างต่อเนื่องกันตลอดระยะเวลาการหมักประมาณ 1-2 สัปดาห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

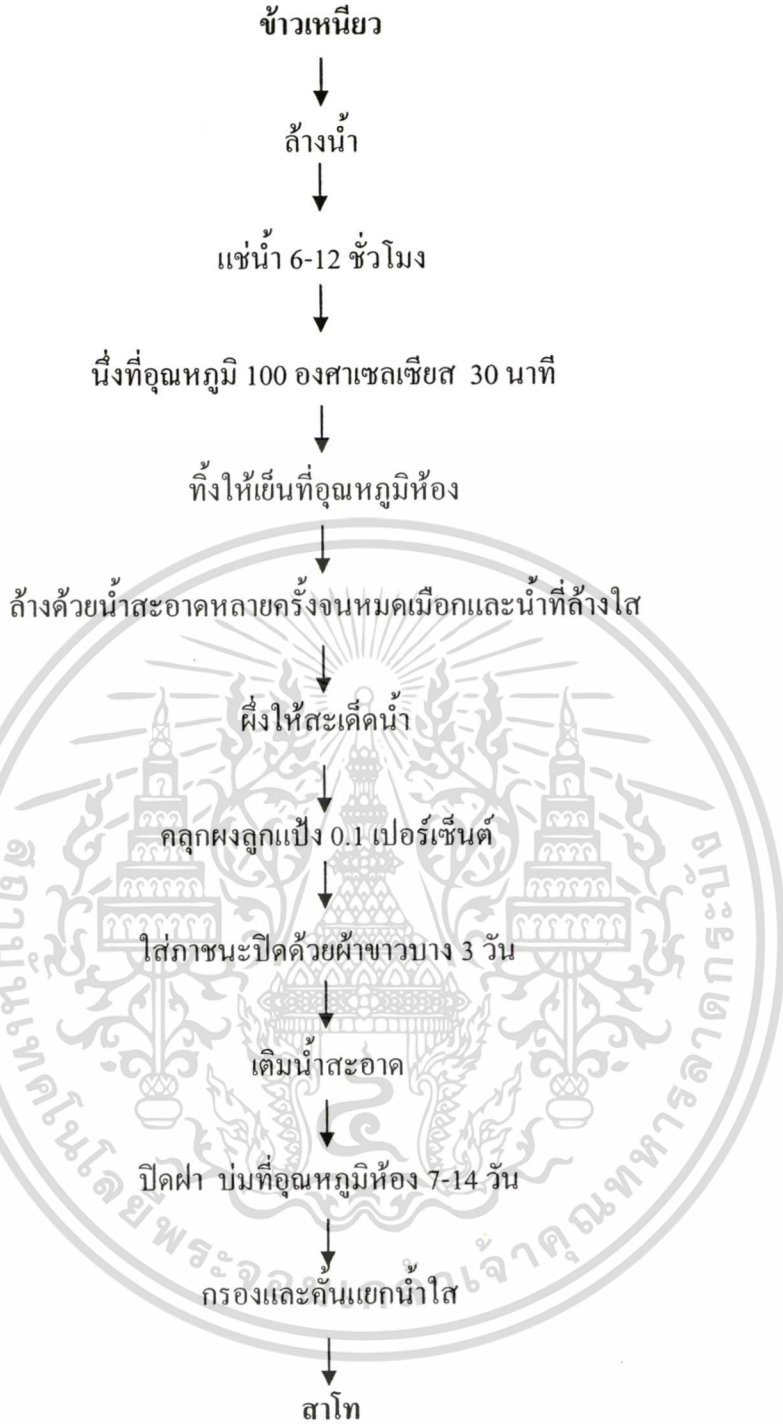
กรรมวิธีการผลิตโดยใช้ลูกแป้งนั้นจะมีสัดส่วนของข้าวเหนียวกับลูกแป้งขึ้นอยู่กับลูกแป้งแต่ละสูตรว่าควรใช้ปริมาณเท่าใด ส่วนวิธีการหมักจะคล้ายคลึงกัน ดังแสดงในรูปที่ 2.1

2.3.1.2 การใช้จุลินทรีย์บริสุทธิ์

การผลิตสาโทแบบภูมิปัญญาท้องถิ่นโดยใช้ลูกแป้ง ไม่สามารถควบคุมคุณภาพของสาโทได้ และเกิดการปนเปื้อนจุลินทรีย์อื่นที่ทำให้สาโทเสื่อมเสีย คุณภาพและรสชาติของสาโทจึงไม่คงที่ จึงจำเป็นต้องพัฒนาการผลิตเพื่อควบคุมมาตรฐานของสาโทให้ดีขึ้นด้วยการใช้เชื้อบริสุทธิ์ ส่วนวิธีการผลิตจะคล้ายกับการผลิตสาโทจากลูกแป้ง แต่แตกต่างกันโดยจะใช้เชื้อบริสุทธิ์แทนลูกแป้ง เช่น เชื้อรา *Rhizopus oryzae, Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces* sp. เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomycopsis fibuligera* เป็นต้น

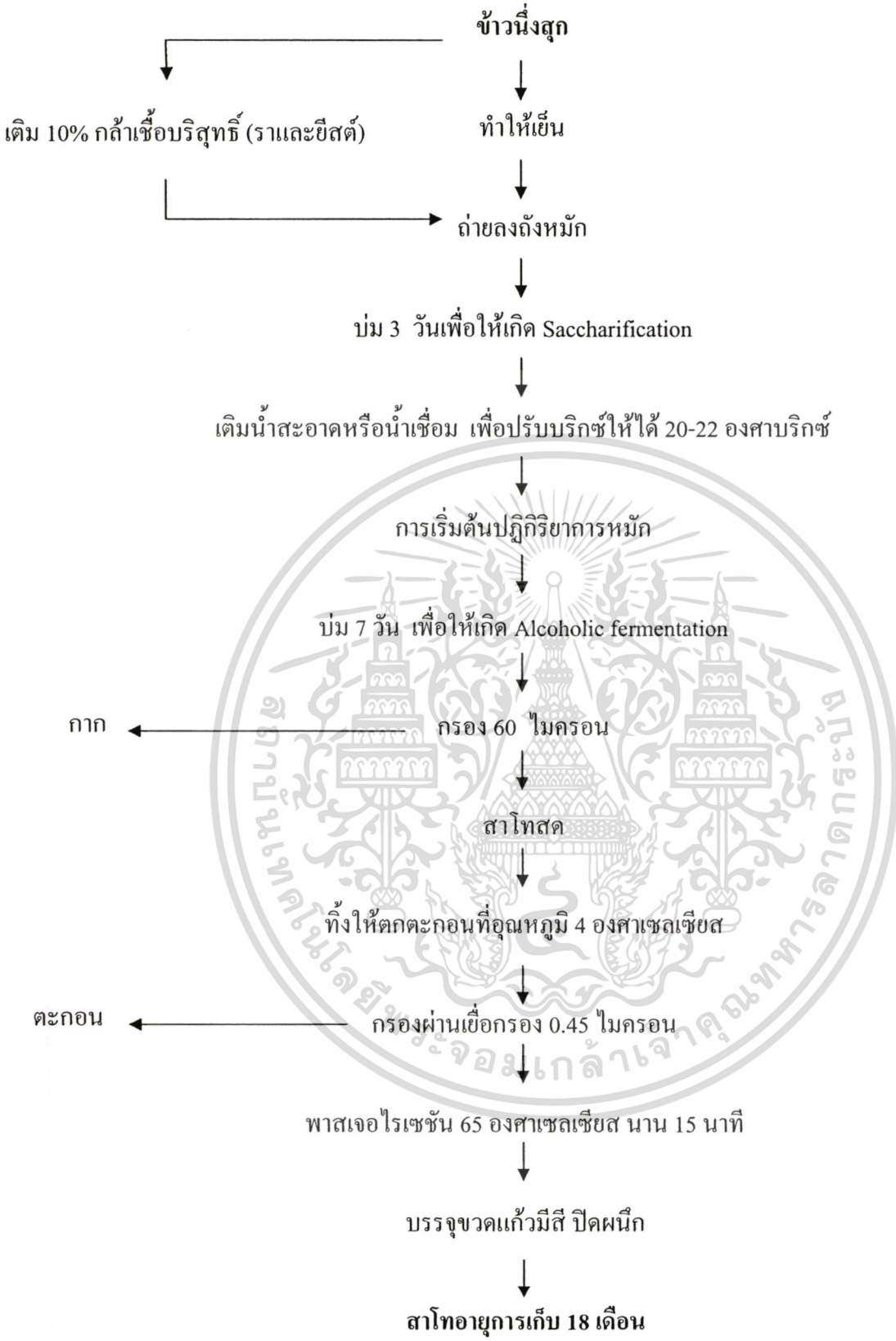
การเตรียมจุลินทรีย์บริสุทธิ์สำหรับใช้ในการผลิตสาโทตามวิธีของยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล (2546a) สามารถเตรียมได้โดยเพาะเลี้ยงราบริสุทธิ์ที่ผ่านการคัดเลือกและมีความเหมาะสมกับชนิดของข้าวที่นำมาใช้ในการผลิต บนข้าวนึ่งสุกที่มีความชื้นเริ่มต้นประมาณร้อยละ 50-60 โดยวิธีการถ่ายสปอร์หรือเส้นใยของราลงบนเมล็ดข้าว จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 34-36 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5-6 วัน ราจะเจริญปกคลุมเมล็ดข้าว หลังจากนั้นทำการขยายกล้าเชื้อโดยการเตรียมข้าวนึ่งสุกตามปริมาณที่ต้องการตั้งทิ้งไว้ให้เย็นและทำการถ่ายกล้าเชื้อที่เตรียมไว้ลงบนข้าวนึ่งสุก คลุกเคล้าให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ประมาณ 2 วัน ในช่วงเวลานี้ให้ทำการผสมคลุกเคล้ารากับข้าวนึ่งเป็นระยะๆ เพื่อให้ราเจริญได้ทั่ว โดยจะสังเกตเห็นเส้นใยสีขาวเจริญปกคลุมอยู่เต็มเมล็ดข้าว ซึ่งในระหว่างนี้อุณหภูมิอาจเพิ่มขึ้นถึง 42 องศาเซลเซียส เมื่อสิ้นสุดการบ่มกล้าเชื้อที่ได้จะมีเอนไซม์ กรดอินทรีย์บางชนิด รวมทั้งวิตามินและสารอาหารที่มีประโยชน์สำหรับการเจริญของยีสต์ในขั้นตอนการหมัก จากนั้นให้ถ่ายยีสต์ที่เจริญเต็มที่ ปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^6 เซลล์ต่อกรัมลงไป และบ่มทิ้งไว้ประมาณ 3 วัน โดยการคนกล้าเชื้อเป็นระยะๆ เพื่อให้ยีสต์เจริญเพิ่มจำนวนมากขึ้น กล้าเชื้อที่เตรียมได้นี้จะใช้สำหรับการหมักสาโทในถังหมักขนาดใหญ่ต่อไป อัตราส่วนที่เหมาะสมสำหรับการใช้กล้าเชื้ออยู่ที่ร้อยละ 5-7 ของปริมาณข้าวที่ต้องการหมัก (พัฒนา เหล่าไพบูล์ และ ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548) การผลิตสาโทโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์แสดงดังรูปที่ 2.2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.1 แสดงกรรมวิธีการผลิตสาโทแบบดั้งเดิมจากลูกแป้ง
ที่มา : ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล (2546a)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.2 การผลิตสาโทจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์

ที่มา : ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล (2546b)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ขั้นตอนการหมัก

การหมักเริ่มจากเติมข้าวนึ่งสุกและกล้าเชื้อที่เตรียมไว้ลงในถังหมัก บ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 3-5 วัน ซึ่งจะสังเกตเห็นการเจริญของราบนเมล็ดข้าวเหนียวและเห็นน้ำเยิ้มออกมาซึ่งเรียกว่า น้ำต้อย ขั้นตอนนี้ราจะย่อยแป้งได้น้ำตาล จากนั้นเติมน้ำสะอาดที่ฆ่าเชื้อแล้วลงไปในสัดส่วนร้อยละ 50-75 โดยน้ำหนัก บ่มทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องประมาณ 5-14 วัน เพื่อให้ยีสต์ในลูกแป้งเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ ติดตามการเปลี่ยนแปลงระหว่างกระบวนการหมัก โดยวัดค่าความหวาน กรด และแอลกอฮอล์ที่ได้ เมื่อสิ้นสุดกระบวนการหมัก ให้ถ่ายน้ำสาโทลงในถังพักเติมสารเคมี เช่น โพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (potassium metabisulfite, KMS) เพื่อฆ่าเชื้อและหยุดการทำงานของจุลินทรีย์

2.3.3 การกรองและการทำให้ใส

สาโทหรือน้ำขาว จัดเป็น Turbid Wine เนื่องจากกระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมจะผลิตและบริโภคในขณะที่การหมักยังไม่สิ้นสุด ลักษณะปรากฏจึงมีความขุ่นขาว มีความหวาน และมีรสซ่าเนื่องจากยีสต์ยังทำงานอยู่ อย่างไรก็ตามการทำให้สาโทใสจะช่วยให้ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับมากกว่า ดังนั้นวิธีการทำให้ใสในระดับอุตสาหกรรม จะใช้หลักการและวิธีเช่นเดียวกับในอุตสาหกรรมไวน์ หลังจากเสร็จสิ้นกระบวนการหมักสาโทแล้ว ส่วนของเหลวจะถูกดูดออกจากถังหมัก โดยมีวิธีการทำให้สาโทใสที่แตกต่างกัน (ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล. 2546b) ได้แก่

1. การแยกสาโทไว้ในถังพัก เติมสารฆ่าเชื้อ และทิ้งให้การตกตะกอนเกิดขึ้นเองภายใน 1-7 วัน
2. การใช้เอนไซม์อะไมเลสและโปรติเอส
3. การตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ
4. การปั่นเหวี่ยง
5. การกรองผ่านเยื่อกรองขนาดรูพรุนปรับระดับ เช่น เริ่มต้นจาก 5 ตามด้วย 1 และ 0.2 ไมครอน
6. การกรองผ่าน Activated Carbon

2.3.4 การฆ่าเชื้อ

การฆ่าเชื้อในสาโทสามารถทำได้หลายวิธี เช่น การใช้สารเคมีเพื่อยับยั้งหรือทำลายจุลินทรีย์ สารเคมีที่อนุญาตให้ใส่ได้มี 3 ชนิด โดยปริมาณที่ตกค้างในสาโทต้องไม่เกินค่ามาตรฐาน (มผช.3/2546) ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ต้องไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร กรดเบนโซอิกต้องไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดซอร์บิกต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร การใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรซ์ ที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที หรือ 65 องศาเซลเซียส นาน 15-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

30 นาที นอกจากจะฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ในการหมักได้หมดแล้ว ยังสามารถกำจัดจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดโรคได้ด้วย และสามารถหยุดปฏิกิริยาเอนไซม์และทำลายเอนไซม์ได้ แต่การเลือกใช้อุณหภูมิและเวลาในการพาสเจอร์ไรซ์ต้องคำนึงถึงปริมาณเซลล์ของจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในสาโทด้วย อีกวิธีหนึ่งคือการกรองโดยใช้เยื่อกรองขนาด 0.2 ไมครอน ซึ่งสามารถแยกจุลินทรีย์ทุกชนิดออกจากสาโทได้ ข้อดีคือ ไม่ทำให้สาโทสูญเสียกลิ่นรสเนื่องจากไม่เกี่ยวข้องกับความร้อน แต่ค่าใช้จ่ายของอุปกรณ์มีราคาสูง จึงไม่เป็นที่นิยมสำหรับผู้ผลิตส่วนใหญ่ที่มีกำลังการผลิตต่ำและต้องการประหยัดค่าใช้จ่าย (ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล. 2546b)

2.3.5 ขั้นตอนการเก็บบ่มและการผสมปรุงแต่ง

สาโทที่ผ่านการบ่มแล้วต้องนำมาปรุงแต่งเพื่อให้มีรสชาติที่คงที่ (ค่าความหวาน ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่ากรดโดยรวม สี และความใส เป็นต้น) ก่อนนำไปบรรจุขวดต่อไป

2.4 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีที่สำคัญในการผลิตสาโท

ในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้น การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีถือได้ว่าเป็นขั้นตอนที่มีความสำคัญต่อคุณภาพและคุณลักษณะของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์แต่ละชนิด วัตถุดิบที่หลากหลายผสมผสานกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีที่เกิดขึ้นระหว่างกระบวนการผลิตทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ที่มีรสชาติ กลิ่น สี และเนื้อสัมผัส ที่เป็นเอกลักษณ์ที่ลงตัวของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์นั้นๆ (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และ ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548)

สารประกอบที่ให้กลิ่นรสในไวน์แสดงดังตารางที่ 2.2 ซึ่งองค์ประกอบต่างๆ เหล่านี้จะมีปริมาณมากหรือน้อยขึ้นอยู่กับองค์ประกอบของวัตถุดิบ ชนิดของจุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการผลิตตลอดจนสภาวะของการหมัก

จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีในการผลิตสาโทนั้นมีทั้งรา ยีสต์ และแบคทีเรีย

ตารางที่ 2.2 ชนิดและปริมาณของสารประกอบที่สำคัญที่พบในไวน์

สารประกอบ	ความเข้มข้น
เอสเทอร์ (esters)	
เอทิลอะซีเตท (ethyl acetate)	5 – 200**
เอทิลแลคแตท (ethyl lactate)	1 – 50**
ฟีนิลเอทิลอะซีเตท (phenyl ethyl acetate)	0.1 – 10**
ไอโซเอมิลอะซีเตท (isoamyl acetate)	0.1 – 8**
ไอโซเอมิลออคทาโนเอท (isoamyl octanoate)	0.1 – 2**

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 (ต่อ)

สารประกอบ	ความเข้มข้น
แอลกอฮอล์ (alcohols)	
เอทานอล (ethanol)	80 – 130*
กลีเซอรอล (glycerol)	2 – 10*
ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (Iso-amyl alcohol)	20 – 350**
แอคทีฟเอมิลแอลกอฮอล์ (Active amyl alcohol)	1 – 300**
ไอโซบิวทานอล (Iso-butanol)	2 – 350**
โพรพานอล (propanol)	10 – 125**
2-ฟีนิลเอทานอล (2-phenyl ethanol)	15 – 200**
กรด (acids)	
ทาร์ทาริก (tartaric acid)	0.5 – 7**
มาลิก (malic acid)	0.05 – 5.5*
ซัคซินิก (succinic acid)	0.05 – 2*
แลคติก (lactic acid)	0.01 – 5*
อะซิติก (acetic acid)	0.02 – 2*
ซิตริก (citric acid)	0.05 – 1*
อัลดีไฮด์ และคีโตน (aldehydes and ketones)	
อะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde)	10 – 150**
ไดอะซีติล (diacetyl)	0.2 – 5**
อะซีโตอิน (acetoin)	0.1 – 1.2**
สารประกอบซัลเฟอร์ (sulphur compounds)	
ไฮโดรเจนซัลไฟด์ (hydrogen sulphide)	1 – 30*
ไดเมทิลซัลไฟด์ (dimethyl sulphide)	5 – 50*
ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ (sulphur dioxide)	10 – 100*

หมายเหตุ * = กรัมต่อลิตร

** = มิลลิกรัมต่อลิตร

ที่มา : พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และ ไพบูลย์ ด่านวิรุฑัย (2548)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.1 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยเชื้อรา

การเปลี่ยนแปลงในขั้นตอนนี้เป็นขั้นตอนแรกในกระบวนการหมักสาโทที่ใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ ราที่เกี่ยวข้องเป็นกลุ่มที่สามารถสังเคราะห์เอนไซม์ในกลุ่มอะไมโลไลติกเอนไซม์ เอนไซม์จะส่งออกมานอกเซลล์เพื่อย่อยสลายแป้ง เอนไซม์หลักในกลุ่มอะไมโลไลติกเอนไซม์ ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ซึ่งสามารถย่อยพันธะแอลฟา-1,4 และ พันธะแอลฟา-1,6 ไกลโคซิดิก (α-1,4 และ α-1,6 glycosidic bond) ของสายพอลิเมอร์แป้งทั้งที่มีโครงสร้างเป็นอะไมโลสหรืออะไมโลเพคติน ได้เป็นน้ำตาลกลูโคส ดังรูปที่ 2.3 นอกจากราจะเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลแล้วรายังผลิตสารประกอบที่ให้กลิ่นและรสชาติในสาโทด้วย

$$(C_6H_{10}O_5)_n \xrightarrow{\text{Amylolytic enzyme, (n-1) } H_2O} n\,C_6H_{12}O_6$$

แป้ง — เอนไซม์ — น้ำตาล

รูปที่ 2.3 การเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล

ที่มา : พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และ ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย (2548)

2.4.2 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยยีสต์

ยีสต์ที่ใช้ส่วนใหญ่เป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ ทนต่อแอลกอฮอล์ได้ดี โดยกิจกรรมหลักของยีสต์นั้น จะเปลี่ยนน้ำตาล 1 โมเลกุลให้ได้เป็นเอทานอล 2 โมเลกุล และพลังงาน ซึ่งเป็นการเปลี่ยนแปลงโดยกระบวนการเมแทบอลิซึมของยีสต์ที่มีกลูโคสเป็นแหล่งคาร์บอนทั้งในสภาวะที่มีอากาศและไม่มีอากาศ ขั้นตอนการเปลี่ยนแปลงสรุปดังรูปที่ 2.4

ขั้นตอนแรกคือเมื่อยีสต์เจริญในอาหารที่มีน้ำตาล ยีสต์จะย่อยสลายน้ำตาลผ่านวิถีไกลโคลิซิส หรือเอ็บเดน เมเยอร์ฮอฟ-พาร์นัส (Embden-Meyerhof-Parnas pathway, EMP) โดยการเปลี่ยนจากกลูโคส 1 โมเลกุลเป็นไพรูเวท 2 โมเลกุลได้พลังงานในรูปของ ATP 2 โมเลกุล และ $NADH_2$ 2 โมเลกุล การเปลี่ยนในขั้นตอนนี้เกิดขึ้นไม่ว่ายีสต์จะเจริญในสภาวะที่มีออกซิเจนหรือไม่มีออกซิเจน

ขั้นตอนต่อมาไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนต่อไปให้ผลผลิตสุดท้ายต่างกันตามชนิดของยีสต์และสภาวะแวดล้อมในระหว่างกระบวนการหมัก โดยแบ่งการเปลี่ยนแปลงเป็น 2 ประเภท คือ

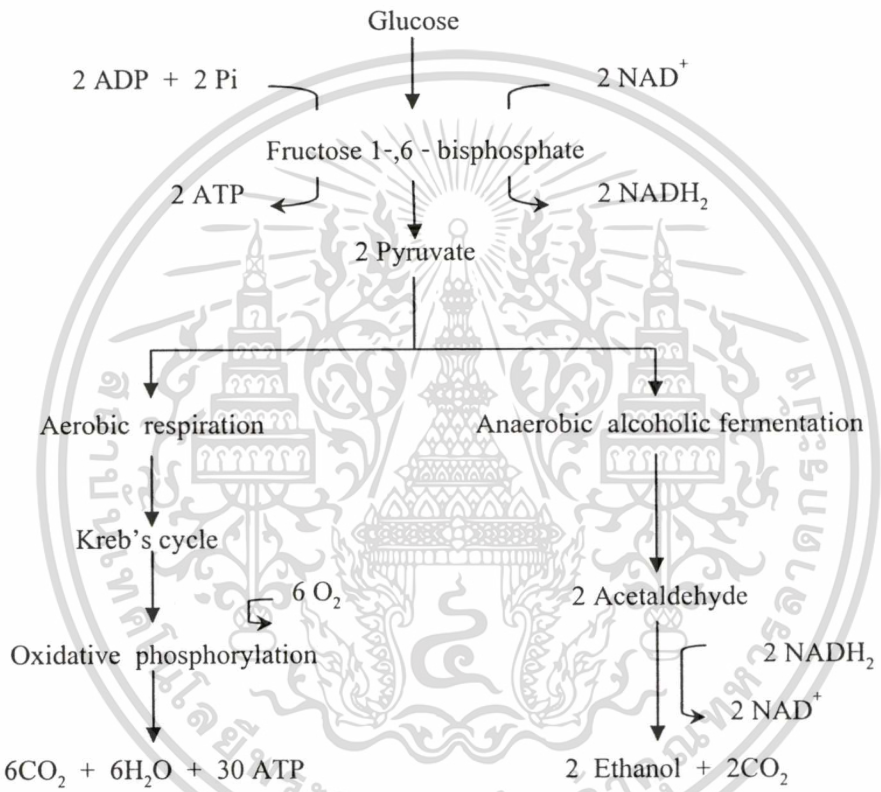
1) aerobic respiration ในสภาวะที่มีออกซิเจน ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นไพรูเวท จากนั้นไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำโดยผ่านวัฏจักรเครป (Kreb's cycle) และวิถีการหายใจ (oxidative respiration)

2) anaerobic fermentation ในกรณีที่น้ำตาลกลูโคสมีความเข้มข้นสูงและ/ หรือสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งจะเรียกว่าเกิด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สภาวะการหมักขึ้น โดยจะมีจำนวนเซลล์ยีสต์เพิ่มเล็กน้อยและมีการเปลี่ยนไพรูเวทให้เป็นอะซีตัลดีไฮด์แล้วถูกรีดิวซ์ต่อไปเป็นเอทานอล

จากการเปลี่ยนแปลงดังกล่าวสามารถเขียนสมการการเปลี่ยนแปลงน้ำตาลกลูโคสให้เป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์และสมดุลมวลได้ โดยพบว่าในทางทฤษฎีจะได้เอทานอลร้อยละ 51.1 แต่เนื่องจากน้ำตาลกลูโคสบางส่วนถูกยีสต์ใช้เพื่อการเจริญเติบโตและบางส่วนถูกเปลี่ยนไปเป็นผลพลอยได้บางชนิด เช่น กลีเซอรอล ซัคซิเนท และฟูเซลออยล์ (fusel oil) หรือแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง (higher alcohol) เป็นต้น ทำให้ปริมาณเอทานอลได้ต่ำกว่าทางทฤษฎีเสมอ



รูปที่ 2.4 เมแทบอลิซึมของยีสต์ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ และไม่มีอากาศ
ที่มา : Roehr (2001)

2.4.3 การเปลี่ยนแปลงทางเคมีและชีวเคมีโดยแลคติกแอสิดแบคทีเรีย

จุลินทรีย์กลุ่มนี้ส่วนใหญ่เป็นพวกแบคทีเรียสร้างกรด กิจกรรมของแบคทีเรียในกลุ่มนี้มีความสำคัญในกระบวนการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ซึ่งมีทั้งกลุ่มที่ทำให้สาโทเสื่อมเสีย เช่น แบคทีเรียผลิตอะซิติก และกลุ่มที่มีประโยชน์ เช่น แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก โดยจะปรับรสชาติและให้กลิ่นที่พึงประสงค์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1) แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก

แบคทีเรียกลุ่มนี้สามารถออกซิไดซ์เอทานอลและกลูโคสในสภาวะที่มีอากาศไปเป็นกรดอะซิติก (ทำให้ไวน์เน่าเสียและมีรสเปรี้ยว) และเอทิลอะซีเตท โดยจีนัสที่พบคือ Acetobacter และ Gluconobacter แบคทีเรียผลิตกรดอะซิติกส่วนใหญ่จะทนต่อพีเอชต่ำ (3-3.5) หรือสภาวะที่มีความเป็นกรดสูงได้ดี อย่างไรก็ตามความสามารถในการทนต่อกรดจะสัมพันธ์กับระดับของแอลกอฮอล์ โดยที่ความเข้มข้นของแอลกอฮอล์สูงขึ้น ความสามารถในการทนต่อความเป็นกรดจะลดลง

2) แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติก

แบคทีเรียผลิตกรดแลคติก หรือแลคติกแอสิดแบคทีเรียจะเกี่ยวข้องกับการหมักแบบมาโลแลคติก (malolactic fermentation) โดยจะเปลี่ยนกรดมาลิกที่มีรสเปรี้ยวแหลมจัดและไม่คงตัวให้เป็นกรดแลคติกที่มีรสเปรี้ยวน้อยลงและมีความเสถียรกว่าโดยการทำงานของเอนไซม์มาโลแลคติก ซึ่งเป็นการหมักแบบไม่ต้องการอากาศ

นอกจากแบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกจะช่วยลดความเปรี้ยวในไวน์แล้ว ยังมีอิทธิพลต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบของสารอินทรีย์ในไวน์ทำให้เกิดสารที่ให้รสชาติและคุณสมบัติทางประสาทสัมผัสที่ดี เช่น ไดอะซิทิล อะซีโตอิน และ 2,3-บิวเทนไดอัล (2,3-butanediol) อีกทั้งยังเป็นการควบคุมจุลินทรีย์อื่นที่จะก่อให้เกิดการเปลี่ยนแปลงของกลิ่นและรสชาติที่ไม่พึงประสงค์อีกด้วย

2.5 สารเคมีที่มีผลต่อกลิ่นรสของสาโท

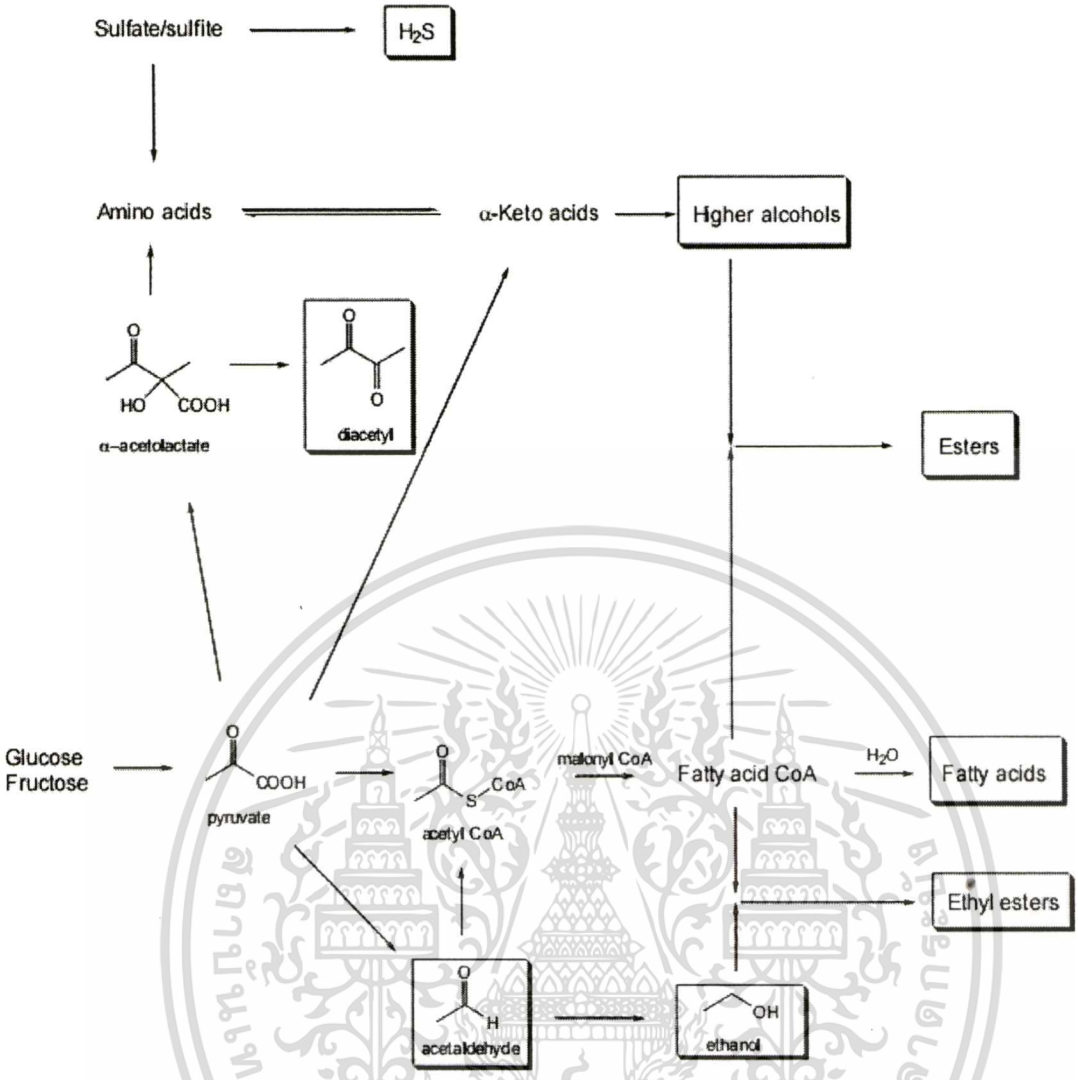
สาโทประกอบด้วยสารระเหยหลายชนิด เช่น แอลกอฮอล์ กรดคาร์บอนิก เอสเทอร์ อัลดีไฮด์ และคีโตน เป็นต้น ซึ่งสารต่างๆเหล่านี้โดยมากมาจากกิจกรรมของยีสต์ในระหว่างการหมักแอลกอฮอล์ ดังแสดงในรูปที่ 2.5 แต่สารระเหยบางชนิดมาจากกิจกรรมของราขณะย่อยแป้ง มีปัจจัยหลายอย่างที่มีอิทธิพลต่อการสังเคราะห์สารระเหยได้ของยีสต์ในขณะหมัก เช่น องค์ประกอบของข้าว สายพันธุ์ราและยีสต์ เป็นต้น

2.5.1 เอทิลแอลกอฮอล์

เอทิลแอลกอฮอล์เป็นผลิตผลจากกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ โดยมียีสต์ทำหน้าที่ย่อยกลูโคสและฟรุกโตสได้เป็นเอทิลแอลกอฮอล์ รวมทั้งก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และผลิตผลพลอยได้อีกหลายชนิดที่มีความสำคัญต่อกลิ่นและรสชาติ และมีแอลกอฮอล์บางส่วนที่เกิดจากการสลายตัวของกรดมาลิก มีการสังเกตพบว่าเอทิลแอลกอฮอล์สามารถให้กลิ่นหอมได้อ่อนๆ ถึงแม้ว่าแอลกอฮอล์สำคัญที่ให้กลิ่นหอมจะเป็นพวกฟูเซลออยล์ซึ่งมีความเกี่ยวข้องทางเคมีกับเอทานอลก็ตาม (Ronald. 2002)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง



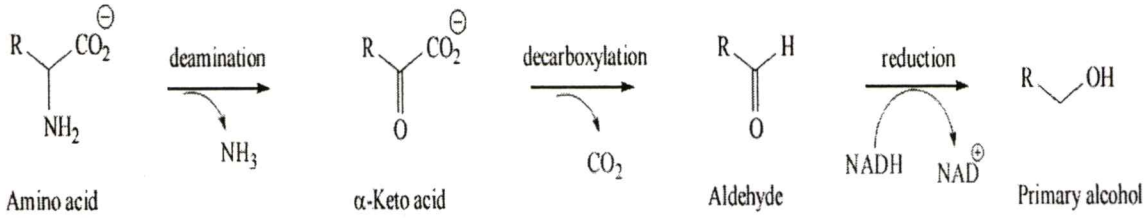
รูปที่ 2.5 การผลิตสารให้กลิ่นรสของยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae*
ที่มา : Eggers (2006)

2.5.2 ฟูเซลออยล์

ฟูเซลออยล์หรือแอลกอฮอล์ที่มีโมเลกุลสูง เป็นแอลกอฮอล์ที่มีคาร์บอนเป็นองค์ประกอบมากกว่า 2 อะตอมขึ้นไป มีมวลโมเลกุลและจุดเดือดมากกว่าเอทานอล เป็นสารประกอบให้กลิ่นที่พบเป็นจำนวนมากในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์หลายชนิด (Mariska และคณะ. 2006) เป็นสารทุติยภูมิที่ยีสต์ผลิตขึ้น (Swieger และคณะ.2005) ยีสต์สามารถเปลี่ยนกรดอะมิโนเป็นฟูเซลออยล์โดยโมเลกุลของกรดอะมิโนจะเกิดปฏิกิริยา deamination ซึ่งเป็นปฏิกิริยาเอาแอมโมเนียออกจากโมเลกุลของกรดอะมิโนได้เป็นกรดอัลฟาคีโตนิค (α-ketonic acid) จากนั้นจะเกิดปฏิกิริยา decarboxylation เอาคาร์บอนไดออกไซด์ออกได้เป็นอัลดีไฮด์ แล้วจึงเกิดปฏิกิริยารีดักชันของอัลดีไฮด์ได้เป็นแอลกอฮอล์ ดังรูปที่ 2.6

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

110613



รูปที่ 2.6 วิถีการเกิดฟูเซลออยล์ หรือแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง จากกรดอะมิโนและกรดอัลฟาคีโต
ที่มา : Eggers (2006)

ฟูเซลออยล์ประกอบด้วยอะลิฟาติคแอลกอฮอล์ (aliphatic alcohol) และอะโรมาติคแอลกอฮอล์ (aromatic alcohol) (Nykänen และ Nykänen. 1977) อะลิฟาติคแอลกอฮอล์นั้นประกอบด้วยโพรพานอล ไอโซบิวทานอล แอคทีฟเอมิลแอลกอฮอล์ และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ในขณะที่ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์เป็นอะโรมาติคแอลกอฮอล์ที่สำคัญที่สุดในการให้กลิ่นรสของไวน์ ฟูเซลออยล์ที่ผลิตได้มีชนิดและปริมาณขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์และองค์ประกอบของสารอาหารเริ่มต้น โดยทั่วไปฟูเซลออยล์มีผลต่อกลิ่นและรสของไวน์ได้ทั้งด้านบวกและด้านลบ ในไวน์มีปริมาณของไอโซเอมิลแอลกอฮอล์มากกว่าร้อยละ 50 ของแอลกอฮอล์โมเลกุลสูงทั้งหมดที่เป็นองค์ประกอบ (Zoecklein และคณะ. 1995) แอลกอออล์โมเลกุลสูงที่พบในไวน์ส่วนใหญ่จะมีกลิ่นฉุนมาก ถ้าหากมีความเข้มข้นต่ำประมาณ 0.3 กรัมต่อลิตรหรือต่ำกว่านี้ จะก่อให้เกิดความหอมที่ซับซ้อน ถ้าความเข้มข้นมากกว่านี้จะส่งผลเสียต่อกลิ่นของไวน์และทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่น (Ronald. 2002)

2.5.3 เมทิลแอลกอฮอล์

ในกระบวนการหมักสุราแช่ประเภทต่างๆ ได้แก่ สาโท ไวน์ ไวน์ผลไม้ ยีสต์มีความสามารถในการเปลี่ยนน้ำตาลและคาร์โบไฮเดรตเป็นแอลกอฮอล์และสารอื่นๆได้ในชนิดและปริมาณต่างกัน ทั้งนี้ขึ้นกับสภาวะในการหมัก ในบางสภาวะที่ไม่เหมาะสม เช่น อุณหภูมิภายในถังหมักที่สูงเกินไป อาจทำให้ยีสต์อยู่ในสภาวะเครียด และสร้างเมทิลแอลกอฮอล์ขึ้นมาได้ หรือในกระบวนการผลิตไวน์ผลไม้บางชนิดที่ใช้เอนไซม์เพคติเนสในการเตรียมน้ำผลไม้ก็ทำให้เกิดเมทิลแอลกอฮอล์ขึ้นได้ เป็นต้น

2.5.4 อัลดีไฮด์

อัลดีไฮด์เป็นสารในกลุ่มคาร์บอนิล (Carbonyl) เป็นสารสำคัญที่มีบทบาทต่อกลิ่นรสของสาโท เกิดจากปฏิกิริยาการออกซิไดซ์แอลกอออล์เป็นอัลดีไฮด์ ปริมาณอัลดีไฮด์ที่ถูกสร้างขึ้นมา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ของยีสต์และสภาวะในการหมัก โดยทั่วไปแล้วปริมาณอัลดีไฮด์ควรมีค่าอยู่ในช่วง 60- 190 มิลลิกรัมต่อลิตร

อะซีตัลดีไฮด์ (acetaldehyde) เป็นสารในกลุ่มอัลดีไฮด์ที่พบมากที่สุดในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ และมีปริมาณมากถึงร้อยละ 90 ของอัลดีไฮด์ที่พบในไวน์ (Ronald. 2002) การเกิดอะซีตัลดีไฮด์สามารถบ่งบอกถึงการปนเปื้อนหรือการเกิดปฏิกิริยาออกซิเดชันของจุลินทรีย์ (Silva และคณะ. 1999) ในกระบวนการกลั่นและขั้นตอนการบ่ม ความเข้มข้นของอะซีตัลดีไฮด์สามารถเพิ่มขึ้นได้ เนื่องจากปฏิกิริยาออกซิเดชันของเอทานอล อะซีตัลดีไฮด์ถ้ามีค่าเกินจากระดับที่กำหนดจะทำให้เกิดการสูญเสียกลิ่นรส Mangas และคณะ (1995) รายงานว่าความเข้มข้นของอะซีตัลดีไฮด์ที่ลดลงเกิดจากปฏิกิริยาระหว่างเอทานอลและอะซีตัลดีไฮด์เปลี่ยนเป็นอะซีตัล (acetal) คุณสมบัติทางประสาทสัมผัสของอะซีตัลดีไฮด์จะให้กลิ่นผลไม้ ในขณะเดียวกันถ้าอะซีตัลดีไฮด์มีความเข้มข้นสูงจะให้ผลเสียต่อคุณภาพของไวน์ โดยจะก่อให้เกิดกลิ่นฉุนในไวน์ (sharp smell)

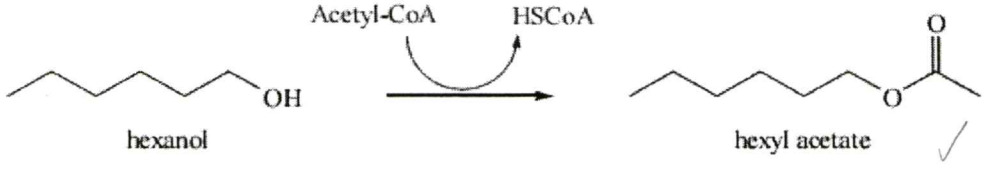
2.5.5 เอสเทอร์

เอสเทอร์เป็นสารหอมระเหยที่มีความสำคัญในการให้กลิ่นรสแก่ผลิตภัณฑ์ เอสเทอร์ที่เกิดขึ้นนั้นมี 2 รูปแบบ (Eggers. 2006)

แบบที่ 1 เกิดจากปฏิกิริยา ethanolysis ของเอซิลโคเอ (acylCoA) ซึ่งเกิดขึ้นระหว่างการสังเคราะห์กรดไขมันได้เป็นเอทิลเอสเทอร์จากกรดไขมัน ดังสมการ

ตัวอย่างของเอสเทอร์ประเภทนี้ได้แก่ เอทิลบิวทาโนเอท เอทิลเฮกซาโนเอท เอทิลออคทาโนเอท เอสเทอร์ประเภทนี้จะให้กลิ่นของไข (wax) และน้ำผึ้งในไวน์ขาว (Eggers. 2006) เอทิลบิวทาโนเอทและเอทิลเฮกซาโนเอทให้กลิ่นผลไม้ เปลือกแอปเปิ้ล และสตรอว์เบอร์รี่ ถ้าหากสายไฮโดรคาร์บอนมีความยาวเพิ่มขึ้นจะทำให้เกิดกลิ่นคล้ายสบู่ และกลิ่นคล้ายกับน้ำมันหมู เมื่อเป็นกรดไขมันที่ประกอบด้วยคาร์บอน 16 และ 18 อะตอม (Ronald. 2002)

แบบที่ 2 เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอะซีติลโคเอ (acetylCoA) กับฟูเซลออยล์ ดังสมการจะได้เป็นอะซีเตทเอสเทอร์ เช่น ไอโซเอมิลอะซีเตทซึ่งให้กลิ่นกล้วย เฮกซิลอะซีเตทให้กลิ่นผลไม้ สมุนไพร และแอปเปิ้ล เบนซิลอะซีเตทให้กลิ่นแอปเปิ้ล



เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอทิลอะซีเตท (ethyl acetate) เป็นเอสเทอร์สำคัญที่เกิดจากปฏิกิริยาดีไฮเดรชัน (dehydration) ระหว่างเอทานอลและกรดอะซีติก ในไวน์ที่นำมาทดสอบชิม ความเข้มข้นของเอทิลอะซีเตทจะอยู่ระหว่าง 50-100 มิลลิกรัมต่อลิตร และให้กลิ่นผลไม้ได้ ถ้ามากกว่า 150 มิลลิกรัมต่อลิตร จะทำให้เกิดกลิ่นเปรี้ยวของน้ำส้มสายชู (Dubourdieu และคณะ. 1999 ; Mestres และคณะ. 2000)

2.5.6 กรด

กรดที่พบส่วนใหญ่ คือ กรดทาร์ทาริกและกรดมาลิก และมีกรดชนิดอื่นๆ เพียงเล็กน้อย ได้แก่ กรดซัคซินิก กรดแลคติก กรดอะซีติก และกรดซิตริก กรดมาลิกและกรดซิตริกสามารถใช้เป็นอาหารของจุลินทรีย์ได้ แต่กรดทาร์ทาริกจะมีผลยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ (โชคชัย วนภู และคณะ. 2545)

1) กรดที่ไม่สามารถระเหยได้ (Fixed acid) กรดที่ระเหยได้ยากจะมีผลต่อรสชาติแต่ไม่สามารถให้กลิ่นได้ เช่น กรดทาร์ทาริก ถ้ามีความเข้มข้นสูงจะทำให้ไวน์มีรสเปรี้ยวมาก และค่าพีเอชจะต่ำ สำหรับกรดมาลิก สามารถเกิดการเปลี่ยนแปลงไปเป็นกรดแลคติก ไดอะซีติล และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้ (Zoecklien และคณะ. 1995) ตัวอย่างของกรดระเหยยากชนิดอื่นที่พบ เช่น กรดซิตริก กรดซัคซินิก และกรดแลคติก เป็นต้น

2) กรดระเหยง่าย (Volatile acid) กรดระเหยง่ายประกอบด้วยคาร์บอนสายสั้นๆ กรดระเหยง่ายที่สำคัญในไวน์คือ กรดอะซีติก ซึ่งเป็นสารพลอยได้ที่เกิดขึ้นระหว่างขั้นตอนการหมักซึ่งมีมากถึงร้อยละ 90 ของกรดระเหยง่ายทั้งหมด (Fowles. 1992 ; Henschke และ Jiranek. 1993) โดยเกิดขึ้นจากกระบวนการออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ด้วยแบคทีเรียที่ปนเปื้อนระหว่างการหมัก ทำให้ไวน์ที่ได้มีคุณภาพต่ำลง นอกจากนี้ยังพบกรดฟอร์มิก (formic acid) กรดบิวไทริก (butyric acid) และกรดโพรพิโอนิก (propioic acid) เป็นต้น แต่พบในปริมาณน้อย กรดเหล่านี้ก่อให้เกิดกลิ่นเฉพาะตัว เช่น กรดอะซีติกทำให้มีกลิ่นเปรี้ยวและเหม็นบูด กรดฟอร์มิกทำให้มีกลิ่นฉุนอย่างรุนแรง กรดโพรพิโอนิกทำให้มีกลิ่นไขมัน กรดบิวไทริกทำให้เกิดกลิ่นหืนของเนย (Ronald. 2002)

2.6 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Dung และคณะ (2006) ได้ศึกษาบทบาทของเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากหัวเชื้อไวน์ข้าวของเวียดนาม โดยพบว่าเชื้อราที่แยกได้ ได้แก่ *Amylomyces rouxii*, *Amylomces* aff. *rouxii*, *Rhizopus oligosporus* และ *Rhizopus oryzae* มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้ง การสร้างน้ำตาล และมีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 0.6 ยูนิตต่อกรัมของราที่ใช้ในการหมัก เชื้อยีสต์ที่แยกได้ ได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* จำนวน 5 สายพันธุ์ ซึ่งมีความสามารถ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในการผลิตแอลกอฮอล์สูง สามารถย่อยน้ำตาลกลูโคสความเข้มข้นร้อยละ 20 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ให้เป็นเอทานอลร้อยละ 8.8 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และทนต่อเอทานอลได้ร้อยละ 9-10 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเมื่อวัดด้วยวิธี Challenge test และร้อยละ 13.4 โดยน้ำหนักต่อปริมาตรเมื่อวัดในการหมักแบบกึ่งกะ (fed-batch) สภาวะที่เหมาะสมสำหรับกระบวนการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลคือ ใช้เชื้อราจำนวน 5 log cfu ต่อกรัมของข้าวนึ่งสุก บ่มที่อุณหภูมิ 34 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 วัน สภาวะที่เหมาะสมสำหรับการหมักแอลกอฮอล์ คือ ใช้เชื้อยีสต์จำนวน 5.5 log cfu ต่อมิลลิลิตรของน้ำต้อย (น้ำเชื่อมข้าว) บ่มที่อุณหภูมิ 28.3 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 วัน

Dung และคณะ (2007) ได้นำตัวอย่างหัวเชื้อไวน์ข้าวของเวียดนาม 29 ตัวอย่าง โดยคัดเลือกมาเพียง 6 ตัวอย่างที่มีคุณสมบัติดีที่สุดในการย่อยข้าว การผลิตเอทานอล และการสร้างสารให้กลิ่นรสและสีในไวน์ข้าว พบว่าสามารถให้เอทานอล 12 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร และให้กลิ่นหอมหวานของแอลกอฮอล์ สีของไวน์ข้าวที่ได้มีตั้งแต่สีแดงจนถึงสีน้ำตาลอ่อน เชื้อรา เชื้อยีสต์และเชื้อแบคทีเรียทั้งหมดที่พบ คือ 3.4–6.0, 5.8–7.2 และ 2.6–6.2 log cfu ต่อกรัมน้ำหนักแห้งของตัวอย่าง ตามลำดับ จำแนกได้ทั้งหมด 119 สายพันธุ์ ประกอบด้วยเชื้อรา 53 สายพันธุ์ เชื้อยีสต์ 51 สายพันธุ์ และเชื้อแบคทีเรีย 15 สายพันธุ์ เชื้อราที่มีประสิทธิภาพที่สุดคือ *Amylomyces rouxii, Amylomyces aff. rouxii, Rhizopus oligosporus* และ *Rhizopus oryzae* เชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติในการหมักดีที่สุด คือ *Saccharomyces cerevisiae* ส่วนเชื้อยีสต์ที่มีคุณสมบัติรองลงมาคือ *Candida glabrata* และ *Pichia anomala.*

สุหัทยา นำชัยสี่วัฒนา และ สิรี ชัยเสรี (2549) ศึกษาสารให้กลิ่นในไวน์ข้าวที่หมักจากเชื้อบริสุทธิ์ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus oryzae* ด้วยวิธีดูดซับสารระเหยจากไวน์ด้วยวิธี headspace-solid phase microextraction (HS-SPME) และวิเคราะห์ชนิดและปริมาณสารระเหยในไวน์ข้าวด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี แมสสเปกโตเมตรี (GC-MS) พบว่าสารระเหยในไวน์ข้าวมีทั้งหมด 38 ชนิด ระบุชนิดสารให้กลิ่นที่สำคัญใช้วิธี aroma extract dilution analysis (AEDA) ด้วยแก๊สโครมาโทกราฟี ออลแฟคโทเมตรี (GC-O) พบว่าสารให้กลิ่นที่สำคัญในตัวอย่างไวน์ข้าวมี 12 ชนิด คือ 1-เฮกซานอล เบนซีนเอทานอล ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 1-ออคทานอล เอทิลคาพริเลท เดคานาล เอทิลคาเพรท ไอโซบิวทิลแอลกอฮอล์ ทรานส์-เบต้า-คาริโอฟีลีน ออคทิลอะซีเตท 1-เดคานอล 2-เมทิลบิวทิลเดคาโนเอท

Kao (2004) ศึกษาการผลิตสาเกและวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาเกที่ผลิตได้ โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี และ HPLC จากการทดลองพบว่า องค์ประกอบทางเคมีที่มีผลต่อคุณภาพของสาเก คือ เอทิลอะซีเตท บิวทิลอะซีเตท เอทิลแลคเตท เอทิลคาไพเรท กรดไอโซบิวไทริก ไอโซเอมิลอะซีเตท เอทิลแอลกอฮอล์ โพรพิลแอลกอฮอล์ หรือเบนซีนแอลกอฮอล์ กรดซิตริก กรดมาลิก กรดซัคซินิก กรดแลคติก และกรดอะซีติก นอกจากนี้ยังพบว่าเอสเทอร์ที่มีความเข้มข้นมากที่สุดในสาเกที่ผลิตได้ คือเอทิลแลคเตท ส่วนกรดที่พบมากที่สุด คือ กรดมาลิก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่เมื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของกรด เอสเทอร์ และแอลกอฮอล์ที่มีในสาเกที่ผลิตได้กับสาเกที่มีขายโดยทั่วไป 3 ยี่ห้อ คือ Purosy, The jade และ Dog dance พบว่าสาเกที่ผลิตได้มีความเข้มข้นของกรดมาลิก กรดแลคติก กรดอะซีติก ฟีนิลแอลกอฮอล์ และเอทิลแลคเตทสูงกว่าสาเกที่มีขายโดยทั่วไป นอกจากนี้ยังพบว่า เอทิลอะซีเตท และไอโซเอมิลอะซีเตท ในสาเกที่มีขายโดยทั่วไปมีความเข้มข้นมากกว่าสาเกที่ผลิตได้

มนตรี เชาว์สังเกต (2521) วิเคราะห์องค์ประกอบของสาโทที่ยังมีการหมักจากตัวอย่างผลิตภัณฑ์สาโท 11 ตัวอย่างในประเทศไทย ผลการทดลองพบว่า สาโทมีค่าพีเอช 3.4 – 4.7 กรดโดยรวมซึ่งวัดอยู่ในรูปกรดแลคติก มีค่าร้อยละ 0.29 – 0.93 กรดที่ระเหยได้ซึ่งวัดในรูปกรดอะซีติกมีค่าร้อยละ 0.001 – 0.061 ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่า 5.2 – 13.8 องศาบริกซ์ น้ำตาลรีดิวซ์มีค่าร้อยละ 0.15 -5.95 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และแอลกอฮอล์มีค่าร้อยละ 3.0 – 11.0 โดยปริมาตร นอกจากนี้ยังพบว่าตัวอย่างสาโท 5 ตัวอย่างที่ปล่อยให้เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์ ค่าพีเอช 3.17 – 4.0 กรดโดยรวมซึ่งวัดอยู่ในรูปกรดแลคติก มีค่าร้อยละ 1.18 – 4.23 กรดที่ระเหยได้ซึ่งวัดในรูปกรดอะซีติกมีค่าร้อยละ 0.026 – 2.43 ของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดมีค่า 7.8 – 15.6 องศาบริกซ์ น้ำตาลรีดิวซ์มีค่าร้อยละ 0 – 7.3 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร และแอลกอฮอล์มีค่าร้อยละ 6.8 – 14.8 โดยปริมาตร

Wakai และคณะ (1996)ได้ทดสอบความเหมาะสมของข้าวที่จะนำมาใช้ผลิตสาเกโดยใช้ข้าวในประเทศญี่ปุ่นนำมาวิเคราะห์คุณสมบัติทางเคมีและกายภาพ ความสามารถในการย่อย และนำไปผลิตเป็นสาเก พบว่าข้าวบางสายพันธุ์ซึ่งต้องการเวลาในการสีข้าวนาน เมื่อนำมาหมักจะใช้ระยะเวลาในการหมักนานและมีกรดอะมิโนสูงในสาเก ในทางตรงกันข้ามบางสายพันธุ์ซึ่งสามารถดูดซับน้ำได้เป็นจำนวนมากและสามารถถูกย่อยได้ดี จะให้สาเกหวานที่มีแอลกอฮอล์ต่ำ

ลิขิต ศิริสันติเมธาคม (2549) วิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีของสาโท 31 ตัวอย่าง สารเคมีที่พบในสาโทส่วนใหญ่ได้แก่ อะซีตัลดีไฮด์ เอทิลอะซีเตท โพรพิลอะซีเตท เอทิลบิวไทเรต เฮกซิลอะซีเตท (hexyl acetate) เอทิลเดคาโนเอต (ethyl decanoate) ไดเอทิลซัคซิเนท (diethyl succinate) 2-ฟีนเอทิลอะซีเตท (2-phenethyl acetate) เอทิลลอเรท (ethyl laurate) เมทานอล ไอโซบิวทิลแอลกอฮอล์ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 4-เพนเทน-1-ออล (4-penten-1-ol) 3-เมทิล-1-เพนทานอล (3-methyl-1-pentanol) 1-เฮกซานอล (1-hexanol) 2-ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์ (2-phenylethyl alcohol) อะซีโตน อะซีโตอิน และเอทานอล

Sirisantimathakom และคณะ (2003) ได้ทดลองหาสภาวะที่เหมาะสมในการวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยง่ายในตัวอย่างสุรากลั่นโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี จากผลการทดลองพบว่าสภาวะที่เหมาะสมคือ ใช้อุณหภูมิเตาอบเริ่มต้น 55 องศาเซลเซียส และโปรแกรมของอุณหภูมิของเตาอบคือ 55 องศาเซลเซียส 6 นาที เพิ่มอุณหภูมิขึ้น 8 องศาเซลเซียส ต่อนาที จนถึง 120 องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ 15 นาที เพิ่มอุณหภูมิขึ้น 20 องศาเซลเซียส ต่อนาทีจนถึง 150

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องศาเซลเซียส และคงไว้ที่อุณหภูมินี้ 15 นาที ตามลำดับ โดยที่สภาวะนี้สามารถแยกแอลกอฮอล์เอสเทอร์และอัลดีไฮด์ออกจากกันได้อย่างสมบูรณ์ภายในเวลา 14 นาที นอกจากนี้ยังพบว่า ตัวอย่างสุรากลั่นที่ผลิตในประเทศไทยจำนวน 28 ตัวอย่าง มีปริมาณเอสเทอร์ (เอทิลอะซีเตท) 21.0 – 6,652.3 มิลลิกรัมต่อลิตร อัลดีไฮด์ (อะซีทัลดีไฮด์) 21.6 – 1,071.1 มิลลิกรัมต่อลิตร ฟูเซลออยล์ (ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ และไอโซบิวทิลแอลกอฮอล์) 218.6 – 2,175.2 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรพานอล 37.1 - 405.8 มิลลิกรัมต่อลิตร บิวทานอลและเมทานอลมีปริมาณไม่เกิน 13.7 และ 291.8 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ

Torija และคณะ (2003) ได้ศึกษาอิทธิพลของอุณหภูมิที่มีผลต่อส่วนประกอบของกรดไขมันในเซลล์และการเกิดสารประกอบที่ระเหยได้ในไวน์ โดยพบว่าที่อุณหภูมิต่ำสามารถสร้างกลิ่นหอมได้ดีแต่อาจเสี่ยงที่จะทำให้การหมักหยุดชะงักและการเปลี่ยนแปลงของส่วนประกอบของเยื่อหุ้มเซลล์อาจจะเกี่ยวข้องกับการหมักที่อุณหภูมิต่ำ โดยเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทดลองคือ *Saccharomyces cerevisiae* และ *Saccharomyces bayanus* ถ้าใช้อุณหภูมิต่ำจะจำกัดการเจริญของยีสต์ซึ่งทำให้ยืดระยะเวลาในการหมักออกไปอีก จากการวิเคราะห์กรดไขมันที่พลาสมาเมมเบรนแสดงให้เห็นว่ายีสต์แห้งมีความไม่อิ่มตัวที่ระดับเดียวกันคือร้อยละ 70 – 80 ส่วนกรดไขมันอิ่มตัวสายโซ่ยาวจะพบมากที่สุดในเมมเบรนตลอดช่วงการหมัก ส่วนประกอบของไขมันจะเกิดการเปลี่ยนแปลงพร้อมกับอุณหภูมิที่ใช้ในการเจริญเติบโต ส่วนความเข้มข้นของสารที่ระเหยได้จะเพิ่มขึ้นในไวน์ที่หมักที่อุณหภูมิต่ำและยังขึ้นอยู่กับชนิดของสายพันธุ์ยีสต์อีกด้วย

Ardo (2006) พบว่าการแคแทบอลิซึมกรดอะมิโนของจุลินทรีย์เพื่อสร้างสารประกอบให้กลิ่นรสมีความสำคัญต่ออาหารประเภทชีส ไวน์ และไส้กรอกหมัก แบคทีเรียที่ผลิตกรดแลคติกเป็นจุลินทรีย์ที่มีประโยชน์ในการสร้างสารให้กลิ่นรสในอาหาร กรดอะมิโนที่มีโครงสร้างแบบกิ่งก้าน (ลิวซีน วาลีน) สามารถเปลี่ยนไปเป็นสารประกอบที่ให้กลิ่นมอลต์ กลิ่นผลไม้ และกลิ่นหอมหวาน การแคแทบอลิซึมของกรดอะมิโนที่มีโครงสร้างแบบอะโรมาติก (ฟีนิลอะลานีน ไทราซีน ทริปโตเฟน) สามารถสร้างกลิ่นดอกไม้ และกลิ่นสารเคมีได้ กรดแอสปาติกสามารถถูกแคแทบอลิซึมและสร้างกลิ่นเนย ส่วนกรดอะมิโนที่มีซัลฟิวริก (เมไทโอนีน และซีสเทอีน) สามารถเปลี่ยนไปเป็นกลิ่นกะหล่ำปลีไหม้ กลิ่นเนื้อ และกลิ่นกระเทียมได้

Romano และคณะ (2003) ความหลากหลายและส่วนประกอบของยีสต์ที่พบในไวน์เป็นตัวกำหนดลักษณะของไวน์ การเจริญของสายพันธุ์ยีสต์แต่ละชนิดในไวน์ถูกกำหนดโดยกิจกรรมเมแทบอลิซึมที่เฉพาะเจาะจง ซึ่งเป็นตัวกำหนดความเข้มข้นของสารให้กลิ่นรสในไวน์ การใช้หัวเชื้อในปริมาณมากจะช่วยลดความเสี่ยงในการเสื่อมเสียและการเปลี่ยนแปลงที่ไม่ต้องการในไวน์ และสามารถทำให้กลิ่นรสของไวน์มีความสมดุลได้ แต่อาจจะเป็นสาเหตุให้สูญเสียลักษณะของกลิ่นรสที่ต้องการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

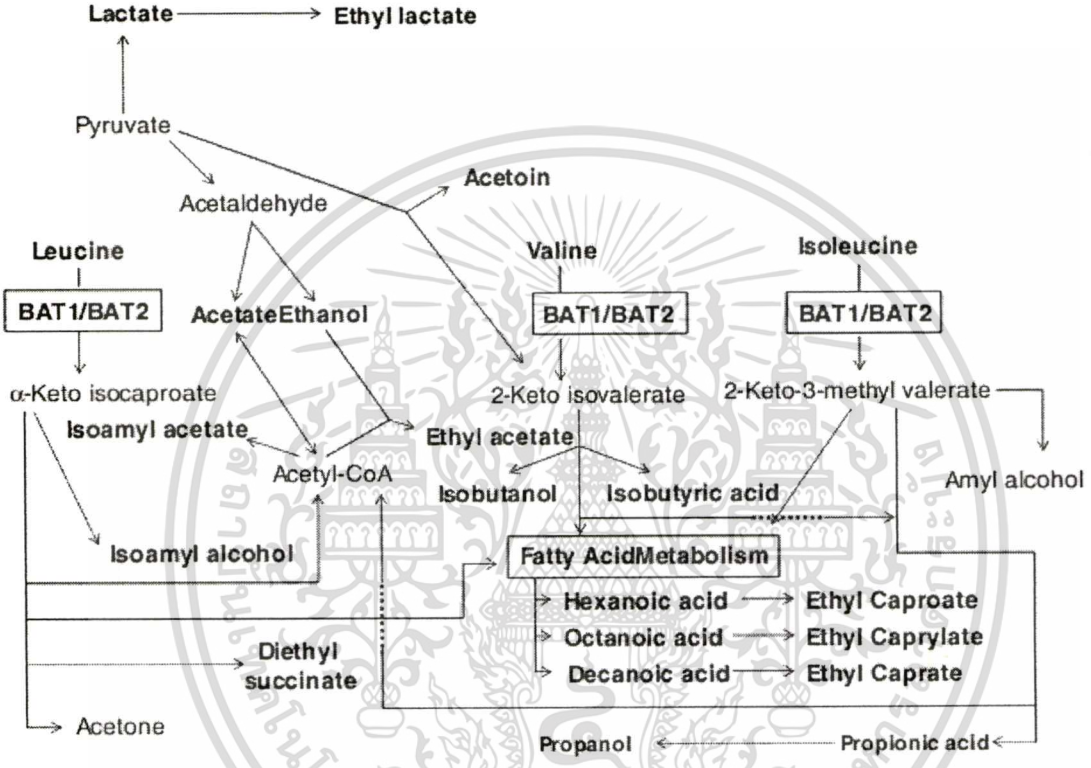
Regodón และคณะ (2005) ได้วิเคราะห์การสร้างสารระเหยหลักที่พบในไวน์ ได้แก่ อะซีตัลดีไฮด์ เอทิลอะซีเตท และฟูเซลแอลกอฮอล์บางชนิด ในระหว่างการหมักโดยใช้องุ่นสายพันธุ์ต่างๆ ใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ซึ่งพบว่ามีการผลิตสารระเหยค่อนข้างหลากหลาย โดยส่วนใหญ่ขึ้นอยู่กับส่วนประกอบของน้ำองุ่นและสภาวะในการหมัก นอกจากนี้ ยังขึ้นอยู่กับสายพันธุ์ยีสต์ด้วย และยังสังเกตพบว่ามีความสัมพันธ์กันทางอ้อมระหว่างการผลิต อะซีตัลดีไฮด์และไอโซบิวทานอล และระหว่างการผลิตเอทิลอะซีเตทและฟูเซลแอลกอฮอล์ทั้งหมด นอกจากนี้ยังพบความสัมพันธ์ที่เกี่ยวข้องกันโดยตรงระหว่างคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นของไวน์กับปริมาณเอทิลอะซีเตท ไวน์ที่มีคุณภาพส่วนใหญ่จะผลิตจากเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่ไม่ผลิตสารสังเคราะห์ในปริมาณสูง ในขณะที่ไวน์คุณภาพต่ำจะผลิตจากเชื้อยีสต์สายพันธุ์ที่สร้างอะซีตัลดีไฮด์และฟูเซลแอลกอฮอล์ได้สูง

Ueki และคณะ (1991) ศึกษาการผลิตไวน์ข้าว 4 วิธี ซึ่งประกอบด้วย 1) ไวน์จากข้าวไม่ขัดสี 2) ไวน์จากรำข้าว 3) ไวน์ที่ได้จากการแปรผันรำข้าวต่อข้าวที่ขัดสี และ 4) ไวน์ที่ได้จากการแปรผันชนิดของข้าวที่ขัดสีต่อรำข้าว โดยศึกษาองค์ประกอบทางเคมีและความชอบ โดยใช้วิธีแก๊สโครมาโทกราฟี และการวัดคุณภาพของไวน์โดยใช้การทดสอบทางประสาทสัมผัสตามลำดับ ผลการทดลองพบว่า ผู้ทดสอบชิมชอบไวน์ที่ได้จากการแปรผันชนิดของข้าวที่ขัดสีต่อรำข้าว ทั้งนี้เนื่องจากไวน์ดังกล่าวสามารถแสดงลักษณะของกลิ่นผลไม้และความเปรี้ยวที่ดี นอกจากนี้พบปริมาณขององค์ประกอบทางเคมีของไวน์ดังกล่าวคือเอทานอลร้อยละ 9.3-9.7 โดยปริมาตร ไอโซบิวทานอล 220-240 มิลลิกรัมต่อลิตร ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 240-250 มิลลิกรัมต่อลิตร อะซีตัลดีไฮด์ 1220-1370 มิลลิกรัมต่อลิตร เอทิลอะซีเตท 360-410 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดอะซีติก 150-160 มิลลิกรัมต่อลิตร

Ueda และคณะ (1991) ศึกษาการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส AN-2 ซึ่งผลิตจากเชื้อรา *Aspergillus niger* ในการผลิตไวน์จากข้าวแดง เปรียบเทียบกับการผลิตแบบดั้งเดิมคือใช้ข้าวแดงผสมกับกลูโคสโดยไม่ใช้เอนไซม์ในการย่อยข้าว การใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส AN-2 สามารถผลิตไอโซบิวทิลแอลกอฮอล์และเอทิลอะซีเตทมากกว่าวิธีดั้งเดิม แต่สีของไวน์ข้าวที่ได้ไม่ดีเท่ากับวิธีผลิตแบบดั้งเดิม โดยวัดได้จากค่าที่ลดลงเมื่อวิเคราะห์รงควัตถุสีแดงในไวน์ข้าวด้วยสเปกโตรโฟโตเมตริก (spectrophotometric) ที่ค่าการดูดกลืนแสงเท่ากับ 530 นาโนเมตร สีแดงที่ลดลงมาจากการปลดปล่อยกลูโคสจากปฏิกิริยาของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดส (β-glucosidase) ซึ่งเป็นส่วนประกอบในเอนไซม์กลูโคอะไมเลส AN-2 การใช้เอนไซม์ซูมิไซม์ (Sumizyme) ซึ่งเป็นเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่ผลิตจากเชื้อรา *Rhizopus* sp. มีปริมาณของเอนไซม์เบต้ากลูโคซิเดสน้อยกว่าจึงไม่ทำให้สีแดงในไวน์ข้าวลดลง ไวน์ข้าวที่ผลิตโดยยีสต์ Kyokai no.9 มีคุณภาพดีที่สุดเมื่อทดสอบทางประสาทสัมผัส ดังนั้นจึงใช้เอนไซม์ซูมิไซม์ กลูโคอะไมเลส และยีสต์ Kyokai no.9 ร่วมกันเพื่อการผลิตไวน์ข้าวแดงที่มีสีแดงสดและกลิ่นรสที่ดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Mariska และคณะ (2006) ได้ศึกษาบทบาทของยีน *BAT1* และ*BAT2* ของยีสต์ *S. cerevisiae* ที่กำหนดการสร้างเอนไซม์ทรานส์อะมิเนส (transaminase) ซึ่งเร่งการเปลี่ยนแปลงระหว่างกรดอะมิโนหลายชนิดเป็นกรดอัลฟาคีโตต่างๆ กรดอัลฟาคีโตเหล่านี้เป็นสารตั้งต้นสำคัญในการสังเคราะห์ฟูเซลออยล์ซึ่งมีผลต่อกลิ่นรสของของไวน์และสุรากลั่น ดังแผนภูมิการเมตาบอลิซึมได้ดังรูป 2.7



รูปที่ 2.7 วิถีเมตาบอลิซึมการสร้างสารประกอบให้กลิ่นของยีสต์ *S. cerevisiae*

ที่มา : Mariska และคณะ (2006)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
การดำเนินงานวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

Amylomyces rouxii MNT 037 จากลูกแป้งเหล้าของจังหวัดอุบลราชธานี

Rhizopus oryzae MNT 006 จากลูกแป้งเหล้าของจังหวัดสมุทรสาคร

Saccharomyces cerevisiae YRK 017 จากลูกแป้งเหล้าของจังหวัดหนองบัวลำภู

จุลินทรีย์เหล่านี้ได้รับความอนุเคราะห์จากวิทยานิพนธ์ของวิมลักษณ์ รัตนปรีดากุล (2549)

Saccharomycopsis fibuligera TISTR 5033 ได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

3.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

ข้าวเหนียวพันธุ์เขี้ยวงู

3.1.3 อุปกรณ์

เครื่องแก้วชนิดต่างๆ

ตู้บ่มเชื้อ ; Memmert

ตู้ถ่ายเชื้อ (larminar air flow) MARK II; Dwyer

กล้องจุลทรรศน์ CH 300; Olympus

เครื่องเขย่าผสม (vortex meter); Scientific Industries

เครื่องวัดความเป็นกรด-ด่าง (pH meter) Cyberscan 2000; Eutech

เครื่องวัดค่าการดูดกลืนแสง (spectrophotometer) UV 1201V; Shimadzu

แฮนด์รีแฟรคโตมิเตอร์ (hand refractommeter) 0-32 เปอร์เซ็นต์; ATGO, Japan

เครื่องชั่งละเอียด 3 ตำแหน่ง PG 5002; Mettler-Toledo

เครื่องชั่งละเอียด 4 ตำแหน่ง BP 2215; Scientific Promotion

ไมโครปิเปต Pipetman; Gilson

คิวเวทแก้ว

อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ (water bath); Memmert

เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC); GC-17A Chromatograph, Shimadzu

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ชุดฉีดสารอัตโนมัติสำหรับแก๊สโครมาโทกราฟี HSS-4A; Shimadzu

คอลัมน์แก๊สโครมาโทกราฟี DB-WAX, 30 m x 0.53 mm x 1μ; Agilent J&W GC Column

เครื่องโครมาโทกราฟีแบบของเหลว (HPLC) C-R7Ae plus Chromatopac; Shimadzu

คอลัมน์ HPLC Aminex HPX-87C; BIO-RAD สำหรับวิเคราะห์น้ำตาลกลูโคส

คอลัมน์ HPLC Aminex HPX-87H; BIO-RAD สำหรับวิเคราะห์กรดอินทรีย์

หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (autoclave) ES-315; TOMY

เครื่องปั่นเหวี่ยงแบบควบคุมอุณหภูมิ (centrifuge)

หลอดปั่นเหวี่ยงขนาด 10 มิลลิลิตร

ฮีมาไซโตมิเตอร์ (haemacytometer) ; Boeco

เครื่องตีป่น (Stomacher); IUL Instruments

เครื่องเขย่าแบบควบคุมอุณหภูมิ (shaker) obital shaker; GALLENKAMP

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

ยีสต์สกัด (yeast extract); Scharlau

มอลต์สกัด (malt extract); Scharlau

เปปโตน (peptone); Scharlau

กลูโคส (glucose)

ผงวุ้น (agar)

Potato dextrose agar (PDA) ; Scharlau

Dichloran-Rose Bengal – Chloramphenical Agar (DRBC) ; Merck

3.1.5 สารเคมี

เอนไซม์กลูโคอะไมเลส (EC 3.2.1.3) 59.9 ยูนิตต่อมิลลิกรัม ; Sigma-Aldrich

เอทานอล (Absolute ethanol)

กรดอะซีติก (CH_3COOH)

โพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI)

โพแทสเซียมไตรไอโอเดท (KIO_3)

โซเดียมอะซีเตท ($C_2H_3O_2Na_3$)

ไดไนโตรซาลิไซลิก แอสิด (DNS)

โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaCl)

โซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$)

คอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟตทาร์เทรต ($Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$)

โซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4)

โซเดียมอาร์ซีเนต เฮปตะไฮเดรต ($Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$)

แอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7)_{24} \cdot 4H_2O$)

กรดซัลฟิวริก (H_2SO_4)

กรดแลคติก

กรดซัคซินิก

กรดมาลิก

กรดฟูมาริก

แป้ง (Soluble starch)

กลูโคสมาตรฐาน

โซเดียมคลอไรด์ (NaCl)

เพนทานอล

ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์

ไอโซเอมิล อะซีเตท

2-ฟีนิลเอทิล อะซีเตท

2-ฟีนิลเอทิล แอลกอฮอล์

เอทิลอะซีเตท

ไอโซบิวทานอล

โพรพานอล

3.2 วิธีการวิจัย

3.2.1 ศึกษาการเจริญ ความสามารถในการย่อยข้าวเหนียว และการผลิตกรดอินทรีย์ของเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า

3.2.1.1 การเตรียมสปอร์แขวนลอย (Spore suspension) ของเชื้อรา

เชื้อราที่ใช้ คือ *Amylomyces rouxii* MNT 037 และ *Rhizopus oryzae* MNT 006 ที่แยกได้จากลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้า เตรียมหัวเชื้อโดยเขี่ยเชื้อราลงบนอาหาร PDA (ภาคผนวก ก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส นาน 5 วัน เตรียมสารแขวนลอยสปอร์ของเชื้อราโดยการเทน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อลงในหลอดเชื้อที่เตรียมไว้ ใช้เข็มเขี่ยเชื้อเกลี่ยให้เชื้อราหลุดจากผิวหน้าอาหาร จากนั้นนำไปกรองผ่านสำลีที่วางอยู่บนกรวยแก้วที่ฆ่าเชื้อแล้ว เพื่อแยก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เส้นใยของเชื้อราออก นำส่วนที่กรองได้ไปนับจำนวนสปอร์ด้วยฮีมาไซโตมิเตอร์ (Haemacytometer) ให้มีสปอร์ของเชื้อราเริ่มต้นที่ 10^6 สปอร์ต่อมิลลิลิตร

3.2.1.2 การเตรียมข้าวเหนียวนึ่ง

นำข้าวเหนียวมาแช่น้ำนาน 3 ชั่วโมง และนำไปนึ่งด้วยไอน้ำประมาณ 20 นาที ล้างยางข้าวเหนียวออก 1 ครั้ง นำข้าวเหนียวมาสะเด็ดน้ำให้แห้ง ชั่งข้าวเหนียวนึ่ง 300 กรัม ใส่ในฟลาสก์ขนาด 1000 มิลลิลิตร เติมน้ำลงในฟลาสก์ 10 มิลลิลิตร เพื่อไม่ให้ข้าวเหนียวจับตัวเป็นก้อน ปิดจุกสำลีที่ปากขวด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 20 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

3.2.1.3 ศึกษาการเจริญ ความสามารถในการย่อยข้าวเหนียว และการผลิตกรดอินทรีย์ของเชื้อรา

เติมสปอร์แขวนลอยของเชื้อราบริสุทธิ์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.1.1 โดยใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ปริมาณร้อยละ 10 ลงใน ฟลาสก์ขนาด 1000 มิลลิลิตร ที่ใส่ข้าวเหนียวนึ่ง 300 กรัม ซึ่งผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว หมักที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง เป็นเวลา 5 วัน โดยเก็บส่วนที่เป็นของเหลว (น้ำเชื่อมข้าว) ไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ดูดส่วนใสเพื่อทำการวิเคราะห์ความเป็นกรดด่าง ปริมาณแป้งที่เหลือ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ($^{\circ}$Brix) กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล รวมทั้งปริมาณกรดอินทรีย์

สำหรับการเจริญของเชื้อรา วิเคราะห์ได้โดยนำตัวอย่างที่เป็นของแข็งประมาณ 10 กรัม มาละลายในสารละลาย peptone water ร้อยละ 0.1 (ภาคผนวก ก) ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ที่บรรจุอยู่ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher นาน 60 วินาที นำสารละลายที่ได้ไปเจือจางด้วย peptone water ร้อยละ 0.1 จากนั้นนับจำนวนเชื้อโดยวิธี spread plate โดยใช้ปริมาตรสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร บนอาหาร DRBC (Dichloran-Rose Bengal-Chloramphenical agar) (ภาคผนวก ก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) นาน 2 วัน นับโคโลนีของเชื้อ โดยรายงานผลเป็น cfu/g

3.2.2 เปรียบเทียบการใช้เชื้อราและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว

3.2.2.1 ปริมาณและความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว

เตรียมสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Sigma-Aldrich, 59.9 ยูนิตต่อมิลลิกรัม) ให้มีความเข้มข้น 50 100 150 200 และ 250 พีพีเอ็ม ในสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ พีเอช

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5 (ภาคผนวก ข) นำสารละลายเอนไซม์กรองผ่านกระดาษกรองขนาด 0.2 ไมครอน จากนั้นนำสารละลายเอนไซม์แต่ละความเข้มข้นไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำมาเติมลงในข้าวเหนียวนึ่ง 100 กรัมที่บรรจุอยู่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร โดยใช้ปริมาณเอนไซม์แต่ละความเข้มข้นเท่ากับร้อยละ 20 30 และ 40 ของน้ำหนักข้าว คลุกให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างทุกวันเพื่อวัดปริมาณน้ำเชื่อมข้าวที่เกิดขึ้น ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ด้วยวิธี Somogyi-Nelson (Nelson. 1944) การทดลองขั้นตอนนี้วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD โดยมีจำนวนซ้ำ 3 ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New Multiple Range Test (DMRT)

3.2.2.2 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

เตรียมสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นที่เหมาะสม ในสารละลายอะซีเตทบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ พีเอช 5 นำสารละลายเอนไซม์ไปบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส แล้วจึงนำมาย่อยข้าวเหนียวนึ่ง 300 กรัม ที่บรรจุอยู่ในฟลาสก์ขนาด 1000 มิลลิลิตร บ่มข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง โดยเก็บน้ำเชื่อมข้าวไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที ดูดส่วนใสเพื่อทำการวิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล รวมทั้งกรดอินทรีย์

นำผลการทดลองที่ได้มาเปรียบเทียบกับการใช้เชื้อราทั้งสองชนิดในการย่อยข้าวเหนียวในหัวข้อ 3.2.1.3

3.2.3 ศึกษาบทบาทของเชื้อราต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก

นำข้าวเหนียวนึ่ง 300 กรัม ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้วใส่ในฟลาสก์ขนาด 1000 มิลลิลิตร โดยแบ่งเป็น 3 ชุดการทดลองคือ ชุดที่ 1 ใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก ชุดที่ 2 ใช้เชื้อรา *R. oryzae* MNT 006 ปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อน้ำหนัก และชุดที่ 3 ใช้เอนไซม์กลูโคอะเลสในการหมักข้าว โดยใช้ความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในขั้นต้น สำหรับชุดการทดลองที่หมักด้วยเชื้อรา นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้อง (30 $\pm$ 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 3 วัน ส่วนชุดการทดลองที่ใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน เก็บของเหลวบางส่วนไปวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC) (ภาคผนวก ค.8) ของเหลวส่วนที่เหลือนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ (KMS) 0.08 กรัมต่อลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ชิมจำนวน 20 คน โดยวิธี Hedonic scale (ภาคผนวก ง) วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4 ศึกษาบทบาทในการย่อยแป้งและการผลิตแอลกอฮอล์ของเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า

3.2.4.1 การเตรียมหัวเชื้อบริสุทธิ์

เชื้อยีสต์ที่ใช้คือ *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5033 และ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า การเตรียมหัวเชื้อบริสุทธิ์ทำได้โดยการเลี้ยงยีสต์ในอาหารเหลว YM broth (ภาคผนวก ก) จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เขย่าด้วยความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที นาน 24 ชั่วโมง วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร ให้ได้ความขุ่น 0.5 เพื่อใช้เป็นกล้าเชื้อเริ่มต้น

3.2.4.2 บทบาทของเชื้อยีสต์ในการย่อยแป้ง

นำข้าวเหนียวนึ่ง 300 กรัม บรรจุลงในฟลาสก์ขนาด 1000 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของยีสต์ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เปรียบเทียบกับ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดเซลล์แขวนลอยร้อยละ 10 ลงในข้าวเหนียวนึ่ง หมักต่อเป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุกวัน เพื่อวิเคราะห์การเจริญของยีสต์โดยนำตัวอย่างที่เก็บได้ประมาณ 10 กรัม มาละลายในสารละลาย peptone water ร้อยละ 0.1 ปริมาตร 90 มิลลิลิตร ในถุงพลาสติกปราศจากเชื้อ นำไปตีปั่นด้วยเครื่อง stomacher นาน 60 วินาที นำสารละลายที่ได้ไปเจือจางด้วย peptone water ร้อยละ 0.1 จากนั้นนับจำนวนเชื้อโดยวิธี spread plate โดยใช้ปริมาตรสารละลาย 0.1 มิลลิลิตร บนอาหาร YM Agar (ภาคผนวก ก) นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส นาน 2 วัน เก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ในน้ำหมัก และปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล

3.2.4.3 บทบาทของเชื้อยีสต์ในการผลิตแอลกอฮอล์

นำข้าวเหนียวนึ่ง 300 กรัม ที่หมักด้วยเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำอุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเพื่อปรับค่าของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 20 องศาบริกซ์ เติมกล้าเชื้อบริสุทธิ์ของยีสต์ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เปรียบเทียบกับ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยใช้ปิเปตที่ฆ่าเชื้อแล้วดูดเซลล์แขวนลอยร้อยละ 10 ลงในข้าวเหนียวนึ่ง หมักต่อเป็นเวลา 5 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน เพื่อวิเคราะห์การเจริญของยีสต์ด้วยวิธี spread plate บนอาหาร YM agar และเก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ค่าความเป็นกรด-ด่าง ปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ในน้ำหมัก ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล รวมทั้งปริมาณเอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.5 บทบาทของเชื้อยีสต์ต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก

นำข้าวเหนียวนึ่ง 300 กรัมซึ่งผ่านการหมักเป็นเวลา 3 วัน ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส ด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้นและปริมาณที่เหมาะสมที่ได้จากการทดลองในขั้นต้น นำมาฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เพื่อเป็นการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเพื่อปรับค่าของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 20 องศาบริกซ์ เติมกล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.4.1 โดยใช้หัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร แบ่งการทดลองเป็น 3 ชุดเพื่อเปรียบเทียบระหว่าง *Sc. fibuligera* TISTR 5033, *S. cerevisiae* YRK 017 และยีสต์ผสมระหว่าง *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และ *S. cerevisiae* YRK 017 อัตราส่วน 1:1 หมักต่อเป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิห้อง เก็บตัวอย่างทุกวันเพื่อวิเคราะห์การเจริญของเชื้อยีสต์ด้วยวิธี spread plate บนอาหาร YM agar และเก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ ความเป็นกรด – ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล รวมทั้งปริมาณเอทานอล

ในวันที่ 10 เก็บของเหลวบางส่วนไปวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมตรี ของเหลวส่วนที่เหลือนำไปปั่นเหวี่ยงที่ความเร็วรอบ 3000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที นำส่วนใสมาเติมโพแทสเซียมเมตาไบซัลไฟท์ (KMS) 0.08 กรัมต่อลิตร ทิ้งไว้ 1 คืน จากนั้นนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ชิมจำนวน 20 คน โดยวิธี Hedonic scale วางแผนการทดลองแบบ CRD (Completely Randomized Design) ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New Multiple Range Test (DMRT)

3.2.6 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสของเชื้อยีสต์

นำข้าวเหนียวนึ่ง 1 กิโลกรัมที่ผ่านการหมักด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำมาฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งความดันไอน้ำที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที เป็นการหยุดปฏิกิริยาของเอนไซม์ เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเพื่อปรับค่าของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 20 องศาบริกซ์ แล้วเติมกล้าเชื้อยีสต์ที่เตรียมได้จากข้อ 3.2.4.1 โดยใช้หัวเชื้อร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร เชื้อยีสต์ที่ใช้คือ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และ *S. cerevisiae* YRK 017 หมักที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์การเจริญของเชื้อยีสต์ด้วยวิธี spread plate บนอาหาร YM agar และเก็บส่วนใสที่ได้วิเคราะห์ความเป็นกรด – ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล ปริมาณกรดอินทรีย์ รวมทั้งปริมาณเอทานอล เมื่อหมักจนกระทั่งปริมาณน้ำตาลกลูโคสหมด เก็บของเหลวบางส่วนไปวิเคราะห์สารให้กลิ่นรสด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี การทดลองขั้นตอนนี้วางแผนการทดลองแบบ factorial in CRD โดยมีจำนวนซ้ำ 3 ซ้ำ ทดสอบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยแบบ Duncan New Multiple Range Test (DMRT)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7 ศึกษาบทบาทของการใช้เชื้อยีสต์และเชื้อราร่วมกันในการผลิตสารให้กลิ่นรสของไวน์ข้าว

คัดเลือกเชื้อราที่มีความสามารถในการย่อยข้าวและผลิตสารให้กลิ่นรสได้ดี นำมาหมักข้าวเหนียวนึ่งที่ปราศจากเชื้อ 300 กรัม เป็นเวลา 3 วัน เติมน้ำกลั่นที่ปราศจากเชื้อเพื่อปรับค่าของแข็งที่ละลายได้เท่ากับ 20 องศาบริกซ์ เติมสารแขวนลอยของเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์ได้สูงและสารให้กลิ่นรสที่ดี โดยใช้เชื้อยีสต์ปริมาณร้อยละ 10 หมักต่อที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 14 วัน เก็บตัวอย่างเพื่อวิเคราะห์ความเป็นกรด – ด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล รวมทั้งปริมาณเอทานอล และในวันที่ 14 เก็บส่วนใสมาวิเคราะห์สารให้กลิ่นรส จากนั้นนำมาทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ชิมจำนวน 20 คน โดยวิธี Hedonic scale (ภาคผนวก ง)

3.3 วิธีการวิเคราะห์

3.3.1 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (ภาคผนวก ค. 1)

3.3.2 การวิเคราะห์ปริมาณแป้งที่เหลือ (กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกูล ปียะจอมขวัญ. 2543) (ภาคผนวก ค. 2)

3.3.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (Nelson. 1944) (ภาคผนวก ค. 3)

3.3.4 การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (Ramadas และคณะ.1996) โดยการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีการกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Miller. 1959) (ภาคผนวก ค. 4)

3.3.5 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล (ภาคผนวก ค. 5)

3.3.6 การวิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ (ภาคผนวก ค. 6)

3.3.7 การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล (ภาคผนวก ค. 7)

3.3.8 การวิเคราะห์ปริมาณสารให้กลิ่นรส (ภาคผนวก ค. 8)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ศึกษาการเจริญ ความสามารถในการย่อยข้าวเหนียว และการผลิตกรดอินทรีย์ของเชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า

เชื้อราที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ *Amylomyces rouxii* MNT 037 และ *Rhizopus oryzae* MNT 006 ซึ่งแยกได้จากลูกแป้งเหล้าจากการศึกษาของวิมลักษณ์ (2549) เชื้อราทั้งสองชนิดมีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งได้ดีที่สุดจากการคัดแยกเชื้อราทั้งหมด 57 ไอโซเลทที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อราทั้งสองชนิดเป็นเวลา 120 ชั่วโมง โดยวิเคราะห์ปริมาณของเชื้อรา ปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ เพื่อหาความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อราแต่ละชนิด แสดงดังตารางที่ 4.1 และ 4.2

ตารางที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อรา ปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	เชื้อ *A. rouxii* MNT 037				
	ปริมาณเชื้อ (cfu/g)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)
0	1.00×10^6	-	-	-	-
12	2.67×10^6	-	-	-	-
24	6.67×10^6	-	-	-	-
36	9.33×10^6	0.77 ± 0.03	18.78 ± 1.00	183.37 ± 7.25	34.70 ± 0.71
48	6.00×10^6	0.66 ± 0.07	19.93 ± 0.55	267.45 ± 2.98	36.70 ± 0.42
60	5.00×10^6	0.23 ± 0.12	20.30 ± 0.21	316.05 ± 5.70	36.20 ± 0.14
72	2.67×10^6	0.21 ± 0.04	20.90 ± 0.17	375.71 ± 1.64	36.90 ± 0.14
84	8.33×10^5	0.12 ± 0.03	19.66 ± 0.23	355.09 ± 5.15	36.80 ± 0.28
96	4.67×10^5	0.12 ± 0.06	19.04 ± 0.11	329.75 ± 1.85	37.20 ± 0.28
108	4.30×10^5	0.12 ± 0.04	17.88 ± 0.75	316.22 ± 4.84	36.50 ± 0.71
120	3.00×10^5	0.07 ± 0.04	16.97 ± 0.10	302.64 ± 4.99	36.50 ± 0.42

หมายเหตุ - ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

- มีน้ำเชื่อมข้าวเกิดขึ้นจนสามารถเก็บตัวอย่างได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เป็นต้นไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อรา ปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณน้ำตาลกลูโคส และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	เชื้อ *R. oryzae* MNT 006				
	ปริมาณเชื้อ (cfu/g)	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)
0	1.00×10^6	-	-	-	-
12	4.67×10^6	-	-	-	-
24	1.67×10^7	-	-	-	-
36	2.33×10^7	2.68 ± 0.45	16.86 ± 0.20	97.01 ± 2.84	33.60 ± 0.56
48	3.33×10^7	1.23 ± 0.10	18.03 ± 0.04	120.11 ± 6.53	30.50 ± 0.71
60	2.67×10^7	0.82 ± 0.25	19.72 ± 0.81	153.10 ± 4.67	32.00 ± 0.00
72	1.33×10^7	0.46 ± 0.06	19.88 ± 0.71	178.66 ± 5.18	33.30 ± 0.42
84	5.67×10^6	0.37 ± 0.16	18.95 ± 0.21	207.34 ± 7.21	33.30 ± 0.14
96	3.33×10^6	0.26 ± 0.08	18.62 ± 0.10	224.47 ± 7.82	34.00 ± 0.28
108	2.67×10^6	0.21 ± 0.01	17.04 ± 0.23	247.14 ± 4.04	34.50 ± 0.14
120	2.00×10^6	0.14 ± 0.06	16.08 ± 0.18	253.35 ± 3.04	33.30 ± 0.42

หมายเหตุ - ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ
- มีน้ำเชื่อมข้าวเกิดขึ้นจนสามารถเก็บตัวอย่างได้ตั้งแต่ชั่วโมงที่ 36 เป็นต้นไป

4.1.1 การเจริญของเชื้อรา

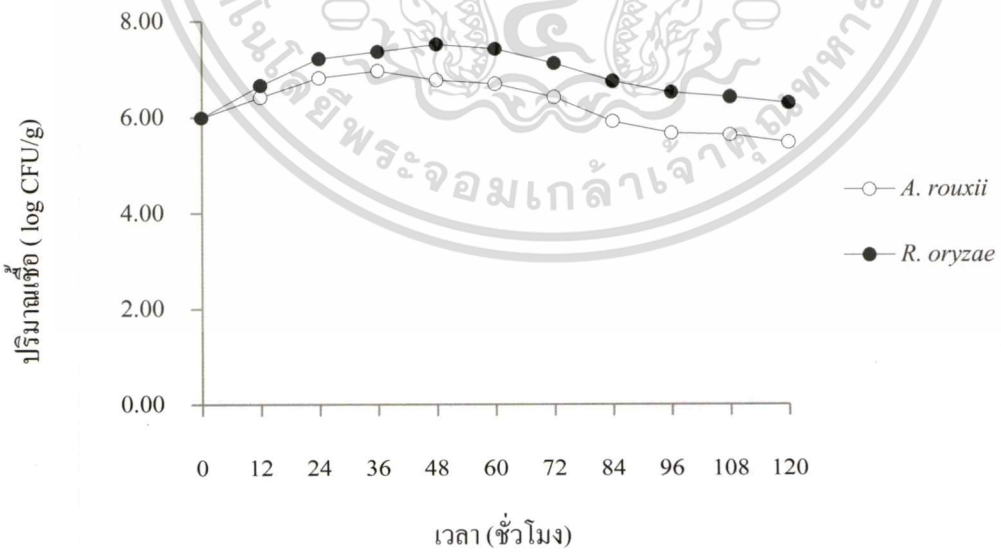
บทบาทของเชื้อราในการหมักข้าวเหนียวนึ่งคือการสร้างเอนไซม์เพื่อใช้ในการย่อยแป้งที่เป็นองค์ประกอบในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยว เมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยกลายเป็นน้ำตาลจึงไม่สามารถอุ้มน้ำเอาไว้ได้ น้ำที่มีอยู่จะซึมออกมาเป็นน้ำเชื่อมข้าว จากการทดลองหมักข้าวเหนียวนึ่งด้วยเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน เก็บตัวอย่างทุก 12 ชั่วโมง วิเคราะห์การเจริญของเชื้อราโดยวิธี spread plate บนอาหาร DRBC (Dichloran-Rose Bengal – Chloramphenical Agar) เมื่อดำเนินการหมักจนถึงชั่วโมงที่ 36 พบว่าเชื้อราเจริญเป็นเส้นใยปกคลุมบนผิวหน้าของข้าวเหนียวอย่างเห็นได้ชัด ดังรูปที่ 4.1 ส่วนน้ำเชื่อมข้าวจะเริ่มซึมออกมาเล็กน้อยในชั่วโมงที่ 24 และมีปริมาณมากขึ้นจนสามารถเก็บตัวอย่างน้ำเชื่อมข้าวไปวิเคราะห์ได้ในชั่วโมงที่ 36

เชื้อราทั้งสองสายพันธุ์มีแนวโน้มการเจริญไปในแนวทางเดียวกัน คือ เพิ่มจำนวนอย่างรวดเร็วในระยะ 48 ชั่วโมงแรกของการหมัก จากนั้นจำนวนจุลินทรีย์จะลดลง ดังแสดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในรูปที่ 4.2 เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เจริญได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 36 โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ 9.33 × 10^6 cfu ต่อกรัม หลังจากนั้นจำนวนจุลินทรีย์จะลดลงเป็น 3.00 × 10^5 cfu ต่อกรัม ในชั่วโมงที่ 120 สำหรับเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 เจริญได้สูงสุดในชั่วโมงที่ 48 โดยมีจำนวนจุลินทรีย์ 3.33 × 10^7 cfu ต่อกรัม และลดลงเป็น 2.00 × 10^6 cfu ต่อกรัม ในชั่วโมงที่ 120 ซึ่งจะเห็นว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีการเจริญมากกว่า *A. rouxii* MNT 037 ตลอดระยะเวลาของการหมัก

รูปที่ 4.1 การเจริญและการผลิตน้ำเชื่อมข้าวของเชื้อ *Amylomyces rouxii* MNT 037 (ซ้าย) และ *Rhizopus oryzae* MNT 006 (ขวา) ปกคลุมบริเวณผิวหน้าของข้าวเหนียวนึ่ง

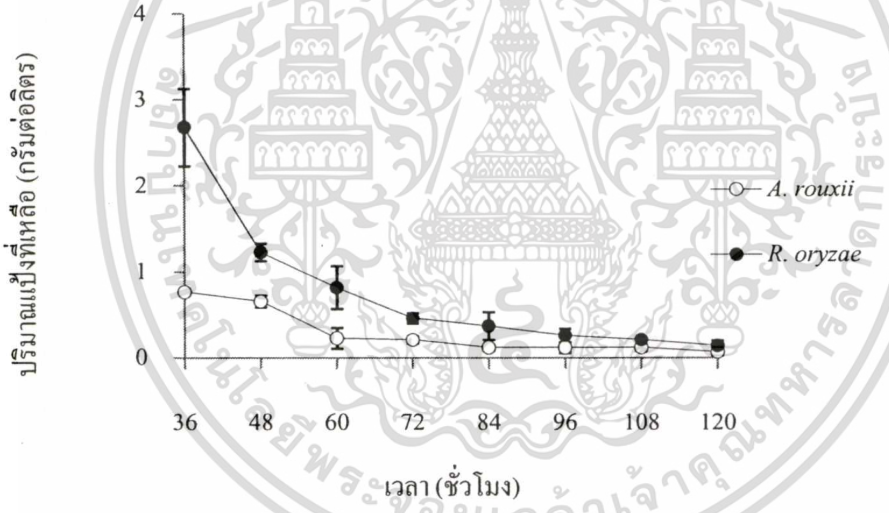


รูปที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ในระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.2 ปริมาณแป้งที่เหลือ

บทบาทของเชื้อราในการหมักข้าวเหนียวคือสร้างเอนไซม์ออกมาเพื่อย่อยแป้งในข้าวเหนียวเป็นน้ำตาล จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อราทั้งสองชนิด ปริมาณแป้งลดลงเมื่อเวลาของการหมักเพิ่มขึ้น จากรูปที่ 4.3 จะเห็นว่าชุดการทดลองของเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีปริมาณแป้งลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างชั่วโมงที่ 36 ถึง 60 จากนั้นปริมาณแป้งจึงคงที่อยู่ที่ 0.12 กรัมต่อลิตร ในชั่วโมงที่ 84 ถึง 108 และลดลงเหลือ 0.07 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการหมักในชั่วโมงที่ 120 ส่วนชุดการทดลองของเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีปริมาณแป้งลดลงอย่างรวดเร็วในระหว่างชั่วโมงที่ 36 ถึง 72 จากนั้นจึงค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งเหลือ 0.14 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการหมัก เมื่อพิจารณาปริมาณแป้งตลอดระยะเวลาในการหมัก จะเห็นว่าปริมาณแป้งของชุดการทดลองที่หมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีปริมาณแป้งน้อยกว่า *R. oryzae* MNT 006 ตลอดระยะเวลาในการหมัก ดังนั้นจะเห็นได้ว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีความสามารถในการย่อยแป้งได้ดีกว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 แต่ทั้งนี้ต้องพิจารณาถึงปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นด้วย



รูปที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้งที่เหลือจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

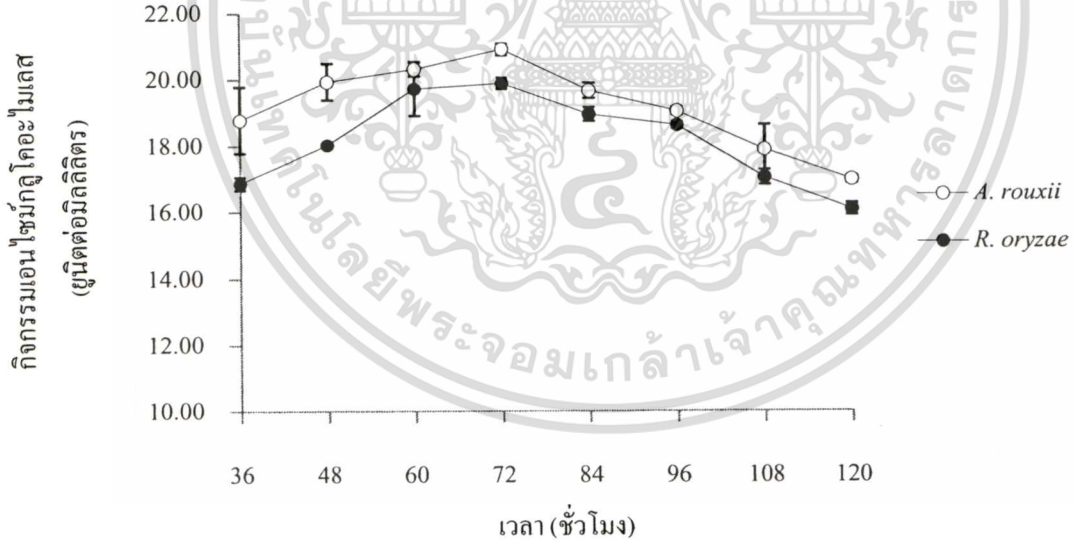
4.1.3 กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

เชื้อราที่ใช้ในการผลิตสาโทเป็นราประเภทที่สร้างเอนไซม์อะไมเลส ซึ่งประกอบด้วย แอลฟาอะไมเลส เบตาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ซึ่งส่วนใหญ่จะย่อยแป้งในเมล็ดข้าวเป็นกลูโคส นอกจากนั้นอาจจะได้มอลโตสและเด็กซ์ตริน (Crabb. 1999)

เอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่ตัดพันธะที่จับกันของกลูโคสทั้งพันธะ α-1,4 และ α-1,6 กลูโคซิดิก ซึ่งจะตัดโมเลกุลกลูโคสที่ตำแหน่งปลาย non-reducing end ของอะไมโลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และอะไมโลเพคติน ผลผลิตที่ได้จะเป็นกลูโคสเพียงอย่างเดียว กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่เชื้อราผลิตขึ้นในระหว่างการหมักข้าวเหนียว วัดได้จากการนำตัวอย่างน้ำเชื่อมข้าวผสมกับสารละลายน้ำแป้ง (soluble starch) บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 10 นาที วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่เกิดขึ้น พบว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้นจนกระทั่งสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 ดังรูปที่ 4.4 จากนั้นจึงค่อยๆ ลดลง เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจนกระทั่งสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 20.90 ยูนิตต่อมิลลิลิตร จากนั้นลดลงจนเหลือ 16.97 ยูนิตต่อมิลลิลิตรเมื่อสิ้นสุดการหมัก สำหรับเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 19.88 ยูนิตต่อมิลลิลิตร และลดลงเหลือ 16.08 ยูนิตต่อมิลลิลิตรเมื่อสิ้นสุดการหมัก เมื่อพิจารณาตลอดระยะเวลาการหมักจะพบว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสสูงกว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Dung และคณะ (2006) ที่ทำการแยกเชื้อราและยีสต์จากลูกแป้งไวน์ข้าวของเวียดนาม ซึ่งพบว่าเชื้อราในสกุล *Amylomyces* sp. มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสและความสามารถในการผลิตน้ำตาลกลูโคสสูงกว่าเชื้อราในสกุล *Rhizopus* sp.



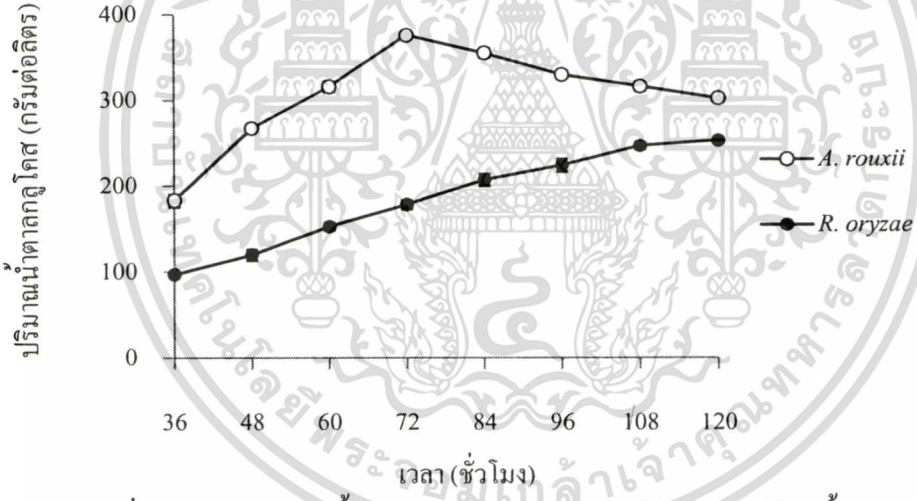
รูปที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

4.1.4 ปริมาณน้ำตาลกลูโคส

เมื่อหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วและมีปริมาณสูงสุดในชั่วโมงที่ 72 เท่ากับ 375.71 กรัมต่อลิตร ดังรูปที่ 4.5 จากนั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลดลงจนกระทั่งสิ้นสุดการหมักมีปริมาณกลูโคสเท่ากับ 302.64 กรัมต่อลิตร สำหรับการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 พบว่าให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น วัดปริมาณน้ำตาลกลูโคสได้ 253.35 กรัมต่อลิตรเมื่อสิ้นสุดการหมัก ผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของมณชัย เดชสังกรานนท์ (2546) ซึ่งพบว่าการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อรา *Amylomyces* sp. จะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเมื่อหมักข้าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลง ส่วนเชื้อรา *Rhizopus* sp. จะให้กลูโคสเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมักที่นานขึ้น และมีปริมาณต่ำกว่าการหมักด้วยเชื้อรา *Amylomyces* sp. ส่วนงานวิจัยของสิริลักษณ์ (2547) วัดปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์จากการเตรียมโคจิ *Rhizopus* sp. เป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาของการหมัก ในขณะที่การทดลองของ Dung (2006) กล่าวว่าแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลกลูโคสเมื่อหมักด้วยเชื้อรา *Amylomyces* sp. และเชื้อรา *Rhizopus* sp. จะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงสุดเมื่อหมักข้าวเป็นเวลา 72 ชั่วโมง และลดลงในชั่วโมงที่ 96 อย่างไรก็ตามจากงานวิจัยเหล่านี้พบว่าเชื้อรา *Amylomyces* sp. มีความสามารถในการผลิตน้ำตาลกลูโคสได้ดีกว่าเชื้อรา *Rhizopus* sp. ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่ได้



รูปที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

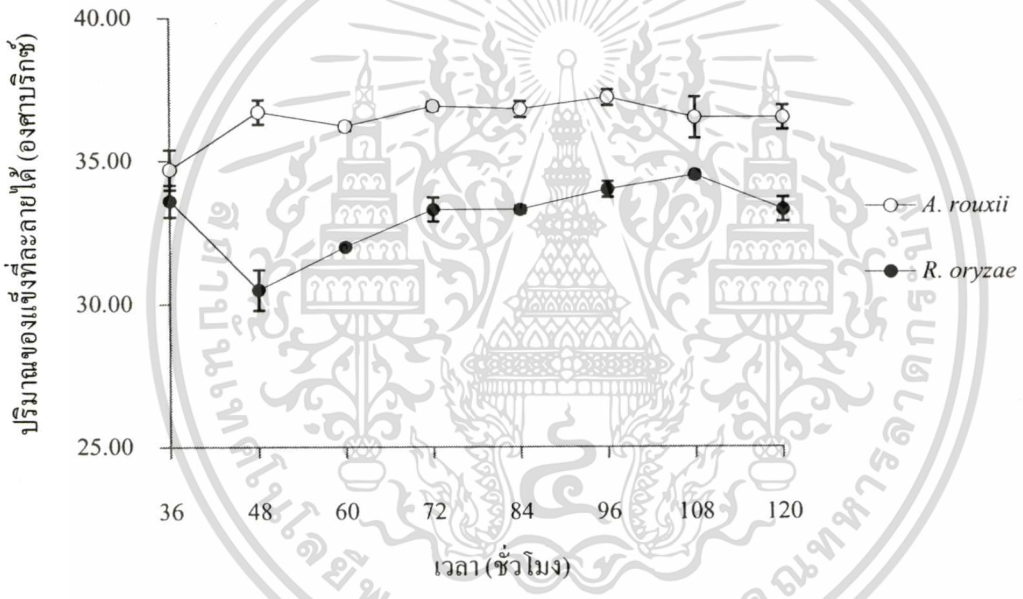
4.1.5 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้สามารถบ่งบอกปริมาณน้ำตาลอย่างคร่าวๆ ในน้ำเชื่อมข้าวได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของชุดการทดลองที่หมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีค่าสูงกว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ดังรูปที่ 4.6 ซึ่งสอดคล้องกับผลการทดลองที่พบว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 สามารถผลิตกลูโคสได้มากกว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 การหมักข้าวเหนียวด้วย เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้เพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัดระหว่างชั่วโมงที่ 72 ถึง 96

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลังจากนั้นมีค่าลดลง โดยมีค่ามากที่สุดในชั่วโมงที่ 96 เท่ากับ 37.20 องศาบริกซ์ สอดคล้องกับการทดลองของชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2520) ที่รายงานว่าการหมักข้าวด้วยเชื้อรา *Amylomyces* sp. จะให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ค่อนข้างต่ำในช่วงแรกของการหมัก และจะเพิ่มสูงขึ้นและมีค่ามากที่สุดประมาณวันที่ 3 และวันที่ 4 โดยมีค่าประมาณ 35-36 องศาบริกซ์

การหมักข้าวเหนียวของเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดต่ำลงในชั่วโมงที่ 48 หลังจากนั้นมีค่าเพิ่มขึ้นและมีค่ามากที่สุดในชั่วโมงที่ 108 เท่ากับ 34.50 องศาบริกซ์ สอดคล้องกับการทดลองของ มณชัย เดชสังกรานนท์ (2546) ที่รายงานว่าการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อรา *Rhizopus* sp. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าสูงในชั่วโมงที่ 24 และลดลงมากในชั่วโมงที่ 48 สำหรับการเปลี่ยนแปลงจากชั่วโมงที่ 48 ถึง 96 นั้นเพิ่มขึ้นอย่างเห็นได้ชัด



รูปที่ 4.6 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

4.1.6 ค่าพีเอชและปริมาณกรดอินทรีย์

วิเคราะห์ค่าพีเอชของน้ำเชื่อมข้าวที่เกิดขึ้นโดยใช้เครื่องวัดพีเอช จากรูปที่ 4.7 ค่าพีเอชในน้ำเชื่อมข้าวจากการหมักด้วยเชื้อราทั้งสองชนิดมีค่าลดลงเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ค่าพีเอชจะลดลงอย่างรวดเร็วในชั่วโมงที่ 36-48 หลังจากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ น้ำเชื่อมข้าวจากการหมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีค่าพีเอชต่ำกว่าการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เมื่อหมักเป็นเวลา 120 ชั่วโมง มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.31 สำหรับการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ให้น้ำเชื่อมข้าวที่มีค่าพีเอชเท่ากับ 3.60 อาจเนื่องมาจากเชื้อ *R.oryzae* MNT 006 สามารถผลิต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กรดอินทรีย์ได้ดีโดยเฉพาะกรดแลคติก ทำให้น้ำเชื่อมข้าวมีค่าพีเอชต่ำและมีรสชาติค่อนข้างเปรี้ยว ถ้าเปรียบเทียบกับเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ซึ่งมีค่าพีเอชสูงกว่าและมีความเปรี้ยวเล็กน้อย ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ 4.4

เชื้อราสามารถผลิตกรดอินทรีย์ได้หลายชนิดโดยผ่านวัฏจักรกรดไตรคาร์บอกซิลิก (TCA cycle) (Deacon. 2006) โดยพบว่ากรดอินทรีย์ที่ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตได้ ได้แก่ กรดมาลิก กรดแลคติก กรดอะซีติก กรดซัคซินิก กรดฟูมาริก และกรดซิตริก (Archer และคณะ. 2008 , Oda และคณะ. 2003, Magnuson และ Lasure. 2004) ในการทดลองนี้จึงได้วิเคราะห์กรดเหล่านี้ จากการทดลองพบกรดอินทรีย์ 4 ชนิดที่เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตได้เหมือนกัน ได้แก่ กรดซิตริก กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดฟูมาริก ดังแสดงในตารางที่ 4.3 และ 4.4

เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่ากรดชนิดอื่น รองลงมาคือ กรดมาลิก กรดซิตริก และกรดฟูมาริก ตามลำดับ สำหรับเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีความสามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงสุด รองลงมาคือ กรดซิตริก กรดมาลิก และกรดฟูมาริก ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดที่เชื้อราทั้งสองชนิดผลิตได้ พบว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตกรดซิตริก กรดแลคติก และกรดฟูมาริกได้มากกว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ดังแสดงในรูปที่ 4.8

กรดแลคติกเป็นกรดที่มีบทบาทสำคัญ เนื่องจากเป็นกรดที่เชื้อราทั้งสองชนิดผลิตได้มากที่สุด เมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้นปริมาณกรดแลคติกจะเพิ่มขึ้นด้วย โดยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตกรดแลคติกได้มากกว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ทำให้ค่าพีเอชในน้ำเชื่อมข้าวจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีค่าน้อยกว่าการหมักด้วย *A. rouxii* MNT 037 ซึ่งส่งผลต่อรสชาติของข้าวหมัก น้ำเชื่อมข้าวจากการหมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 จึงมีรสชาติค่อนข้างเปรี้ยว ซึ่งถ้าหากมีรสชาติเปรี้ยวเกินไปอาจทำให้ไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค สำหรับเชื้อ *R. oryzae* สามารถแบ่งออกเป็น 2 กลุ่ม ตามความสามารถในการผลิตกรดได้แก่ 1) กลุ่มที่ผลิตกรดแลคติกและ 2) กลุ่มที่ผลิตกรดฟูมาริกและกรดมาลิก (Oda และคณะ. 2003) ดังนั้นเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ที่ใช้ในการทดลองนี้จึงจัดอยู่ในกลุ่มของเชื้อราที่มีความสามารถในการผลิตกรดแลคติก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณของกรดอินทรีย์ที่เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ผลิตได้ระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 วัน

เวลา (ชั่วโมง)	ค่าพีเอช	ชนิดและความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
		กรดซิตริก	กรดมาลิก	กรดแลคติก	กรดฟูมาริก
36	4.35 ± 0.05	68.34 ± 4.00	440.66 ± 7.09	1484.44 ± 13.95	21.86 ± 2.73
48	3.99 ± 0.04	75.57 ± 6.97	457.86 ± 8.17	1732.40 ± 21.15	22.61 ± 3.78
60	3.80 ± 0.03	76.86 ± 3.49	468.45 ± 5.78	2022.30 ±118.14	24.86 ± 3.35
72	3.83 ± 0.03	79.63 ± 3.64	498.29 ± 6.94	2491.56 ± 32.06	27.28 ± 2.91
84	3.79 ± 0.03	84.97 ± 5.79	512.88 ± 7.72	2871.74 ± 51.73	31.63 ± 1.36
96	3.74 ± 0.05	93.39 ± 6.67	552.83 ± 11.30	3306.34 ± 68.71	30.40 ± 2.38
108	3.72 ± 0.05	103.21 ± 2.83	660.78 ± 13.66	3685.99 ± 76.04	29.59 ± 2.31
120	3.60 ± 0.02	109.89 ± 3.14	650.34 ± 16.65	4040.75 ± 135.68	26.61 ± 1.36

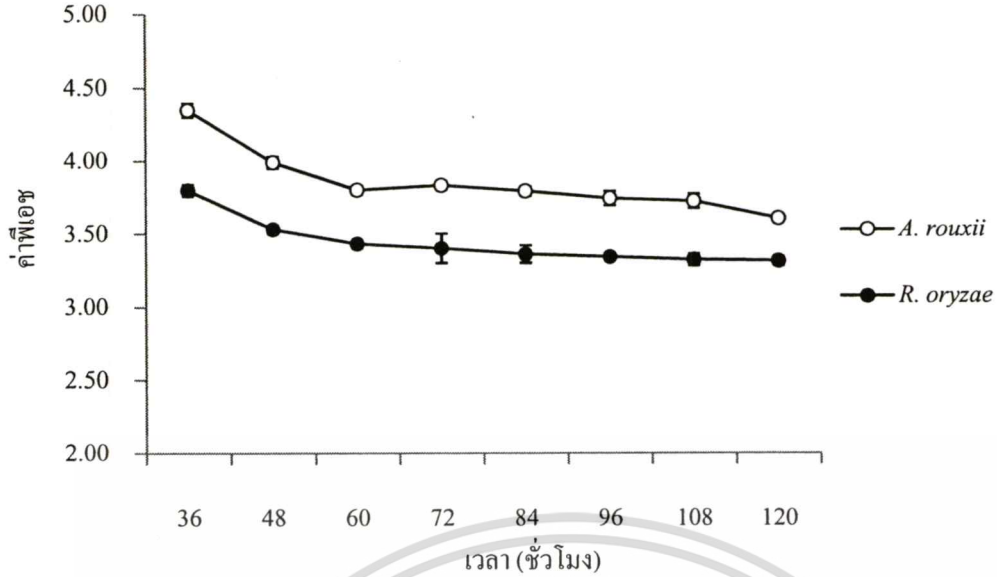
หมายเหตุ - ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

ตารางที่ 4.4 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชและปริมาณของกรดอินทรีย์ที่เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ผลิตได้ระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 วัน

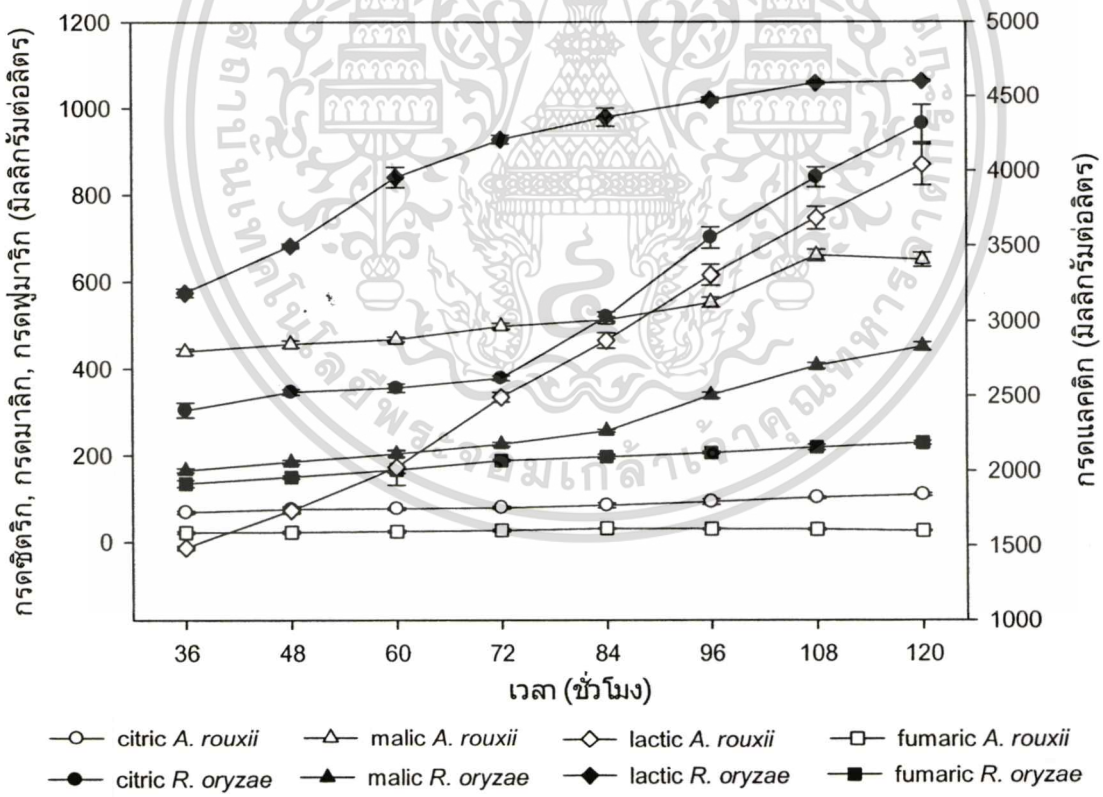
เวลา (ชั่วโมง)	ค่าพีเอช	ชนิดและความเข้มข้นของกรดอินทรีย์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
		กรดซิตริก	กรดมาลิก	กรดแลคติก	กรดฟูมาริก
36	3.80 ± 0.04	304.77 ± 17.31	165.78 ± 4.96	3187.80 ± 28.29	135.32 ± 7.88
48	3.53 ± 0.03	346.55 ± 6.71	185.04 ± 4.41	3499.36 ± 17.32	150.47 ± 3.84
60	3.43 ± 0.03	355.88 ± 9.80	203.90 ± 7.24	3958.01 ± 68.25	167.12 ± 7.17
72	3.40 ± 0.10	378.78 ± 5.43	226.40 ± 4.65	4210.60 ± 29.19	188.49 ± 2.32
84	3.36 ± 0.06	520.57 ± 10.42	256.99 ± 3.40	4360.67 ± 61.13	197.31 ± 5.62
96	3.34 ± 0.02	701.17 ± 24.80	338.93 ± 6.77	4474.89 ± 21.19	206.19 ± 3.50
108	3.32 ± 0.04	840.65 ± 22.80	407.87 ± 6.74	4588.56 ± 11.63	219.26 ± 6.44
120	3.31 ± 0.03	964.08 ± 43.33	451.95 ± 9.75	4602.11 ± 7.77	229.45 ± 4.77

หมายเหตุ - ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง



รูปที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอินทรีย์จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.1.7 กลีเซอรอล

เชื้อราผลิตกลีเซอรอลเพื่อเปลี่ยนเป็นไขมัน (Deacon. 2006) กลีเซอรอลเป็นพอลิออล (polyol) ที่ไม่มีสี กลิ่น และมีความหนืดสูง มีรสชาติหวานเล็กน้อย ทำให้เกิดกลิ่นรสหวานคล้ายกลูโคส แต่ในทางปฏิบัติพบว่ากลีเซอรอลที่พบในไวน์ให้ความหวานน้อยมาก ถึงแม้ว่ากลีเซอรอลจะไม่ส่งผลต่อกลิ่นรสของไวน์โดยตรง แต่อาจส่งผลได้โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกลีเซอรอลและลักษณะของไวน์ เช่น ในไวน์ขาวพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของกลีเซอรอลที่มนุษย์สามารถรับรู้ได้มีค่าเท่ากับ 5.2 กรัมต่อลิตร (Šehovic และคณะ. 2004)

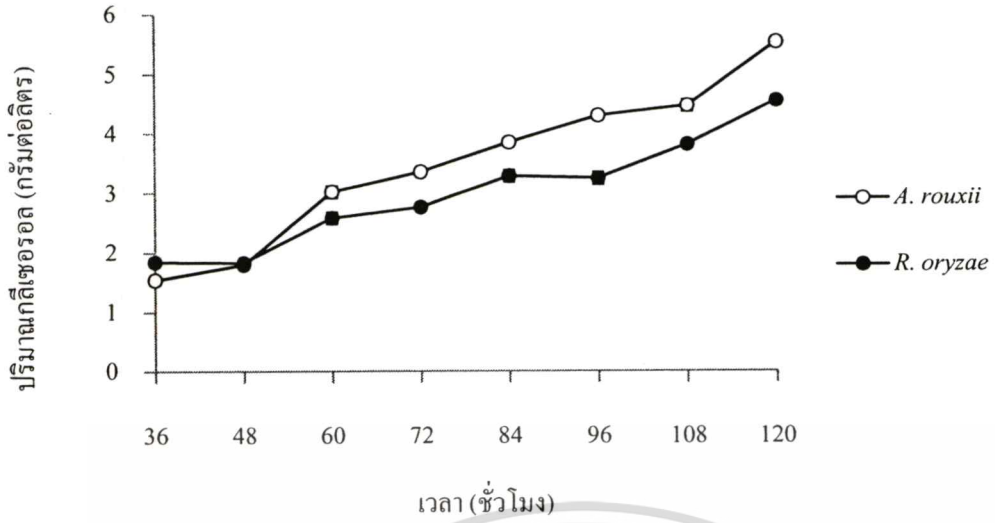
ปริมาณกลีเซอรอลที่เชื้อราทั้งสองชนิดผลิตได้ระหว่างการหมักข้าวเหนียวแสดงดังตารางที่ 4.5 เชื้อราทั้งสองชนิดผลิต กลีเซอรอลเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น โดยพบว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 สามารถผลิตกลีเซอรอลได้มากกว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 เมื่อหมักเป็นเวลา 120 ชั่วโมง พบว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ผลิตกลีเซอรอลเท่ากับ 5.51 กรัมต่อลิตร สำหรับเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ผลิตได้ 4.54 กรัมต่อลิตร

ตารางที่ 4.5 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลระหว่างการหมักข้าวด้วยเหนียวเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	ความเข้มข้นของกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	
	A. rouxii MNT 037	*R. oryzae* MNT 006
36	1.54 ± 0.05	1.84 ± 0.05
48	1.79 ± 0.04	1.83 ± 0.03
60	3.02 ± 0.10	2.58 ± 0.10
72	3.35 ± 0.03	2.76 ± 0.07
84	3.84 ± 0.03	3.28 ± 0.10
96	4.29 ± 0.04	3.24 ± 0.10
108	4.46 ± 0.10	3.80 ± 0.05
120	5.51 ± 0.06	4.54 ± 0.06

หมายเหตุ - ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.9 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

4.2 เปรียบเทียบการใช้เชื้อราและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว

4.2.1 ปริมาณและความเข้มข้นที่เหมาะสมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวเหนียว

จากการนำข้าวเหนียวนึ่ง 50 กรัม ใส่ในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำสะอาด 5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อโดยใช้หม้อนึ่งความดันไอน้ำที่ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นนำมาเติมสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (59.9 ยูนิตต่อมิลลิกรัม, Sigma Aldrich) ที่ละลายในอะซีเตทบัฟเฟอร์ 0.02 โมลาร์ พีเอช 5 ความเข้มข้นต่างๆ ดังนี้ 50 100 150 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยแต่ละความเข้มข้นแปรผันปริมาณเอนไซม์ ดังนี้ 20 30 และ 40 ร้อยละโดยปริมาตรของน้ำหนักข้าวเหนียว บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง จากนั้นนำข้าวเหนียวที่ผ่านการย่อยมาวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ผลการทดลองพบว่าเมื่อใช้ความเข้มข้นของสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพิ่มขึ้นมีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นตามไปด้วย ขณะที่การใช้ปริมาณเอนไซม์เพิ่มขึ้นมีผลทำให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสน้อยลง อย่างไรก็ตามการใช้ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 20 ของน้ำหนักข้าว ถึงแม้จะให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสสูงที่สุดแต่น้ำเชื่อมข้าวมีปริมาณน้อยและมีลักษณะหนืดมาก ในขณะที่การใช้ปริมาณเอนไซม์ร้อยละ 30 และ 40 ของน้ำหนักข้าว ให้ปริมาณน้ำตาลน้อยกว่าแต่น้ำเชื่อมข้าวมีลักษณะใสและมีปริมาณมากกว่า

เมื่อใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ในปริมาณร้อยละ 20 ของน้ำหนักข้าว สามารถให้ปริมาณกลูโคส 233.67 และ 235.47 กรัมต่อลิตรตามลำดับ แต่น้ำเชื่อมข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความหนืดมากและมีปริมาณน้อยมาก ขณะที่การใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตรในปริมาณร้อยละ 30 ของน้ำหนักข้าวให้ปริมาณกลูโคส 230.51 และ 230.75 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ น้ำเชื่อมข้าวที่ได้มีลักษณะใสและไม่มีความหนืด สำหรับการใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตรในปริมาณร้อยละ 40 พบว่าให้ปริมาณกลูโคสน้อยลง จากการวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การใช้เอนไซม์ความเข้มข้น 200 และ 250 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณร้อยละ 30 ให้ปริมาณกลูโคสไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ดังนั้นจึงเลือกใช้เอนไซม์ที่ความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณร้อยละ 30 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักข้าวเหนียว มาใช้ในการศึกษาหัวข้อต่อไป

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้เมื่อใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสในความเข้มข้นและปริมาณที่แตกต่างกัน ในการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 72 ชั่วโมง

ชุดการทดลอง		ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	ความเข้มข้นกลูโคส (กรัมต่อลิตร)
ความเข้มข้น (พีพีเอ็ม)	ปริมาณเอนไซม์ (ร้อยละโดยปริมาตรต่อน้ำหนักข้าวเหนียว)		
50	20	$43.00^{a} \pm 1.00$	$60.09^{k} \pm 2.79$
	30	$33.00^{d} \pm 0.50$	$54.65^{l} \pm 3.25$
	40	$31.00^{e} \pm 2.00$	$45.98^{m} \pm 5.17$
100	20	$32.00^{de} \pm 1.00$	$132.83^{h} \pm 6.97$
	30	$32.00^{d} \pm 0.87$	$125.00^{i} \pm 2.52$
	40	$31.0^{e} \pm 0.50$	$119.23^{j} \pm 2.66$
150	20	$36.00^{c} \pm 0.20$	$221.63^{d} \pm 2.52$
	30	$36.00^{c} \pm 0.50$	$215.43^{f} \pm 4.51$
	40	$32.30^{de} \pm 0.76$	$206.91^{g} \pm 5.58$
200	20	$33.80^{d} \pm 0.29$	$233.67^{b} \pm 5.09$
	30	$36.00^{c} \pm 0.35$	$230.51^{c} \pm 5.68$
	40	$32.00^{de} \pm 0.35$	$215.23^{f} \pm 4.35$
250	20	$38.00^{b} \pm 0.44$	$235.47^{a} \pm 3.30$
	30	$37.00^{bc} \pm 0.20$	$230.75^{c} \pm 3.44$
	40	$33.00^{de} \pm 0.40$	$217.27^{e} \pm 5.60$

หมายเหตุ เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกันแสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.2.2 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

จากการใช้สารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่มีความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ปริมาณร้อยละ 30 โดยปริมาตรของน้ำหนักข้าวเหนียว ย่อยข้าวเหนียวโดยบ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช กรดอินทรีย์ที่ผลิตได้และกลีเซอรอล ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.7

ตารางที่ 4.7 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และค่าพีเอช กรดอินทรีย์และกลีเซอรอล โดยใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง

เวลา (ชั่วโมง)	การใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส						
	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	พีเอช	กรดอินทรีย์ (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)
0	-	-	-	-	-	-	-
12	-	-	-	-	-	-	-
24	-	-	-	-	-	-	-
36	8.95 ± 0.13	21.43 ± 1.75	148.09 ± 3.13	31.80 ± 0.31	5.22 ± 0.02	-	-
48	7.54 ± 0.11	21.95 ± 0.07	166.03 ± 5.61	33.30 ± 0.51	5.23 ± 0.02	-	-
60	5.88 ± 0.17	22.07 ± 1.02	173.20 ± 2.55	34.70 ± 0.40	5.23 ± 0.01	-	-
72	4.94 ± 0.08	21.95 ± 0.07	180.22 ± 3.11	35.50 ± 0.60	5.22 ± 0.01	-	-
84	3.52 ± 0.10	21.12 ± 0.25	195.45 ± 3.75	35.80 ± 0.75	5.21 ± 0.01	-	-
96	2.57 ± 0.11	20.76 ± 0.35	208.19 ± 3.95	36.00 ± 0.40	5.22 ± 0.02	-	-
108	2.33 ± 0.08	19.89 ± 0.30	213.28 ± 4.21	35.80 ± 0.72	5.19 ± 0.01	-	-
120	1.90 ± 0.14	19.75 ± 0.35	222.05 ± 6.86	36.00 ± 0.65	5.17 ± 0.02	-	-

- หมายถึง ตรวจไม่พบ
- ข้อมูลในตารางแสดงค่าเฉลี่ยและส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐานจากการทดลองจำนวน 3 ซ้ำ

จากการทดลองพบว่าปริมาณแป้งจะลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยมีปริมาณแป้ง 1.90 กรัมต่อลิตรที่เวลา 120 ชั่วโมงของการย่อย สำหรับปริมาณกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำเชื่อมข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์จะมีปริมาณเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาในการย่อย โดยพบว่ามีปริมาณกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 222.05 กรัมต่อลิตร และ 36.00 องศาบริกซ์ ตามลำดับในชั่วโมงที่ 120 ของการย่อย สำหรับกิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสพบว่าในระหว่าง 36-84 ชั่วโมงของการย่อยข้าวเหนียวด้วยสารละลายเอนไซม์ จะมีกิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสอยู่ในช่วง 21.12 – 22.07 ยูนิตต่อมิลลิลิตร หลังจากนั้นกิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสจะลดลง การเปลี่ยนแปลงของค่าพีเอชของน้ำเชื่อมข้าวระหว่างการย่อยข้าวเหนียวพบว่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าพีเอชจะลดลงเรื่อยๆ ตลอดระยะเวลาการย่อย โดยพบว่าน้ำเชื่อมข้าวมีพีเอช 5.17 ในชั่วโมงที่ 120 ของการย่อย แสดงดังตารางที่ 4.7 และเมื่อนำข้าวเหนียวที่ผ่านการย่อยด้วยเอนไซม์มาวิเคราะห์กรดอินทรีย์และกลีเซอรอล พบว่าในระหว่างการย่อยข้าวเหนียวด้วยสารละลายเอนไซม์กลูโคอะไมเลสไม่พบการผลิตกรดอินทรีย์และกลีเซอรอลตลอดระยะเวลาการย่อย

4.2.3 เปรียบเทียบความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวโดยใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 กับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

จากการนำเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 หมักข้าวเหนียวเป็นเวลา 120 ชั่วโมงที่อุณหภูมิห้อง เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 200 พีพีเอ็ม ปริมาณร้อยละ 30 โดยปริมาตรของน้ำหนักข้าวเหนียว บ่มที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 120 ชั่วโมง วิเคราะห์ค่าต่างๆ เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อราทั้งสองชนิดแสดงผลดังตารางที่ 4.8

ตารางที่ 4.8 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และค่าพีเอช โดยใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 รวมทั้งเอนไซม์กลูโคอะไมเลส หมักและย่อยข้าวเหนียวเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

	เวลา (ชั่วโมง)	ชุดการทดลองของการหมักข้าวเหนียว		
		เอนไซม์กลูโคอะไมเลส	*A. rouxii* MNT 037	*R. oryzae* MNT 006
ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	36	8.95 ± 0.13	0.77 ± 0.03	2.68 ± 0.45
	48	7.54 ± 0.11	0.66 ± 0.07	1.23 ± 0.10
	60	5.88 ± 0.17	0.23 ± 0.12	0.82 ± 0.25
	72	4.94 ± 0.08	0.21 ± 0.04	0.46 ± 0.06
	84	3.52 ± 0.10	0.12 ± 0.03	0.37 ± 0.16
	96	2.57 ± 0.11	0.12 ± 0.06	0.26 ± 0.08
	108	2.33 ± 0.08	0.12 ± 0.04	0.21 ± 0.01
	120	1.90 ± 0.14	0.07 ± 0.04	0.14 ± 0.06
กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส (ยูนิตต่อมิลลิลิตร)	36	21.43 ± 1.75	18.78 ± 1.00	16.86 ± 0.20
	48	21.95 ± 0.07	19.93 ± 0.55	18.03 ± 0.04
	60	22.07 ± 1.02	20.30 ± 0.21	19.72 ± 1.81
	72	21.95 ± 0.07	20.90 ± 0.17	19.88 ± 0.71
	84	21.12 ± 0.25	19.66 ± 1.23	18.95 ± 0.21
	96	20.76 ± 0.35	19.04 ± 1.11	18.62 ± 0.10
	108	19.89 ± 0.30	17.88 ± 1.75	17.04 ± 0.23
	120	19.75 ± 0.35	16.97 ± 0.10	16.08 ± 0.18

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.8 (ต่อ) การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ปริมาณกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และค่าพีเอช โดยใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 รวมทั้งเอนไซม์กลูโคอะไมเลส หมักและย่อยข้าวเหนียวเป็นเวลา 120 ชั่วโมง

	เวลา (ชั่วโมง)	ชุดการทดลองของการหมักข้าวเหนียว		
		เอนไซม์กลูโคอะไมเลส	*A. rouxii* MNT 037	*R. oryzae* MNT 006
ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	36	148.09 ± 3.13	183.37 ± 7.25	97.01 ± 2.84
	48	166.03 ± 5.61	267.45 ± 2.98	120.11 ± 6.53
	60	173.20 ± 2.55	316.05 ± 5.70	153.10 ± 4.67
	72	180.22 ± 3.11	375.71 ± 1.64	178.66 ± 5.18
	84	195.45 ± 3.75	355.09 ± 5.15	207.34 ± 7.21
	96	208.19 ± 3.95	329.75 ± 1.85	224.47 ± 7.82
	108	213.28 ± 4.21	316.22 ± 4.84	247.14 ± 4.04
	120	222.05 ± 6.86	302.64 ± 4.99	253.35 ± 3.04
ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	36	31.80 ± 0.31	34.70 ± 0.71	33.60 ± 0.56
	48	33.30 ± 0.51	36.70 ± 0.42	30.50 ± 0.71
	60	34.70 ± 0.40	36.20 ± 0.14	32.00 ± 0.00
	72	35.50 ± 0.60	36.90 ± 0.14	33.30 ± 0.42
	84	35.80 ± 0.75	36.80 ± 0.28	33.30 ± 0.14
	96	36.00 ± 0.40	37.20 ± 0.28	34.00 ± 0.28
	108	35.80 ± 0.72	36.50 ± 0.71	34.50 ± 0.14
	120	36.00 ± 0.65	36.50 ± 0.42	33.30 ± 0.42
ค่าพีเอช	36	5.22 ± 0.02	4.35 ± 0.05	3.80 ± 0.04
	48	5.23 ± 0.02	3.99 ± 0.04	3.53 ± 0.03
	60	5.23 ± 0.01	3.80 ± 0.03	3.43 ± 0.03
	72	5.22 ± 0.01	3.83 ± 0.03	3.40 ± 0.10
	84	5.21 ± 0.01	3.79 ± 0.03	3.36 ± 0.06
	96	5.22 ± 0.02	3.74 ± 0.05	3.34 ± 0.02
	108	5.19 ± 0.01	3.72 ± 0.05	3.32 ± 0.04
	120	5.17 ± 0.02	3.60 ± 0.02	3.31 ± 0.03

จากการทดลองพบว่า การย่อยข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส มีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสค่อนข้างคงที่ในช่วงชั่วโมงที่ 36-84 หลังจากชั่วโมงที่ 96 กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลสลดลงเล็กน้อย ปริมาณแป้งที่เหลือในน้ำเชื่อมข้าวมีมากกว่าการใช้เชื้อราทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สองชนิดหมักข้าว และมีปริมาณกลูโคสน้อยกว่าการใช้เชื้อราทั้งสองชนิดหมักข้าวเหนียว เนื่องจากในเชื้อรามีเอนไซม์ทั้งแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส กลูโคอะไมเลสจะตัดโมเลกุลกลูโคสที่ตำแหน่งปลายของอะไมโลสและอะไมโลเพคตินทำให้ได้กลูโคสอย่างเดียว ส่วนแอลฟาอะไมเลสจะไปตัดพันธะระหว่างโมเลกุลกลูโคสภายในส่วนของอะไมโลสและอะไมโลเพคติน จึงการเพิ่มปลาย non-reducing end ทำให้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสมีโอกาสทำงานมากขึ้นและทำให้การผลิตกลูโคสมีมากขึ้นด้วย ดังนั้นการใช้เชื้อราในการย่อยข้าวเหนียวจึงมีประสิทธิภาพสูงกว่าการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสเพียงอย่างเดียว

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีค่าสูงสุดเมื่อใช้เชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 หมักข้าวเหนียว รองลงมาคือ การใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส และเชื้อรา *R. oryzae* MNT 006 ตามลำดับ อย่างไรก็ตามปริมาณของแข็งที่ละลายได้ไม่สามารถบ่งบอกความสามารถในการหมักข้าวเหนียวได้อย่างชัดเจน การวัดปริมาณแป้งและปริมาณกลูโคสที่เกิดขึ้นจะให้ผลที่ถูกต้องกว่า

ค่าพีเอชของน้ำเชื่อมข้าวจากการใช้เอนไซม์หมักข้าวมีการเปลี่ยนแปลงไม่มาก ค่าพีเอชอยู่ในช่วง 5.22 - 5.17 เมื่อวัดการผลิตกรดอินทรีย์พบว่าไม่การผลิตกรดอินทรีย์ชนิดใดเลยตลอดระยะเวลาการหมัก และพบว่าไม่มีการผลิตกลีเซอรอลตลอดระยะเวลาของการหมักเช่นกัน

4.3 ศึกษาบทบาทของเชื้อราต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก

จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 เป็นเวลา 3 วันที่อุณหภูมิห้อง และการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน นำน้ำเชื่อมข้าวที่ได้มาทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 20 คน ผลการทดลองพบว่าสีของน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อราทั้งสองชนิดและน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์มีคะแนนทางด้านสีใกล้เคียงกัน และไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 คะแนนทางด้านกลิ่นพบว่าน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีคะแนนด้านกลิ่นสูงกว่าการใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และการใช้เอนไซม์ คะแนนทางด้านรสชาติพบว่าการใช้ *A. rouxii* MNT 037 ให้น้ำเชื่อมข้าวที่มีคะแนนทางด้านรสชาติดีที่สุด รองลงมาเป็นการใช้เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 การใช้เอนไซม์จะให้น้ำเชื่อมข้าวที่มีรสชาติต่ำสุด คะแนนในด้านลักษณะปรากฏพบว่าการใช้เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ให้น้ำเชื่อมข้าวที่มีคะแนนในด้านลักษณะปรากฏสูงสุด รองลงมาเป็นการใช้ *A. rouxii* MNT 037 และการใช้เอนไซม์ สำหรับคะแนนลักษณะโดยรวมของน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการใช้ *A. rouxii* MNT 037 จะมีค่าสูงสุด รองลงมาเป็นการใช้เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 และการใช้เอนไซม์ จะเห็นได้ว่าการใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ให้น้ำเชื่อมข้าวที่มีคะแนนด้านรสชาติและลักษณะโดยรวมสูงกว่าการใช้ *R. oryzae* MNT 006 ขณะที่ *R. oryzae* MNT 006 ให้คะแนนด้านกลิ่นและลักษณะปรากฏสูงสุด แต่เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติ การใช้เชื้อทั้งสองชนิดหมักข้าวเหนียวจะให้สี กลิ่น รสชาติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลักษณะปรากฏ และคุณลักษณะโดยรวมไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$) แต่จะแตกต่างทางสถิติกับน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส แสดงดังตารางที่ 4.9

ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำเชื่อมข้าวจากการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 สอดคล้องกับการทดลองของ รพีภัทร อุพร และคณะ (2547) ซึ่งทดสอบการประเมินทางประสาทสัมผัสของข้าวหมากที่หมักโดยลูกแป้งข้าวหมาก เปรียบเทียบกับการหมักโดยเชื้อบริสุทธ์ ได้แก่ *A. rouxii* RS101 , *A. rouxii* RS101 ผสมกับ *Sc. fibuligera* และเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้ง ได้แก่ *R. oryzae* พบว่าข้าวหมากจากการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* มีคะแนนทางประสาทสัมผัสด้านสี และรสชาติสูงกว่าข้าวหมากที่หมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* ขณะที่ข้าวหมากที่หมักด้วยเชื้อ *R. oryzae* มีคะแนนทางด้านกลิ่น เนื้อสัมผัส และความชอบรวมสูงกว่าข้าวหมากที่หมักด้วยเชื้อ *A. rouxii*

ตารางที่ 4.9 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 รวมทั้งน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

น้ำเชื่อมข้าวจากการหมักข้าวเหนียว	สี (ns)	กลิ่น	รสชาติ	ลักษณะปรากฏ	คุณลักษณะโดยรวม
A. rouxii MNT 037	6.90 ± 0.88	$6.40^{a} \pm 0.70$	$6.80^{a} \pm 0.63$	$6.30^{a} \pm 0.67$	$6.70^{a} \pm 0.67$
R. oryzae MNT 006	6.90 ± 0.99	$6.75^{a} \pm 0.75$	$6.65^{a} \pm 0.63$	$6.45^{a} \pm 0.69$	$6.55^{a} \pm 0.82$
เอนไซม์กลูโคอะไมเลส	6.50 ± 0.85	$5.40^{b} \pm 0.70$	$5.05^{b} \pm 0.85$	$5.15^{b} \pm 0.72$	$5.45^{b} \pm 0.53$

หมายเหตุ เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกันแสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

เมื่อนำน้ำเชื่อมข้าวจากการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 และ *R. oryzae* MNT 006 รวมทั้งน้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการย่อยด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสมาวิเคราะห์สารระเหยด้วยเครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี สารระเหยชนิดสำคัญที่พบเป็นส่วนใหญ่ในไวน์ข้าวได้แก่ เอทิลอะซีเตท โพรพานอล ไอโซบิวทานอล ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ และไอโซเอมิลอะซีเตท (Sujaya และคณะ. 2000) สารระเหยเหล่านี้มีผลต่อกลิ่นของน้ำเชื่อมข้าว ดังนั้นจึงวิเคราะห์สารระเหยทั้ง 5 ชนิดนี้ โดยใช้เทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟี ปริมาณของสารระเหยที่พบแสดงดังตารางที่ 4.10

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.10 สารระเหยหลักและองค์ประกอบอื่นๆ ในน้ำเชื่อมข้าวจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 *R. oryzae* MNT 006 และเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เป็นเวลา 3 วัน

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
สารประกอบ	*A. rouxii* MNT 037	*R. oryzae* MNT 006	เอนไซม์กลูโคอะไมเลส
<u>เอสเทอร์</u>			
เอทิลอะซีเตท	$0.13^{b} \pm 0.02$	$0.36^{a} \pm 0.03$	$0.00^{c} \pm 0.00$
ไอโซเอมิลอะซีเตท	$0.04^{a} \pm 0.01$	$0.00^{b} \pm 0.00$	$0.00^{b} \pm 0.00$
รวม	**0.17**	**0.36**	0.00
<u>ฟูเซลออยล์</u>			
โพรพานอล	$3.59^{b} \pm 0.03$	$5.19^{a} \pm 0.07$	$0.00^{c} \pm 0.00$
ไอโซบิวทานอล	$9.44^{b} \pm 0.04$	$13.72^{a} \pm 0.12$	$0.00^{c} \pm 0.00$
ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์	$20.02^{b} \pm 0.10$	$39.26^{a} \pm 0.06$	$0.00^{c} \pm 0.00$
รวม	**33.05**	**58.17**	**0.00**
<u>กรด</u>			
กรดซิตริก	$79.63^{b} \pm 3.64$	$378.78^{a} \pm 5.43$	$0.00^{c} \pm 0.00$
กรดแลคติก	$2491.56^{b} \pm 32.06$	$4210.60^{a} \pm 29.19$	$0.00^{c} \pm 0.00$
กรดมาลิก	$498.29^{a} \pm 6.94$	$226.40^{b} \pm 4.65$	$0.00^{c} \pm 0.00$
กรดฟูมาริก	$27.28^{b} \pm 2.91$	$188.49^{a} \pm 2.32$	$0.00^{c} \pm 0.00$
รวม	**3096.76**	**5004.27**	**0.00**
กลูโคส*	$375.71^{a} \pm 1.64$	$178.66^{c} \pm 5.18$	$180.22^{b} \pm 3.11$
กลีเซอรอล*	$3.35^{a} \pm 0.03$	$2.76^{b} \pm 0.07$	$0.00^{c} \pm 0.00$

หมายเหตุ เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกันแสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

* หมายถึง กรัมต่อลิตร

เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 สามารถผลิตสารระเหยได้แก่ ได้แก่ เอทิลอะซีเตท โพรพานอล ไอโซบิวทานอล ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ และไอโซเอมิลอะซีเตท สำหรับเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตสารระเหยชนิดเดียวกับเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ยกเว้นไอโซเอมิลอะซีเตทซึ่งตรวจไม่พบ ขณะที่เอนไซม์กลูโคอะไมเลสไม่พบการผลิตสารระเหย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอสเทอร์เป็นสารหอมระเหยที่มีความสำคัญในการให้กลิ่นรส เอสเทอร์ที่พบได้แก่ เอทิลอะซีเตท และเอมิลอะซีเตท ซึ่งเอสเทอร์ทั้งสองชนิดนี้เป็นอะซีเตทเอสเทอร์ที่เกิดจากปฏิกิริยาระหว่างอะซีติลโคเอและฟูเซลออยล์ สำหรับเอทิลอะซีเตทเป็นเอสเทอร์สำคัญที่พบในไวน์ เกิดจากปฏิกิริยาเอสเทอริฟิเคชันของอะซีติกและเอทานอล เอทิลอะซีเตทให้กลิ่นผลไม้ (fruity) และกลิ่นของตัวทำละลาย (solvent-like) (Swiegers และคณะ. 2005) เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตเอทิลอะซีเตทได้ 0.36 มิลลิกรัมต่อลิตรซึ่งมากกว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ที่ผลิตได้ 0.13 มิลลิกรัมต่อลิตรอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ความเข้มข้นของเอทิลอะซีเตทที่พบในไวน์มีค่าระหว่าง 5-200 มิลลิกรัมต่อลิตร (พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548) ถ้าความเข้มข้นของเอทิลอะซีเตทมีค่าต่ำกว่า 70 มิลลิกรัมต่อลิตรจะส่งผลดีต่อไวน์ ถ้าหากมีความเข้มข้นมากกว่า 150-200 มิลลิกรัมต่อลิตรจะส่งผลเสียต่อไวน์ (Regodon Mateos และคณะ. 2005) เอสเทอร์อีกชนิดที่พบได้แก่ ไอโซเอมิลอะซีเตทหรือไอโซเพนทิลอะซีเตท เกิดจากปฏิกิริยาของเอมิลแอลกอฮอล์และอะซีติลโคเอ ไอโซเอมิลอะซีเตทให้กลิ่นกล้วยและกลิ่นผลไม้ เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 สามารถผลิตไอโซเอมิลอะซีเตทได้ 0.040 มิลลิกรัมต่อลิตร แต่ไม่พบการผลิตไอโซเอมิลอะซีเตทในเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มาตรฐานผลิตภัณฑ์ไวน์ มาตรฐานเลขที่ มอก. 2089-2544 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2545) ได้กำหนดให้ความเข้มข้นของเอสเทอร์มีค่าไม่เกิน 1200 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อราทั้งสองชนิดผลิตเอสเทอร์ได้ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด

ฟูเซลออยล์หรือแอลกอฮอล์โมเลกุลสูง (higher alcohol) เป็นสารประกอบให้กลิ่นที่พบเป็นจำนวนมากในเครื่องดื่มแอลกอฮอล์หลายชนิด (Mariska และคณะ. 2006) ถ้าฟูเซลออยล์มีความเข้มข้นต่ำกว่า 300 มิลลิกรัมต่อลิตรจะทำให้ไวน์มีกลิ่นรสที่ซับซ้อน ถ้าหากเกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตรจะส่งผลเสียต่อกลิ่นรสของไวน์ (Rapp และ Mandery. 1986) ฟูเซลออยล์ส่วนใหญ่จะให้กลิ่นของแอลกอฮอล์ กลิ่นผลไม้สุก กลิ่นน้ำยาล้างเล็บ และกลิ่นของตัวทำละลาย (Sirisantimathakom และคณะ. 2003) ฟูเซลออยล์ที่พบในน้ำเชื่อมข้าวจากการหมักข้าวเหนียวโดยเชื้อราได้แก่ โพรพานอล ไอโซบิวทานอล และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ จากการทดลองพบว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตฟูเซลออยล์ได้มากกว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ตามมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไวน์ มาตรฐานเลขที่ มอก.2089-2544 (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2545) ความเข้มข้นโดยรวมของฟูเซลออยล์กำหนดให้มีค่าไม่เกิน 2500 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยคิดจากปริมาณของไอโซเอมิลแอลกอฮอล์รวมกับไอโซบิวทิลแอลกอฮอล์ ซึ่งเชื้อราทั้งสองชนิดผลิตฟูเซลออยล์ได้ไม่เกินมาตรฐานที่กำหนด

นอกจากสารระเหยหลักที่พบในน้ำเชื่อมข้าวจากการหมักด้วยเชื้อรา ยังพบสารชนิดอื่นที่ส่งผลต่อกลิ่นและรสชาติของข้าวหมักได้แก่ กรดอินทรีย์ กลูโคส และกลีเซอรอล กรดอินทรีย์ที่

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ห้ามนำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พบได้แก่ กรดซิตริก กรดแลคติก กรดมาลิก และกรดฟูมาริก กรดเหล่านี้เป็นกรดที่ไม่ระเหย ถึงแม้ไม่มีผลต่อกลิ่นของน้ำเชื่อมข้าวแต่มีผลต่อความเปรี้ยวของน้ำเชื่อมข้าว หากมีปริมาณกรดมากเกินไปอาจทำให้ผู้บริโภคไม่ยอมรับ เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 สามารถผลิตปริมาณกรดโดยรวมเหล่านี้มากกว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ทำให้รสชาตินำ้เชื่อมข้าวจากเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 เปรี้ยวกว่า อย่างไรก็ตามปริมาณเอสเทอร์และฟูเซลออยล์ที่เชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ผลิตได้มีค่ามากกว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ทำให้น้ำเชื่อมข้าวจาก *R. oryzae* MNT 006 ได้รับคะแนนทดสอบทางประสาทสัมผัสด้านกลิ่นดีที่สุด สำหรับกลีเซอรอลซึ่งให้รสชาติหวานถ้าหากมีปริมาณมากกว่า 5.2 กรัมต่อลิตร ซึ่งเชื้อราทั้งสองชนิดผลิตกลีเซอรอลได้น้อยกว่า 5.2 กรัมต่อลิตร ดังนั้นกลีเซอรอลที่เชื้อราผลิตขึ้นจึงไม่มีผลต่อรสชาติของน้ำเชื่อมข้าว รสชาติหวานที่ได้น่าจะเกิดจากกลูโคส

อย่างไรก็ตาม นอกจากสารระเหยหลักซึ่งตรวจพบโดยวิธีเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟียังมีสารระเหยรองที่มีปริมาณน้อยในน้ำเชื่อมข้าว เนื่องจากข้อจำกัดของวิธีเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟีที่ไม่สามารถวิเคราะห์สารที่มีความเข้มข้นต่ำได้ ซึ่งต้องใช้เทคนิคและวิธีการสกัดที่มีประสิทธิภาพเพื่อทำให้สารระเหยรองเหล่านั้นเข้มข้นขึ้นและสามารถตรวจวัดได้ เช่น การสกัดโดยใช้ตัวทำละลายและการกลั่นเพื่อให้สารระเหยที่มีปริมาณน้อยมีความเข้มข้นขึ้น หรือการใช้วิธี Solid-phase microextraction (SPME) ร่วมกับการวิเคราะห์แบบแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทรเมทรี (SPME-GC-MS)

จากความสามารถของ *A. rouxii* MNT 037 ในการย่อยแป้ง การผลิตน้ำตาลกลูโคส และกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ทำให้สามารถสรุปได้ว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งในข้าวเหนียวได้ดีที่สุด ถึงแม้ว่าจะสามารถผลิตสารระเหยได้ต่ำกว่า *R. oryzae* MNT 006 แต่เชื้อชนิดนี้มีการสร้างปริมาณกรดน้อยกว่าเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 ทำให้น้ำเชื่อมข้าวมีรสชาติไม่เปรี้ยวเกินไป เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภคมากกว่า จึงเลือกใช้เชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เพื่อนำมาศึกษาในการทดลองขั้นต่อไป

4.4 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวและการหมักแอลกอฮอล์ของเชื้อยีสต์

เชื้อยีสต์ที่ใช้ในการศึกษาได้แก่ *Saccharomyces cerevisiae* YRK 017 ซึ่งแยกได้จากลูกแป้งเหล้าจากการศึกษาของวิมลักษณ์ (2549) และมีประสิทธิภาพในการหมักแอลกอออล์ได้สูง และ *Saccharomycopsis fibuligera* TISTR 5033 ซึ่งได้รับความอนุเคราะห์จากสถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.1 ศึกษาความสามารถในการย่อยข้าวเหนียวของเชื้อยีสต์

จากการนำเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มาหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 120 ชั่วโมง ผลการทดลองแสดงดังรูปที่ 4.10

รูปที่ 4.10 การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 (ซ้าย) และ *Sc .fibuligera* TISTR 5033 (ขวา) ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

จากการทดลองพบว่าการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน ไม่มีน้ำเชื่อมข้าวเกิดขึ้น ทำให้ไม่สามารถวิเคราะห์ค่าต่างๆ ในระหว่าง การหมักได้ สำหรับการใช้ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีน้ำเชื่อมข้าวซึมออกมาเล็กน้อยในวันที่ 3 ของการหมัก ค่าพีเอช ปริมาณแป้ง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณกลูโคสและกลีเซอรอล แสดงได้ดังตารางที่ 4.11 โดยพบว่าน้ำเชื่อมข้าวที่เกิดขึ้นมีปริมาณแป้งลดลง ชั่วโมงที่ 120 ของการหมักมีปริมาณแป้ง 0.93 กรัมต่อลิตร มีปริมาณกลูโคส 7.50 กรัมต่อลิตร ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงและพบว่ามีค่า 27.03 องศาบริกซ์ในวันที่ 5 ของการหมัก พีเอชของน้ำเชื่อมข้าวมีค่า 3.35 ซึ่งเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลได้ (Kato และคณะ. 1976) เนื่องจากสามารถผลิตเอนไซม์อะไมเลส ได้แก่ แอลฟาอะไมเลส และ/หรือ กลูโคอะไมเลสได้ (Hostinova. 2002) สำหรับกลีเซอรอล พบว่าเชื้อชนิดนี้ไม่ผลิตกลีเซอรอลในระหว่างการหมักข้าวเหนียว แสดงดังตารางที่ 4.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณแป้ง ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช และปริมาณกลีเซอรอล ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

เวลา (วัน)	เชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033				
	ปริมาณแป้ง (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	ค่าพีเอช	ความเข้มข้นกลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)
1	-	-	-	-	-
2	-	-	-	-	-
3	-	-	-	-	-
4	2.07 ± 0.14	-	-	-	-
5	0.93 ± 0.25	7.50 ± 0.10	27.03 ± 0.15	3.35 ± 0.47	-

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่สามารถวิเคราะห์ได้เนื่องจากมีปริมาณน้ำเชื่อมข้าวน้อย

4.4.2 ศึกษาความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียวของเชื้อยีสต์

เนื่องจากความสามารถของเชื้อ *Amylomyces rouxii* MNT 037 ซึ่งมีประสิทธิภาพดีที่สุดในการย่อยแป้งในข้าวเหนียว จึงนำเชื้อชนิดนี้มาหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 3 วัน เพื่อให้ได้ปริมาณน้ำตาลสูงสุด นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นจึงเติมน้ำปลอดเชื้อเพื่อปรับให้ได้ 20 องศาบริกซ์ จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 เปรียบเทียบกับการใช้เชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน เก็บตัวอย่างทุกวัน นำมาวิเคราะห์ค่าต่างๆ ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.12 และ 4.13

ตารางที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อยีสต์ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช ปริมาณกลีเซอรอล และปริมาณเอทานอลระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (วัน)	เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017					
	ปริมาณเชื้อ (cfu ต่อกรัม)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	ค่าพีเอช	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
1	4.90×10^{8}	185.97 ± 3.12	17.83 ± 0.20	3.87 ± 0.21	1.48 ± 0.20	1.20 ± 0.23
2	3.00×10^{10}	124.2 ± 1.05	13.67 ± 0.15	3.84 ± 0.18	7.12 ± 0.09	1.95 ± 0.17
3	7.50×10^{10}	49.34 ± 1.76	9.17 ± 0.23	3.67 ± 0.16	8.01 ± 0.16	3.50 ± 0.14
4	5.50×10^{10}	6.27 ± 0.14	6.33 ± 0.17	3.04 ± 0.10	9.62 ± 0.23	5.35 ± 0.25
5	3.56×10^{10}	2.72 ± 0.20	5.47 ± 0.14	3.07 ± 0.18	9.27 ± 0.21	6.60 ± 0.20

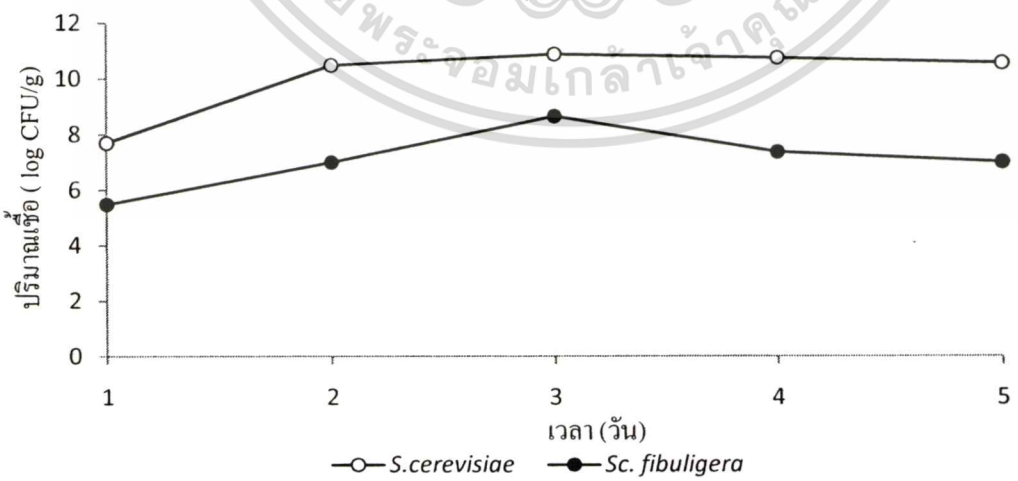
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อยีสต์ ปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ค่าพีเอช ปริมาณกลีเซอรอล และปริมาณเอทานอลระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (วัน)	เชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033					
	ปริมาณเชื้อ (cfu ต่อกรัม)	ปริมาณกลูโคส (กรัมต่อลิตร)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	ค่าพีเอช	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)
1	3.00×10^5	229.13 ± 4.50	21.60 ± 0.36	3.68 ± 0.20	0.99 ± 0.12	0.70 ± 0.15
2	1.00×10^7	227.48 ± 3.12	20.77 ± 0.50	3.71 ± 0.14	3.96 ± 0.22	0.90 ± 0.33
3	4.50×10^8	219.82 ± 3.47	20.47 ± 0.21	3.71 ± 0.10	4.29 ± 0.17	1.02 ± 0.26
4	2.30×10^8	210.44 ± 2.60	20.33 ± 0.23	3.56 ± 0.18	4.76 ± 0.23	1.30 ± 0.17
5	1.00×10^7	208.45 ± 2.45	20.00 ± 0.30	3.51 ± 0.20	5.26 ± 0.21	1.50 ± 0.22

4.4.2.1 ปริมาณเชื้อยีสต์

ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 5 วันที่อุณหภูมิห้อง พบว่าปริมาณของเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดเพิ่มขึ้น และเพิ่มสูงสุดในวันที่ 3 ของการหมัก โดยพบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณเชื้อยีสต์ 7.50×10^{10} cfu ต่อกรัม ขณะที่ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีปริมาณเชื้อยีสต์ 4.50×10^8 cfu ต่อกรัม หลังจากนั้นปริมาณยีสต์ทั้งสองชนิดจะลดลง จากการทดลองพบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณเชื้อสูงกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ตลอดระยะเวลาการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.11

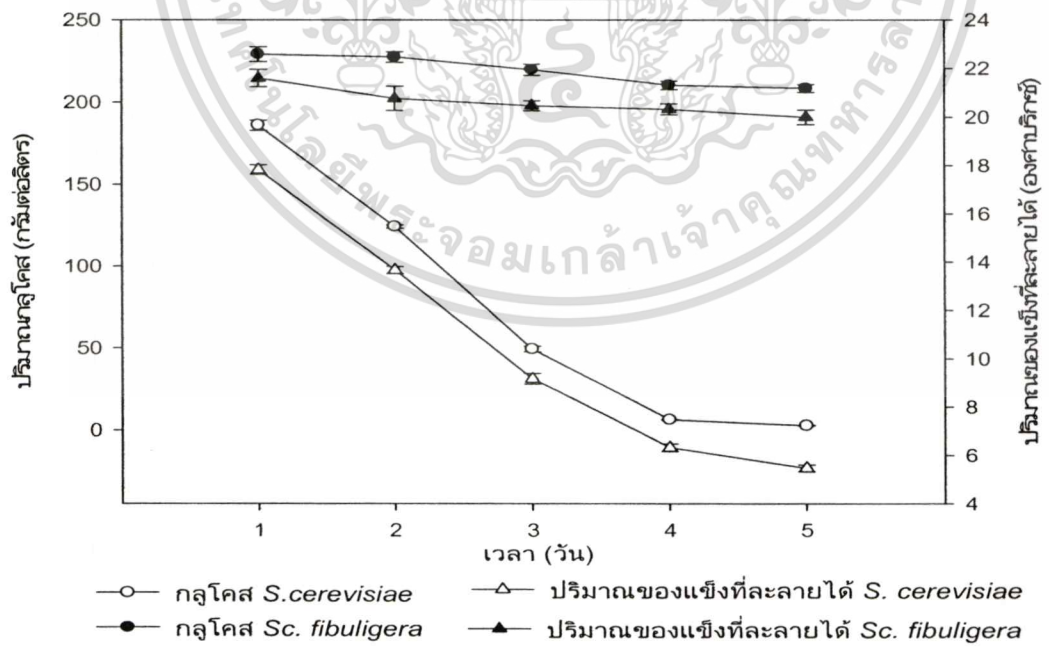


รูปที่ 4.11 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ในระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.2 ปริมาณกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้

จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 5 วันที่อุณหภูมิห้อง พบว่าการใช้เชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดหมักข้าวเหนียว ทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงตามระยะเวลาการหมัก โดยเฉพาะเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างรวดเร็วในช่วง 3 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงอย่างช้าๆ ตลอดระยะเวลาการหมัก ในวันที่ 5 มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสต่ำสุด 2.72 กรัมต่อลิตร สำหรับเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสจะลดลงเช่นเดียวกัน แต่อัตราการลดลงจะช้ากว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ในวันที่ 5 ของการหมักมีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 208.45 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.12 ซึ่งสอดคล้องกับการเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ พบว่าการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีอัตราการลดลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้สูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ในวันที่ 5 ของการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 น้ำหมักมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 5.47 และ 20.00 องศาบริกซ์ ตามลำดับ ทั้งนี้อาจเนื่องจากเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ซึ่งเป็นเชื้อที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้า และมีประสิทธิภาพในการหมักแอลกอฮอล์ได้สูง เชื้อนี้จึงสามารถใช้น้ำตาลต่างๆ รวมทั้งน้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยข้าวเหนียวได้สูงกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033

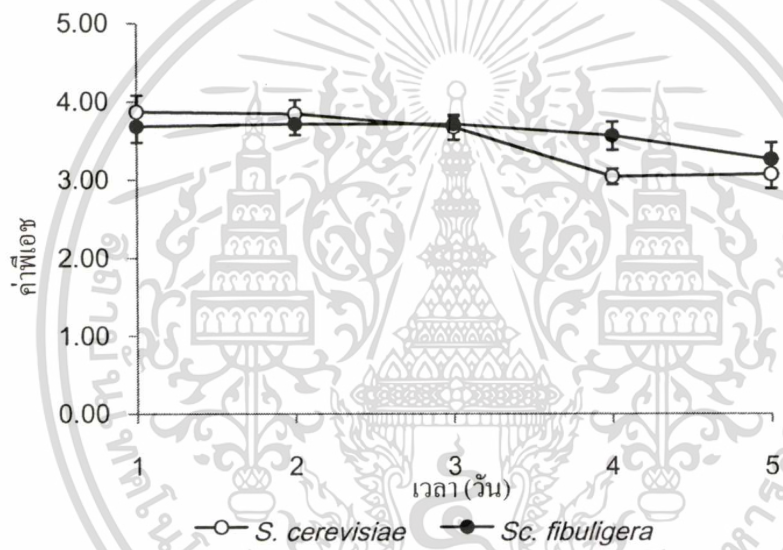


รูปที่ 4.12 การเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4.2.3 ค่าพีเอช

จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชของเชื้อทั้งสองมีแนวโน้มลดลง การหมักด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 น้ำหมักมีค่าพีเอชที่ลดลงมากกว่าการใช้ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 โดยพบว่าในวันที่ 5 ของการหมัก การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 น้ำหมักมีค่าพีเอช 3.07 ขณะที่การหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 น้ำหมักมีค่าพีเอช 3.51 แสดงดังรูปที่ 4.13 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถใช้น้ำตาลชนิดต่างๆ ในน้ำหมักได้ดี จึงสามารถผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้สูง มีผลทำให้พีเอชของน้ำหมักลดลงมากกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033

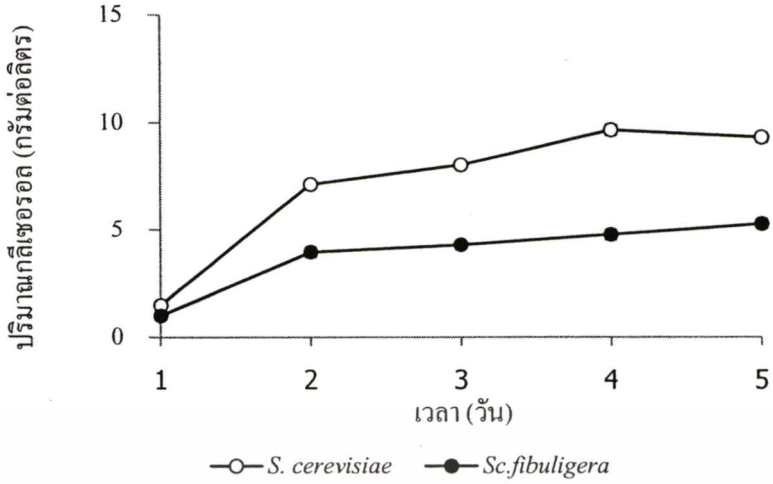


รูปที่ 4.13 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

4.4.2.4 ปริมาณกลีเซอรอล

ยีสต์สามารถเปลี่ยนกลูโคสโดยวิถีการหมักกลีเซอโรไพรูวิก (glyceropyruvic fermentation) ได้กลีเซอรอลและไพรูเวต (ไพบูลย์ ด่านวิรุทัย และพัฒนา เหล่าไพบูลย์. 2548) จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 พบว่าปริมาณกลีเซอรอลซึ่งเชื้อทั้งสองผลิตออกมาระหว่างการหมักข้าวเหนียวมีปริมาณมากขึ้นตลอดระยะเวลาของการหมัก โดยเฉพาะเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ผลิตกลีเซอรอลได้สูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ในวันที่ 5 ของการหมักพบว่า *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 สามารถผลิตกลีเซอรอลได้ 9.27 และ 5.26 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.14

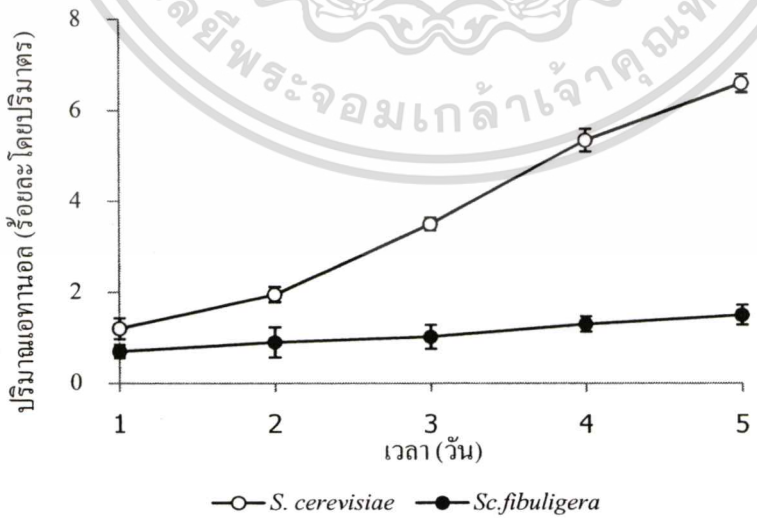
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.14 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

4.4.2.5 ปริมาณเอทานอล

การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก การใช้ *S. cerevisiae* YRK 017 ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ในวันที่ 5 ของการหมักด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ให้ปริมาณเอทานอล 6.60 และ 1.50 ร้อยละโดยปริมาตร ในระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดให้ปริมาณเอทานอลเพิ่มขึ้น ซึ่งสัมพันธ์กับปริมาณน้ำตาลกลูโคสและปริมาณของแข็งที่ละลายได้ซึ่งลดลงในระหว่างการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.15



รูปที่ 4.15 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 5 วัน

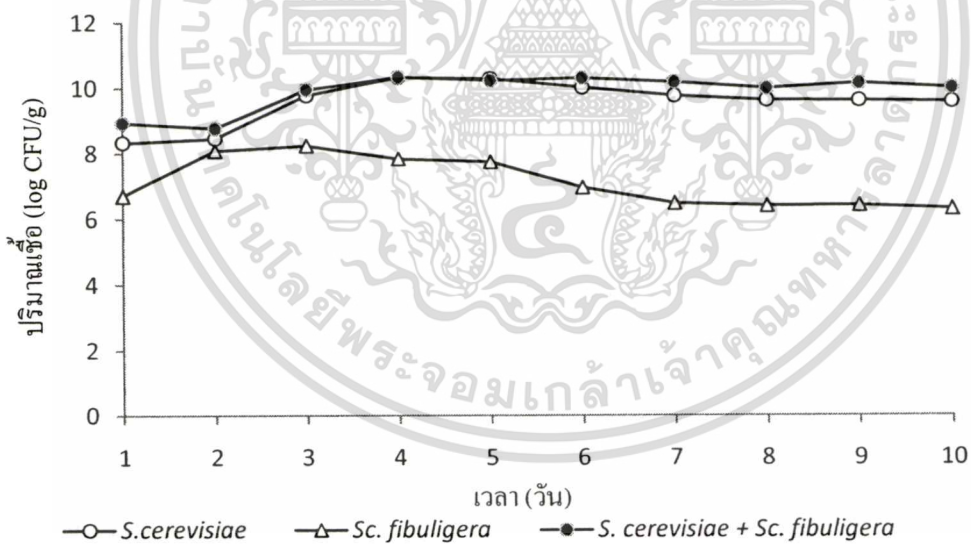
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 บทบาทของเชื้อยีสต์ต่อกลิ่นรสของข้าวหมัก

หมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นจึงเติมน้ำปลอดเชื้อเพื่อปรับให้ได้ 20 องศาบริกซ์ แล้วจึงเติมเชื้อยีสต์หมักเป็นเวลา 10 วัน เปรียบเทียบระหว่างการหมักด้วยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้เชื้อทั้งสองชนิดร่วมกันในอัตราส่วน 1:1 ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 4.14-4.16

4.5.1 ปริมาณเชื้อยีสต์

ระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้เชื้อยีสต์ผสมสองชนิด เป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิห้อง พบว่าปริมาณของเชื้อเพิ่มขึ้น การทดลองของการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีการเจริญของยีสต์สูงสุดในวันที่ 4 เท่ากับ 2.21×10^{10} cfu ต่อกรัม การหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีการเจริญสูงสุดในวันที่ 3 เท่ากับ 1.73×10^{8} cfu ต่อกรัม สำหรับการหมักด้วยยีสต์สองชนิดร่วมกันพบว่ามีการเจริญสูงสุดในวันที่ 4 เท่ากับ 2.15×10^{10} cfu ต่อกรัม ดังแสดงในรูปที่ 4.16



รูปที่ 4.16 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.14 การหมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (วัน)	*S. cerevisiae* YRK 017									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อกรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	2.12×10^8	19.00 ± 0.10	230.15 ± 2.47	1.47 ± 0.03	1.22 ± 0.07	4.62 ± 0.02	562.32 ± 2.95	2429.74 ± 23.44	567.99 ± 15.02	456.29 ± 3.42
2	2.82×10^8	18.40 ± 0.26	215.99 ± 3.33	1.95 ± 0.05	1.65 ± 0.04	4.47 ± 0.04	670.42 ± 8.70	3898.87 ± 18.28	660.32 ± 13.57	887.91 ± 21.45
3	6.00×10^9	18.00 ± 0.20	184.23 ± 3.55	2.34 ± 0.12	2.05 ± 0.04	4.28 ± 0.02	765.98 ± 8.20	4197.75 ± 5.06	780.39 ± 5.88	900.45 ± 13.93
4	2.21×10^{10}	16.80 ± 0.17	157.93 ± 4.56	2.67 ± 0.17	2.26 ± 0.03	3.59 ± 0.16	830.13 ± 13.35	4589.90 ± 9.07	804.14 ± 17.26	957.17 ± 10.18
5	1.93×10^{10}	16.50 ± 0.10	105.98 ± 5.91	2.74 ± 0.08	2.58 ± 0.03	3.53 ± 0.02	1020.44 ± 11.81	4711.14 ± 13.67	856.32 ± 12.23	1247.58 ± 43.93
6	1.05×10^{10}	15.80 ± 0.20	60.50 ± 1.80	2.93 ± 0.09	2.70 ± 0.02	3.50 ± 0.03	1187.98 ± 6.82	4903.57 ± 51.26	1365.53 ± 22.93	1168.73 ± 31.61
7	5.90×10^9	15.60 ± 0.10	41.39 ± 3.16	3.25 ± 0.14	2.79 ± 0.02	3.40 ± 0.04	1253.96 ± 7.91	5022.95 ± 61.53	1854.96 ± 30.65	982.91 ± 28.87
8	4.30×10^9	15.40 ± 0.17	14.73 ± 1.59	3.46 ± 0.08	3.20 ± 0.05	3.50 ± 0.02	1463.34 ± 7.62	5457.63 ± 29.45	1938.48 ± 53.08	950.37 ± 30.49
9	4.25×10^9	14.60 ± 0.26	3.93 ± 0.21	3.70 ± 0.08	3.44 ± 0.05	3.46 ± 0.01	1550.67 ± 15.52	5743.08 ± 53.75	2003.47 ± 10.69	879.75 ± 12.34
10	3.90×10^9	14.00 ± 0.17	1.54 ± 0.10	3.88 ± 0.07	3.78 ± 0.02	3.60 ± 0.02	2224.51 ± 13.68	6006.52 ± 15.24	2197.85 ± 6.80	804.66 ± 9.79

ตารางที่ 4.15 การหมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

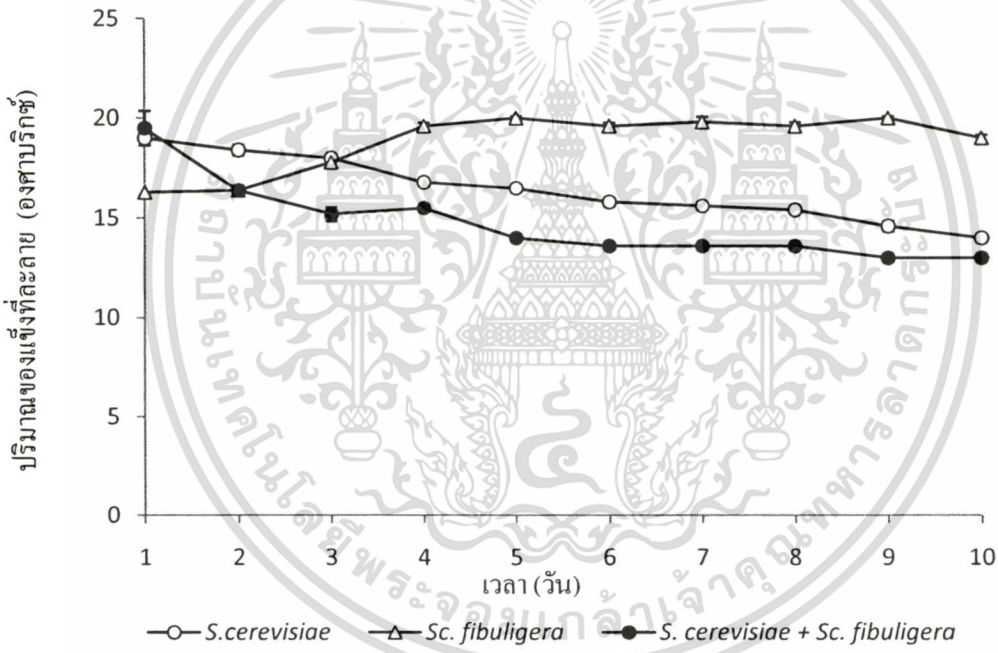
เวลา (วัน)	*Sc. fibuligera* TISTR 5033									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อ กรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	5.00×10^6	16.30 ± 0.20	195.87 ± 3.64	0.82 ± 0.06	0.75 ± 0.03	5.03 ± 0.03	488.38 ± 5.59	1230.54 ± 36.87	159.34 ± 7.49	4.58 ± 0.04
2	1.20×10^7	16.40 ± 0.26	175.27 ± 10.47	0.96 ± 0.09	1.16 ± 0.03	4.46 ± 0.04	579.44 ± 6.38	1874.87 ± 12.65	320.89 ± 13.07	5.37 ± 0.02
3	1.73×10^8	17.80 ± 0.20	180.34 ± 9.18	0.93 ± 0.10	1.18 ± 0.03	4.53 ± 0.10	646.29 ± 5.07	2386.38 ± 37.64	359.04 ± 4.18	19.43 ± 0.49
4	6.80×10^7	19.60 ± 0.17	189.51 ± 5.99	0.99 ± 0.08	1.19 ± 0.01	4.03 ± 0.06	731.38 ± 12.48	2887.53 ± 11.40	344.29 ± 17.71	31.25 ± 0.61
5	5.50×10^7	20.00 ± 0.10	197.78 ± 7.14	1.18 ± 0.06	1.20 ± 0.01	3.71 ± 0.03	883.19 ± 8.20	3017.34 ± 14.65	568.32 ± 11.08	35.58 ± 1.31
6	9.00×10^6	19.60 ± 0.17	202.47 ± 9.10	1.20 ± 0.06	1.24 ± 0.01	3.77 ±0.03	900.11 ± 18.88	3491.98 ± 8.36	745.96 ± 6.17	40.67 ± 0.75
7	3.00×10^6	19.80 ± 0.26	196.15 ± 11.60	1.27 ± 0.05	1.26 ± 0.04	3.67 ± 0.02	946.12 ± 11.55	3867.65 ± 28.43	981.31 ± 7.84	48.35 ± 0.89
8	2.50×10^6	19.60 ± 0.20	185.67 ± 6.72	1.44 ± 0.07	1.29 ± 0.04	3.61 ± 0.03	989.45 ± 11.55	3990.13 ± 20.68	1045.67 ± 6.78	55.12 ± 1.45
9	2.60×10^6	20.00 ± 0.10	176.02 ± 10.50	1.34 ± 0.13	1.32 ± 0.03	3.80 ± 0.03	1076.86 ± 12.72	4042.08 ± 31.44	1285.55 ± 13.10	61.17 ± 2.37
10	2.01×10^6	19.00 ± 0.17	150.66 ± 4.87	1.50 ± 0.08	1.48 ± 0.04	3.53 ± 0.04	1679.14 ± 18.08	4114.67 ± 66.49	1567.94 ± 10.23	59.21 ± 3.74

ตารางที่ 4.16 การหมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเป็นเวลา 3 วัน และหมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ร่วมกับ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

เวลา (วัน)	*S. cerevisiae* YRK 017 + *Sc. fibuligera* TISTR 5033									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อ กรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
1	8.70×10^{x}	19.50 ± 0.87	210.29 ± 8.58	1.48 ± 0.03	0.95 ± 0.04	4.56 ± 0.02	664.27 ± 19.80	2674.85 ± 27.80	655.38 ± 17.61	420.29 ± 19.17
2	5.90×10^{x}	16.40 ± 0.17	196.35 ± 5.00	1.99 ± 0.10	1.36 ± 0.04	4.30 ± 0.03	756.6 ± 3.48	3955.57 ± 70.74	739.47 ± 14.11	874.48 ± 28.58
3	9.00×10^{9}	15.20 ± 0.35	151.56 ± 4.56	2.59 ± 0.04	1.83 ± 0.07	3.93 ± 0.05	843.18 ± 11.02	4035.49 ± 31.41	745.02 ± 15.27	930.67 ± 17.91
4	2.15×10^{10}	15.50 ± 0.10	113.30 ± 11.70	3.14 ± 0.05	2.21 ± 0.15	3.44 ± 0.04	922.51 ± 13.09	4789.98 ± 12.06	979.15 ± 27.15	983.50 ± 22.37
5	1.73×10^{10}	14.00 ± 0.20	60.61 ± 4.89	3.52 ± 0.04	2.36 ± 0.08	3.40 ± 0.02	1189.88 ± 10.11	4927.19 ± 37.91	1038.4 ± 16.13	1333.92 ± 10.19
6	2.00×10^{10}	13.60 ± 0.20	20.63 ± 2.79	3.56 ± 0.05	2.45 ± 0.05	3.43 ± 0.02	1258.45 ± 7.98	5193.47 ± 7.54	1327.94 ± 2.42	1283.11 ± 7.47
7	1.50×10^{9}	13.60 ± 0.20	11.31 ± 3.07	3.48 ± 6.07	2.60 ± 0.05	3.46 ± 0.02	1400.21 ± 4.93	5267.94 ± 47.98	2037.47 ± 28.32	1046.73 ± 18.35
8	9.90×10^{9}	13.60 ± 0.10	2.70 ± 0.92	3.28 ± 0.10	2.75 ± 0.05	3.40 ± 0.02	1763.97 ± 15.12	5542.12 ± 19.24	2178.49 ± 29.88	980.45 ± 14.97
9	1.40×10^{10}	13.00 ± 0.20	0.45 ± 0.18	3.37 ± 0.03	2.91 ± 0.09	3.36 ± 0.02	1998.25 ± 16.65	6012.75 ± 78.52	2307.65 ± 15.06	920.50 ± 11.66
10	1.00×10^{10}	13.00 ± 0.20	0.21 ± 0.06	3.40 ± 0.02	3.36 ± 0.04	3.40 ± 0.03	2391.67 ± 7.97	6397.84 ± 16.22	2538.03 ± 31.11	850.08 ± 8.94

4.5.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

การหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะลดลงตามระยะเวลาการหมัก ในวันที่ 10 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 14.00 องศาบริกซ์ การหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้มีแนวโน้มเพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะช่วง 3-4 วันของการหมัก อาจเนื่องมาจาก *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีการสร้างเอนไซม์อะไมเลสมาย่อยแป้งที่เหลือ ซึ่งเอนไซม์กลูโคอะไมเลสยังย่อยไม่หมด มีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้เพิ่มขึ้น หลังจากนั้นปริมาณของแข็งที่ละลายได้ค่อนข้างคงที่ วันที่ 10 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 19.00 องศาบริกซ์ สำหรับการหมักด้วยเชื้อยีสต์ผสมสองชนิดพบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้จะลดลงตามระยะเวลาการหมัก วันที่ 10 ของการหมักมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 13.00 องศาบริกซ์ แสดงดังรูปที่ 4.17



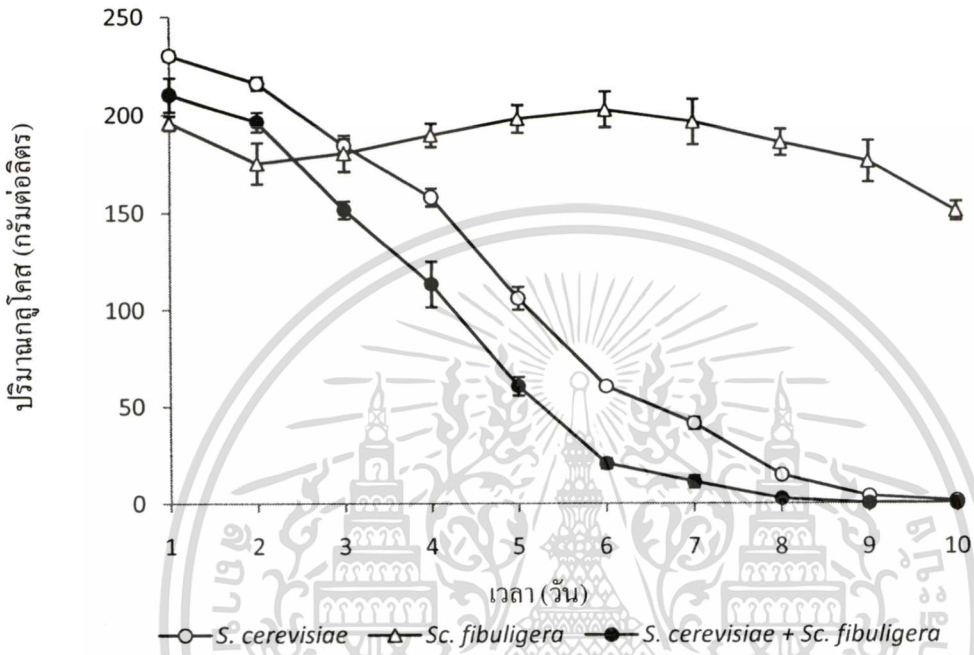
รูปที่ 4.17 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

4.5.3 ปริมาณกลูโคส

การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีผลทำให้ปริมาณกลูโคสลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก ในวันที่ 10 มีปริมาณกลูโคส 1.54 กรัมต่อลิตร การหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้นในช่วง 6 วันแรกของการหมัก หลังจากนั้นปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลง ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีความสามารถในการย่อยแป้งได้ดี จึงทำการย่อยแป้งที่เหลือจากการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสย่อยในช่วงแรก มีผลทำให้ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเพิ่มขึ้น สำหรับการใช้เชื้อยีสต์สองชนิดร่วมกันในการหมักข้าวเหนียว พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงตลอดระยะเวลาการหมักเช่นกัน โดยวันที่ 10 มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.21 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.18

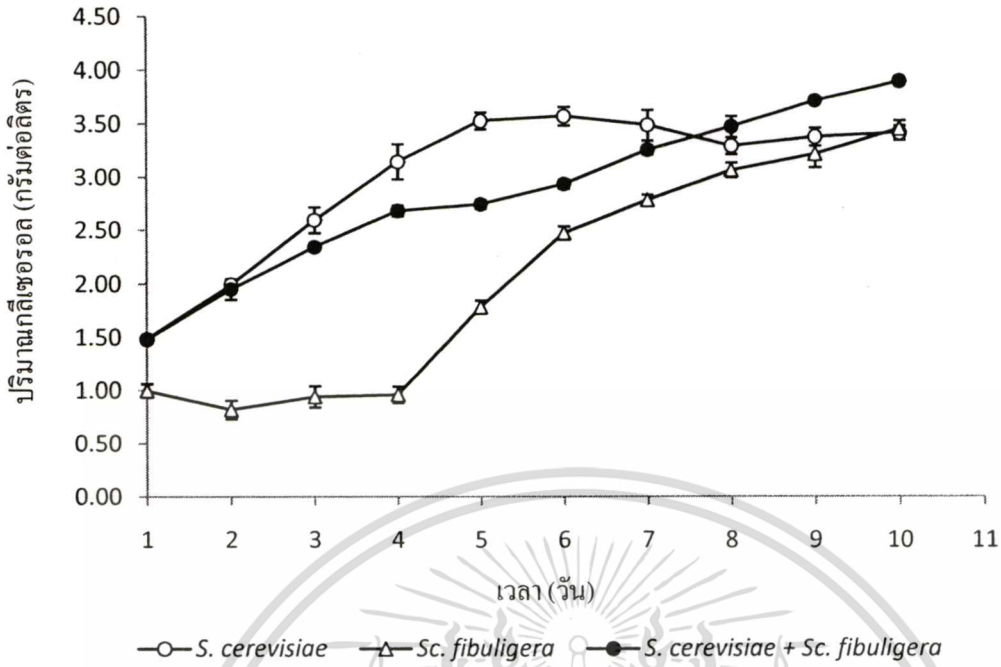


รูปที่ 4.18 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

4.5.4 ปริมาณกลีเซอรอล

จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 พบว่าปริมาณกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก ในวันที่ 10 มีปริมาณกลีเซอรอล 3.88 กรัมต่อลิตร การหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นมีน้อยและมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักเช่นกัน ในวันที่ 10 มีปริมาณกลีเซอรอล 1.50 กรัมต่อลิตร เมื่อใช้เชื้อยีสต์สองชนิดหมักร่วมกันทำให้ปริมาณกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก ในวันที่ 10 มีปริมาณกลีเซอรอล 3.40 กรัมต่อลิตร แสดงดังรูปที่ 4.19

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



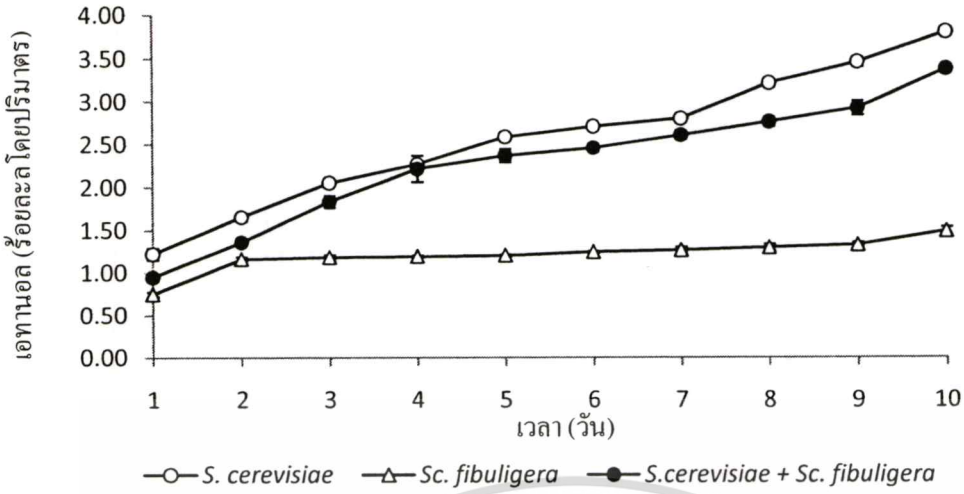
รูปที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

4.5.5 ปริมาณเอทานอล

ปริมาณเอทานอลจะเพิ่มขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยวันที่ 10 มีปริมาณเอทานอลร้อยละ 3.78 โดยปริมาตร การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณเอทานอลที่เกิดขึ้นค่อนข้างต่ำและคงที่ วันที่ 10 มีปริมาณ เอทานอลร้อยละ 1.48 โดยปริมาตร สำหรับการหมักด้วยเชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดร่วมกันให้ปริมาณ เอทานอลต่ำกว่าการหมักด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 เล็กน้อย ในวันที่ 10 มีปริมาณเอทานอลร้อยละ 3.36 โดยปริมาตร แสดงดังรูปที่ 4.20 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์ได้สูง ขณะที่ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้สูงแต่หมักแอลกอฮอล์ได้ต่ำ ซึ่งสอดคล้องกับรายงานของ Limtong และคณะ (2002) ที่กล่าวว่า *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีความสามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้เล็กน้อย

ถึงแม้ว่า *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเชื้อที่สามารถผลิตเอทานอลได้สูง แต่ในการทดลองนี้ผลิตเอทานอลได้เพียงร้อยละ 3.78 โดย สาเหตุอาจเนื่องมาจากการหมักเอทานอลโดยใช้น้ำเชื่อมข้าวที่ได้จากการย่อยแป้งด้วยเอนไซม์ ซึ่งอาจขาดสารอาหารที่ช่วยในการหมักของยีสต์จากการสลายตัวของรา ดังนั้น การใช้เอนไซม์ย่อยข้าวเหนียวแล้วหมักต่อด้วยยีสต์ จึงมีปริมาณเอทานอลน้อยกว่าการใช้เชื้อราย่อยข้าวเหนียวแล้วหมักต่อด้วยยีสต์ (หัวข้อ 4.4.2.5)

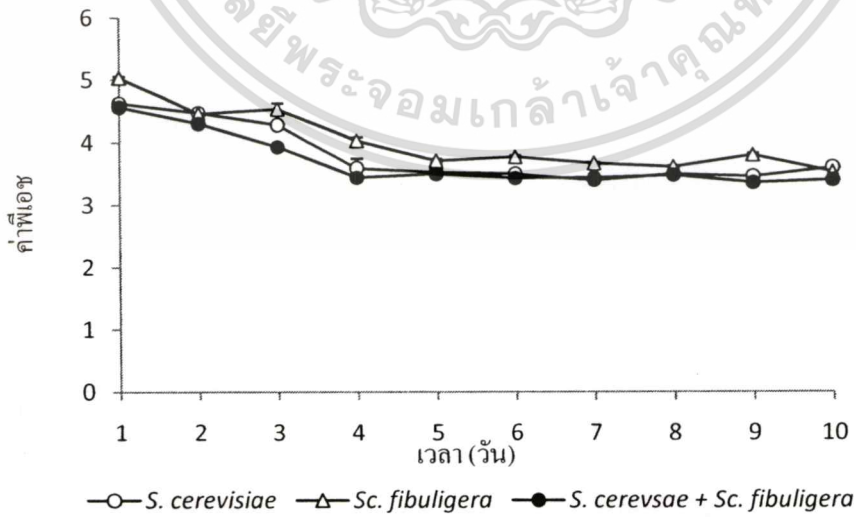
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

4.5.6 พีเอช

จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และใช้เชื้อผสมของเชื้อดังกล่าว พบว่าค่าพีเอชจะลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก ในวันที่ 10 พบว่าข้าวเหนียวที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* YRK 017 ร่วมกับ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีพีเอช 3.60 3.53 และ 3.40 ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.21 ซึ่งการที่พีเอชลดลง อาจเนื่องมาจากในระหว่างการหมักข้าวเหนียวของเชื้อยีสต์เหล่านี้มีการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ เกิดขึ้น

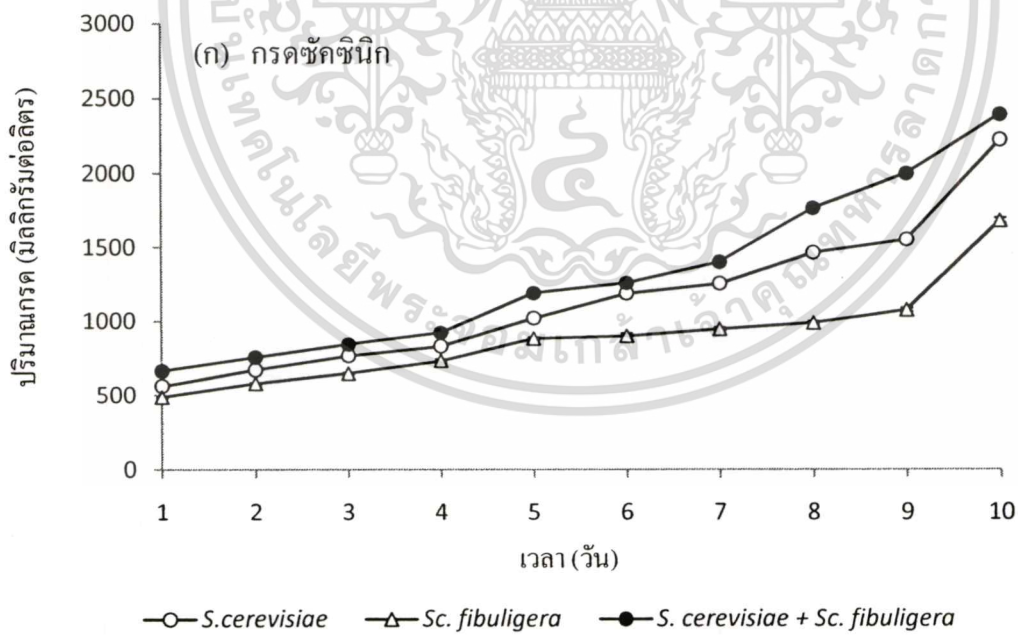


รูปที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

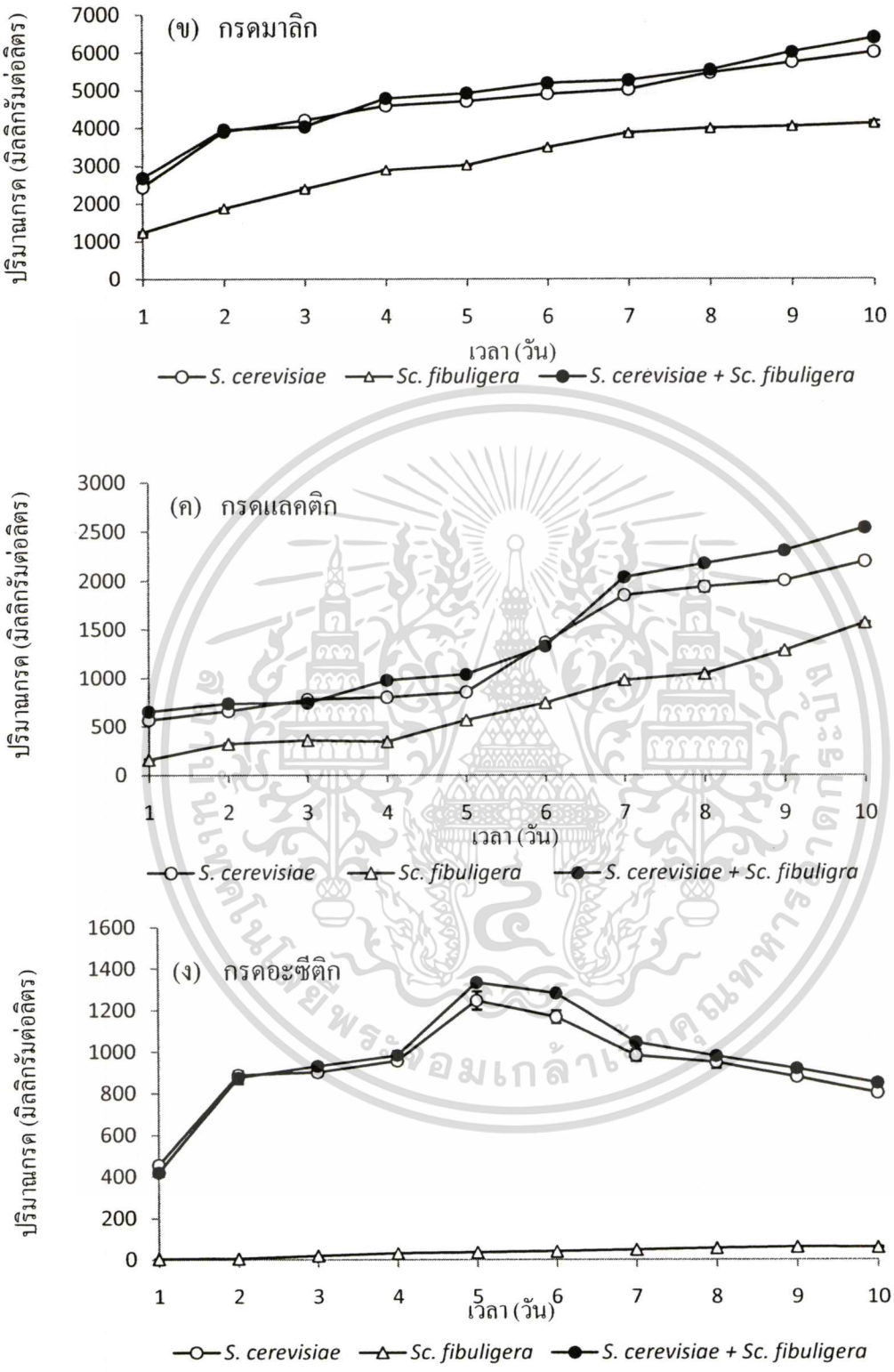
4.5.7 กรดอินทรีย์

ในการทดลองวิเคราะห์กรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ดังนี้ กรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดแลคติก กรดอะซีติก กรดมาลิก และกรดฟูมาริก ซึ่งกรดเหล่านี้ส่วนใหญ่เกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ และมีผลต่อรสชาติของไวน์ข้าว จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตกรดมาลิกได้สูงสุด รองลงมาเป็นกรดซัคซินิก กรดแลคติก และกรดอะซีติก ตามลำดับ ปริมาณกรดอินทรีย์เหล่านี้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น ยกเว้นกรดอะซีติก ซึ่งจะมีปริมาณลดลงในวันที่ 5 ของการหมัก ทั้งนี้เนื่องมาจากกรดอะซีติกอาจเปลี่ยนไปเป็นสารตั้งต้นในการผลิตสารระเหยประเภทอะซีเตทเอสเทอร์ มีผลทำให้ปริมาณกรดอะซีติกลดลง การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 สามารผลิตกรดมาลิกได้สูงสุด รองลงมาเป็นกรดซัคซินิก กรดแลคติก และกรดอะซีติก ตามลำดับ และปริมาณกรดอินทรีย์เหล่านี้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้นเมื่อระยะการหมักเพิ่มขึ้นยกเว้นกรดอะซีติก แต่ปริมาณกรดอินทรีย์เหล่านี้จะน้อยกว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สำหรับการใช้เชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดหมักร่วมกัน ให้ผลเช่นเดียวกันกับการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หรือ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 แต่ปริมาณกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นจะใกล้เคียงกับการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เพียงชนิดเดียวหมัก แสดงดังรูปที่ 4.22



รูปที่ 4.22 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (ก) ซัคซินิก (ข) มาลิก (ค) แลคติก และ (ง) อะซีติก จากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.22 (ต่อ) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (ก) ซัคซินิก (ข) มาลิก (ค) แลคติก และ (ง) อะซีติก จากการหมักข้าวเหนียวด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อทั้งสองชนิดผสมกันในอัตราส่วน 1:1 ระหว่างการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 10 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการนำไวน์ข้าวที่ได้มาทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยใช้ผู้ทดสอบชิม 20 คน พบว่าข้าวเหนียวที่หมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีคะแนนทางด้านสีและคะแนนด้านกลิ่นสูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และการใช้เชื้อยีสต์สองชนิดหมักร่วมกัน การหมักด้วยเชื้อผสมสองชนิดให้คะแนนทางด้านรสชาติและคุณลักษณะโดยรวมสูงกว่าการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 หรือ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เพียงชนิดเดียว สำหรับคะแนนด้านลักษณะปรากฏจะพบสูงในการหมักข้าวเหนียวด้วย *Sc. fibuligera* TISTR 5033 โดยลักษณะไวน์ข้าวที่ได้มีลักษณะใส เมล็ดข้าวจับตัวเป็นก้อน ไม่เละ ทำให้มีตะกอนน้อย เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่าข้าวเหนียวที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้เชื้อยีสต์สองชนิดผสมกัน ให้คะแนนทางด้านสี กลิ่น รสชาติ ลักษณะปรากฏ และคุณลักษณะโดยรวมไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P > 0.05$) แสดงดังตารางที่ 4.17

ตารางที่ 4.17 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์ข้าวที่ได้จากการหมักข้าวเหนียว ด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้ยีสต์สองชนิดร่วมกันในอัตราส่วน 1:1 เป็นเวลา 10 วันที่อุณหภูมิห้อง

ไวน์ข้าว	สี (ns)	กลิ่น (ns)	รสชาติ (ns)	ลักษณะปรากฏ (ns)	คุณลักษณะโดยรวม (ns)
S. cerevisiae YRK 017	6.20 ± 0.45	5.95 ± 0.39	4.80 ± 0.45	5.25 ± 0.50	5.40 ± 0.55
Sc. fibuligera TISTR 5033	6.40 ± 0.55	6.40 ± 1.14	4.45 ± 0.69	5.90 ± 0.74	5.25 ± 0.50
S. cerevisiae YRK 017 + *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ในอัตราส่วน 1:1	5.60 ± 0.55	6.25 ± 0.71	5.10 ± 0.33	5.70 ± 0.67	5.70 ± 0.75

หมายเหตุ เมื่อพิจารณาในแนวตั้ง ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกันแสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

ns : non-significant

ปริมาณสารระเหยและสารที่มีผลต่อรสชาติของไวน์ข้าวแสดงดังตารางที่ 4.18 โดยพบว่าปริมาณเอสเทอร์ในไวน์ข้าว จากการหมักด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และ เชื้อผสมสองชนิด มีเอทิลอะซีเตท 2.77 0.21 และ 5.25 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 สำหรับไอโซเอมิลอะซีเตทตรวจไม่พบจากการหมักของเชื้อเหล่านี้ ฟูเซลออยล์ในไวน์ข้าวที่ตรวจวิเคราะห์ ได้แก่ โพรพานอล ไอโซบิวทานอล และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ พบว่าข้าวเหนียวที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้เชื้อผสม ให้ปริมาณโพรพานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.55 2.26 และ 2.76 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งการหมักด้วยเชื้อผสมให้ปริมาณโพรพานอลสูงสุดและแตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ขณะที่การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ให้ปริมาณโพรพานอลไม่แตกต่างทางสถิติกับการหมักโดยใช้เชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 สำหรับปริมาณไอโซบิวทานอลพบว่าข้าวเหนียวที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อผสมให้ปริมาณไอโซบิวทานอล 16.72 6.53 และ 27.75 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ เมื่อวิเคราะห์ทางสถิติพบว่า การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และการใช้เชื้อผสมให้ปริมาณไอโซบิวทานอลไม่แตกต่างทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ($P < 0.05$) ปริมาณไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และการใช้เชื้อผสมไม่มีความแตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 แต่แตกต่างกับการใช้เชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ปริมาณไอโซเอมิลแอลกอฮอล์จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อผสมมีค่า 107.96 18.46 และ 108.22 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณกรดอินทรีย์ที่วิเคราะห์ระหว่างกระบวนการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อยีสต์พบว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ให้ปริมาณกรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดอะซีติก สูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเมื่อใช้ยีสต์สองชนิดหมักร่วมกัน ปริมาณกรดอินทรีย์เหล่านี้มีปริมาณเพิ่มมากขึ้น กรดอะซีติกเกิดจากจากสลายของอะซีติลโคเอหรืออะซีตัลดีไฮด์ เป็นกรดระเหยได้เพียงชนิดเดียวซึ่งส่งผลต่อกลิ่นและรสชาติของไวน์ ขณะที่กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดซัคซินิกจัดเป็นกรดที่ระเหยไม่ได้ มีผลต่อรสชาติของไวน์เพียงอย่างเดียว (โชคชัย วนภู และคณะ. 2545) ปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่พบในไวน์ข้าวที่หมักจากเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีปริมาณสูงกว่าไวน์ข้าวที่หมักจากเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีผลทำให้ไวน์ข้าวที่หมักจากเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีรสชาติหวาน สำหรับปริมาณ กลีเซอรอลที่ตรวจพบในไวน์ข้าวที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณสูงกว่าไวน์ข้าวที่หมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้เชื้อผสมสองชนิด กลีเซอรอลเป็นสารที่ไม่ระเหย ไม่ส่งผลโดยตรงต่อกลิ่นรสของไวน์ (Sehovic. 2004) ปริมาณกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักถ้ามีปริมาณมากกว่า 5.2 กรัมต่อลิตร จะมีผลต่อรสชาติของไวน์ ซึ่งจากผลการทดลองไวน์ข้าวที่หมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้เชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดหมักร่วมกันให้ปริมาณกลีเซอรอล 3.88 1.50 และ 3.40 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ซึ่งมีค่าน้อยกว่า 5.2 กรัมต่อลิตร ดังนั้น ปริมาณกลีเซอรอลที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักจึงไม่มีผลต่อรสชาติของไวน์ข้าว แต่อาจมีผลต่อ body ของไวน์ที่ได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.18 ปริมาณสารระเหยและสารให้กลิ่นรสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และการใช้ยีสต์ผสม เป็นเวลา 10 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

ความเข้มข้น (มิลลิกรัมต่อลิตร)			
สารประกอบ	*S. cerevisiae* YRK 017	*Sc. fibuligera* TISTR 5033	การใช้ยีสต์ผสม
<u>เอสเทอร์</u>			
เอทิลอะซีเตท	$2.77^{b} \pm 0.10$	$0.21^{c} \pm 0.07$	$5.25^{a} \pm 0.16$
ไอโซเอมิลอะซีเตท	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00	0.00 ± 0.00
รวม	**2.77**	**0.21**	**5.25**
<u>ฟูเซลออยล์</u>			
โพรพานอล	$2.55^{b} \pm 0.13$	$2.26^{b} \pm 0.16$	$2.76^{a} \pm 0.15$
ไอโซบิวทานอล	$16.72^{b} \pm 0.13$	$6.53^{c} \pm 0.21$	$27.75^{a} \pm 0.10$
ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์	$107.96^{a} \pm 0.22$	$18.64^{b} \pm 0.16$	$108.22^{a} \pm 0.28$
รวม	**124.68**	**27.43**	**138.73**
<u>กรด</u>			
กรดซัคซินิก	$2224.51^{b} \pm 13.68$	$1679.14^{c} \pm 18.08$	$2391.67^{a} \pm 7.97$
กรดมาลิก	$6006.52^{b} \pm 15.24$	$4114.67^{c} \pm 66.49$	$6397.84^{a} \pm 16.22$
กรดแลคติก	$2197.85^{b} \pm 6.80$	$1567.94^{c} \pm 10.23$	$2538.03^{a} \pm 31.11$
กรดอะซีติก	$804.66^{b} \pm 9.79$	$59.21^{c} \pm 3.74$	$850.08^{a} \pm 8.94$
รวม	**11233.54**	**7420.96**	**12183.62**
กลูโคส*	$1.54^{b} \pm 0.10$	$150.66^{a} \pm 4.87$	$0.21^{c} \pm 0.06$
กลีเซอรอล*	$3.88^{a} \pm 0.07$	$1.50^{c} \pm 0.08$	$3.40^{b} \pm 0.02$
เอทานอล (% v/v)	$3.78^{a} \pm 0.02$	$1.48^{c} \pm 0.04$	$3.36^{b} \pm 0.04$

หมายเหตุ เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกันแสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

* หมายถึง กรัมต่อลิตร

4.6 ผลของอุณหภูมิต่อการผลิตสารให้กลิ่นรสของเชื้อยีสต์

จากการนำข้าวเหนียวมาหมักด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลสที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน หมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส หมักจนเหลือน้ำตาลกลูโคสน้อยที่สุด จากการทดลองพบว่า การหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาการหมัก 57 38 และ 31 วัน ตามลำดับ โดยมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลือ 0.13 0.03 และ 0.01 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ แสดงดังตารางที่ 4.19-4.21

4.6.1 ปริมาณเชื้อยีสต์

การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ระหว่างการหมักข้าวที่อุณหภูมิต่างๆ มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงไปในทำนองเดียวกัน โดยพบว่าการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อสูงสุดในวันที่ 7 โดยมีปริมาณ 5.40×10^8 cfu ต่อกรัม หลังจากนั้นมีปริมาณลดลง สำหรับการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อสูงสุดในวันที่ 7 เช่นกัน โดยมีปริมาณเชื้อ 7.77×10^8 และ 9.93×10^8 cfu ต่อกรัม ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณเชื้อลดลง แสดงดังรูปที่ 4.23 สำหรับการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อที่อุณหภูมิต่างๆ มีแนวโน้มไปในทำนองเดียวกัน โดยพบว่าการหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณเชื้อสูงสุดในวันที่ 9 โดยมีปริมาณ 2.00×10^5 cfu ต่อกรัม หลังจากนั้นปริมาณเชื้อจะลดลง สำหรับการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ให้ผลเช่นเดียวกับการหมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส แสดงดังรูปที่ 4.23 จากการทดลองจะเห็นได้ว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณเชื้อต่ำกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ตามลำดับ เนื่องจากอุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อยีสต์คือ 25-30 องศาเซลเซียส (Reed และ Nagodawithana.1991) และปริมาณเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีปริมาณสูงกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ตลอดระยะเวลาการหมัก ซึ่งผลการทดลองที่ได้สอดคล้องกับการทดลองของมณชัย (2546) ซึ่งพบว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีอัตราการเจริญน้อยกว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017

4.6.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าการหมักที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก สำหรับการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงตลอดระยะเวลาการหมักเช่นเดียวกัน เมื่อเปรียบเทียบอุณหภูมิในการหมัก พบว่าการหมักข้าวเหนียวโดยใช้เชื้อยีสต์ทั้งสองชนิดหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้เหลือน้อยกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ แสดงดังรูปที่ 4.24 ทั้งนี้อาจเนื่องมาจากระยะการหมักเอทานอลของเชื้อยีสต์เกิดขึ้นได้เร็วที่อุณหภูมิ 30-35 องศาเซลเซียส (Torija และคณะ. 2003) ถ้าอุณหภูมิต่ำกว่านี้จะทำให้กระบวนการหมักเกิดขึ้นได้ช้า ซึ่งมีผลทำให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลงช้ากว่าการหมักที่อุณหภูมิสูง แสดงดังรูปที่ 4.24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.19 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	*S. cerevisiae* YRK 017									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อ กรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	1.40×10^{7}	20.00 ± 0.20	228.78 ± 4.77	1.63 ± 0.10	1.22 ± 0.05	4.80 ± 0.04	152.58 ± 6.06	87.32 ± 4.06	96.40 ± 5.98	388.51 ± 2.82
4	2.33×10^{8}	17.00 ± 0.20	223.65 ± 2.99	1.72 ± 0.08	1.31 ± 0.04	4.79 ± 0.03	168.53 ± 5.96	137.87 ± 7.04	130.01 ± 2.42	403.21 ± 8.90
7	5.40×10^{8}	18.00 ± 0.10	213.50 ± 1.80	2.26 ± 0.19	1.52 ± 0.03	4.59 ± 0.03	226.58 ± 3.59	251.13 ± 6.56	169.99 ± 2.66	436.90 ± 3.02
9	4.53×10^{8}	18.00 ± 0.20	182.10 ± 4.69	2.47 ± 0.18	1.56 ± 0.04	4.87 ± 0.03	349.90 ± 8.07	758.17 ± 5.86	210.16 ± 6.42	530.10 ± 6.73
11	4.22×10^{8}	17.80 ± 0.26	168.61 ± 1.53	2.62 ± 0.03	1.70 ± 0.02	4.52 ± 0.04	765.98 ± 4.30	872.28 ± 9.06	211.31 ± 9.85	589.67 ± 1.35
14	3.30×10^{8}	17.50 ± 0.36	147.98 ± 3.30	2.87 ± 0.04	1.91 ± 0.12	4.48 ± 0.02	1002.56 ± 17.16	1540.47 ± 12.46	680.90 ± 8.39	789.58 ± 9.03
16	2.55×10^{7}	17.00 ± 0.20	134.43 ± 3.68	3.39 ± 0.02	1.97 ± 0.06	4.37 ± 0.03	1347.72 ± 22.38	2626.69 ± 3.69	950.05 ± 5.46	680.58 ± 12.98
23	3.64×10^{7}	16.70 ± 0.10	98.96 ± 0.96	4.02 ± 0.10	2.27 ± 0.03	4.31 ± 0.05	1441.80 ± 19.88	3011.64 ± 12.45	1251.35 ± 6.66	568.64 ± 6.10
31	8.15×10^{6}	16.30 ± 0.26	19.04 ± 5.75	4.40 ± 0.11	2.70 ± 0.05	3.84 ± 0.05	1643.11 ± 14.82	3333.32 ± 7.13	1519.70 ± 9.38	439.46 ± 6.36
38	4.65×10^{6}	16.10 ± 0.26	7.80 ± 0.44	4.85 ± 0.07	2.37 ± 0.04	3.87 ± 0.02	2087.29 ± 11.53	2982.21 ± 10.17	1934.37 ± 6.46	291.74 ± 6.13
45	3.45×10^{6}	15.80 ± 0.20	3.28 ± 0.18	5.54 ± 0.05	3.51 ± 0.01	3.85 ± 0.02	1743.57 ± 13.07	1283.98 ± 15.29	1613.49 ± 7.67	148.77 ± 5.35
51	2.39×10^{6}	15.40 ± 0.26	1.11 ± 0.20	6.35 ± 0.06	3.57 ± 0.03	3.72 ± 0.03	685.74 ± 7.89	887.33 ± 6.76	625.94 ± 3.76	72.45 ± 2.14
57	2.05×10^{6}	14.70 ± 0.17	0.13 ± 0.06	6.53 ± 0.07	3.64 ± 0.07	3.68 ± 0.02	152.58 ± 9.80	87.32 ± 3.97	96.40 ± 4.71	35.23 ± 5.08

ตารางที่ 4.20 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	*S. cerevisiae* YRK 017									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อ กรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	2.50×10^{7}	20.00 ± 0.20	197.36 ± 2.75	2.50 ± 0.03	1.40 ± 0.04	4.72 ± 0.05	273.03 ± 6.64	888.30 ± 1.66	54.87 ± 2.31	720.48 ± 4.56
4	8.55×10^{8}	19.00 ± 0.20	174.06 ± 5.15	3.41 ± 0.06	2.18 ± 0.03	4.58 ± 0.02	515.58 ± 6.28	924.99 ± 14.06	109.10 ± 4.17	727.33 ± 5.97
7	7.77×10^{8}	17.80 ± 0.35	117.43 ± 2.84	3.66 ± 0.05	2.26 ± 0.05	4.17 ± 0.04	1390.48 ± 7.61	1105.01 ± 10.65	359.75 ± 7.20	855.15 ± 5.00
9	4.63×10^{8}	17.00 ± 0.17	64.92 ± 5.55	3.71 ± 0.01	2.68 ± 0.02	4.34 ± 0.02	1908.17 ± 17.88	4362.63 ± 15.14	1523.49 ± 10.60	810.43 ± 8.07
11	3.25×10^{8}	15.80 ± 0.20	44.45 ± 4.01	4.63 ± 0.04	3.01 ± 0.04	4.01 ± 0.05	2189.68 ± 4.23	4752.72 ± 9.89	1767.15 ± 6.03	812.91 ± 7.91
14	1.20×10^{8}	15.00 ± 0.20	27.41 ± 2.42	5.93 ± 0.21	3.15 ± 0.05	3.81 ± 0.02	1647.17 ± 4.99	4996.88 ± 8.15	1990.91 ± 6.42	772.91 ± 6.62
16	4.50×10^{7}	14.60 ± 0.20	13.67 ± 2.54	6.53 ± 0.05	3.22 ± 0.05	3.96 ± 0.08	788.80 ± 4.63	4974.72 ± 5.15	2029.96 ± 3.85	660.76 ± 4.51
23	8.07×10^{6}	15.00 ± 0.20	4.23 ± 0.52	7.04 ± 0.05	3.32 ± 0.03	3.92 ±0.03	735.17 ± 7.02	2067.20 ± 4.60	2547.22 ± 7.34	522.96 ± 7.89
31	3.90×10^{6}	14.80 ± 0.26	0.13 ± 0.03	7.22 ± 0.05	3.49 ± 0.03	3.89 ± 0.02	569.38 ± 3.05	450.96 ± 7.65	1672.09 ± 8.98	328.55 ± 4.33
38	2.40×10^{6}	15.00 ± 0.20	0.03 ± 0.02	7.53 ± 0.06	3.75 ± 0.03	3.87 ± 0.03	341.34 ± 13.35	463.75 ± 12.71	1283.86 ± 5.78	276.13 ± 3.99

ตารางที่ 4.21 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	*S. cerevisiae* YRK 017									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อ กรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	1.52×10^8	19.90 ± 0.26	215.99 ± 8.65	3.35 ± 0.04	1.67 ± 0.03	4.56 ± 0.04	851.18 ± 8.31	3898.87 ± 9.36	580.39 ± 9.87	887.91 ± 2.56
4	1.94×10^9	18.20 ± 0.20	157.93 ± 2.62	3.91 ± 0.16	2.29 ± 0.02	4.23 ± 0.02	932.51 ± 10.02	4589.90 ± 2.15	656.32 ± 3.66	957.17 ± 6.19
7	9.93×10^8	16.00 ± 0.20	41.39 ± 6.58	4.86 ± 0.04	2.81 ± 0.04	3.72 ± 0.05	1411.49 ± 9.68	5022.95 ± 2.00	1554.96 ± 4.90	902.91 ± 11.62
9	6.84×10^8	15.00 ± 0.20	33.72 ± 3.31	5.78 ± 0.04	3.46 ± 0.01	3.89 ± 0.03	2002.23 ± 13.89	5743.08 ± 6.64	1603.47 ± 10.92	879.75 ± 7.97
11	4.54×10^8	14.00 ± 0.40	6.27 ± 0.45	6.43 ± 0.07	4.06 ± 0.05	3.72 ± 0.02	2608.06 ± 3.47	6326.60 ± 9.36	2120.54 ± 13.19	760.59 ± 13.09
14	9.77×10^7	14.00 ± 0.20	3.93 ± 0.13	6.48 ± 0.04	3.95 ± 0.06	3.69 ± 0.03	1709.74 ± 12.24	5909.65 ± 17.32	2586.48 ± 3.21	503.75 ± 6.85
16	2.47×10^7	14.20 ± 0.26	1.75 ± 0.06	6.76 ± 0.04	3.97 ± 0.02	3.89 ± 0.03	1503.51 ± 11.84	5763.56 ± 5.81	2871.90 ± 7.97	370.27 ± 6.40
23	6.63×10^6	14.00 ± 0.35	0.06 ± 0.04	7.73 ± 0.06	3.97 ± 0.04	3.84 ± 0.05	1214.97 ± 9.59	2191.78 ± 10.22	1809.58 ± 7.70	312.51 ± 9.71
31	1.35×10^6	13.40 ± 0.20	0.01 ± 0.01	7.80 ± 0.03	3.99 ± 0.03	3.85 ± 0.04	734.25 ± 3.93	1303.46 ± 14.52	1381.91 ± 13.00	262.55 ± 17.60

ตารางที่ 4.22 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส

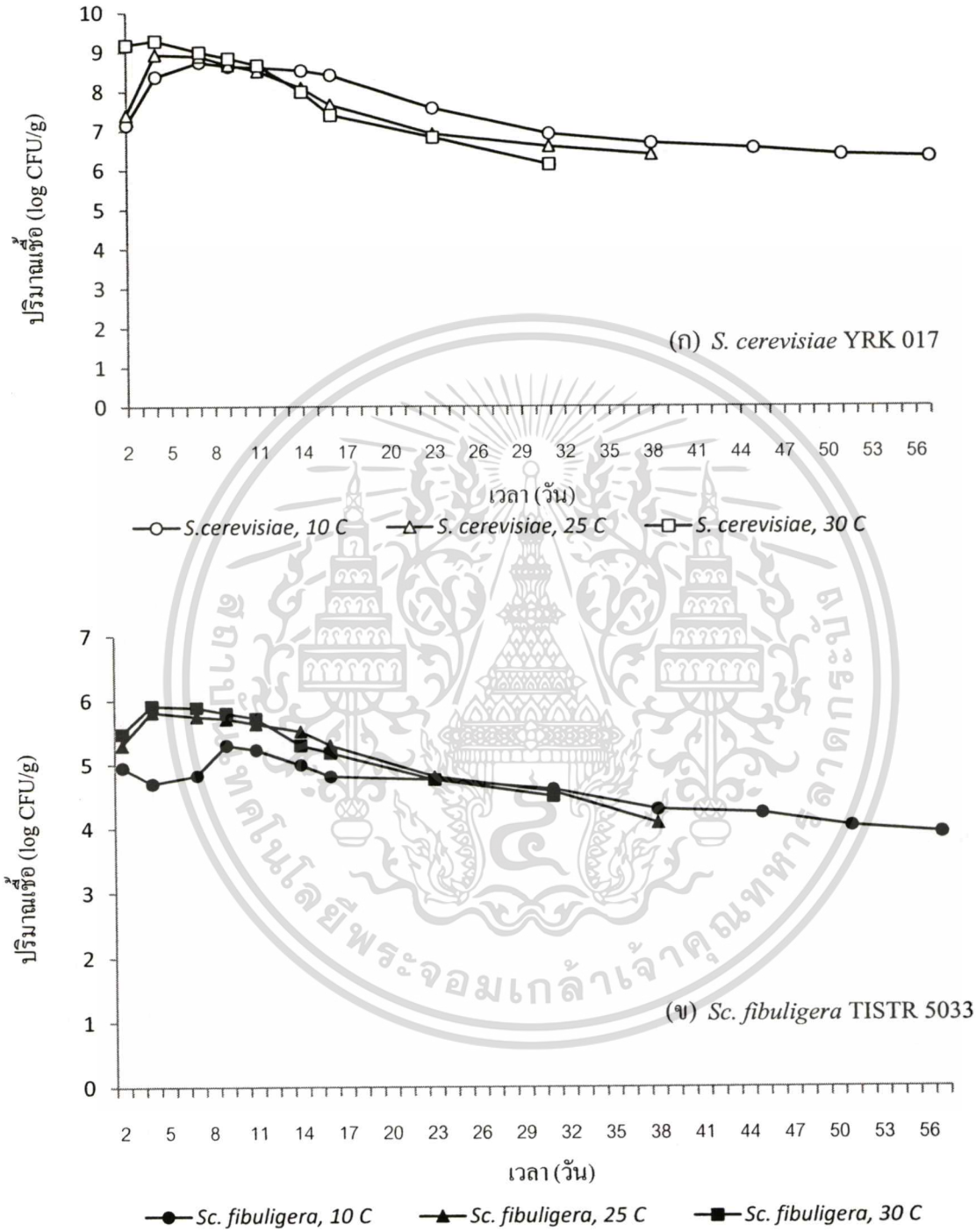
เวลา (วัน)	*Sc. fibuligera* TISTR 5033									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อ กรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	9.00×10^4	20.00 ± 0.35	242.84 ± 7.78	0.83 ± 0.05	1.13 ± 0.02	5.26 ± 0.04	155.06 ± 4.28	526.64 ± 4.66	56.08 ± 2.48	27.65 ± 2.44
4	5.05×10^4	20.00 ± 0.20	272.79 ± 12.65	0.84 ± 0.04	1.14 ± 0.05	5.19 ± 0.04	178.31 ± 2.18	772.32 ± 5.26	99.46 ± 6.32	34.79 ± 0.70
7	6.77×10^4	20.60 ± 0.20	229.90 ± 4.20	0.87 ± 0.03	1.16 ± 0.02	4.98 ± 0.03	264.49 ± 6.61	867.75 ± 3.59	114.44 ± 5.86	36.42 ± 1.81
9	2.00×10^5	21.00 ± 0.20	224.98 ± 11.33	0.92 ± 0.03	1.18 ± 0.01	5.00 ± 0.03	375.38 ± 7.46	971.13 ± 8.53	161.69 ± 2.86	37.86 ± 2.45
11	1.70×10^5	22.00 ± 0.20	203.93 ± 5.67	1.01 ± 0.02	1.22 ± 0.02	4.80 ± 0.03	493.12 ± 6.93	1448.60 ± 6.62	247.87 ± 2.81	40.55 ± 1.60
14	1.00×10^5	21.20 ± 0.10	191.34 ± 9.05	1.08 ± 0.03	1.23 ± 0.03	4.63 ± 0.03	466.5 ± 4.51	1555.52 ± 8.88	272.76 ± 3.81	49.34 ± 0.75
16	6.55×10^4	22.00 ± 0.20	188.89 ± 4.08	1.14 ± 0.02	1.22 ± 0.01	4.87 ± 0.04	577.24 ± 6.17	1608.43 ± 11.37	291.46 ± 7.94	45.26 ± 2.06
23	5.83×10^4	21.40 ± 0.20	157.46 ± 2.97	1.39 ± 0.03	1.29 ± 0.03	4.66 ± 0.03	704.98 ± 7.29	1755.49 ± 12.07	583.28 ± 13.51	38.03 ± 1..28
31	4.15×10^4	21.60 ± 0.20	55.45 ± 5.12	1.44 ± 0.02	1.34 ± 0.02	4.51 ± 0.04	891.86 ± 11.83	1986.58 ± 5.49	1118.37 ± 16.07	35.76 ± 1.68
38	2.00×10^4	21.00 ± 0.20	25.22 ± 1.64	1.53 ± 0.03	1.40 ± 0.02	4.45 ± 0.04	1411.36 ± 9.71	2009.72 ± 8.09	1314.34 ± 6.82	29.45 ± 2.37
45	1.75×10^4	20.00 ± 0.40	8.01 ± 0.14	1.72 ± 0.04	1.50 ± 0.03	4.43 ± 0.02	388.60 ± 4.93	1023.50 ± 10.91	813.92 ± 12.66	27.36 ± 2.81
51	1.10×10^4	18.80 ± 0.20	1.50 ± 0.07	1.96 ± 0.05	1.61 ± 0.02	4.39 ± 0.04	230.16 ± 8.40	482.13 ± 12.50	161.81 ± 7.10	20.87 ± 2.34
57	8.70×10^3	18.20 ± 0.20	0.56 ± 0.11	2.12 ± 0.02	1.70 ± 0.05	4.40 ± 0.02	375.38 ± 8.28	772.32 ± 11.34	291.46 ± 8.25	17.86 ± 1.25

ตารางที่ 4.23 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	*Sc. fibuligera* TISTR 5033									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อกรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	2.00×10^5	19.80 ± 0.20	194.35 ± 6.27	1.03 ± 0.03	1.15 ± 0.01	5.01 ± 0.03	435.32 ± 4.51	545.72 ± 8.21	59.98 ± 1.52	22.73 ± 0.85
4	6.54×10^5	19.60 ± 0.10	203.08 ± 3.85	1.08 ± 0.04	1.19 ± 0.03	4.81 ± 0.03	485.36 ± 8.52	1032.44 ± 6.66	153.32 ± 7.99	35.59 ± 1.14
7	5.60×10^5	19.40 ± 0.20	186.80 ± 4.06	1.13 ± 0.02	1.24 ± 0.01	4.19 ± 0.03	605.60 ± 5.65	2254.08 ± 8.06	287.13 ± 6.12	40.26 ± 3.30
9	5.13×10^5	20.00 ± 0.20	183.40 ± 8.84	1.16 ± 0.01	1.26 ± 0.04	4.10 ± 0.04	677.92 ± 2.32	2803.00 ± 13.74	371.57 ± 11.22	56.55 ± 1.97
11	4.30×10^5	18.60 ± 0.35	175.56 ± 5.60	1.28 ± 0.02	1.27 ± 0.04	4.06 ± 0.07	1726.92 ± 6.35	3596.87 ± 7.84	1597.95 ± 8.02	54.63 ± 4.59
14	3.30×10^5	18.00 ± 0.20	127.97 ± 7.93	1.35 ± 0.04	1.68 ± 0.03	3.97 ± 0.14	981.63 ± 8.71	3915.91 ± 15.06	1424.45 ± 5.86	49.84 ± 0.44
16	2.00×10^5	16.00 ± 0.20	21.24 ± 4.84	1.50 ± 0.01	2.80 ± 0.03	3.96 ± 0.05	888.39 ± 9.32	3710.80 ± 9.40	1009.22 ± 7.92	38.27 ± 2.84
23	6.50×10^4	16.50 ± 0.10	13.20 ± 2.93	1.49 ± 0.01	3.44 ± 0.04	3.99 ± 0.02	789.18 ± 4.97	3436.67 ± 11.23	754.62 ± 13.19	30.31 ± 3.72
31	3.75×10^4	16.20 ± 0.26	0.45 ± 0.08	1.56 ± 0.02	3.49 ± 0.04	3.92 ± 0.01	609.30 ± 9.86	1941.66 ± 12.06	308.56 ± 9.36	25.57 ± 1.93
38	1.22×10^4	16.80 ± 0.20	0.02 ± 0.02	2.19 ± 0.02	3.53 ± 0.04	4.00 ± 0.05	237.58 ± 7.53	774.36 ± 7.77	207.56 ± 11.22	22.62 ± 0.74

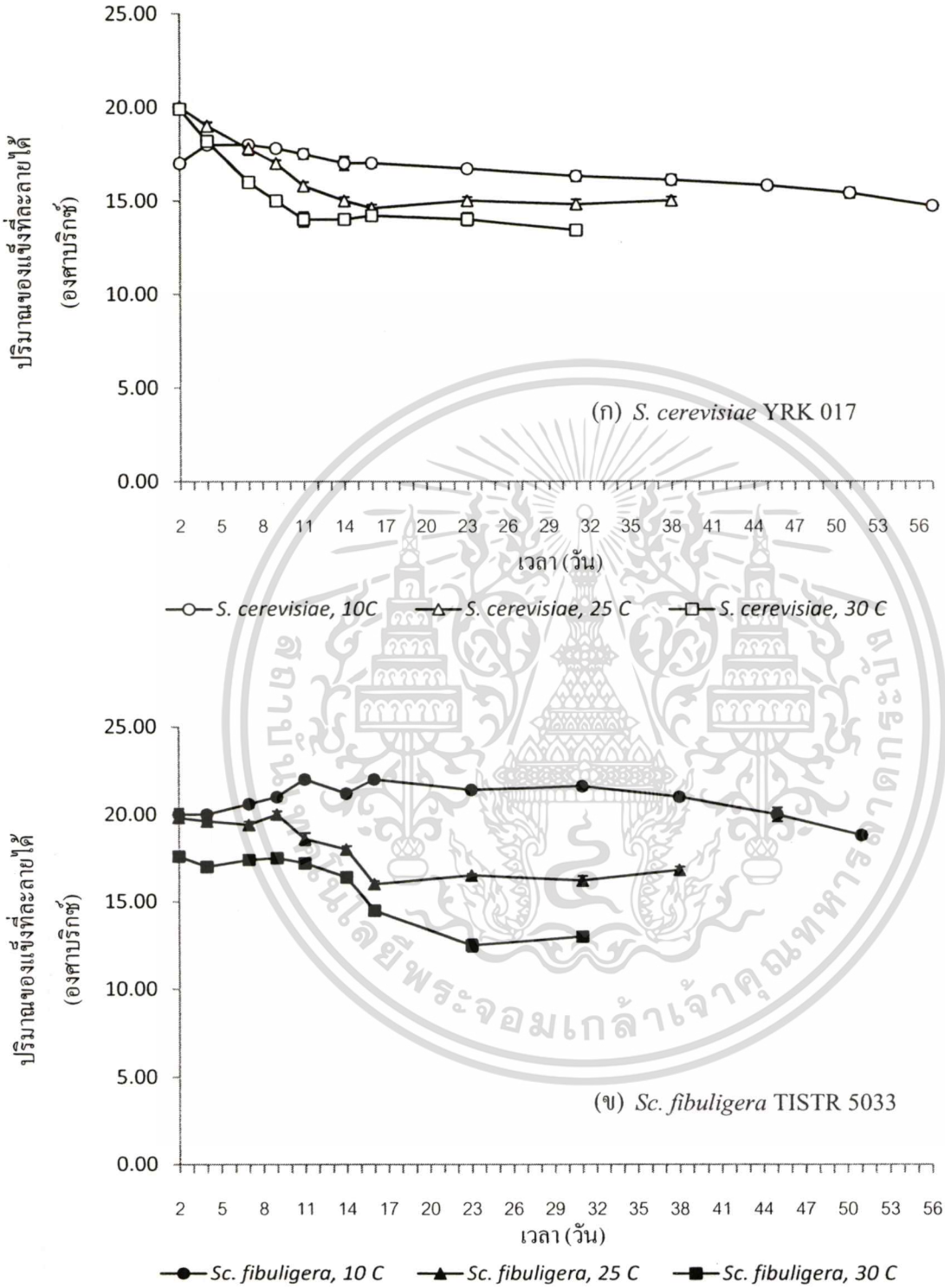
ตารางที่ 4.24 การเปลี่ยนแปลงระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส

เวลา (วัน)	*Sc. fibuligera* TISTR 5033									
	จำนวนเชื้อ (cfu ต่อกรัม)	ของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	ค่าพีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
2	3.00×10^5	17.60 ± 0.20	189.51 ± 3.63	1.04 ± 0.04	1.18 ± 0.03	4.47 ± 0.03	593.49 ± 8.20	1874.00 ± 5.31	320.89 ± 7.11	5.37 ± 0.03
4	5.05×10^5	17.00 ± 0.10	196.15 ± 6.71	1.13 ± 0.03	1.21 ± 0.03	4.37 ± 0.03	729.93 ± 3.89	2887.53 ± 7.39	344.29 ± 5.12	31.25 ± 1.92
7	7.80×10^5	17.40 ± 0.26	176.02 ± 9.97	1.25 ± 0.02	1.26 ± 0.02	4.18 ± 0.02	937.12 ± 9.51	3867.65 ± 7.79	981.31 ± 13.64	48.35 ± 1.52
9	6.37×10^5	17.50 ± 0.10	150.52 ± 5.23	1.39 ±0.04	1.34 ± 0.02	3.83 ± 0.02	1088.97 ± 4.25	4042.08 ± 6.70	1285.55 ± 10.90	61.17 ± 2.20
11	5.25×10^5	17.20 ± 0.17	145.27 ± 9.35	1.48 ± 0.02	1.67 ± 0.03	3.81 ± 0.01	1921.48 ± 12.90	4298.08 ± 7.65	1779.58 ± 6.16	56.79 ± 1.76
14	4.80×10^5	16.40 ± 0.26	87.63 ± 2.98	1.31 ± 0.02	2.74 ± 0.02	3.75 ± 0.05	1183.73 ± 7.45	3991.04 ± 7.41	1591.22 ± 15.76	40.97 ± 2.73
16	5.02×10^5	14.50 ± 0.10	18.29 ± 2.04	1.56 ± 0.05	2.95 ± 0.08	3.71 ± 0.02	961.72 ± 19.34	3390.64 ± 18.72	1247.75 ± 7.83	33.63 ± 2.44
23	3.20×10^5	12.50 ± 0.36	1.16 ± 0.03	1.88 ± 0.03	3.43 ± 0.02	3.66 ± 0.03	862.77 ± 6.38	3028.46 ± 6.78	1090.85 ± 7.78	27.39 ± 2.71
31	1.60×10^5	13.00 ± 0.20	0.05 ± 0.03	2.52 ± 0.04	3.65 ± 0.04	3.70 ± 0.02	461.56 ± 9.30	886.56 ± 6.61	883.59 ± 5.95	20.11 ± 3.31



รูปที่ 4.23 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ (ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.24 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.3 ปริมาณกลูโคส

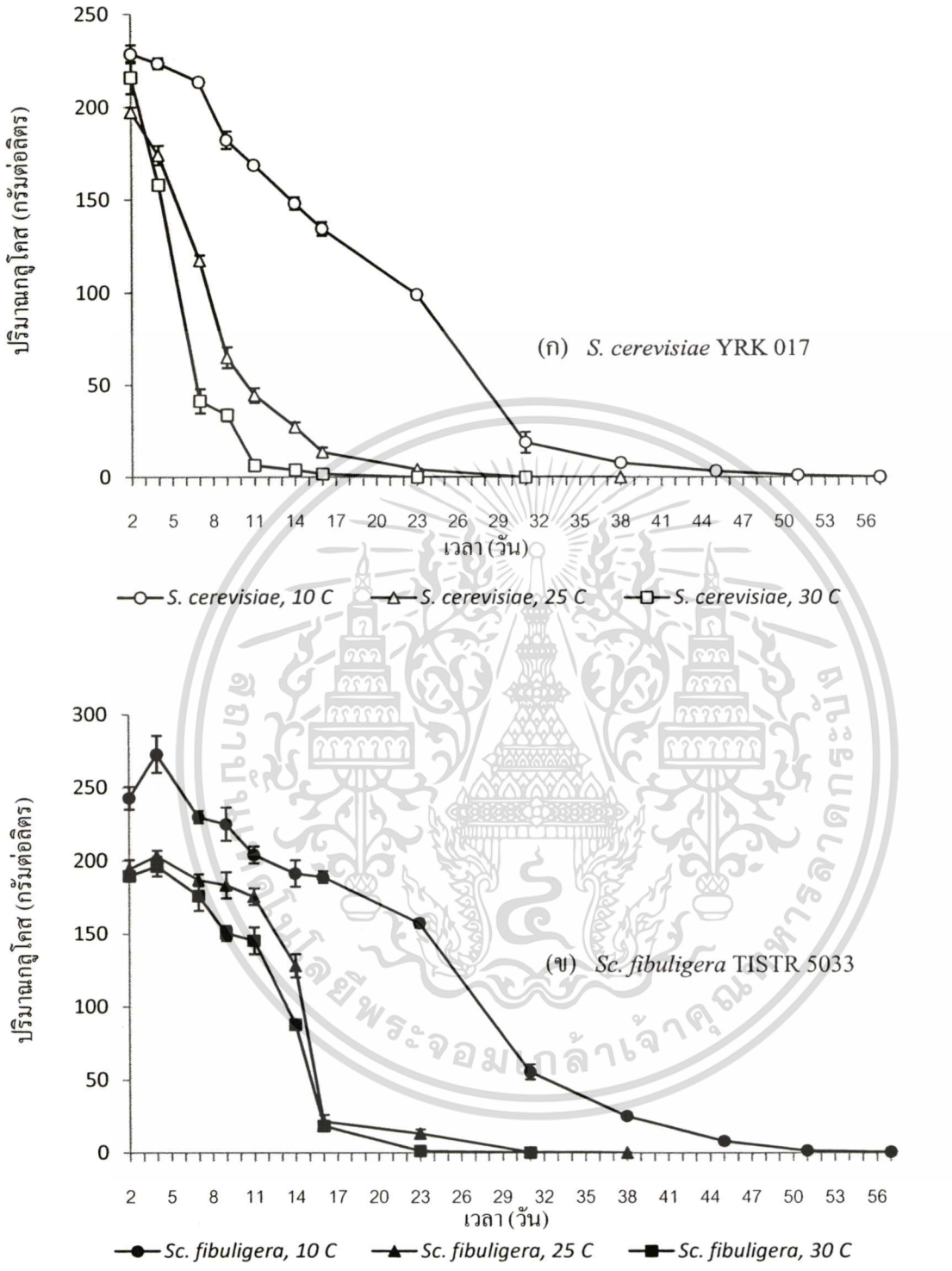
จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าปริมาณน้ำตาลกลูโคสลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยพบว่าการหมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลือเพียง 0.13 กรัมต่อลิตรที่ 57 วัน ขณะที่หมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เหลือปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.03 กรัมต่อลิตรที่ 38 วัน และปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลือเพียง 0.01 กรัมต่อลิตร เมื่อหมักเป็นเวลา 31 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส สำหรับการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 พบว่าการหมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.56 กรัมต่อลิตร ที่ 57 วัน เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.02 กรัมต่อลิตร ที่ 38 วัน และเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เหลือปริมาณน้ำตาลกลูโคส 0.05 กรัมต่อลิตร เมื่อหมักเป็นเวลา 31 วัน แสดงดังรูปที่ 4.25 จากการทดลองพบว่าการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส การหมักจะเกิดขึ้นอย่างรวดเร็ว ทำให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเหลือน้อยและใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

4.6.4 ปริมาณกลีเซอรอล

เมื่อหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าปริมาณกลีเซอรอลเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการหมัก โดยพบว่าการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีผลทำให้ปริมาณกลีเซอรอลสูงกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 10 องศาเซลเซียส สำหรับการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิต่างๆ ให้ผลเช่นเดียวกับการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 แต่ปริมาณกลีเซอรอลจะมีน้อยกว่าการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 แสดงดังรูปที่ 4.26

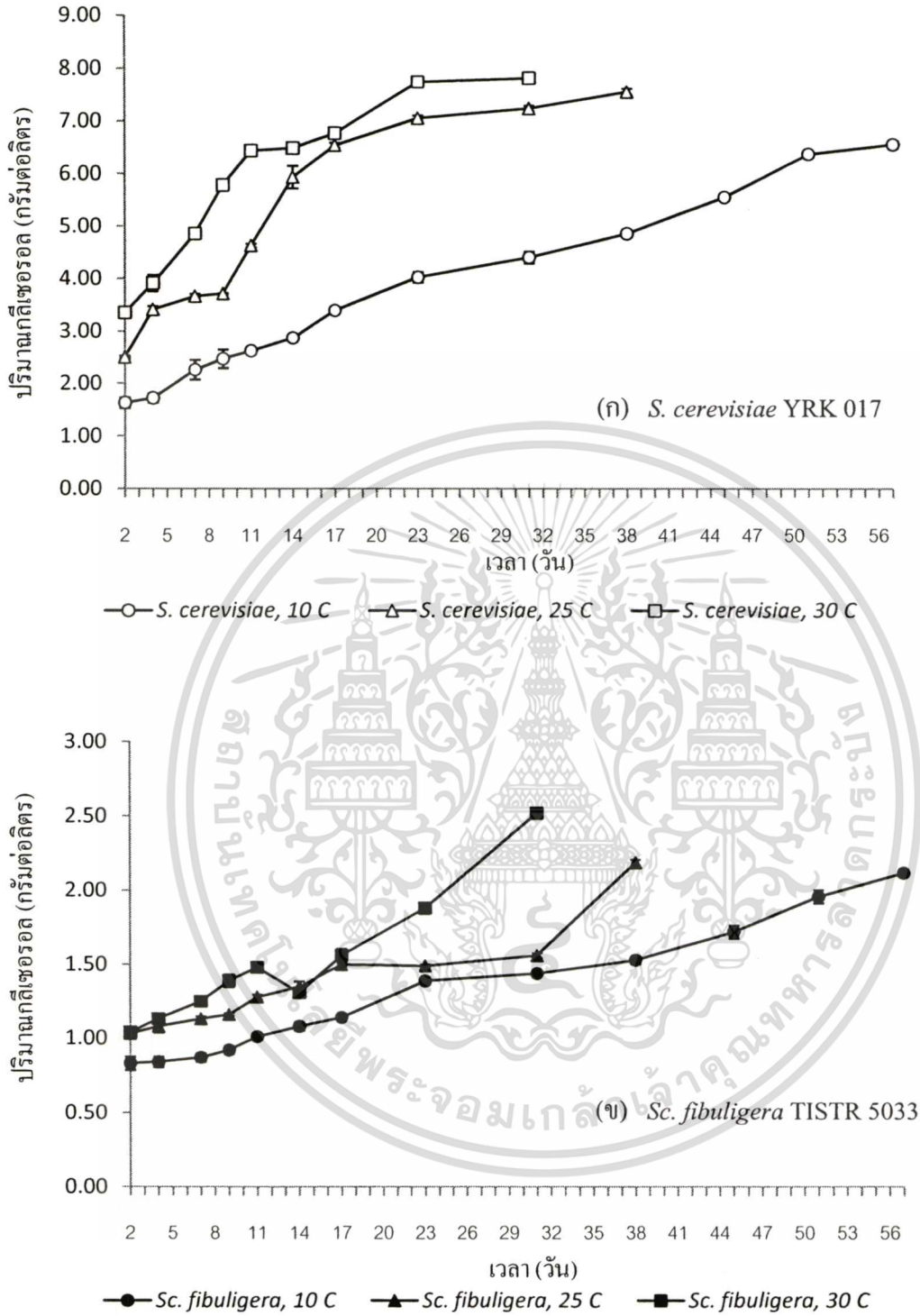
Yalkin และ Ozbas (2008) รายงานว่าเมื่อหมักยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ Kalecik 1 และสายพันธุ์ Narince 3 ที่อุณหภูมิ 20 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และมีปริมาณกลีเซอรอลมากที่สุดเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ขณะที่ Torija และคณะ (2003b) รายงานว่า เมื่อหมักไวน์ที่อุณหภูมิ 15 20 25 30 และ 35 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกลีเซอรอลเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิสูงขึ้น และมีปริมาณสูงสุดเมื่อหมักที่ 35 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.25 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลูโคสจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกลีเซอรอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.5 ปริมาณเอทานอล

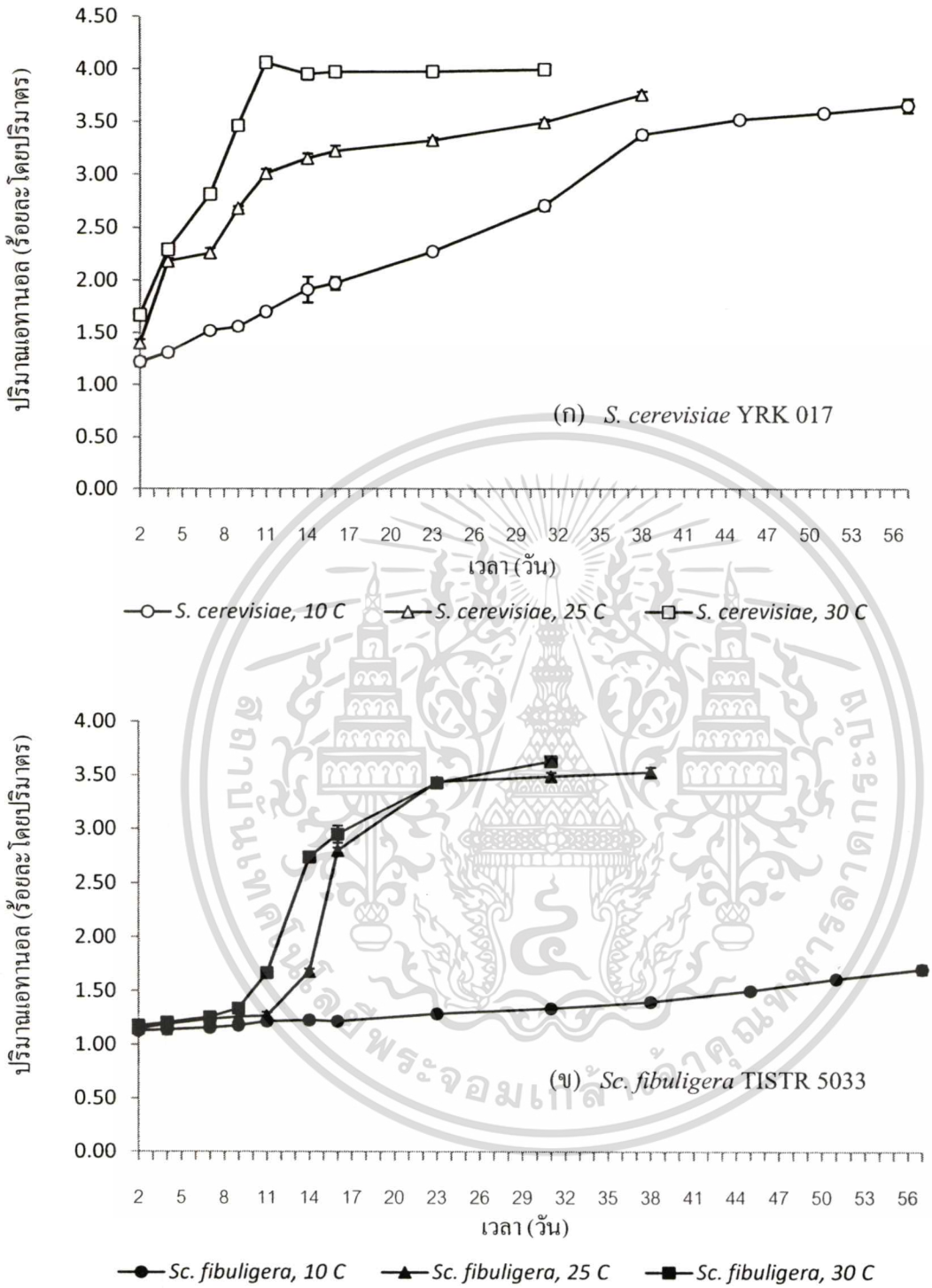
จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 10 องศาเซลเซียส โดยการหมักที่ 30 องศาเซลเซียสให้ปริมาณเอทานอลร้อยละ 3.99 โดยปริมาตรเมื่อหมักเป็นเวลา 31 วัน ขณะที่การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสให้ปริมาณเอทานอลสูงกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 10 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกัน แต่ปริมาณเอทานอลต่ำกว่าการหมักด้วย *S. cerevisiae* YRK 017 โดยพบว่ามีปริมาณเอทานอลร้อยละ 3.65 โดยปริมาตร เมื่อหมักเป็นเวลา 31 วัน ที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส แสดงดังรูปที่ 4.27

Ribereau และคณะ (2000) และ Torija และคณะ (2003b) กล่าวว่าปริมาณเอทานอลจะลดลงเมื่อหมักไวน์ที่อุณหภูมิสูงขึ้น และระยะเวลาในการหมักจะเกิดเร็วขึ้นเมื่อหมักที่อุณหภูมิสูง การที่เอทานอลมีปริมาณลดลงเนื่องจากมีสารชนิดอื่นมากขึ้นเมื่อหมักที่อุณหภูมิสูง สารเหล่านี้เกิดจากวิถีเมตาบอลิซึม ได้แก่ กลีเซอรอล กรดอะซีติก และอะซีทัลดีไฮด์ (Llaurado . 2002)

4.6.6 ค่าพีเอช

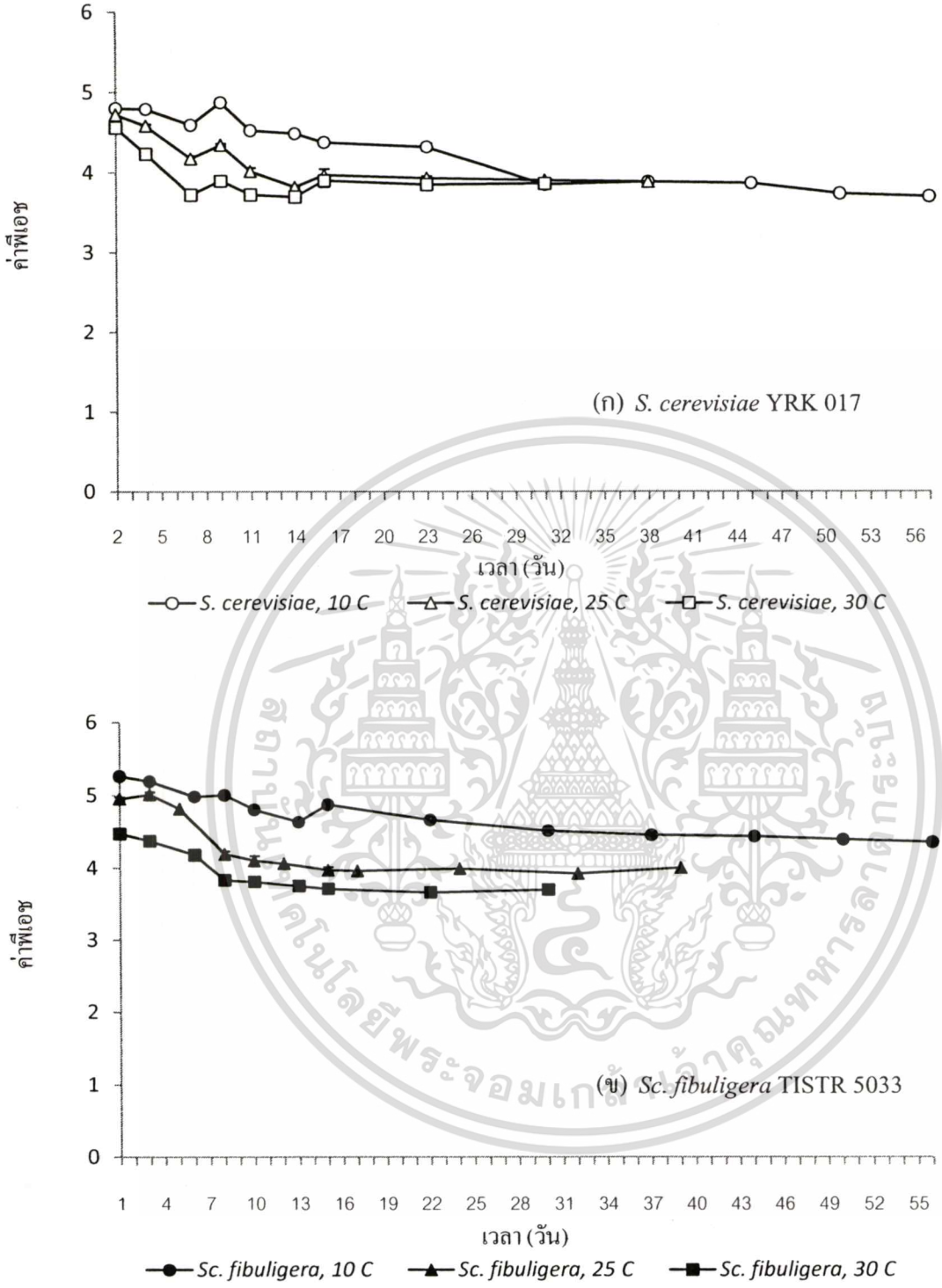
การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าการเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชมีแนวโน้มลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยเฉพาะการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ค่าพีเอชลดลงมากกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 10 องศาเซลเซียส และเมื่อหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ทำให้ไวน์ข้าวที่ได้มีค่าพีเอชต่ำกว่าการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ทุกอุณหภูมิของการหมัก แสดงดังรูปที่ 4.28

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.27 การเปลี่ยนแปลงปริมาณเอทานอลจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ(ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.28 การเปลี่ยนแปลงค่าพีเอชจากการหมักข้าวเหนียวด้วย (ก) *S. cerevisiae* YRK 017 และ (ข) *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.7 กรดอินทรีย์

วิเคราะห์ปริมาณกรดอินทรีย์ที่เกิดขึ้นระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 สามารถผลิตกรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดอะซิติกได้ โดยพบว่าเมื่อหมักไวน์ข้าวที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดซัคซินิกจะมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น และสูงสุดในวันที่ 38 ของการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 โดยมีค่า 2087.29 และ 1411.36 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณกรดซัคซินิกลดลง เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส กรดซัคซินิกมีปริมาณเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 11 ของการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 โดยมีค่า 2189.68 และ 1726.92 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณกรดซัคซินิกลดลง เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส กรดซัคซินิกมีปริมาณเพิ่มขึ้นและปริมาณสูงสุดในวันที่ 11 ของการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 โดยมีค่า 2608.06 และ 1921.48 มิลลิกรัมต่อลิตร ตามลำดับ หลังจากนั้นปริมาณกรดซัคซินิกจะลดลงเช่นกัน เมื่อเปรียบเทียบกรดซัคซินิกที่เชื้อทั้งสองผลิตได้พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตกรดซัคซินิกได้มากกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เมื่อหมักที่อุณหภูมิเดียวกัน แสดงดังรูปที่ 4.29 (ก)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดมาลิกระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดเพิ่มขึ้นตามระยะการหมัก และมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 31 คือ 3333.32 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดมาลิกลดลง การหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดมาลิกสูงสุดในวันที่ 14 คือ 4996.88 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดมาลิกลดลง การหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดมาลิกสูงสุดในวันที่ 11 คือ 6326.60 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดมาลิกลดลง สำหรับการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดมาลิกเช่นเดียวกับเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยพบว่าเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดมาลิกสูงสุดในวันที่ 38 คือ 2009.72 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดลดลง การหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดมาลิกสูงสุดในวันที่ 14 คือ 3915.91 มิลลิกรัมต่อลิตร การหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดมาลิกสูงสุดในวันที่ 11 คือ 4298.98 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดมาลิกลดลง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณกรดมาลิกที่เชื้อทั้งสองผลิตได้ พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตกรดมาลิกได้สูงกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เมื่อหมักที่อุณหภูมิเดียวกัน ดังแสดงในรูปที่ 4.29 (ข)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติกระหว่างการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดแลคติกเพิ่มขึ้นตามระยะเวลาการหมัก และมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 38 คือ 1934.37 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดแลคติกลดลง

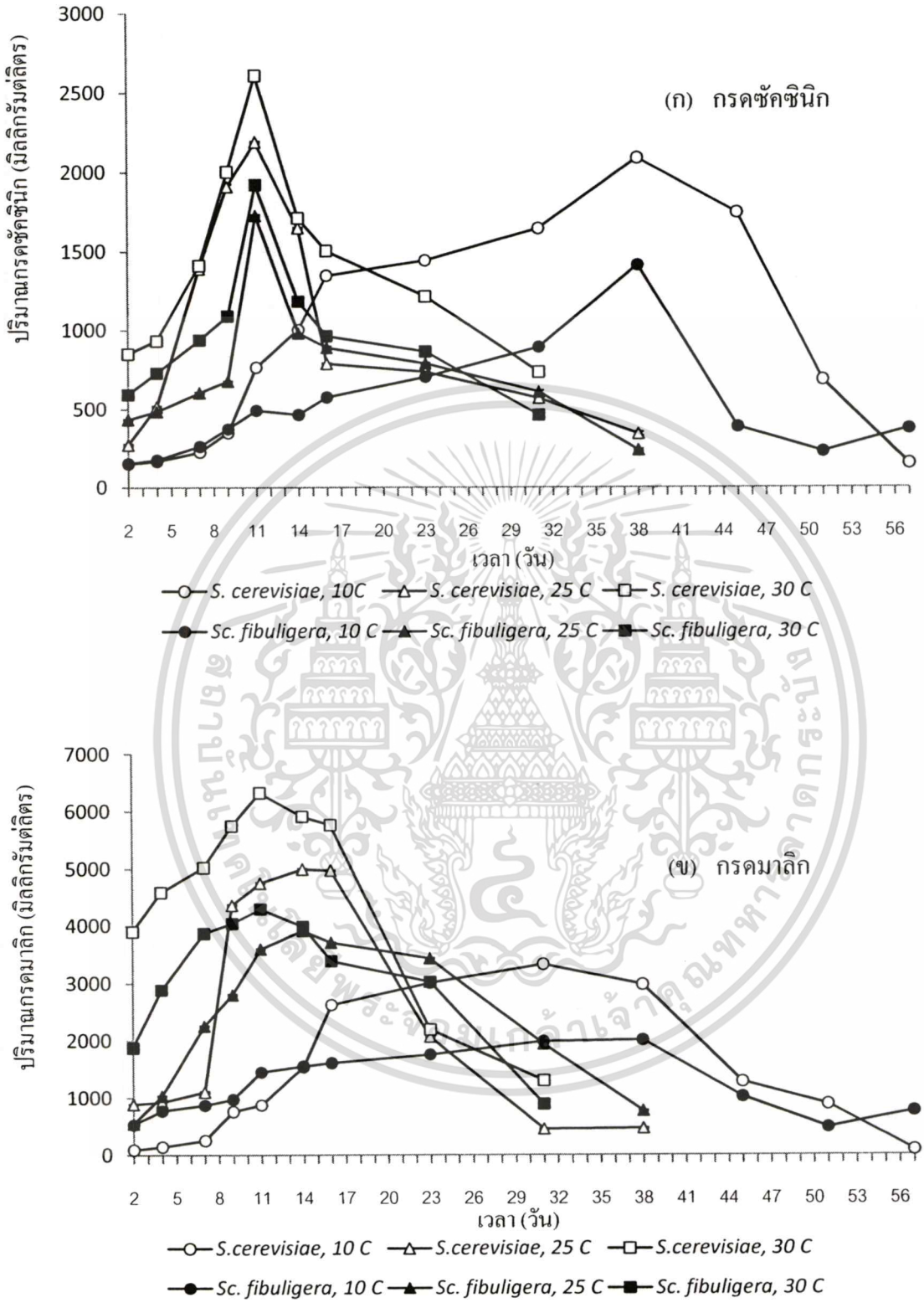
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในวันที่ 23 คือ 2547.22 มิลลิกรัมต่อลิตร การหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในวันที่ 16 คือ 2871.90 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดแลคติกจะลดลง สำหรับการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติกเช่นเดียวกับเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 โดยพบว่า เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในวันที่ 38 คือ 1314.34 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดแลคติกจะลดลง การหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดแลคติกสูงสุดในวันที่ 11 คือ 1597.95 และ 1779.58 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดแลคติกจะลดลง เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตกรดแลคติกได้สูงกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เมื่อหมักที่อุณหภูมิเดียวกัน แสดงดังรูป 4.29 (ค)

การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอะซีติกระหว่างการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณกรดอะซีติกเพิ่มขึ้นและมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 14 คือ 789.58 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นจะลดปริมาณลง การหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส มีปริมาณสูงสุดในวันที่ 11 คือ 812.91 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส มีปริมาณกรดอะซีติกสูงสุดในวันที่ 4 คือ 957.17 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดอะซีติกจะลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก สำหรับการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียส ให้ปริมาณกรดอะซีติกสุงสุดในวันที่ 14 คือ 49.34 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณจะลดลง เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดอะซีติกสูงสุดในวันที่ 9 คือ 56.55 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณกรดอะซีติกสูงสุดในวันที่ 9 คือ 61.17 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดอะซีติกจะลดลง แสดงดังรูปที่ 4.29 (ง) การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตกรดอะซีติกได้สูงกว่าการหมักด้วยเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เมื่อหมักที่อุณหภูมิเดียวกัน

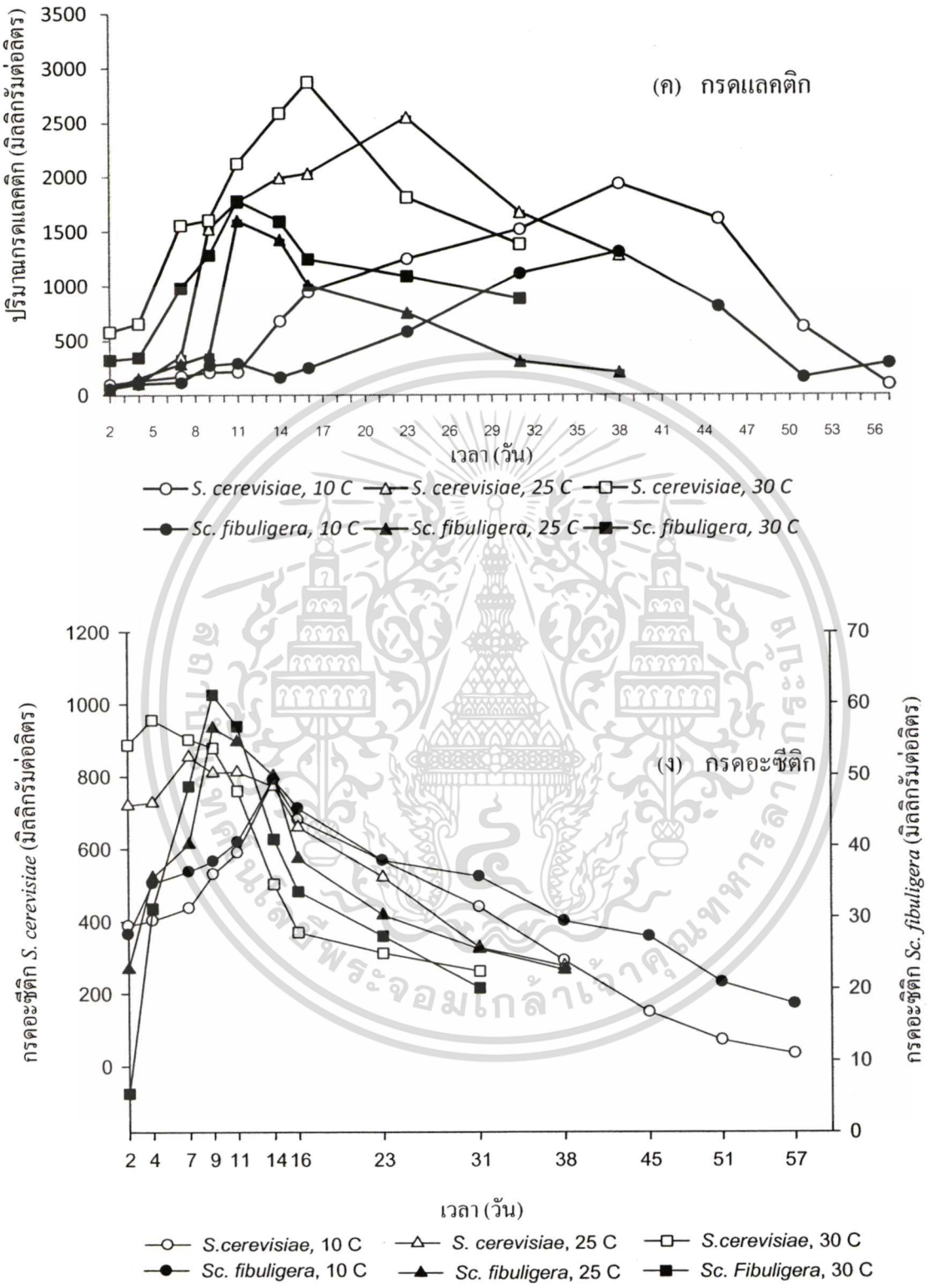
เมื่อพิจารณาปริมาณกรดอินทรีย์ที่เชื้อทั้งสองชนิดผลิตได้ พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตปริมาณกรดชนิดต่างๆ ได้มากกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ระหว่างการหมักไวน์ข้าวโดยผลิตกรดมาลิกได้สูงสุด รองลงมาเป็นกรดซัคซินิกและกรดแลคติก สำหรับกรดอะซีติก ยีสต์ทั้งสองชนิดผลิตได้ค่อนข้างน้อย การหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิต่างๆ พบว่าเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 สามารถผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ได้ปริมาณสูงเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และใช้เวลาในการผลิตกรดอินทรีย์เหล่านี้สั้นกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 และ 10 องศาเซลเซียส ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.29 การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (ก) ซัคซินิก (ข) มาลิก (ค) แลคติก และ (ง) อะซีติก จากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.29 (ต่อ) การเปลี่ยนแปลงปริมาณกรด (ก) ซัคซินิก (ข) มาลิก (ค) แลคติก และ (ง) อะซีติกจากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10, 25 และ 30 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณสารให้กลิ่นรสที่พบในไวน์ข้าวแสดงดังตารางที่ 4.25 เมื่อหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิสูงขึ้น เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 จะผลิตสารให้กลิ่นรสประเภทฟูเซลออยล์ได้มากขึ้น เช่น ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ไอโซบิวทานอล และโพรพานอล โดยผลิตไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ได้สูง รองลงมาเป็นไอโซบิวทานอลและโพรพานอล ตามลำดับ เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 สามารถผลิตฟูเซลออยล์ทุกชนิดมากกว่าเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 เมื่อหมักที่อุณหภูมิเดียวกัน ยกเว้นปริมาณโพรพานอลเมื่อหมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส

การผลิตเอสเทอร์ ได้แก่ เอทิลอะซีเตท จะให้ปริมาณสูงสุดเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และมีปริมาณลดลงเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 และ 30 องศาเซลเซียส ปริมาณเอทิล-อะซีเตทที่เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส มีความแตกต่างทางสถิติอย่างมีนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 โดยพบว่าที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสมีปริมาณเอทิลอะซีเตทสูงที่สุด เมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 และ 30 องศาเซลเซียสมีปริมาณเอทิลอะซีเตทน้อยลงเนื่องจากอุณหภูมิในการหมักต่ำและสูงเกินไปไม่เหมาะสมต่อการผลิตสารในกลุ่มนี้ สำหรับเชื้อ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ผลิตเอทิลอะซีเตทสูงสุดเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และลดลงเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 และ 30 องศาเซลเซียสเช่นเดียวกับการใช้ *S. cerevisiae* YRK 017

สารประกอบอื่นๆ ได้แก่ กรดอินทรีย์ กลีเซอรอล และเอทานอล พบว่ามีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการหมักเพิ่มขึ้น ซึ่งสารเหล่านี้ส่งผลต่อกลิ่นรสของไวน์ข้าว ดังนั้นการเลือกใช้อุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักจะทำให้ได้ไวน์ข้าวมีกลิ่นรสที่ดี หากใช้อุณหภูมิสูงเกินไปทำให้มีปริมาณฟูเซลออยล์และปริมาณกรดเพิ่มขึ้นซึ่งอาจส่งผลเสียต่อไวน์ข้าวได้ ถ้าฟูเซลออยล์มีความเข้มข้นต่ำกว่า 300 มิลลิกรัมต่อลิตรจะทำให้ไวน์มีกลิ่นรสที่ซับซ้อน ถ้าหากเกิน 400 มิลลิกรัมต่อลิตรจะส่งผลเสียต่อกลิ่นรสของไวน์ (Rapp และ Mandery. 1986) ขณะที่ปริมาณกรดที่เพิ่มขึ้นจากการหมักไวน์ข้าวที่อุณหภูมิสูงทำให้ไวน์ข้าวมีรสชาติเปรี้ยวเกินไปไม่เป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

อุลัยวรรณ์และคณะ (2548) พบว่าเมื่ออุณหภูมิในการหมักไวน์แดงสูงขึ้น ทำให้สารในกลุ่มฟูเซลออยล์ โพรพานอล และฟีเนทิลแอลกอฮอล์มีปริมาณสูง โดยมีปริมาณสูงสุดเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 35 องศาเซลเซียส สำหรับบิวทานอล ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ และเฮพทานอล พบในปริมาณสูงเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส และสารกลุ่มเอสเทอร์มีปริมาณสูงสุดเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ขณะที่ Iconomopoulou และคณะ (2002) พบว่าการหมักไวน์ข้าวที่อุณหภูมิต่ำ ทำให้ปริมาณโพรพานอล ไอโซบิวทานอล และเอมิลแอลกอฮอล์มีน้อย ขณะที่ปริมาณเอทิลอะซีเตทมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้น จากผลการทดลองที่ได้พบว่าการหมักที่อุณหภูมิ 10 องศาเซลเซียสให้ปริมาณเอทิลอะซีเตทต่ำกว่าการหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส อาจเป็นไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่าเชื้อที่นำมาใช้ในการทดลองสามารถผลิตเอทิลอะซีเตทได้สูงในช่วงอุณหภูมิ 15-20 องศาเซลเซียส ซึ่งในการทดลองไม่ได้ศึกษาในช่วงอุณหภูมินี้

จากการศึกษาความสามารถในการผลิตแอลกอฮอล์และผลิตสารให้กลิ่นรสระหว่างการหมักไวน์ข้าว จึงได้คัดเลือกเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มาใช้ในการศึกษาต่อไป

ตารางที่ 4.25 ปริมาณสารระเหยและสารให้กลิ่นรสจากการหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส

สารประกอบที่พบในไวน์ข้าว	*S. cerevisiae* YRK 017			*Sc. fibuligera* TISTR 5033		
	10 °C	25 °C	30 °C	10 °C	25 °C	30 °C
เอสเทอร์*						
เอทิลอะซีเตท	9.46 ^{c} ± 0.12	13.90 ^{a} ± 0.17	11.28 ^{b} ± 0.14	2.02 ^{e} ± 0.10	4.19 ^{d} ± 0.12	0.94 ^{e} ± 0.16
ไอโซเอมิลอะซีเตท	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00	0.00
ฟูเซลออยล์*						
ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์	125.21 ^{c} ± 1.02	153.69 ^{b} ± 1.00	162.75 ^{a} ± 0.97	31.11 ^{f} ± 0.34	38.62 ^{e} ± 0.31	56.60 ^{d} ± 0.26
ไอโซบิวทานอล	20.86 ^{d} ± 0.12	30.62 ^{b} ± 0.25	34.84 ^{a} ± 0.34	6.09 ^{f} ± 0.10	13.50 ^{e} ± 0.30	22.77 ^{c} ± 0.21
โพรพานอล	2.012 ^{e} ± 0.09	13.91 ^{c} ± 0.16	24.10 ^{a} ± 0.21	3.84 ^{d} ± 0.17	14.20 ^{c} ± 0.16	18.19 ^{b} ± 0.23
กรด*						
กรดซัคซินิก	152.58 ^{f} ± 9.80	341.34 ^{d} ± 13.35	734.25 ^{a} ± 3.93	375.38 ^{c} ± 8.28	237.58 ^{e} ± 7.53	461.56 ^{b} ± 9.30
กรดมาลิก	87.32 ^{f} ± 3.97	463.75 ^{e} ± 12.71	1303.46 ^{a} ± 14.52	772.32 ^{d} ± 11.34	774.36 ^{c} ± 7.77	886.56 ^{b} ± 6.61
กรดแลคติก	96.40 ^{f} ± 4.71	1283.86 ^{b} ± 5.78	1381.91 ^{a} ± 13.00	291.46 ^{d} ± 8.25	207.56 ^{e} ± 11.22	883.59 ^{c} ± 5.95
กรดอะซีติก	35.23 ^{c} ± 5.08	276.13 ^{a} ± 3.99	262.55 ^{b} ± 19.60	17.86 ^{f} ± 1.25	22.62 ^{d} ± 0.74	20.11 ^{e} ± 3.31
กลูโคส**	0.13 ^{b} ± 0.06	0.03 ^{bc} ± 0.02	0.01 ^{c} ± 0.01	0.56 ^{a} ± 0.11	0.02 ^{c} ± 0.02	0.05 ^{bc} ± 0.03
กลีเซอรอล**	6.53 ^{a} ± 0.07	7.53 ^{a} ± 0.06	7.80 ^{a} ± 0.03	2.12 ^{b} ± 0.02	2.19 ^{b} ± 0.02	2.52 ^{b} ± 0.04
เอทานอล (% v/v)	3.64 ^{a} ± 0.07	3.75 ^{a} ± 0.03	3.99 ^{a} ± 0.07	1.70 ^{b} ± 0.05	3.53 ^{a} ± 0.04	3.65 ^{a} ± 0.04

หมายเหตุ เมื่อพิจารณาในแนวนอน ตัวอักษรเหมือนกันแสดงว่าไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 ตัวอักษรต่างกันแสดงว่าแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95

*หมายถึง มิลลิกรัมต่อลิตร ** หมายถึง กรัมต่อลิตร

4.7 ศึกษาบทบาทของการใช้เชื้อยีสต์และเชื้อราร่วมกันในการผลิตสารให้กลิ่นรสของไวน์ข้าว

จากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 ซึ่งมีความสามารถในการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลได้ดีและผลิตสารให้กลิ่นรสที่ดี เป็นเวลา 3 วัน เติมน้ำปลอดเชื้อเพื่อปรับให้ได้ 20 องศาบริกซ์ จากนั้นเติมยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ซึ่งมีความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์และการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลิตสารให้กลิ่นรสที่ดี หมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน ผลการทดลองพบว่าการเปลี่ยนแปลงปริมาณเชื้อระหว่างการหมักไวน์ข้าว พบว่ามีปริมาณเชื้อซึ่งพบว่าเป็นเชื้อยีสต์สูงสุดในวันที่ 3 โดยมีปริมาณ 5.74 x 10^8 cfu ต่อกรัม หลังจากนั้นปริมาณเชื้อลดลง ในวันที่ 14 มีปริมาณเชื้อ 4.5 x 10^6 cfu ต่อกรัม ปริมาณของแข็งที่ละลายได้และปริมาณน้ำตาลกลูโคส 5.60 องศาบริกซ์ และ 0 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ ปริมาณกลีเซอรอลและปริมาณเอทานอลจะเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลาการหมักทำให้ในวันที่ 14 มีปริมาณกลีเซอรอล 13.32 กรัมต่อลิตร และปริมาณ เอทานอลร้อยละ 6.78 โดยปริมาตร ถึงแม้ว่ากลีเซอรอลจะไม่ส่งผลต่อกลิ่นรสของไวน์โดยตรง แต่อาจส่งผลได้โดยขึ้นอยู่กับความเข้มข้นของกลีเซอรอลและลักษณะของไวน์ เช่น ในไวน์ขาวพบว่าความเข้มข้นต่ำสุดของกลีเซอรอลที่มนุษย์สามารถรับรู้ได้มีค่าเท่ากับ 5.2 กรัมต่อลิตร (Šehovic และคณะ. 2004) อย่างไรก็ตาม ผลของกลีเซอรอลต่อคุณภาพไวน์ในด้านต่างๆ เกิดจากข้อสังเกตเพียงเล็กน้อยในการทดลอง จึงจำเป็นต้องมีการศึกษาต่อไป ตัวอย่างเช่น การวิจัยเรื่องผลของกลีเซอรอลในไวน์ต่อความรู้สึกในปากและลำคอ (mouth-feel) ผลของกลีเซอรอลต่อความหนืดของไวน์ซึ่งอาจแปรผันได้เนื่องจากความไม่สม่ำเสมอของผู้ทดสอบชิม

ค่าพีเอชของไวน์ข้าวมีค่าลดลงตลอดระยะเวลาการหมัก โดยพบว่าไวน์ข้าวมีค่าพีเอช 3.58 ในวันที่ 14 ของการหมัก สำหรับการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดอินทรีย์พบว่า กรดซัคซินิกมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 12 คือ 1255.67 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดจะลดลง กรดมาลิกมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 7 คือ 4380.33 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดจะลดลง ปริมาณกรดแลคติกมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 12 คือ 4501.65 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดลดลง สำหรับปริมาณกรดอะซีติกมีปริมาณสูงสุดในวันที่ 7 คือ 1915.75 มิลลิกรัมต่อลิตร หลังจากนั้นปริมาณกรดจะลดลงเหลือ 1277.82 กรัมต่อลิตร แสดงดังตารางที่ 4.26 มาตรฐานของต่างประเทศกำหนดความเข้มข้นของกรดอะซีติกในไวน์ต้องไม่เกิน 1.5 กรัมต่อลิตร (Anonymous. 2010a) และถ้ามีความเข้มข้นมากกว่า 1.2-1.3 กรัมต่อลิตรจะทำให้ไวน์มีกลิ่นรสไม่ดี (Anonymous. 2010b) จากการทดลองพบว่าไวน์ข้าวที่ได้มีปริมาณกรดอะซีติกอยู่ในช่วงตามมาตรฐานดังกล่าว

ปริมาณสารระเหยที่พบในไวน์ข้าวที่หมักด้วย *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน แสดงดังตารางที่ 4.27 โดยพบว่ามีปริมาณไอโซเอมิลแอลกอฮอล์มากที่สุด 216.36 มิลลิกรัมต่อลิตร รองลงมาคือ ไอโซบิวทานอล 147.34 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรพานอล 14.85 มิลลิกรัมต่อลิตร และ เอทิลอะซีเตท 9.37 มิลลิกรัมต่อลิตร มาตรฐานมอก. 2089-2544 กำหนดความเข้มข้นของเอสเทอร์ มีค่าไม่เกิน 1200 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟูเซลออยล์ มีค่าไม่เกิน 2500 มิลลิกรัมต่อลิตร ไวน์ข้าวที่ได้มีเอสเทอร์ความเข้มข้นรวม 9.37 มิลลิกรัมต่อลิตร และฟูเซลออยล์ความเข้มข้นรวม 378.55 มิลลิกรัมต่อลิตร ซึ่งอยู่ในช่วงมาตรฐานตามที่ มอก.กำหนด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.26 การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ปริมาณกลูโคส กลีเซอรอลและเอทานอล ค่าพีเอชและกรดอินทรีย์ที่พบในไวน์ข้าวจากการหมักด้วยเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 14 วัน

วัน	ปริมาณเชื้อ (cfu ต่อกรัม)	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	กลูโคส (กรัมต่อลิตร)	กลีเซอรอล (กรัมต่อลิตร)	เอทานอล (ร้อยละโดยปริมาตร)	พีเอช	กรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)	กรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)
3	5.74×10^8	15.25 ± 0.14	141.32 ± 5.60	6.54 ± 0.13	2.76 ± 0.07	4.25 ± 0.01	245.33 ± 6.55	2646.56 ± 8.47	2177.44 ± 4.55	805.93 ± 7.72
5	2.60×10^8	10.85 ± 0.10	36.19 ± 3.51	9.80 ± 0.08	4.33 ± 0.01	4.03 ± 0.06	421.78 ± 5.71	4120.49 ± 12.10	2426.97 ± 5.10	1029.92 ± 5.50
7	1.23×10^7	7.25 ± 0.04	0.08 ± 0.01	12.39 ± 0.06	5.97 ± 0.04	3.75 ± 0.04	806.12 ± 8.90	4380.33 ± 16.58	3403.70 ± 7.73	1915.75 ± 6.07
10	1.01×10^7	6.00 ± 0.02	0 ± 0.00	12.23 ± 0.04	6.31 ± 0.02	3.64 ± 0.02	1120.35 ± 10.33	3130.04 ± 7.07	4008.86 ± 8.90	1717.63 ± 4.48
12	8.90×10^6	6.00 ± 0.04	0 ± 0.00	12.77 ± 0.07	6.65 ± 0.02	3.52 ± 0.02	1255.67 ± 7.25	2881.48 ± 6.82	4501.65 ± 6.21	1674.39 ± 6.25
14	4.50×10^6	5.60 ± 0.01	0 ± 0.00	13.32 ± 0.12	6.78 ± 0.04	3.58 ± 0.04	957.20 ± 6.82	2520.30 ± 9.31	3698.40 ± 4.12	1277.82 ± 5.59

ตารางที่ 4.27 ปริมาณสารระเหยและสารให้กลิ่นรสที่พบในไวน์ข้าวจากการหมักของเชื้อรา *A. rouxii* MNT 037 ร่วมกับยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน

สารประกอบที่พบในไวน์ข้าว	ไวน์ข้าวจากการหมักด้วย *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน และ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 14 วัน
<u>เอสเทอร์</u>*	
เอทิลอะซีเตท	9.37 ± 0.07
ไอโซเอมิลอะซีเตท	-
รวม	**9.37**
<u>ฟูเซลออยล์</u>*	
ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์	216.36 ± 3.10
ไอโซบิวทานอล	147.34 ± 2.50
โพรพานอล	14.85 ± 0.14
รวม	**378.55**
<u>กรด</u>*	
กรดซิตริก	-
กรดซัคซินิก	2520.30 ± 6.82
กรดมาลิก	3698.40 ± 9.31
กรดแลคติก	1277.82 ± 4.12
กรดอะซีติก	957.20 ± 5.59
กรดฟูมาริก	-
รวม	**8453.72**
กลูโคส**	0.00 ± 0.00
กลีเซอรอล**	13.32 ± 0.12
เอทานอล (% v/v)	6.78 ± 0.04

หมายเหตุ - หมายถึง ไม่พบในการวิเคราะห์

*หมายถึง มิลลิกรัมต่อลิตร ** หมายถึง กรัมต่อลิตร

สุหัทยา นำชัยสี่วัฒนา และ สิรี ชัยเสรี (2549) พบว่าในการหมักไวน์ข้าวด้วยเชื้อ *A. rouxii* เป็นเวลา 2 วัน และหมักต่อด้วย *S. cerevisiae* เป็นเวลา 21 วัน ให้ไวน์ข้าวที่มีเอทานอล 154.26 มิลลิกรัมต่อลิตร ตรวจสอบสารระเหยในไวน์ข้าวด้วยวิธีแก๊สโครมาโทกราฟี-แมสสเปกโทเมทรี พบสารระเหยทั้งหมด 38 ชนิด สำหรับสารระเหยที่พบเหมือนกับการทดลองนี้ได้แก่ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 341.40 มิลลิกรัมต่อลิตร ไอโซบิวทานอล 13.87 มิลลิกรัมต่อลิตร และกรดอะซีติก 2.24 มิลลิกรัมต่อลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มัลลิกา โมรากุล (2545) พบว่าการหมักไวน์ข้าวโดยใช้ *Amylomyces* sp. ร่วมกับ *S. cerevisiae* ให้ปริมาณเอทิลอะซีเตท 213.85 มิลลิกรัมต่อลิตร โพรพานอล 63.27 มิลลิกรัมต่อลิตร ไอโซบิวทานอล 194.12 มิลลิกรัมต่อลิตร และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 235.03 มิลลิกรัมต่อลิตร

การผลิตไวน์ข้าวของบาหลีหรือ Brem Bali (Sujaya และคณะ. 2000) พบกรดอินทรีย์ส่วนใหญ่ได้แก่ กรดแลคติก 90.5 มิลลิโมลาร์ กรดอะซีติก 15.9 มิลลิโมลาร์ และกรดซัคซินิค 2.0 มิลลิโมลาร์ ขณะที่พบกรดฟูมาริก และกรดทาร์ทาริกในปริมาณน้อยกว่า 1 มิลลิโมลาร์ ฟูเซลออยล์ที่พบได้แก่ไอไซเอมิลแอลกอฮอล์ 160.4 มิลลิกรัมต่อลิตร ไอโซบิวทานอล 135.2 มิลลิกรัมต่อลิตร และโพรพานอล 68 มิลลิกรัมต่อลิตร และพบไอโซเอมิลอะซีเตทในปริมาณที่น้อยกว่าค่าจำกัดในการวิเคราะห์ ทำให้ไม่สามารถวัดปริมาณได้

ไวน์ข้าวของอินโดนีเซีย หรือ Tape ketan พบฟูเซลออยล์ที่สำคัญ ได้แก่ ไอโซบิวทานอล และไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ (Cronk และคณะ. 1979) ค่าพีเอชของ Tape ketan มีค่าเท่ากับ 4.2 โดยพบกรดอะซีติก กรดแลคติก กรดซิตริก และกรดซัคซินิค (โดยคิดเป็นกรดแลคติกร้อยละ 0.2)

การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์ข้าวที่หมักโดยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นหมักต่อด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 14 วัน โดยใช้ผู้ทดสอบ 20 คน แสดงดังตารางที่ 4.28 ไวน์ข้าวที่ได้มีคะแนนด้านกลิ่นสูงสุด 7.20 รองลงมาคือด้านสีและลักษณะปรากฏได้คะแนนเท่ากันคือ 6.95 คุณลักษณะรวมได้คะแนน 6.65 และด้านรสชาติได้คะแนนน้อยที่สุดคือ 5.40 ไวน์ข้าวที่ได้มีลักษณะใส สีเหลืองเล็กน้อย และมีกลิ่นหอมเป็นที่ชื่นชอบของผู้ทดสอบชิม แต่เนื่องจากผู้ทดสอบชิมชอบไวน์ข้าวที่รสชาติค่อนข้างหวาน ขณะที่ไวน์ข้าวที่นำมาทดสอบนั้นไม่มีรสชาติหวานเนื่องจากปริมาณกลูโคสหมดลงตั้งแต่วันที่ 7 ของการหมัก ทำให้ได้คะแนนด้านรสชาติน้อยที่สุด

ตารางที่ 4.28 การทดสอบทางประสาทสัมผัสของไวน์ข้าวจากการหมักด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 เป็นเวลา 3 วัน จากนั้นหมักต่อด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 เป็นเวลา 14 วัน โดยใช้ผู้ทดสอบ 20 คน

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	ค่าเฉลี่ยคะแนนความชอบ
สี	6.95 ± 0.88
กลิ่น	7.20 ± 0.63
รสชาติ	5.40 ± 0.67
ลักษณะปรากฏ	6.95 ± 0.99
คุณลักษณะรวม	6.65 ± 0.85

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลการทดลอง

การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *Amylomyces rouxii* MNT 037 และ *Rhizopus oryzae* MNT 006 ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 5 วัน เปรียบเทียบกับการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลสความเข้มข้น 200 มิลลิกรัมต่อลิตร ปริมาณร้อยละ 30 โดยปริมาตรต่อน้ำหนักข้าว หมักข้าวเหนียวที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 วัน เมื่อพิจารณาจากปริมาณน้ำตาลกลูโคส ปริมาณแป้งที่เหลือ และกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส รวมทั้งความสามารถในการผลิตสารให้กลิ่นรส พบว่าเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 มีความสามารถในการย่อยแป้งในข้าวเหนียวได้ดีกว่าเชื้อ *Rhizopus oryzae* MNT 006 และการใช้เอนไซม์กลูโคอะไมเลส ตามลำดับ การหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *A. rouxii* MNT 037 น้ำเชื่อมข้าวที่ได้มีคะแนนด้านรสชาติสูงสุด ขณะที่น้ำเชื่อมข้าวจากการหมักข้าวเหนียวด้วยเชื้อ *R. oryzae* MNT 006 มีคะแนนด้านกลิ่นสูงสุดซึ่งสัมพันธ์กับชนิดและปริมาณของสารระเหยที่ได้

เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 มีความสามารถในการหมักแอลกอฮอล์ได้ดีกว่า *Sc. fibuligera* TISTR 5033 แต่ความสามารถในการย่อยแป้งต่ำมาก ไม่สามารถตรวจวัดได้ ขณะที่ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 มีความสามารถในการย่อยแป้งสูงและผลิตเอทานอลได้เล็กน้อย

การหมักข้าวเหนียวด้วยเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นเติมเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 *Sc. fibuligera* TISTR 5033 และเชื้อผสมของยีสต์ทั้งสองชนิดในอัตราส่วน 1:1 โดยปริมาตรของน้ำหนักข้าว หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 10 วัน เมื่อพิจารณาปริมาณที่เพิ่มขึ้นของกรดอินทรีย์ ฟูเซลออยล์ และเอสเทอร์ รวมทั้งพิจารณาจากปริมาณที่ลดลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้และกลูโคส พบว่าการใช้เชื้อผสมมีความสามารถในการหมักข้าวเหนียวมากกว่าการใช้ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ตามลำดับ แต่การหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 พบว่ามีปริมาณเอทานอลและกลีเซอรอลมากกว่าการใช้เชื้อผสมและ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ตามลำดับ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสพบว่าไวน์ข้าวจากการหมักด้วยเชื้อผสมมีคะแนนทดสอบทางประสาททุกด้านไม่แตกต่างกันทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นร้อยละ 95 กับไวน์ข้าวที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033

ผลของอุณหภูมิเมื่อหมักข้าวเหนียวด้วยยีสต์ *S. cerevisiae* YRK 017 และ *Sc. fibuligera* TISTR 5033 ที่อุณหภูมิ 10 25 และ 30 องศาเซลเซียส จนกระทั่งปริมาณกลูโคสหมด พบว่าการหมักที่อุณหภูมิสูงทำให้ระยะเวลาในการหมักน้อยลง ปริมาณเอทานอล กลีเซอรอล ฟูเซลออยล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

และกรดอินทรีย์เพิ่มขึ้นเมื่ออุณหภูมิในการหมักสูงขึ้น ขณะที่เอทิลอะซีเตทมีปริมาณสูงสุดเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียส และมีปริมาณน้อยเมื่อหมักที่อุณหภูมิ 10 และ 30 องศาเซลเซียส

การหมักไวน์ข้าวโดยเชื้อ *Amylomyces rouxii* MNT 037 ซึ่งมีความสามารถสูงในการย่อยแป้ง หมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน จากนั้นหมักต่อด้วยเชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 ที่อุณหภูมิ 25 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 14 วัน พบว่ามีไวน์ข้าวที่ได้มีแอลกอฮอล์ร้อยละ 6.78 โดยปริมาตร ปริมาณฟูเซลออยล์ ได้แก่ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ไอโซบิวทานอล และโพรพานอล รวมกันเท่ากับ 378.55 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยมีปริมาณพบว่าไอโซเอมิลแอลกอฮอล์สูงสุด รองลงมาได้แก่ ไอโซบิวทานอล และโพรพานอล เอสเทอร์ ได้แก่ เอทิลอะซีเตท มีปริมาณ 9.37 มิลลิกรัมต่อลิตร เมื่อพิจารณาจากปริมาณฟูเซลออยล์และเอสเทอร์ตามมาตรฐาน มอก. พบว่าปริมาณฟูเซลออยล์และเอสเทอร์จากไวน์ข้าวที่ได้อยู่ในช่วงมาตรฐานตามที่กำหนด กรดอินทรีย์ที่พบในไวน์ข้าว ได้แก่ กรดซัคซินิก กรดมาลิก กรดแลคติก และกรดอะซีติก โดยมีปริมาณกรดมาลิกสูง รองลงมาได้แก่ กรดซัคซินิก กรดแลคติก และกรดอะซีติก ตามลำดับ จากการทดสอบทางประสาทสัมผัสโดยผู้ทดสอบ 20 คน พบว่าไวน์ข้าวมีคะแนนด้านกลิ่น สี และลักษณะปรากฏสูง ขณะที่มีคะแนนด้านรสชาติน้อย

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาอัตราส่วนที่เหมาะสมระหว่างการใช้เชื้อ *S. cerevisiae* YRK 017 กับ *Sc. fibuligera* เพื่อให้ได้ไวน์ข้าวมีปริมาณเอทานอลและกลีเซอรอลเพิ่มมากขึ้น

2. ควรศึกษาอุณหภูมิในการหมักไวน์ ดังนี้ 10 15 20 25 และ 30 องศาเซลเซียส เพื่อจะได้ข้อมูลที่สมบูรณ์มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กล้าณรงค์ ศรีรอด และ เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543. **เทคโนโลยีของแป้ง.** ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร. 2520. "การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งสำหรับการหมักข้าวหมาก". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

โชคชัย วนภู, นันทกร บุญเกิด และลำไพร ดิษฐ์วิบูลย์. 2545. **คนทำไวน์ : Winemaking I.** สมบูรณ์พริ้นติ้ง. นครราชสีมา.

นภา โล่ห์ทอง. 2534. **กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต.** ฟันนี่ พับลิชชิ่ง. กรุงเทพฯ.

ประดิษฐ์ ครุวัณณา. 2546. **ไวน์ : ศาสตร์และศิลป์.** มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และไพบูลย์ ด่านวิรุทัย. 2548. **ไวน์ผลไม้และสาโท ผลิตด้วยความมั่นใจได้อย่างไร.** ศูนย์วิจัยการหมักเพื่อเพิ่มมูลค่าผลิตภัณฑ์ทางการเกษตรร่วมกับศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ. ขอนแก่น.

พิไลพรรณ พงษ์บูล. 2523. **การศึกษาชีววิทยาของลูกแป้งข้าวหมาก.** รายงานการวิจัย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ, กรุงเทพฯ. หน้า 49.

มณชัย เดชสังกรานนท์. 2546. "คุณสมบัติของยีสต์และราที่มีบทบาทในการหมักข้าวหมากและสาโท". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

มนตรี เชาว์สังเกต. 2521. " การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และราเพื่อใช้ผลิตไวน์ข้าว" วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ.

ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล. 2546a. "กระบวนการผลิตสาโทและจุลชีววิทยาของสาโท" **เอกสารประกอบการสัมมนาเผยแพร่ผลงานวิจัย** เรื่องเทคนิคการผลิตและการตรวจวิเคราะห์คุณภาพไวน์และสาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ยุพกนิษฐ์ พ่วงวีรกุล. 2546b. "กระบวนการผลิตสาโทและจุลชีววิทยาของสาโท" **เอกสารประกอบการสัมมนาเผยแพร่ผลงานวิจัย** เรื่องเทคนิคการผลิตและการตรวจวิเคราะห์คุณภาพไวน์และสาโท ครั้งที่ 2 องค์การสหกิจอุตสาหกรรมการหมัก ศูนย์พันธุวิศวกรรมและเทคโนโลยีชีวภาพแห่งชาติ สำนักงานพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งชาติ และสถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

รพีภัทร อุพร, วรรณภา สวนการุณ. ศักดิ์สักการ มรรคณา และเจริญ เจริญชัย. 2547 "การพัฒนากระบวนการผลิตข้าวหมากโดยใช้เชื้อราบริสุทธิ์". ใน รวบรวมผลงานโครงการที่ได้รับทุน IRPUS ประจำปี 2547. กรุงเทพฯ. หน้า 124-125.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ลิขิต ศิริสันติเมธาคม. 2549. "การจัดทำดัชนีคุณภาพของสาโทที่ผลิตในประเทศไทย". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ลิขิต ศิริสันติเมธาคม , พัฒนา เหล่าไพบูลย์ และ ลักขณา เหล่าไพบูลย์. 2003 . "การวิเคราะห์ปริมาณสารระเหยง่ายในตัวอย่างสุรากลั่นของประเทศไทยโดยวิธีแก๊สโครมาโตกราฟี". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยขอนแก่น.

ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์. 2547. "การพัฒนาคุณภาพไวน์จากผลิตผลเกษตรเพื่อการส่งออก" **เอกสารประกอบการสัมมนาเผยแพร่ผลงานวิจัย.** กองโครงการและประสานงานวิจัย สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ. กรุงเทพฯ.

วิมลักษณ์ รัตนปรีดากุล. 2549. "การศึกษาเชื้อราและเชื้อยีสต์ที่แยกได้จากลูกแป้งเหล้าเปรียบเทียบกับเชื้อบริสุทธิ์ในการผลิตสาโท". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ. บัณฑิตวิทยาลัย. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2545. "มาตรฐานยกระดับสุราแช่ (ไวน์) ไทย". **สมอสาร**. 28(327) : 3-7.

สิริลักษณ์ อัตระผดุง. 2547. "การออกแบบกระบวนการหมักไวน์ข้าวเพื่อเป็นวัตถุดิบในการผลิตมิริน". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาชีววิทยา. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สุมัลลิกา โมรากุล. 2545. "การพัฒนากรรมวิธีผลิตไวน์ข้าว". วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพทางอุตสาหกรรมเกษตร. บัณฑิตวิทยาลัย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สุหัทยา นำชัยสี่วัฒนา และ สิริ ชัยเสรี. 2549. "สารให้กลิ่นในไวน์ข้าวที่หมักจากกล้าเชื้อบริสุทธิ์ *Amylomyces sp.* M2 และ *Saccharomyces cerevisiae*". ใน การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่ 44. กรุงเทพฯ : มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อุลัยวรรณ์ อุสันสา, โชคชัย วนภู และนันทกร บุญเกิด. 2548. "ผลของอุณหภูมิต่อการหมักแอลกอฮอล์ต่อกลิ่นรสของไวน์แดง". ในการประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี ครั้งที่ 31. นครราชสีมา : มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีสุรนารี.

Aidoo, K.E., Nout, R.M.J. and Sarkar, P.K. 2006. "Occurrence and function of yeast in Asian indigenous fermented foods". **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research.** 6: 30-39.

Anonymous. 2010a. "**glycerol**." [Online]. Available : http://www. monashscientific.com. au/AceticAcid.htm..

Anonymous. 2010b. "**Acetic acid**." [Online]. Available : http://en.wikipedia.org/wiki/Wine_fault #_Acetic_acid.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ardo, Y. 2006. "Flavour formation by amino acid catabolism". **Biotechnology Advances.** 24 : 238– 242.

Archer, D.B., Connerton, I.F. and MacKenzie, D.A. 2008. "Filamentous fungi for production of food additives and processing aids". **Advances in Biochemical Engineering /Biotechnology.** 111: 99-147.

Bernfeld, P. 1955. Amylase α and β method in Enzymology. New York: Academic Press, Inc.

Chi, Z., Chi, Z., Liu, G., Wang, F., Ju, L. and Zhang, T. 2009. "*Saccharomycopsis fibuligera* and its application in biotechnology". **Biotechnology Advances.** 27(4) : 423-431.

Crabb, W.D. 1999. "Commodity scale production of sugars from starches". **Current Opinion in Microbiology.** 2: 252-256.

Cronk, T.C., Mattick, L.R., Steinkraus, K.H. and Hacker, L.P. 1979. "Production of higher alcohols during Indonesian *tape ketan* fermentation". **Applied and Environmental Microbiology**. 37: 892-896.

Deacon, J. 2006. **Fungal Biology.** 4th ed. UK : Blackwell publishing.

Dubourdieu, D., Darriet, P., Chatonnet, P. and Boidron, J. N. 1999. **Intervention des systemes enzymatiques de *Saccharomyces cerevisiar* sur certains précurseur d arömae du raisin.** In: Ribëreau-Gayon, P., A. Lonvaud (Eds.). Actualités OEnologique 89, 4 Symposium International d'OEnologie de Bordeaux. Dunod. Paris. P. 150.

Dung, N.T.P., Rombouts, F.M. and Nout, M.J.R. 2006. "Functionality of selected strains of moulds and yeasts from Vietnamese rice wine starters". **Food Microbiology**. 23 : 331-340.

Dung, N.T.P., Rombouts, F.M. and Nout, M.J.R. 2007. "Characteristics of some traditional Vietnamese starch-based rice wine fermentation starters (men)". **Lebensmittel-Wissenschaft und- Technologie**. 40 :130–135.

Eggers, N. 2006. **The odour and aroma of wine .** [Online]. Available : http://people.ok.ubc.ca/neggers/Chem422A/.

Fowles, G.W.A. 1992. "Acids in grape and wines: A review" .**Journal of Wine Research.** 3: 25-41.

Henschke, P.A. and Jiranek, V. 1993. **Yeast-Growth during fermentation.** In : Wine Microbiology and Biotechnology. Ed. Fleet, G.H. Harwood Academic Publishers: Chur, Switzerlan. P. 27-54.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Hostinova, E. 2002. " Amylolytic enzymes produced by the yeast *Saccharomycopsis fibuligera*". **Biologia, Bratislava**. 57(11): 247-251.

Iconomopoulou, M., Psarianos, K., Kanellaki, M., Koutinas, A.A. 2002. " Low temperature and ambient temperature wine making using freeze-dried immobilized cells on gluten pellets". **Process Biochemistry.** 37: 707–17.

Kao, P.C. 2004. "Small scale of sake brewing and analysis of sake flavors". Thesis of Master of Science. Department of Science in Bioengineering. Tatung University.

Kato, K., Kuswanto, K., Banno, I. and Harada, T. 1976. "Identification of *endomycopsis fibuligera* isolated from ragi in Indonesia and properties of its crystalline glucoamylase". **Journal of Fermentation Technology.** 54: 831-837.

Limtong, S., Sintara, S., Suwannarit, P. and Lotong, N. 2002. "Yeast. diversity in traditional alcoholic stater". **Journal Kasetsart** (Nat. Sci) 36 : 149-158.

Llaurado, J.M. 2002. "Avaluacio dels condicionants del most en el desenvolupament de la fermentacio alcoholic a baixes temperatures." Ph.D. Thesis of Universitat Rovira I Vigili, Tarrgona.

Magnuson. J.K and Lasure, L.L. 2004. **Advances in Fungal Biotechnology for Industry, Agriculture, and Medicine.** Kluwer Academic/Plenum.

Mangas, J., Rodiguez, R., Moreno, J. and Blanco, D. 1995. "Changes in the major volatile compounds of cider distillates during maturation". **Lebensmittel-Wisseenschaft und-Technologie**. 29 : 357-367.

Mariska, L., Florian F.B., Gustav, S., Marius, G. L., Isak, S. P. 2006. " The effect of increased branced-chain amino acid transaminase activity in yeast on the production of higher alcohols and on the flavor profiles of wine and distillates". **Federation of European Microbiological Societies Yeast Research.** 6: 726-743 .

Mestres, M., Busto, O. and Guashch, J. 2000. "Analysis of organic sulfur compounds in wine aroma. **Journal of Chromatography.** A 881: 569-581

Miller, G.L. 1959. "Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar". **Analysis Chemistry.** 31: 426-428.

Nelson, N. 1944. "A Photometric adaptation of the Somogyi method for the determination of glucose". **Journal of Biotechnology.** 94: 137-155.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Nykänen, L. and Nykänen, I. 1977. "Production of esters by different yeast strains in sugar fermentations". **Journal of the Institue of Brewery.** 94 : 315-323.

Oda, Y., Yajima, Y., Kinoshita, M. and Ohnishi, M. 2003. " Differences of *Rhizopus oryzae* strains in organic acid synthesis and fatty acid composition". **Food Microbiology**. 20 : 371–375.

Ramadas, M., Holst, O. and Mattiasson, B. 1996. "Production of amyloglucosidase by *Aspergillus niger* under different cultivation regimens". **World Journal of Microbiology and Biotechnology**. 12: 267–271.

Rapp, A. and Mandery, H. 1986. "Wine aroma". **Experrientia.**, 42: 873-884.

Reed, G. and Nagodawithana, T.W. 1991. **Yeast Technology**. 2nd ed. An AVI Book, New York.

Regodón Mateos, J.A., Pérez-Nevado, F. and Ramírez Fernández, M. 2005. "Influence of *Saccharomyces cerevisiae* yeast strain on the major volatile compounds of wine". **Enzyme and Microbial Technology.**

Ribereau, G.P., Dubourdieu, D., Doneche, B. and Lonvaud, A. 2000. **Handbook of enology. The microbiology of wine and vinification.** West Sussex, England: Wiley.

Roehr, M. 2001. **The Biotechnology of ethanol : classical and future application.** Willey-VCT Verlag GmgH, Weinheim, Germany.

Romano, P., Fiore,C., Paraggio, M., Caruso, M. and Capece, A. 2003. "Function of yeast species and strains in wine flavour". **International Journal of Food Microbiology**. 86 : 169– 180.

Ronald, S.J. 2002. **Wine tasting: A Professional Handbook.** USA. Academic press.

Sehovic, D., Petravic, V. and Maric, V. 2004. "Glycerol determination in grape must and wine". **Kemija u industriji.** 53(11) 505-516.

Shrestha, H., Nand, K. and Rati, E.R. 2002. "Microbiological profile of murcha starters and physico-chemical characteristics of poko, rice based traditional fermented food product of Nepal". **Food Biotechnology.** 16: 1-15.

Silva, M.L. and Malcata, F.X. 1999. "Effects of time of grape pomace fermentation and distillation cuts on the chemical composition of grapre mares". **Zeitschrift fuer Lebensmittel-Untersuchung und-Forschung A.** 208 : 134-143.

Sirisantimathakom, L., Laopaiboon, P. and Laopaiboon, L. 2003. Quantitative analysis of volatile compounds in Thai distilled spirit samples by gas chromatography *In: 29th Congress on Science and Technology of Thailand*, 20-22 October 2003, Khon Kaen, Thailand.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Sujaya, I.N., Aryanta, W.R., Yokota, A., Asano, K. and Tomita, F. 2000. "Biochemical and sensorial characteristics of Brem Bali". **Annales Bogorienses**. 7(1) : 1-8.

Swiegers, J.H., Bartowsky, E.J., Henschke, P.A. and Pretorius, I.S. 2005. "Yeast and bacterial modulation of wine aroma and flavor". **Australian Journal Grape and Wine Research.** 11(2) : 139-173.

Torija, M. J., Beltran, G., Novo, M., Poblet, M., Guillamón J.M., Mas, A. And Rozès, N. 2003. "Effects of fermentation temperature and *Saccharomyces* species on the cell fatty acid composition and presence of volatile compounds in wine". **International Journal of Food Microbiology**. 85 : 127– 136.

Torija, M.J., Rozes, N., Poblet, M., Guillamon, J.M. and Mas, A. 2003b. "Effects of fermentation temperature on the strain population of *Saccharomyces cerevisiae*". **International Journal of Food Microbiology**. 80 : 47-53.

Tsuyoshi, N., Fudou, R., Yamanaka, S., Kozaki, M., Tamang, N., Thapa, S. and Tamang, J.P. 2005. Identification of yeast strains isolated from marcha in Sikkim, a microbial starter for amylolytic fermentation. **International Journal of Food Microbiology.** 99: 135-146.

Ueki, T., Teramoto, Y. Ohba, R, Ueda, S. and Yoshizawa, K. 1991. "Application of aromatic red rice bran to rice wine brewing: Studies on red rice wine brewing (Part 2)". **Journal of fermentation and Bioengineering.** 72 : 31-35.

Ueda, S., Teramoto, Y., Saigusa, N., Ueki, T., Ohba, R. and Yoshizawa, K. 1991. "Improvement of the quality of aromatic red rice wine". **Journal of fermentation and bioengineering.** 72: 173-178

Wakai, Y., Miyazaki, N., Mizuka, T., Nakamura, S., Nagano, T., Fukada, K and Yanagachi, T.1996. "Suitability of Rice for Sake Brewing". **Seibutsu-kogaku**. 74: 245-254.

Yalkin, S.K. and Ozbas, Z.Y. 2008. "Effect of pH and temperature on growth and glycerol production kinetics of two indigenous wine strains of *Saccharomyces cerevisiae* from Turkey". **Brazilian Journal of Micribiology.** 39: 325-332.

Zoecklien, B.U., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. 1990. **Production wine analysis.** New York, USA: Van nostrand Reinhold.

Zoecklien, B.U., Fugelsang, K.C., Gump, B.H. and Nury, F.S. 1995. **Wine Analysis and Production.** New York, USA: Chapman & Hall.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

สูตรและวิธีการเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

1. Peptone water

Peptone 0.1 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร นึ่งฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

2. Potato dextrose agar (PDA)

มันฝรั่ง (potato)	200 กรัม
เด็กซ์โตรส (dextrose)	20 กรัม
วุ้น (agar)	20 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

หั่นมันฝรั่งเป็นสี่เหลี่ยมขนาด 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มมันฝรั่งในน้ำกลั่นจนมันฝรั่งเริ่มนิ่ม จากนั้นกรองเอาส่วนใสเติมน้ำตาลเด็กซ์โตรสและวุ้น ละลายให้เป็นเนื้อเดียวกัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นจนครบ 1,000 มิลลิลิตร นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

3. Dichloran-Rose Bengal – Chloramphenical Agar (DRBC)

เปปโตน (peptone)	5 กรัม
กลูโคส (glucose)	10 กรัม
โพแทสเซียม ไดไฮโดรเจน ฟอสเฟต	1 กรัม
ไดคลอแรน (dichloran)	0.002 กรัม
โรส-เบงกอล (rose-bengal)	0.025 กรัม
วุ้น (agar)	15 กรัม
คลอแรมเฟนิคอล	100 มิลลิกรัม
น้ำกลั่น	1 ลิตร

ละลายส่วนผสมให้เป็นเนื้อเดียวกัน นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. yeast extract-malt extract broth (YM broth)

ยีสต์สกัด (yeast extract)	3 กรัม
มอลต์สกัด (malt extract)	3 กรัม
เปปโตน (peptone)	5 กรัม
กลูโคส (glucose)	10 กรัม
น้ำกลั่น	1000 มิลลิลิตร

ถ้าเป็นอาหารแข็งให้เติมวุ้น (Agar) ลงไป 20 กรัม แล้วนำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การเตรียมสารเคมี

1. กรดอะซีติก (acetic acid) ความเข้มข้น 2 นอร์มัล

เติมกรดอะซีติกเข้มข้นร้อยละ 100 ปริมาตร 11.45 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นเล็กน้อย ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) ความเข้มข้นร้อยละ 10

ละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ 10 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

3. สารละลายโพแทสเซียมไตรไอโอเดท (KIO_3) ความเข้มข้น 1/600 โมลาร์

ละลายโพแทสเซียมไตรไอโอเดท 35.67 มิลลิกรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

4. อะซีเตท บัฟเฟอร์ (Acetate buffer) ความเข้มข้น 0.05 โมลาร์ พีเอช 5.0

A : กรดอะซีติก 0.2 โมลาร์

(กรดอะซีติก 1.14 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร)

B : โซเดียมอะซีเตท ($C_2H_3O_2Na_3$) 0.2 โมลาร์

(โซเดียมอะซีเตท 1.64 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร)

ผสมสารละลาย A ปริมาตร 7.4 มิลลิลิตร กับสารละลาย B ปริมาตร 17.6 มิลลิลิตร จากนั้นปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

5. สารละลายไดไนโตรซาลิไซลิก แอสิด (Dinitrosalisylic acid solution, DNS)

ชั่งกรดไดไนโตรซาลิไซลิก แอสิด (3,5 –dinitrosalicylic acid) 1 กรัม ละลายในโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 200 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต (sodiumpotassium tartrate) 300 กรัม ละลายให้เข้ากัน ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่น เก็บในขวดสีชา (Bernfeld. 1995)

6. สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent)

เตรียมคอปเปอร์ซัลเฟต ($CuSO_4 \cdot 5H_2O$) 10 กรัมในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จากนั้นเตรียมสารละลายฟอสเฟตทาร์เทรตโดย ชั่ง $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 71 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 700 มิลลิลิตร เติมโซเดียมโพแทสเซียมทาร์เทรต ($NaKC_4H_4O_6 \cdot 4H_2O$) 40 กรัม เติมโซเดียมไฮดรอกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1 นอร์มัล ปริมาตร 100 มิลลิลิตร เติมโซเดียมซัลเฟต (Na_2SO_4) 120 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เก็บในขวดสีชา 2 วัน กรองตะกอนออก จึงนำมาผสมกับสารละลายคอปเปอร์

7. สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent)

เตรียมโดยชั่ง $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$ 3 กรัม ในน้ำ 25 มิลลิลิตร นำไปผสมกับแอมโมเนียมโมลิบเดต ($(NH_4)_6Mo_7)_{24} \cdot 4H_2O$) 25 กรัม ในน้ำ 450 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟูริก 21 มิลลิลิตร เก็บใส่ขวดสีชา บ่มที่ 37 องศาเซลเซียส 1 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

วิธีการวิเคราะห์

1. ปริมาณของแข็งที่ละลายได้

ใช้ปิเปตที่ปราศจากเชื้อดูดน้ำข้าวหมักปริมาตร 0.2 มิลลิลิตร นำมาวัดด้วยเครื่อง refractometer แสดงค่าเป็นองศาบริกซ์ ($^{\circ}$Brix)

2. ปริมาณแป้งที่เหลือ

การวิเคราะห์ปริมาณแป้งที่เหลืออยู่ใช้วิธีวัดค่าการดูดกลืนแสง (กล้าณรงค์ ศรีรอด และเกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2543) มีรายละเอียดดังต่อไปนี้

อุปกรณ์

1. สเปกโตรโฟโตมิเตอร์
2. เครื่องผสม (vortex mixer)

สารเคมี

1. กรดอะซิติกเข้มข้น 2 นอร์มอล (ภาคผนวก ข)
2. สารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์ (KI) เข้มข้นร้อยละ 10 (ภาคผนวก ข)
3. สารละลายโพแทสเซียมไตรไอโอเดท (KIO_3) เข้มข้น 1/600 โมลาร์ (ภาคผนวก ข)

วิธีการวิเคราะห์

1. การเตรียมกราฟมาตรฐานความเข้มข้นแป้งกับค่าการดูดกลืนแสง

1.1 ชั่งแป้ง (soluble starch) จำนวน 50 มิลลิกรัม นำมาละลายในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตร

1.2 นำสารละลายนี้ไปต้มเดือดเป็นเวลา 1 นาที จากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร แล้วกรองสารละลายที่ได้ด้วยกระดาษกรองเบอร์ 1

1.3 ปิเปตสารละลายมาจำนวน 0.1, 0.2, 0.3, 0.4, 0.5, 0.6, 0.7, 0.8, 0.9 และ 1.0 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง จากนั้นปรับปริมาตรแต่ละหลอดให้ได้ 1 มิลลิลิตร ด้วยการเติมน้ำกลั่น

1.4 เติมกรดอะซีติกเข้มข้น 2 นอร์มอล จำนวน 1.2 มิลลิลิตร เติมสารละลายโพแทสเซียมไอโอไดด์เข้มข้นร้อยละ 10 จำนวน 0.25 มิลลิลิตร และเติมสารละลายโพแทสเซียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไตรไอโอเดทเข้มข้น 1/600 โมลาร์ จำนวน 2.5 มิลลิลิตร ลงในแต่ละหลอด ผสมให้เข้ากันด้วยเครื่องผสม

1.5 นำสารละลายข้างต้นไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลาย blank ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นจำนวน 1.0 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่าง

1.6 นำค่าที่วัดได้มาเขียนความสัมพันธ์กราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร และความเข้มข้นของแป้ง (ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร) โดยให้แกนตั้งเป็นค่าการดูดกลืนแสง ส่วนแกนนอนเป็นค่าความเข้มข้นของน้ำแป้ง

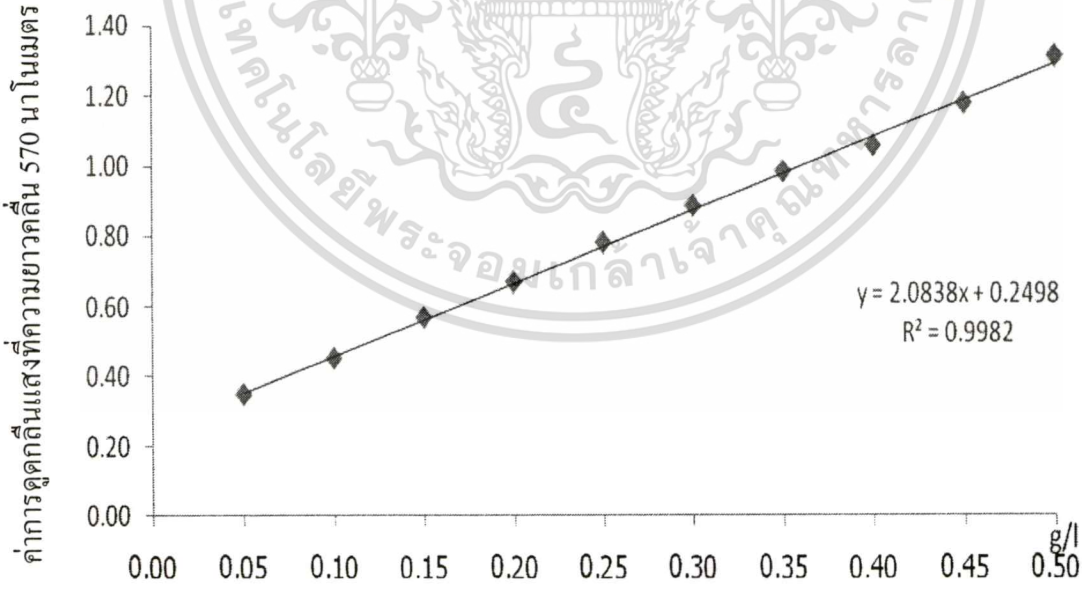
2. การวิเคราะห์สารตัวอย่าง

2.1 ทำการเตรียมสารละลายตัวอย่าง โดยเจือจางให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสม

2.2 ปิเปตตัวอย่างมาปริมาตร 1 มิลลิลิตร จากนั้นเติมสารละลายเช่นเดียวกับ ข้อ 1.4

2.3 นำสารละลายไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 570 นาโนเมตร โดยเทียบกับสารละลาย blank ซึ่งเตรียมโดยใช้น้ำกลั่นจำนวน 1.0 มิลลิลิตรแทนสารละลายตัวอย่าง

2.4 นำค่าที่วัดได้มาเทียบกับกราฟมาตรฐานแล้วทำการคำนวณหาปริมาณแป้งที่เหลืออยู่



รูปที่ ค.1 กราฟมาตรฐานสารละลายน้ำแป้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

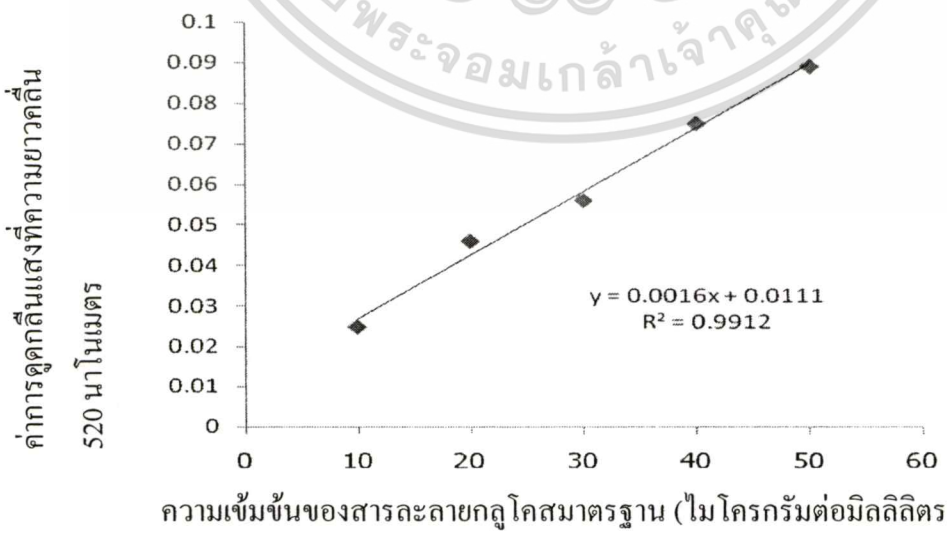
3. ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี Somogyi-Nelson (Nelson. 1944)

สารเคมี

1. สารละลายคอปเปอร์ (Copper reagent) (ภาคผนวก ข)
2. สารละลายเนลสัน (Nelson's Arsenomolybdate color reagent) (ภาคผนวก ข)

วิธีวิเคราะห์

1. เตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน โดยชั่งน้ำตาลกลูโคส 0.02 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายน้ำตาลเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำมาเจือจางให้ได้สารละลายกลูโคสมาตรฐานความเข้มข้น ตั้งแต่ 0-200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร นำค่าที่ได้มาทำกราฟน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน
2. ปิเปตสารละลายตัวอย่างที่มีปริมาณกลูโคสไม่เกิน 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร หรือสารละลายกลูโคสมาตรฐาน ปริมาตร 1 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดลอง
3. เติมสารละลายคอปเปอร์ลงไป 1 มิลลิลิตร
4. นำไปต้มในน้ำร้อนเป็นเวลา 10 นาที แล้วทำให้เย็น
5. เติมสารละลายเนลสันลงไป 1 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน
6. เติมน้ำกลั่นลงไป 5 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้อย่างน้อย 15 นาที แต่ไม่ควรเกิน 40 นาที
7. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 520 นาโนเมตร
8. นำค่าดูดกลืนแสงที่ได้ไปเทียบกับกราฟมาตรฐาน เพื่อหาความเข้มข้นของกลูโคสในสารละลายตัวอย่าง



รูปที่ ค.2 กราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4. กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

การวิเคราะห์กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ใช้วิธีการของ Ramadas และคณะ (1996) โดยการวิเคราะห์น้ำตาลรีดิวซ์ตามวิธีการกรดไดไนโตรซาลิไซลิก (Miller, 1959) มีการเตรียมสารเคมีและวิธีทดลองดังรายละเอียดต่อไปนี้

สารเคมี

1. สารละลายน้ำแป้งร้อยละ 1

นำ soluble starch 1 กรัม ในน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร ให้ความร้อนจนแป้งละลาย ปรับปริมาตรด้วยน้ำกลั่นให้ได้ 100 มิลลิลิตร

2. อะซีเตทบัฟเฟอร์ (Acetate buffer) 0.02 โมลาร์ พีเอชเท่ากับ 5 ปริมาตร 100 มิลลิลิตร (ภาคผนวก ข)

3. สารละลายไดไนโตรซาลิไซลิก แอซิด (Dinitrosalicylic acid solution, DNS) (ภาคผนวก ข)

4. สารละลายกลูโคสมาตรฐาน

นำกลูโคส (glucose anhydrous) ไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2-3 ชั่วโมง ชั่งมา 0.1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย แล้วปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร จะได้สารละลายกลูโคสมาตรฐาน 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

วิธีการวิเคราะห์

1. เติมสารละลายน้ำแป้งร้อยละ 1 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร ในหลอดทดลอง จากนั้นเติมอะซีเตทบัฟเฟอร์จำนวน 0.4 มิลลิลิตร และสารละลายเอนไซม์ที่มีการเจือจางที่เหมาะสม ปริมาตร 0.1 มิลลิลิตร (ชุดควบคุมใช้น้ำกลั่นแทนเอนไซม์)

2. บ่มทั้งหมดในอ่างน้ำร้อน (water bath) ที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

3. เติมสารละลาย DNS 1 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยา

4. ต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที ทำให้เย็นทันที

5. ปรับปริมาตรให้เท่ากับ 6 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น ผสมให้เข้ากัน

6. วัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร

7. เตรียมกราฟมาตรฐานของสารละลายน้ำตาลกลูโคส โดยเจือจางสารละลายกลูโคสให้ได้ความเข้มข้น 0.2 – 0.6 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร

8. นำสารละลายน้ำตาลกลูโคส 1 มิลลิลิตร ทำตามข้อ 3-6

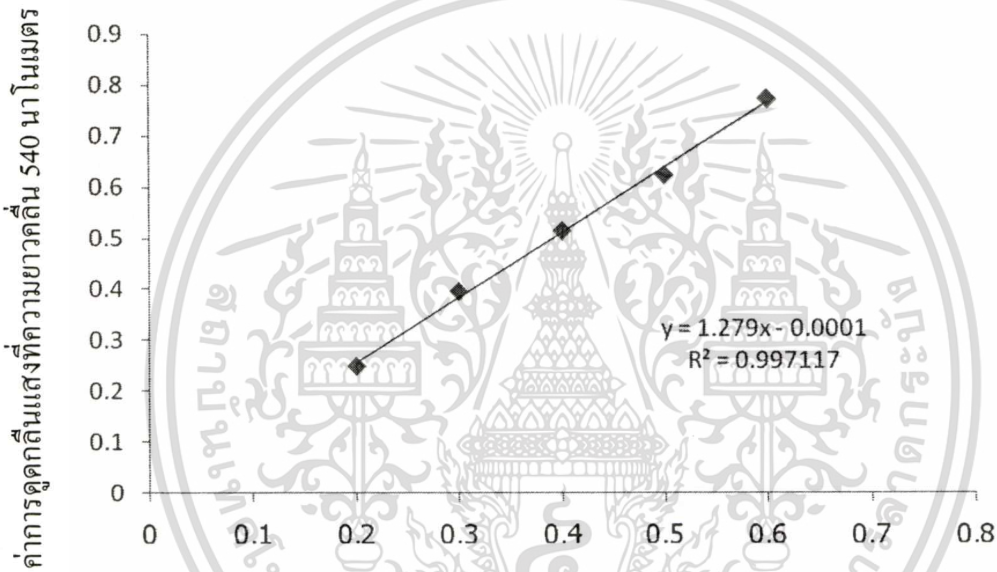
9. สร้างกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับปริมาณน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

10. คำนวณค่ากิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในหน่วยยูนิตต่อมิลลิลิตร (Unit/ml)

$$\text{Unit/ml} = \frac{\text{ไมโครโมลของน้ำตาลกลูโคส} \times \text{การเจือจางของเอนไซม์}}{\text{ระยะเวลาการบ่ม} \times \text{ปริมาตรของเอนไซม์}}$$

กำหนดให้ 1 หน่วยต่อมิลลิลิตรของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส คือ ปริมาณเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาการย่อยสลายสารตั้งต้นให้เป็นกลูโคส 1 ไมโครโมลต่อนาที ภายใต้สภาวะทดลอง



รูปที่ ค.3 กราฟมาตรฐานสารละลายกลูโคส

5. น้ำตาลกลูโคสและกลีเซอรอล

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคสและกลีเซอรอลให้มีความเข้มข้น 5, 10, 15, 20 และ 25 กรัมต่อลิตร โดยใช้น้ำ ultra pure เป็นตัวทำละลาย กรองทุกตัวอย่างด้วยเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน

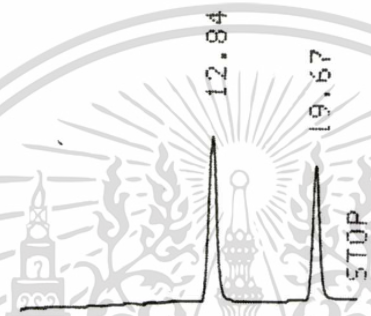
2. ผสมสารละลายมาตรฐานกลูโคสความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตร กับสารละลายมาตรฐานกลีเซอรอลความเข้มข้น 5 กรัมต่อลิตรในอัตราส่วน 1:1 นำสารผสมฉีดเข้าเครื่อง HPLC จำนวน 20 ไมโครลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

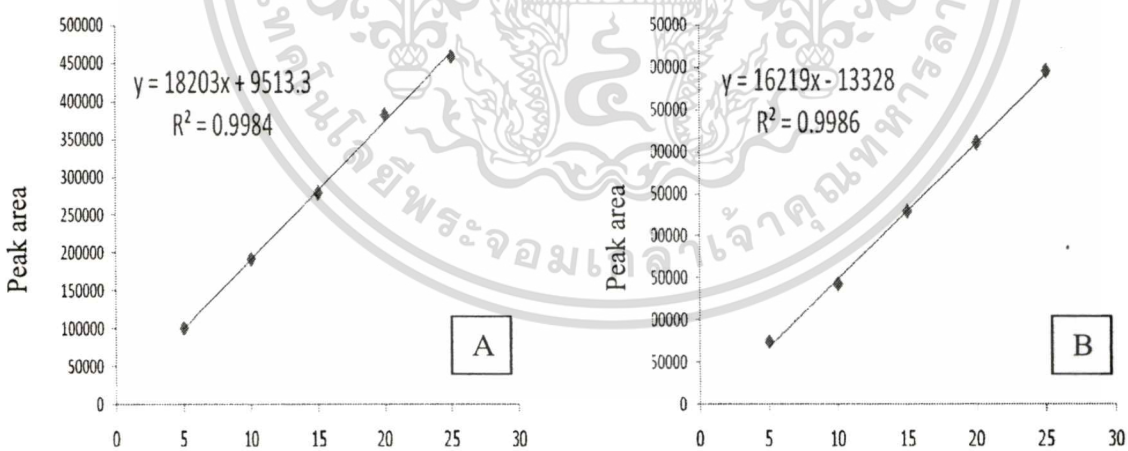
3. ทำเช่นเดียวกับข้อ 2 อีก 4 ความเข้มข้นเพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

4. กรองตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์ด้วยเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดเข้าเครื่อง HPLC จำนวน 20 ไมโครลิตร นำมาคำนวณความเข้มข้นของน้ำตาลและกลีเซอรอลโดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน

4. สภาวะในการวิเคราะห์ ใช้น้ำ ultra pure เป็นตัวชะ โดยมีอัตราการไหลเท่ากับ 0.7 มิลลิลิตรต่อนาที คอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์คือ Aminex HPX-87C ซึ่งควบคุมอุณหภูมิที่ 80 องศาเซลเซียส โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิด RID (RefractoMonitor®IV LDC Analytical)



รูปที่ ค.4 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานกลูโคส (12.84 นาที) และกลีเซอรอล (19.67) โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิด RID



รูปที่ ค.5 กราฟมาตรฐานของกลูโคส (A) และ กลีเซอรอล (B)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6. กรดอินทรีย์

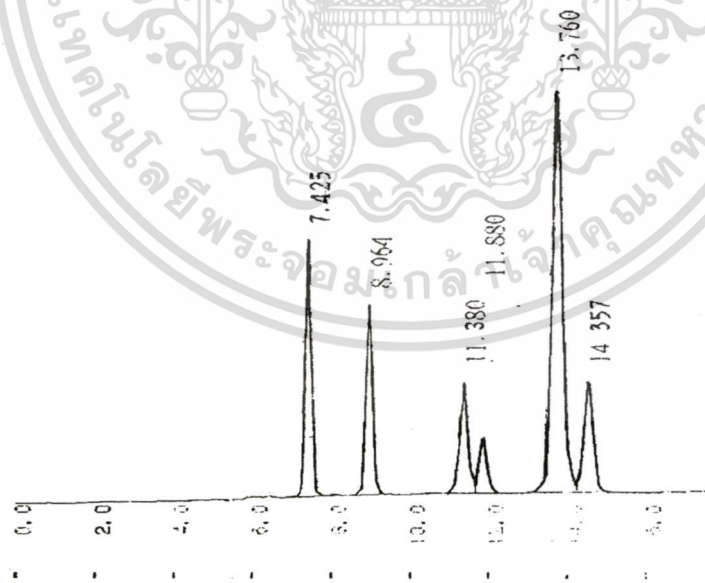
1. เตรียมสารละลายมาตรฐานของกรดอินทรีย์โดยใช้น้ำ ultra pure เป็นตัวทำละลาย ได้แก่

- กรดมาลิก กรดซิตริก และกรดซัคซินิก ความเข้มข้น 125, 150, 175, 200 และ 225 มิลลิกรัมต่อลิตร
- กรดแลคติก ความเข้มข้น 127.5, 153, 178.5, 204 และ 229.5 มิลลิกรัมต่อลิตร
- กรดอะซิติก ความเข้มข้น 131.25, 157.5, 183.75, 210 และ 236.25 มิลลิกรัมต่อลิตร
- กรดฟูมาริก ความเข้มข้น 12.5, 15, 17.5, 20 และ 22.5 มิลลิกรัมต่อลิตร

2. กรองทุกตัวอย่างด้วยเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดสารในข้อ 1 เข้าเครื่อง HPLC จำนวน 20 ไมโครลิตร ทุกความความเข้มข้น เพื่อสร้างกราฟมาตรฐาน

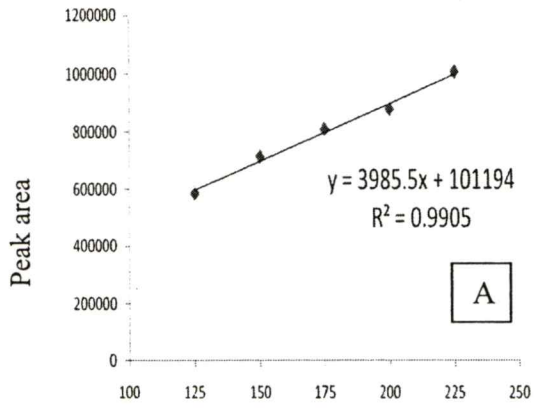
3. กรองตัวอย่างที่จะนำมาวิเคราะห์ด้วยเมมเบรนขนาด 0.45 ไมครอน ฉีดเข้าเครื่อง HPLC (C-R7Ae plus Chromatopac, Shimadzu) จำนวน 20 ไมโครลิตร นำมาคำนวณความเข้มข้นของกรดอินทรีย์โดยเทียบจากกราฟมาตรฐาน

4. สภาวะในการวิเคราะห์ ใช้กรดซัลฟูริกความเข้มข้น 0.008 นอร์มัล เป็นตัวชะ โดยมีอัตราการไหลเท่ากับ 0.6 มิลลิลิตรต่อนาที คอลัมน์สำหรับการวิเคราะห์คือ Aminex HPX-87H โดยใช้ตัวตรวจวัดชนิด UV (SPD-10A UV-VIS detector, Shimadzu) ที่ความยาวคลื่น 210 นาโนเมตร

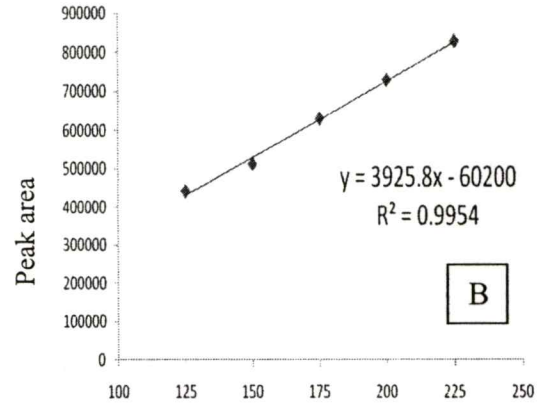


รูปที่ ค.6 โครมาโตแกรมของสารละลายมาตรฐานกรดซิตริก (7.425 นาที) กรดมาลิก (8.964 นาที) กรดซัคซินิค (11.380) กรดแลคติก (11.880 นาที) กรดฟูมาริก (13.760) กรดอะซีติก (14.357 นาที)

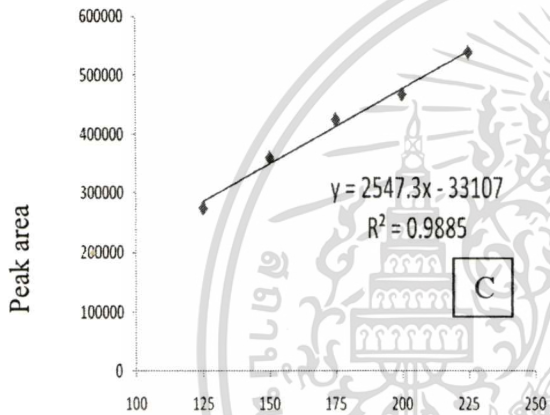
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



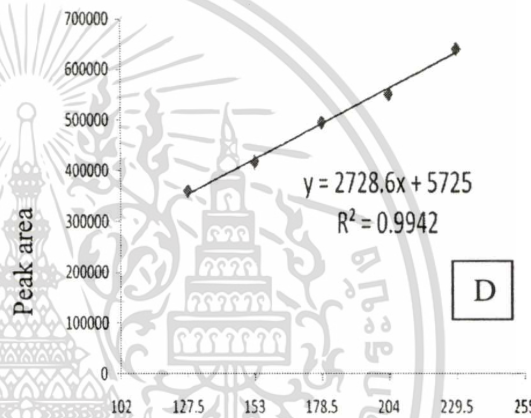
ความเข้มข้นของกรดซิตริก (มิลลิกรัมต่อลิตร)



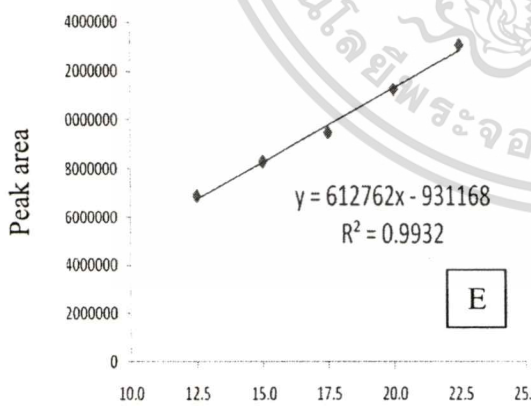
ความเข้มข้นของกรดมาลิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)



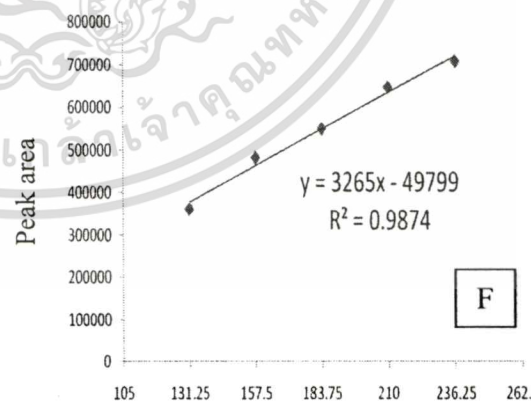
ความเข้มข้นของกรดซัคซินิก (มิลลิกรัมต่อลิตร)



ความเข้มข้นของกรดแลคติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)



ความเข้มข้นของกรดฟูมาริก (มิลลิกรัมต่อลิตร)



ความเข้มข้นของกรดอะซีติก (มิลลิกรัมต่อลิตร)

รูปที่ ค.8 กราฟมาตรฐานของกรดซิตริก (A) และ กรดมาลิก (B) กรดซัคซินิก (C) กรดแลคติก (D) กรดฟูมาริก (E) และกรดอะซีติก (F)

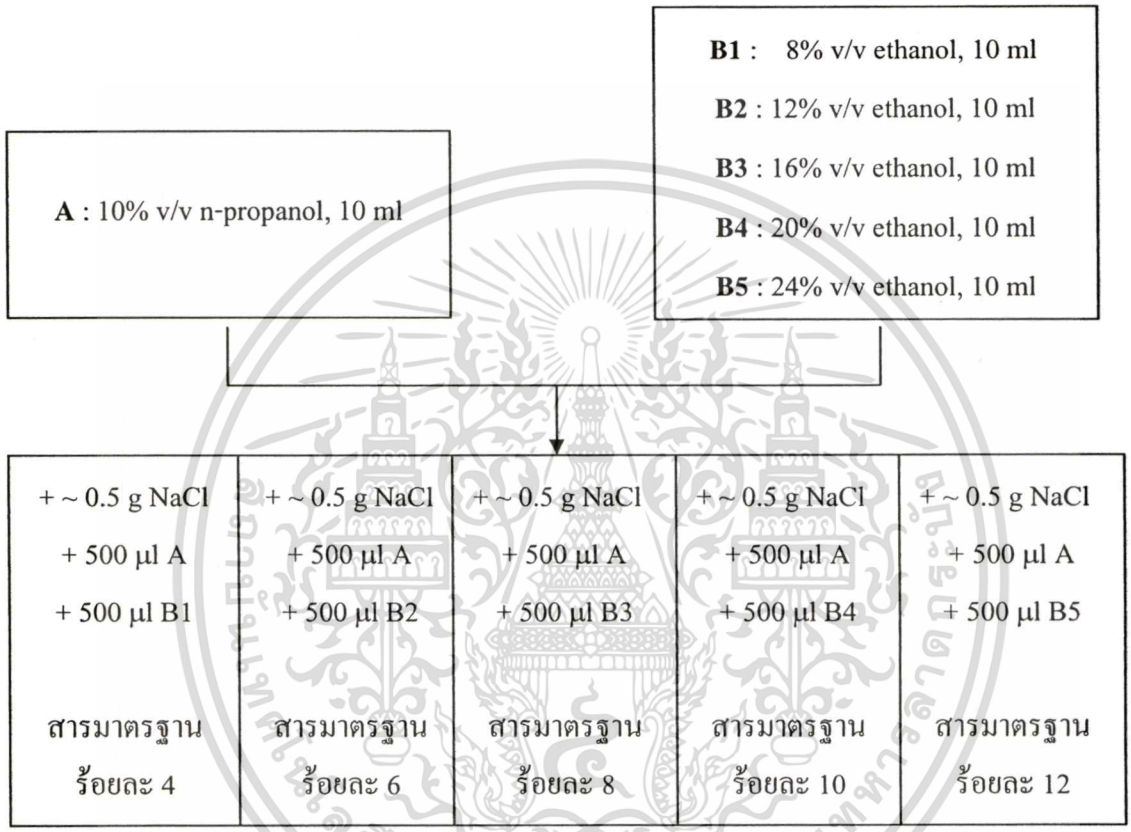
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. เอทานอล

วิธีการวิเคราะห์เอทานอล

1. เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้ โพรพานอล (n-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน (internal standard)

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4, 6, 8, 10 และ 12 โดยปริมาตร โดยมีวิธีทำดังแผนภาพ



3. ใส่สารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นในขวดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร วางเซปตัม (septum) ที่ปากขวดโดยคว่ำด้านเทฟลอน (Teflon) ลงติดปากขวด จากนั้นจึงปิดด้วยฝาอะลูมิเนียม

4. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟี (HS-GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-17A Chromatograph, Shimadzu) ต่อกับเครื่อง HSS-4A (Shimadu) ซึ่งเป็นส่วนที่ตัวอย่างจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป

5. ใช้คอลัมน์ DB-WAX (Agilent J&W GC Column) ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 1 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียส ใช้ตัวตรวจวัด (detector) ชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 150 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของ

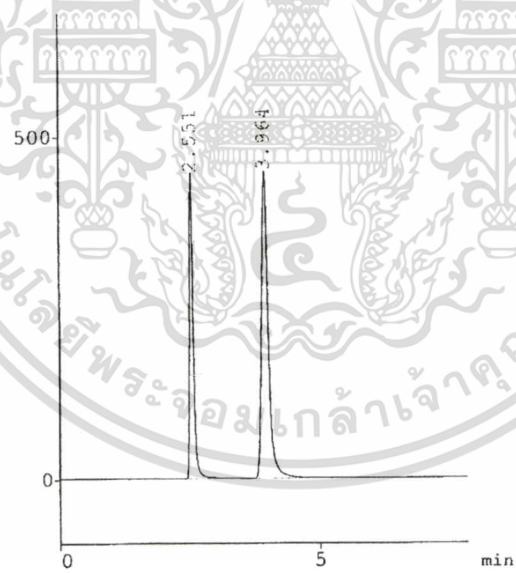
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตำแหน่งฉีดสาร (injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะโดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa

6. สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 25 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโทแกรมแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์แสดงดังรูปที่ ค.9

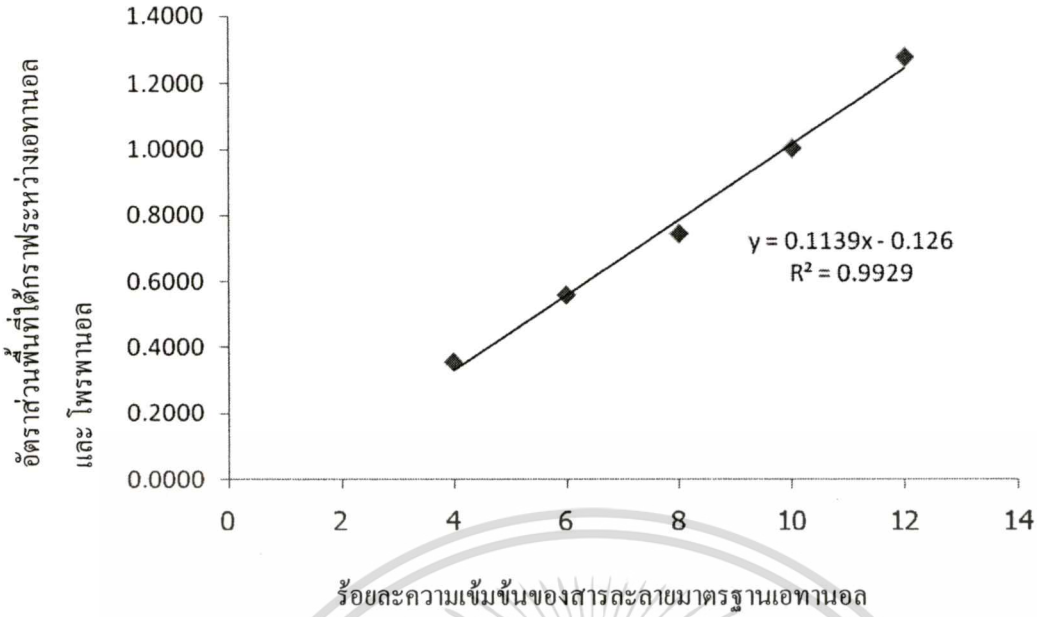
7. นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้นกำหนดให้เป็นแกน y และให้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลเป็นแกน x

8. วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างโดยผสม NaCl 0.5 กรัม สารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล



รูปที่ ค.9 โครมาโทแกรมของเอทานอล (2.551 นาที) และโพรพานอล (3.964 นาที)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.10 กราฟมาตรฐานของเอทานอล

8. สารให้กลิ่นรส

1. สารให้กลิ่นรสที่วิเคราะห์มี 5 ชนิด ได้แก่ เอทิลอะซีเตท โพรพานอล ไอโซบิวทานอล ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ และ ไอโซเอมิล อะซีเตท

2. เตรียมสารละลายมาตรฐานในข้อ 1. ให้มีความเข้มข้นเท่ากับ 3, 1.50, 0.81 และ 0.162 กรัมต่อลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 50 โดยปริมาตรเป็นตัวทำละลาย

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้เพนทานอล 800 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 50 โดยปริมาตร เป็นตัวทำละลาย

4. เตรียมตัวอย่างใส่ขวดแก้วขนาด 20 มิลลิลิตร โดยใส่ NaCl 1 กรัม สารละลายมาตรฐานภายใน 0.3 มิลลิลิตร สารละลายมาตรฐานแต่ละความเข้มข้น 3 มิลลิลิตร ปิดฝาด้วยเซปตัม

5. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิคเฮดสเปซ-แก๊สโครมาโทกราฟี โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี ต่อกับเครื่อง HSS-4A ซึ่งเป็นส่วนที่ตัวอย่างจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป

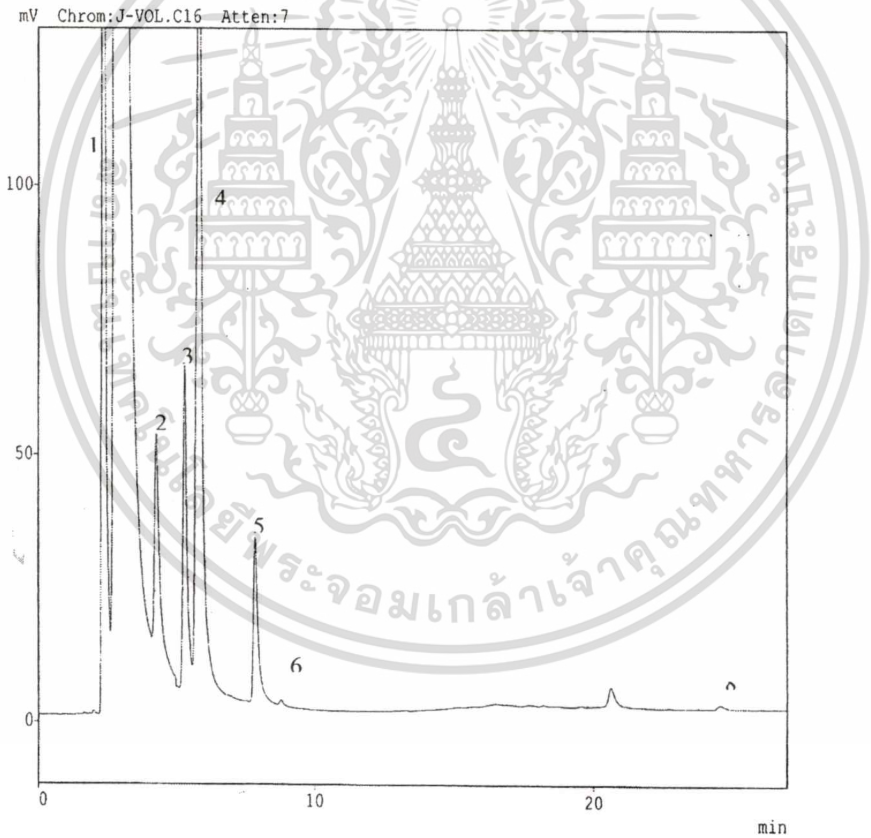
6. ใช้คอลัมน์ DB-WAX ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาง 0.53 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 1 ไมครอน ใช้ตัวตรวจวัดชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 200 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสารเท่ากับ 200 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะโดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 27 kPa

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 8 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 150 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 150 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 15 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 30.25 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโทแกรมแสดงเวลาที่สารมาตรฐานแต่ละชนิดถูกชะออกจากคอลัมน์แสดงดังรูปที่ ค.10

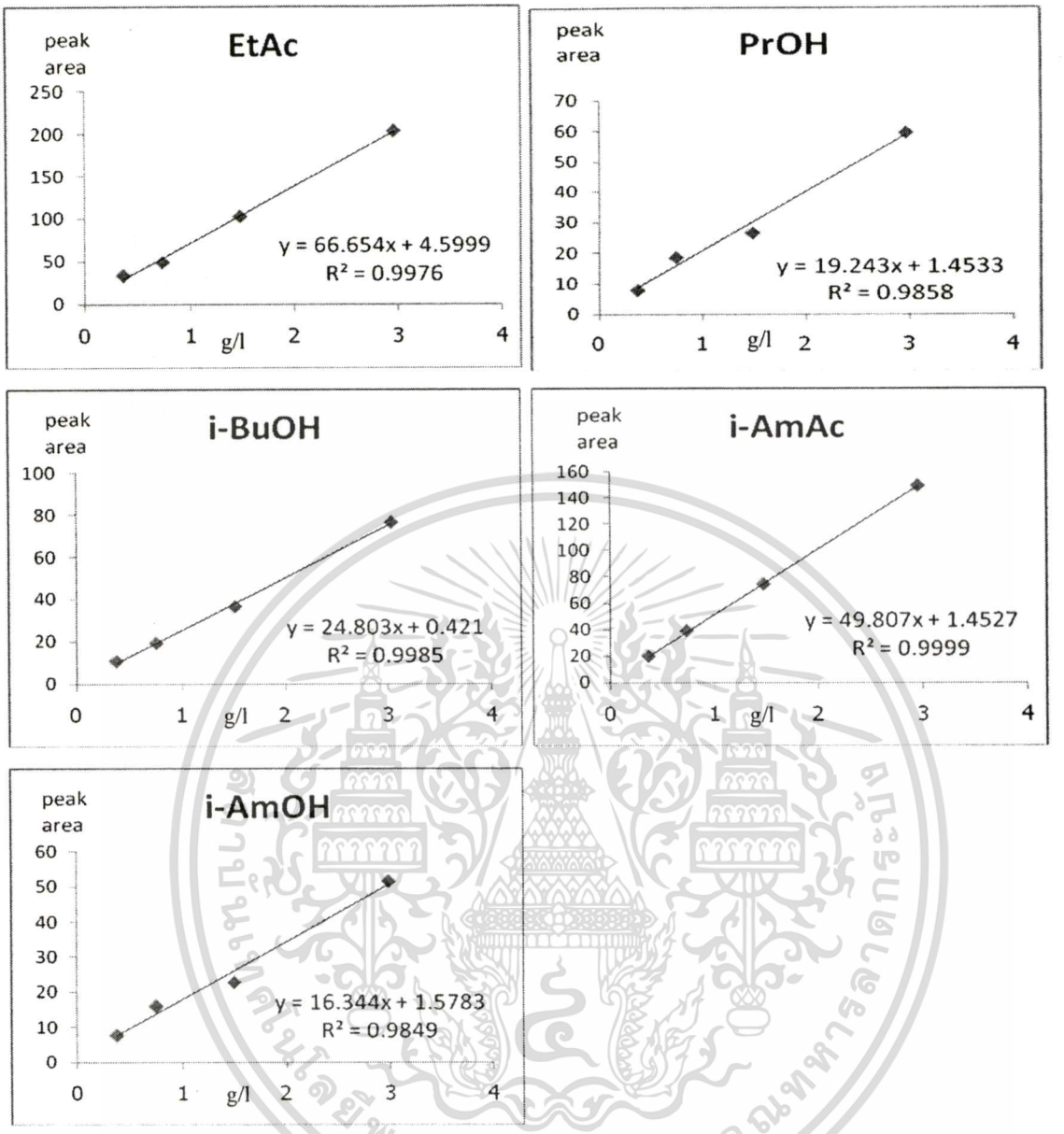
8. นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน คำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นต่อสารมาตรฐานภายในโดยกำหนดให้เป็นแกน y และให้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานเป็นแกน x

9. วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างโดยผสม NaCl 1 กรัม สารมาตรฐานภายใน 0.3 มิลลิลิตร และตัวอย่าง 3 มิลลิลิตร วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานที่พบในตัวอย่างต่อสารมาตรฐานภายใน มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของสารมาตรฐานแต่ละชนิด



รูปที่ ค.10 โครมาโทแกรมของสารมาตรฐาน (1) เอทิลอะซีเตท 2.344 นาที (2) โพรพานอล 4.283 นาที (3) ไอโซบิวทานอล 5.309 นาที (4) ไอโซเอมิลอะซีเตท 5.826 นาที (5) ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 7.832 นาที (6) เพนทานอล 8.764 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ ค.11 กราฟมาตรฐานของเอทิลอะซีเตท โพรพานอล ไอโซบิวทานอล ไอโซเอมิลอะซีเตท ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ 2-ฟีนิลอะซีเตท และ 2-ฟีนิลเอทิลแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

การทดสอบชิมแบบ Hedonic scale

ชื่อผู้ทดสอบ..... อายุ .....ปี เพศ.....

วันที่ทดสอบ.....เวลา.....

คำแนะนำ ตัวอย่างที่ท่านจะทดสอบชิมคือ ไวน์ข้าวเหนียว กรุณาทดสอบตัวอย่างที่เสนอให้จากซ้ายไปขวา แล้วให้คะแนนความชอบตัวอย่างในแต่ละปัจจัยที่ใกล้เคียงกับความรู้สึกของท่านมากที่สุด โดยกำหนดให้

9 = ชอบมากที่สุด	6 = ชอบน้อยที่สุด	3 = ไม่ชอบปานกลาง
8 = ชอบมาก	5 = เฉยๆ	2 = ไม่ชอบมาก
7 = ชอบปานกลาง	4 = ไม่ชอบเล็กน้อย	1 = ไม่ชอบมากที่สุด

**** กรุณาบ้วนปากระหว่างตัวอย่างทุกครั้ง ****

คุณลักษณะทางประสาทสัมผัส	คะแนนความชอบ		
	รหัส A	รหัส B	รหัส C
สี			
กลิ่น			
รสชาติ			
ลักษณะปรากฏ			
คุณลักษณะรวม			

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

.....

.....

ขอขอบคุณทุกท่านที่มาทดสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก จ

มาตรฐาน มอก.2089-2544

สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม (สมอ.) ได้กำหนดมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมไวน์ มาตรฐานเลขที่ มอก.2089-2544 โดยขอบข่ายของมาตรฐาน ครอบคลุมถึงไวน์ที่ทำหรือนำเข้า กำหนดเกิน 10 ลูกบาศก์เดซิเมตร (ลิตร) เพื่อประโยชน์ทางการค้า โดยได้-กำหนดคุณลักษณะที่ต้องการในด้านต่าง ๆ รวมทั้งการแสดงเครื่องหมายและฉลาก การบรรจุ ตลอดจนวิธีชักตัวอย่างและเกณฑ์การตัดสิน ไว้เพื่อเป็นแนวทางให้ผู้ผลิตในประเทศพัฒนาไวน์ไทยให้ได้มาตรฐาน โดยไวน์ที่ได้รับการรับรองคุณภาพต้องมีคุณลักษณะตามมาตรฐาน ดังนี้

1. แรงแอลกอฮอล์เป็นไปตามที่ระบุไว้ที่ฉลาก โดยมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อน ได้ 1 ดีกรีร้อยละโดยปริมาตร
2. มีคุณลักษณะทางเคมี คือ
   (1) ฟูเซลออยล์ ไม่เกิน 2500 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (2) เอสเทอร์ ไม่เกิน 1200 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (3) แอลดีไฮด์ ไม่เกิน 160 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (4) เมทิลแอลกอฮอล์ ไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (5) เอทิลคาร์บาเมต ไม่เกิน 200 ไมโครกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
3. วัตถุเจือปนอาหาร มีชนิดและปริมาณ ไม่เกินเกณฑ์ที่กำหนด ดังนี้
   (1) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (2) กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดนี้ ไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (3) กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดนี้ ไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (4) สารปรุงแต่งสี กลิ่น รส และกลิ่นรส ในปริมาณที่เหมาะสม
4. สารปนเปื้อนที่อาจมีอยู่ในไวน์ไม่เกินเกณฑ์ ดังต่อไปนี้คือ
   (1) สารหนู ไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (2) ตะกั่ว ไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (3) ทองแดง ไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
   (4) เหล็ก ไม่เกิน 1.5 มิลลิกรัมต่อลูกบาศก์เดซิเมตร
5. ไม่มีเฟอร์โรไซยาไนด์ปนเปื้อนอยู่ในไวน์
6. การบรรจุมีปริมาตรสุทธิ ตามระบุไว้ที่ฉลาก และไม่ต่ำกว่าปริมาณ ที่แสดงไว้เป็นร้อยละ คือ ร้อยละ 6 สำหรับปริมาตรไม่เกิน 50 มิลลิลิตร ร้อยละ 3 สำหรับปริมาตรไม่เกิน 50-500

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มิลลิลิตร ร้อยละ 2 สำหรับปริมาตรไม่เกิน 500 มิลลิลิตร แต่ไม่เกิน 1 ลิตร, ร้อยละ 1 สำหรับปริมาตรเกิน 1 ลิตรขึ้นไป

7. เครื่องหมายและฉลากแสดงชัดเจนมีรายละเอียด คือ

(1) ชื่อผลิตภัณฑ์ตามชื่อไวน์ต่าง ๆ เช่น ไวน์องุ่น ไวน์ผลไม้หรือระบุชื่อผลไม้ที่ใช้ทำไวน์ ไวน์ข้าว เทเบิลไวน์ สปาร์กลิ่งไวน์

(2) ชื่อทางการค้า

(3) แรงแอลกอฮอล์เป็นดีกรี หรือร้อยละโดยปริมาตร

(4) ปริมาตรสุทธิ

(5) คำเตือนตามกฎหมายที่เกี่ยวข้อง เช่น การดื่มสุราทำให้ความสามารถในการขับขี่ยานพาหนะลดลง เป็นต้น

(6) ชื่อผู้ทำหรือโรงงานที่ทำหรือผู้นำเข้า พร้อมสถานที่ตั้ง

(7) เครื่องหมายการค้าที่จดทะเบียน (ถ้ามี)

ในกรณีที่ใช้ภาษาต่างประเทศ ต้องมีเครื่องหมายตรงกับภาษาไทยที่กำหนดข้างต้น ยกเว้นคำเตือนต้องเป็นภาษาไทย

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ นามสกุล	มาวิณี แย้มจันทรามาศ
วัน เดือน ปีเกิด	16 กุมภาพันธ์ 2527 ที่ฉะเชิงเทรา
ที่อยู่	16/6 หมู่ 5 ต.บางเกลือ อ.บางปะกง จ.ฉะเชิงเทรา
ประวัติการศึกษา	2548 วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ผลงาน	Yaemchantramart, M., Ochaikul, D. and Charoenchai, C. 2009. "The influence of isolated fungi and yeast from Look-Pang-Lao on rice wine fermentation." in **The 3rd international conference o fermentation technology for value added agricultural products.** Khon Kaen: Khon Kaen university.

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้