สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไวน์ข้าวโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

STUDY ON OPTIMUM TIME FOR STARCH HYDROLYSIS AND OPTIMUM TEMPERATURE FOR RICE WINE FERMENTATION USING PURE CULTURE

ปัญจาภรณ์ แตกเงิน
อุบลวรรณ แซ่อึ้ง

วพ.
ว/523ก
2558
สจพม.
เลขทะเบียน 143391
วัน.เดือน.ปี 01 ส.ค. 2559

b.18798041
.i.

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไวน์ข้าวโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

STUDY ON OPTIMUM TIME FOR STARCH HYDROLYSIS AND OPTIMUM TEMPERATURE FOR RICE WINE FERMENTATION USING PURE CULTURE

นางสาวปัญจาภรณ์ แตกเงิน

นางสาวอุบลวรรณ แซ่อึ้ง

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

FACULTY OF AGRO-INDUSTRY

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัญหาพิเศษ

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไวน์ข้าวโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

STUDY ON OPTIMUM TIME FOR STARCH HYDROLYSIS AND OPTIMUM TEMPERATURE FOR RICE WINE FERMENTATION USING PURE CULTURE

จัดทำโดย

นางสาวปัญจาภรณ์ แตกเงิน รหัสนักศึกษา 54080111

นางสาวอุบลวรรณ แซ่อึ้ง รหัสนักศึกษา 54080154

อาจารย์ที่ปรึกษา

ดร. สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา

หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไวน์ข้าวโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์

STUDY ON OPTIMUM TIME FOR STARCH HYDROLYSIS AND OPTIMUM TEMPERATURE FOR RICE WINE FERMENTATION USING PURE CULTURE

จัดทำโดย

นางสาวปัญจาภรณ์ แตกเงิน รหัสนักศึกษา 54080111

นางสาวอุบลวรรณ แซ่อึ้ง รหัสนักศึกษา 54080154

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ...../...../.....

(ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไวน์ข้าวโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์
นักศึกษา	ปัญจาภรณ์ แตกเงิน รหัสนักศึกษา 54080111
	อุบลวรรณ แซ่อึ้ง รหัสนักศึกษา 54080154
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก
พ.ศ.	2558
อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ	ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้ ได้ทำการศึกษาเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสม โดยใช้กล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp. ที่เลี้ยงบนรำข้าวสาลี ซึ่งจะศึกษาเวลาในการย่อยข้าวก่อนการผ่าส่าและเติมยีสต์ทั้งหมด 5 ช่วงเวลา ได้แก่ การย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่า เวลาที่เหมาะสม คือ เวลาการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หรือการเติมกล้าเชื้อราพร้อมกับการเติมน้ำเชื่อมและยีสต์ จึงเลือกเวลาในการย่อยข้าวดังกล่าว มาทำการทดลองร่วมกับการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก โดยทำการหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เกิดการหมักช้ากว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมีปริมาณของแข็งละลายทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่สูงกว่า นอกจากนี้ ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิต่ำ แสดงให้เห็นถึงปริมาณกรดแลคติกและปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่า และผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง มีกลิ่นหอมและรสชาติแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P<0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P> 0.05$) ในด้านลักษณะปรากฏ สี และความชอบโดยรวม

คำสำคัญ : ไวน์ข้าว, การย่อยข้าว, อุณหภูมิที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	THE SUDY ON OPTIMUM TIME TO STARCH HYDROLYSIS AND OPTIMUM TEMPERATURE FOR RICE WINE FERMENTATION USING PURE CULTURE
Student name	Punjaporn Takngren
Student ID	54080111
	Ubonwan Saeoueng
	54080154
Programme	Bachelor of Science Program Fementation Technology
Year	2015
Special problem advisor	Soisuda Pornpukdeewattana, Ph.D.

ABSTRACT

This research studied the optimum time for starch hydrolysis using a pure culture of *Amylomyces* sp. grown on wheat bran before adding sugar syrup and yeast. Five conditions of time period were examined at 0, 12, 24, 36 and 48 hours. The results presented that at 0 hours or adding mold bran together with sugar syrup and yeast (saccharification and fermentation) was the optimum time. The optimum temperature was then studied at room temperature (32±2 °C) and 15 °C. It was found that rice wine fermentation at 15°C was slower than at room temperature with higher total soluble solids and reducing sugar remaining. In addition, rice wine fermented at low temperature showed lower content of lactic acid and alcohol. Sensory evaluation of the products also was determined. Rice wine fermented at 15°C and room temperature were significantly different in aromas and taste ($P< 0.05$). However, there was no significant difference in appearance color and overall ($P> 0.05$).

keywords : rice wine, starch hydrolysis, optimum temperature

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

การทำปัญหาพิเศษในหัวข้อเรื่อง “การศึกษาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวและอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักเพื่อผลิตไวน์ข้าวโดยใช้กล้าเชื้อบริสุทธิ์” เล่มนี้ จะสำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าได้รับความอนุเคราะห์เป็นอย่างดีจากท่านอาจารย์ ดร.สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา ซึ่งเป็นอาจารย์ที่ปรึกษาวิชาปัญหาพิเศษของข้าพเจ้า ที่ท่านได้ให้ความกรุณาและเสียสละเวลาของท่านมาให้คำปรึกษา คอยชี้แจงข้อบกพร่อง และคอยแนะนำให้ไปปรับปรุงแก้ไข เพื่อให้การทำปัญหาพิเศษเล่มนี้มีความสมบูรณ์มากยิ่งขึ้น ข้าพเจ้าจึงขอขอบพระคุณเป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้

ขอขอบพระคุณ ดร.สุรชัย ใหญ่เย็น ที่เข้าร่วมเป็นกรรมการในการฟังการเสนอปัญหาพิเศษ และให้ข้อเสนอแนะที่เป็นประโยชน์ในการทำปัญหาพิเศษครั้งนี้ให้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี ข้าพเจ้าจึงขอขอบคุณไว้ ณ โอกาสนี้

ท้ายที่สุดข้าพเจ้าขอขอบพระคุณคุณบิดามารดาและญาติทุกท่าน ที่คอยเป็นกาลังใจที่สำคัญและเป็นแรงผลักดันให้ข้าพเจ้าเรื่อยมาตลอดการทำปัญหาพิเศษในครั้งนี้ และขอขอบคุณเพื่อนๆทุกคนของข้าพเจ้าที่คอยให้คำแนะนำ คอยให้คำปรึกษา คอยให้กำลังใจ และคอยให้ความช่วยเหลือตลอดมา

ปัญจาภรณ์ แตกเงิน
อุบลวรรณ แซ่อึ้ง
2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	VI
สารบัญภาพ	VII
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 ไวน์ข้าว	2
2.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไวน์ข้าว	2
2.3 กรรมวิธีการผลิตไวน์ข้าว	3
2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักไวน์ข้าว	4
2.5 สภาวะที่มีผลต่อกระบวนการหมัก	6
2.6 การหมักแอลกอฮอล์	7
2.7 ผลของเอทานอลต่อการเจริญและการหมักของยีสต์	7
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	10
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	10
3.2 อุปกรณ์	11
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	12
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	15
4.1 ผลการทดลองการศึกษาผลของเอทานอลต่อการรอชีวิตของ*S. cerevisiae* M30	15
4.2 ผลการศึกษาเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าโดยเชื้อรา *Amylomyces* sp. ที่เลี้ยงบนอาหารรำข้าวสาลีที่มีการเติมแมกซีเนียมซัลเฟต 0.1 มิลลิโมล	16
4.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์ข้าว	24

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	34
5.1 สรุปผล	34
5.2 ข้อเสนอแนะ	35
บรรณานุกรม	36
ภาคผนวก	38
ภาคผนวก ก การเตรียมสารอาหาร	39
ภาคผนวก ข วิธีการวิเคราะห์	42
ประวัติผู้เขียน	48

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่		หน้า
2.1	ผลกระทบบางส่วนของเอทานอลในทางสรีรวิทยาของยีสต์	8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่		หน้า
2.1	แสดงการเปลี่ยนแป้งในข้าวให้เป็นน้ำตาลโดยเชื้อราและการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์	4
2.2	*Amylomyces sp.*	4
2.3	*Rhizopus sp.*	5
2.4	*Saccharomyces cerevesiae*	6
2.5	สมการเปลี่ยนกลูโคสเป็นแอลกอฮอล์	7
4.1	จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของ *S. cerevesiae* M30 ภายใต้ความเข้มข้นของเอทานอลที่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD 2% กลูโคส	15
4.2	เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์) ของ *S. cerevesiae* M30 ภายใต้ความเข้มข้นของเอทานอลที่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD 2% กลูโคส	16
4.3	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง	17
4.4	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง	18
4.5	ความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง	19
4.6	ปริมาณกรดแลคติก ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง	20
4.7	ปริมาณแอลกอฮอล์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง	21
4.8	จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง	22
4.9	เปอร์เซ็นต์การการรอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง	22
4.10	ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าที่ 0 (A), 12 (B), 24 (C), 36 (D) และ 48 (E) ชั่วโมง ในระหว่างการหมักวันที่ 4	23
4.11	ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าที่ 0 (F), 12 (G), 24 (H), 36 (I) และ 48 (J) ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 11 วัน	23

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ (ต่อ)

ภาพที่ หน้า

4.12 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0 หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) 25

4.13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0 หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) 26

4.14 ความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0 หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) 26

4.15 ปริมาณกรดแลคติก ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการ ย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง 27

4.16 ปริมาณแอลกอฮอล์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) 28

4.17 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) 29

4.18 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) 30

4.19 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง ที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าหมักที่ 15 องศาเซลเซียส (K) และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) (M) ในระหว่างการหมักวันที่ 7 30

4.20 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง ที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าหมักที่ 15 องศาเซลเซียส (N) และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) (O) เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน 31

4.21 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง ที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าหมักที่ 15 องศาเซลเซียส (P) และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) (Q) เมื่อผ่านการกรองและการพาสเจอร์ไรซ์ 31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ไวน์ข้าวเกิดขึ้นจากภูมิปัญญาชาวบ้านมานานแล้ว เป็นเครื่องดื่มที่มีส่วนประกอบของแอลกอฮอล์ มีสีขาวขุ่นและมีกลิ่นหอมเฉพาะตัว ไวน์ข้าวของไทย เช่น สาโท อุ กระแช่ (ณรินทร และปกรณ์, 2543) กระบวนการผลิตไวน์ข้าวทำได้ง่ายไม่ยุ่งยากซับซ้อน แต่มักจะเกิดปัญหาเกี่ยวคุณภาพของผลิตภัณฑ์ที่ได้ เช่น มีเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ไม่แน่นอน หรืออาจมีกลิ่นรสที่ไม่ชวนดื่ม หรือปัญหาอื่นๆ อีกมาก เนื่องจากจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้ง ซึ่งในลูกแป้งจะมีทั้งจุลินทรีย์ที่จำเป็นและไม่จำเป็นต่อการหมัก พวกที่จำเป็นต่อการหมักอาจมีปัญหาในเรื่องประสิทธิภาพการทำงานของจุลินทรีย์ ส่วนพวกที่ไม่จำเป็นต่อการหมักบางชนิดอาจทำให้คุณภาพของไวน์ข้าวที่ได้เสื่อมลง จึงได้มีการแก้ไขปัญหาที่เกิดขึ้นโดยการเลือกใช้ราและยีสต์บริสุทธิ์ในกระบวนการหมัก ทำให้สามารถควบคุมคุณภาพได้ดีและคงที่ (สร้อยสุดา, 2557) แต่คุณภาพของผลิตภัณฑ์ไวน์ข้าวที่ดีนั้นนอกจากการเลือกใช้ราและยีสต์บริสุทธิ์แล้วจำเป็นต้องอาศัยปัจจัยอื่นๆร่วมด้วย

ในการศึกษานี้จึงได้ทำการศึกษาเปรียบเทียบหาสภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์ข้าว โดยเริ่มต้นจากการศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces* sp. ที่เลี้ยงบนอาหารรำข้าวสาลีที่มีการเติมแมกซีเนียมซัลเฟต ($MgSO_4$) 0.1 มิลลิโมล เวลาที่ใช้ในการศึกษาคือ การย่อยข้าวเป็นเวลา 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง ร่วมกับการเติมกล้าเชื้อ *Saccharomyces cerevesiae* M30 จากนั้นเมื่อได้เวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมแล้ว จึงทำการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตไวน์ข้าวที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส แลที่อุณหภูมิห้องซึ่งเป็นตัวอย่างควบคุม จากนั้นนำไวน์ข้าวมาทดสอบทางประสาทสัมผัสเพื่อทำการเปรียบเทียบไวน์ข้าวที่หมักในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน และนอกจากนี้ยังได้ทำการศึกษาถึงผลของเอทานอลต่อการเจริญและการรอดชีวิตเชื้อ *S. cerevisiae* M30

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

1.2.1 เพื่อศึกษาหาเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าว

1.2.2 เพื่อศึกษาหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์ข้าว

1.2.3 เพื่อศึกษาความอดทนต่อเอทานอลของเชื้อ *S. cerevisiae* M30

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

จากการศึกษา พบว่าในการหมักไวน์แต่ละอุณหภูมิให้กลิ่นและรสชาติของไวน์ข้าวที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นหากจะนำไปใช้ในกระบวนการผลิตควรทำการศึกษาถึงความชอบและการยอมรับของกลุ่มผู้บริโภค เพื่อพัฒนาให้การผลิตให้เหมาะสมกับความต้องการของผู้บริโภคและเพื่อให้ไวน์ข้าวมีคุณภาพที่ดียิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
เอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ไวน์ข้าว

ไวน์ข้าว จัดเป็นสุราแช่ ในมาตรา 4 ให้นิยามคำว่า “สุราแช่” หมายความว่าสุราที่ไม่ได้กลั่น และให้ความหมายรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลั่นแล้ว แต่ยังมีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร (พระราชบัญญัติสุรา, 2493)

ไวน์ข้าวในแต่ละประเทศมีชื่อเรียกแตกต่างกันไป เช่นไวน์ข้าวของประเทศญี่ปุ่นที่รู้จักกันดีในชื่อของสาเก ซึ่งเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักข้าว มีลักษณะใส สีเหลืองอ่อน มีปริมาณแอลกอฮอล์ 17-20 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร มีกลิ่นรสเฉพาะตัว มีความเป็นกรดและหวานเล็กน้อย วัตถุดิบหลักที่ใช้ในการผลิตสาเก คือ ข้าวกับน้ำ และมีการทำงานของเชื้อจุลินทรีย์ 2 ชนิดเกิดขึ้นพร้อมๆกัน เรียกว่า parallel fermentation คือมีการย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลและย่อยโปรตีนให้เป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน โดยเอนไซม์อะมิเลส (amylase) และโปรติเอส (protease) ที่มีอยู่ในโคจิซึ่งเป็นเชื้อ *Apergillus oryzae* ที่เลี้ยงบนข้าวนึ่งสุกแล้วมีการใช้ยีสต์เพื่อเปลี่ยนแปลงน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยการหมักอย่างช้าๆ จึงทำให้ได้สาเกที่มีปริมาณแอลกอฮอล์สูง ไวน์ข้าวของประเทศไทย ได้แก่ สาโท ซื่อพ้อง เหล้าโท กะแช่ น้ำข้าว-น้ำแดง เป็นเครื่องดื่มประเภทแอลกอฮอล์พื้นบ้านดั้งเดิมของไทย โดยการหมักข้าวเหนียวนึ่งด้วยลูกแป้งเชื้อ สาโทจะไม่มีการกลั่น มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ไวน์ข้าวของประเทศเกาหลี เรียกว่า Takju ผลิตโดยใช้กล้าเชื้อราที่เรียกว่า nuruks ซึ่งอาจใช้ในรูปเชื้อบริสุทธิ์ของ *Mucor racemosus*, *A. oryzae*, *A. kawachill* หรืออาจใช้ในรูปกล้าเชื้อผสม นอกนี้ยังมี Chao-Ching-Chu ของประเทศจีน และ Shonti ของประเทศอินเดีย (สร้อยสุดา, 2557)

2.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการผลิตไวน์ข้าว

2.2.1 น้ำ (Yoshizawa, 1999)

น้ำเป็นส่วนประกอบที่สำคัญในการผลิตไวน์ข้าวเพราะไวน์ข้าวมีน้ำเป็นองค์ประกอบประมาณร้อยละ 80 โดยปริมาตร โดยน้ำจะช่วยในการละลายเอนไซม์และสารอื่นๆ ในข้าวและโคจิ เกลือแร่บางชนิดที่มีอยู่ในน้ำจำเป็นต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราในโคจิและยีสต์และบางชนิดยังมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ที่ใช่ย่อยแป้ง ดังนั้นน้ำที่จะนำมาใช้ผลิตควรมีคุณภาพดังต่อไปนี้

2.2.1.1. ไม่มีสี กลิ่น และรสเจือปน

2.2.1.2. มีความเป็นกลางหรือด่างอ่อนๆ

2.2.1.3. มีปริมาณเหล็กน้อยกว่า 0.02 พีพีเอ็ม เนื่องจากเหล็กเป็นองค์ประกอบของ ferrichrysin และเป็นสารที่ให้สีน้ำตาลแดง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.1.4. มีแร่ธาตุ เช่น แอมโมเนีย ไนเตรท รวมทั้งสารอินทรีย์ปะปนในปริมาณน้อยหรือไม่มีเลย

2.2.1.5. ไม่มีจุลินทรีย์ที่เป็นอันตรายต่อมนุษย์ปะปนลงไป

2.2.2 ข้าว (สร้อยสุดา, 2557)

ข้าวมีผลต่อการผลิต และคุณภาพของไวน์ที่ได้โดยเฉพาะกลิ่น ดังนั้นการจะตัดสินว่าข้าวประเภทไหนมีคุณภาพอย่างไร สามารถพิจารณาจาก 2 หลักสำคัญ คือ

2.2.2.1. เป็นข้าวที่สามารถย่อยได้โดยเอนไซม์ และสามารถให้ปริมาณน้ำตาลสูง

2.2.2.2. เป็นข้าวที่เชื้อราสามารถเจริญเติบโตได้ดี โดยทั่วไปแล้วข้าวที่มีความเหนียวละมีปริมาณอะมิโลสต่ำจะมีปริมาณเอทานอลสูงที่สุด

2.3 กรรมวิธีการผลิตไวน์ข้าว (วิษณุ, 2555)

การหมักไวน์ข้าวจะใช้ข้าว เป็นวัตถุดิบหลัก มีกรรมวิธีการผลิตดังนี้

2.3.1 การล้าง (washing)

ข้าวเพื่อเป็นการชะล้างสิ่งแปลกปลอมช่วยลดระดับการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ลง น้ำที่ใช้ล้างและแช่ข้าวจึงต้องเป็นน้ำสะอาดคุณภาพน้ำบริโภค เช่นเดียวกับน้ำที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการหมักไวน์ข้าว ส่วนการแช่ข้าวมีจุดประสงค์เพื่อให้ข้าวอมน้ำร้อยละ 25-30 โดยน้ำหนักก่อนนำไปนึ่งให้สุก น้ำจะซึมผ่านเข้าไปกระจายอยู่ทั่วบริเวณเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวโดยการแช่ข้าว จะใช้เวลา 3-4 ชั่วโมง

2.3.2 การนึ่งข้าว (steaming)

เพื่อทำให้เม็ดแป้งเกิดเจลลาติไนส์ (gelatinization) และทำให้โปรตีนเสียสภาพ (protein denaturation) เพื่อให้ง่ายต่อการเข้าตัดของเอนไซม์ของรา การนึ่งข้าวจะใช้เวลา 30-60 นาที หลังจากการนึ่งแล้ว การทำให้ข้าวเย็นตัวลง และเพื่อเป็นการปรับความชื้นข้าวสุกจะใช้วิธีพรมน้ำสะอาด จนได้ความชื้นประมาณร้อยละ 45-55 ก่อนนำข้าวสุกไปเติมหัวเชื้อหมัก

2.3.3 การหมักด้วยกล้าเชื้อ

กระบวนการหมักเริ่มจากเติมข้าวนึ่งสุก และกล้าเชื้อรา ที่เตรียมไว้ ลงในถังหมักเชื้อราจะเจริญในช่วง 2-3 วันแรกของการหมักผลิตเอนไซม์อะไมเลส (amylase) เพื่อย่อยแป้งในข้าวให้เป็นน้ำตาล เรียกว่า Saccharification ได้น้ำหวานเรียกว่า น้ำต้อย จากนั้นเติมเชื้อยีสต์ลงไป การหมักในช่วงหลังยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และปล่อยให้กระบวนการหมักดำเนินต่อไปอีก 4 -7 วัน หรือเมื่อวัดระดับแอลกอฮอล์ได้ประมาณ 10-12 %

2.3.4 การหยุดการหมัก

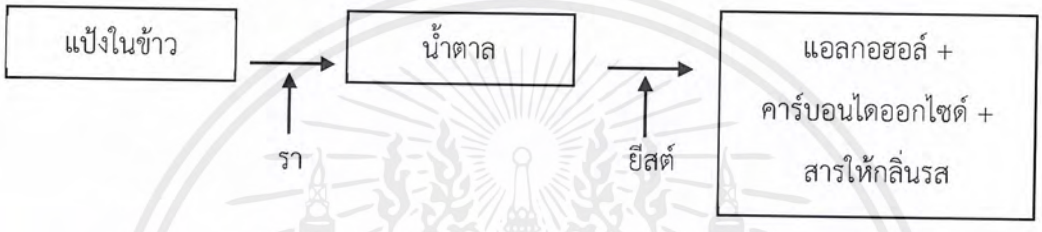
โดยถ่ายเอาเฉพาะส่วนน้ำไวน์ข้าวออกจากถังหมักไปเก็บในถังพักที่เติมสารเพื่อฆ่าเชื้อและหยุดการทำงานของจุลินทรีย์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักไวน์ข้าว (เจริญ, 2550)

2.4.1 เชื้อรา

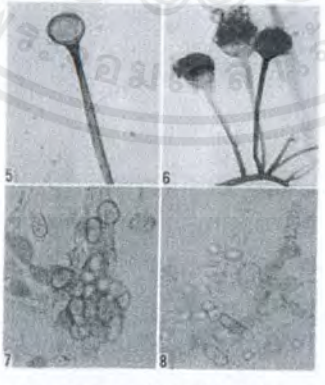
ราเป็นสิ่งมีชีวิตที่ต้องการอากาศในการหายใจ และจะผลิตน้ำย่อย ออกมาย่อยแป้งในเมล็ดข้าวให้กลายเป็นน้ำตาล ส่วนยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเซลล์เดียว ที่มองด้วยตาเปล่าไม่เห็น ซึ่งจะสร้างน้ำย่อย เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ นอกจากนั้นยังผลิตกลิ่นรสของเครื่องดื่ม ทำให้มีกลิ่นชวนดื่ม การเจริญของยีสต์ไม่จำเป็นต้องใช้อากาศในการหายใจ ดังนั้นจึงสามารถหมักในขั้นนี้ ในภาชนะปิดได้ แต่ต้องมีช่องระบายก๊าซออก เพราะในการผลิตแอลกอฮอล์นั้น จะมีผลพลอยได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์



ที่มา : https://surathai.wordpress.com/2007/06/12/satho-micro

ภาพ 2.1 แสดงการเปลี่ยนแป้งในข้าวให้เป็นน้ำตาลโดยเชื้อราและการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยเชื้อยีสต์

เชื้อราที่มีประสิทธิภาพดีในการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล ได้แก่ *Amylomyces rouxii* และ *Rhizopus oryzae* เป็นต้น ซึ่งเป็นราที่มีสีขาว



ที่มา: http://elearningsmansa.blogspot.com/2010/10/mengenal-amylomyces-rouxii.html

ภาพ 2.2 *Amylomyces sp.*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่มา : http://meddic.jp/rhizopus

ภาพ 2.3 *Rhizopus sp.*

ในการหมักช่วงแรก เชื้อราจะสร้างเส้นใย ชอนไชไปทั่วข้าว และย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลแต่เนื่องจากเป็นราสีขาว จึงไม่ทำให้ข้าวเปลี่ยนสี เนื่องจากมองไม่เห็นเส้นใยชัดเจน ต่างจากการหมักซีอิ๊วเต้าเจี้ยว ที่ใช้ราสีเขียวเมื่อแป้งในข้าวถูกย่อยกลายเป็นน้ำตาล จึงไม่สามารถอุ้มน้ำเอาไว้ได้ และน้ำที่มีอยู่ก็จะซึมออกมา เป็นน้ำเชื่อมข้าว ในช่วงนี้ ราจะสร้างกรด ทำให้ข้าวมีความเป็นกรด คือมีค่าความเป็นกรดด่างต่ำลง ทำให้เกิดสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญของยีสต์ และยับยั้งแบคทีเรียที่จะทำให้ข้าวบูดเน่า

ในปี พ.ศ. 2556 ภูชิสส์ และอุบล ได้ทำการศึกษาผลของไอออนโลหะแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) และแมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$) ต่อการเจริญของเชื้อรา *Amylomyces* sp. ในการวิเคราะห์กิจกรรมเอนไซม์ พบว่าแคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) ที่เติมลงในรำข้าวสาลี ที่ความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล ในวันที่ 3 ของการหมัก มีกิจกรรมของเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสสูงสุดที่ 458.9191 หน่วยต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง และในวันที่ 6 ของการหมักพบว่ามีกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะมิเลสปริมาณสูงสุดที่ 202.457หน่วยต่อกรัมของน้ำหนักแห้งที่ความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมลของ $CaCl_2$ ในวันที่ 3 ของการหมักผลของ $MgSO_4$ ที่เติมลงในรำข้าวสาลี พบว่ามีกิจกรรมเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสสูงสุดที่ 451.769 หน่วยต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ที่ระดับความเข้มข้น 0.1 มิลลิโมล ขณะที่กิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะมิเลสปริมาณสูงสุดอยู่ที่ 180.3813 หน่วยต่อกรัมของน้ำหนักแห้ง ที่ระดับความเข้มข้น 1.0 มิลลิโมล ในวันที่ 6 จากการทดลองพบว่าปริมาณเอนไซม์แอลฟา-อะมิเลสที่มีความสำคัญในการผลิตไวน์ข้าวนั้นเมื่อใส่โลหะ $CaCl_2$ และ $MgSO_4$ ผลของการผลิตเอนไซม์ไม่แตกต่างกันแต่พบว่าปริมาณโลหะ $CaCl_2$ ใส่ปริมาณมากกว่า ดังนั้นในหากต้องการผลิตไวน์ข้าวในระดับอุตสากรรมควรเลือก $MgSO_4$ เนื่องจากมีผลต่อกิจกรรมเอนไซม์ในปริมาณมากแล้วยังใส่ความเข้มข้นของโลหะน้อยกว่า $CaCl_2$

2.4.2 เชื้อยีสต์

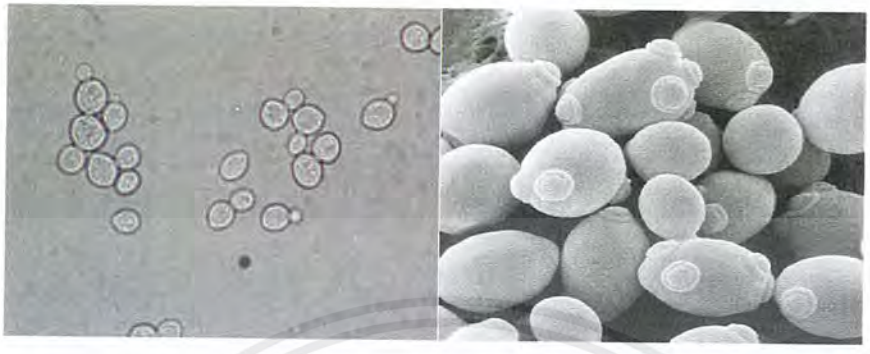
เชื้อยีสต์ที่นิยมใช้กันได้แก่ สายพันธุ์ *S. cerevisiae* ทั้งนี้เนื่องจากว่าเชื้อยีสต์มีคุณสมบัติดังต่อไปนี้

2.4.2.1 มีการเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็ว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4.2.2 มีความคงทนต่อแอลกอฮอล์ได้สูง

2.4.2.3 ให้แอลกอฮอล์ในปริมาณสูง



ที่มา :http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1509/saccharomyces-cerevisiae

ภาพที่ 2.4 *Saccharomyces cerevesiae*

2.5 สภาวะที่มีผลต่อกระบวนการหมัก (ปิยะรัชช์, 2551)

2.5.1 อุณหภูมิ

ในขั้นตอนระหว่างการหมักจะมีพลังงานความร้อนเกิดขึ้น ซึ่งเป็นผลจากการที่ยีสต์ใช้น้ำตาลซูโครสในการหมักไวน์ ความร้อนมีผลต่อการเจริญของยีสต์ การเปลี่ยนแปลงทางกายภาพของน้ำหมักและอัตราการหมักของเอทานอล ยีสต์จะสามารถเจริญได้ดีที่อุณหภูมิค่อนข้างสูง แต่ถ้าใช้อุณหภูมิที่สูงมากเกินไปจะทำให้การเจริญของยีสต์และอัตราการผลิตเอทานอลต่ำกว่าที่อุณหภูมิการหมักปกติ โดยทั่วไปจะควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง 18-20 องศาเซลเซียส

ในปี 2013 Liu และคณะ ได้ทำการศึกษาผลกระทบของอุณหภูมิในการผลิตไวน์ข้าวของจีน โดยได้ทำการทดลองหมักไวน์ข้าวในอุณหภูมิที่แตกต่างกัน 5 อุณหภูมิ ได้แก่ที่ 18, 23, 28, 33 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้องพบว่าอุณหภูมิมีผลต่อการผลิตเอทานอลในการหมักไวน์ข้าว และยังมีผลต่อค่าพารามิเตอร์ต่างๆ ที่เป็นตัวควบคุมคุณภาพของไวน์ข้าว ในการทดลองนี้พบว่าในแต่ละอุณหภูมิทำให้เกิดการผลิตเอทานอล น้ำตาล กลีเซอรอล และกรดอินทรีย์ที่แตกต่างกัน พบว่าที่อุณหภูมิ 23 และ 33 องศาเซลเซียส ทำให้เกิดการผลิตเอทานอลและกลีเซอรอลได้สูงที่สุดและต่ำที่สุดตามลำดับ ส่วนผลกระทบของอุณหภูมิต่อการเกิดกรดอินทรีย์ พบว่าแต่ละอุณหภูมิทำให้เกิดกรดอินทรีย์แต่ละชนิดในปริมาณมากน้อยแตกต่างกันไป เช่น กรดซัคซินิค (succinic acid) จะเกิดขึ้นในปริมาณมากที่อุณหภูมิ 23 องศาเซลเซียส และจะต่ำที่สุดที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส และในระหว่างการหมักที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส จะสามารถเกิดกรดแลคติค (lactic acid) กรดอะซิติก (acetic acid) และกรดทาร์ทาริกได้อย่างอย่างรวดเร็ว การที่กรดแลคติคและกรดอะซิติกที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส มีปริมาณสูงกว่าอุณหภูมิอื่นๆ เนื่องจากที่อุณหภูมิสูง (33 องศาเซลเซียส) การเจริญของยีสต์จะถูกยับยั้งจากการผลิตเอทานอลที่ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สับสเตรทและแลคโตบาซิลัส (*Lactobacillus*) สามารถใช้น้ำตาลกลูโคสในการเจริญและผลิตกรดแลคติกได้ดีที่อุณหภูมิสูง

2.5.2 ความเป็นกรดด่าง

มีความสำคัญมากต่อการเจริญของยีสต์ อัตราการหมักไวน์ อัตราการผลิตเอทานอล และการสร้างสารพลอยได้อื่นๆ ตลอดจนควบคุมการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ

2.5.3 อากาศ

ยีสต์จะสามารถแบ่งตัวในระยะเจริญ เมื่อเวลาผ่านไปภายใน 24 ชั่วโมง การเจริญของยีสต์ในช่วงนี้จะให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่น้อยมาก ยีสต์จะผลิตกรดน้ำส้ม ทำให้ไวน์มีรสเปรี้ยวและมีกลิ่นบูด แต่ในสภาวะไม่มีอากาศยีสต์จะแบ่งเซลล์ได้น้อยกว่าแต่จะให้แอลกอฮอล์ๆได้ดีกว่า

2.5.4 ความเข้มข้นเอทานอล

ในระหว่างกระบวนการหมักความเข้มข้นของเอทานอลจะสูงขึ้นเรื่อยๆ ซึ่งจะสามารถยับยั้งการเจริญของยีสต์ได้

2.6 การหมักแอลกอฮอล์ (เจริญ, 2550)

ยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลกลูโคส หรือน้ำตาลฟรุคโตส ให้เป็นแอลกอฮอล์ และมีผลพลอยได้เป็นก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ ดังภาพที่ 2.5 โดยตามทฤษฎี จะได้แอลกอฮอล์ประมาณ 50 % จากปริมาณน้ำตาลที่ใช้ แต่ในทางปฏิบัติมักไม่ถึง เพราะจะเกิดผลพลอยได้เป็นสารให้กลิ่นรสอีกหลายชนิด

ในการหมัก ยีสต์จะเจริญเติบโต อย่างรวดเร็วในช่วง 2–3 วันแรก หลังจากนั้นการเจริญเติบโต จะช้าลง จนถึงช่วงที่ไม่เพิ่มจำนวนขึ้น แต่ในช่วงนี้ ก็ยังมีการเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ขึ้นเรื่อยๆและปริมาณน้ำตาลก็ลดลง และมีการสร้างสารให้กลิ่นรสต่างๆ ในช่วงนี้ด้วย ดังนั้นจึงต้องหมักต่อไป แม้ยีสต์จะหยุดเพิ่มจำนวนแล้วก็ตาม

$$C_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{ยีสต์}} 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$$

น้ำตาล → เอทานอล

ที่มา : http://www.vcharkarn.com/lesson/1459

ภาพที่ 2.5 สมการเปลี่ยนกลูโคสเป็นแอลกอฮอล์

2.7 ผลของเอทานอลต่อการเจริญและการหมักของยีสต์ (Stanley และคณะ, 2009)

เอทานอลเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ที่ความเข้มข้นค่อนข้างต่ำ การยับยั้งการแบ่งตัวของเซลล์ ปริมาณเซลล์และอัตราการเจริญเติบโตเฉพาะลดลง ในขณะที่ความเข้มข้นของเอทานอลสูงจะลด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พลังเซลล์และเพิ่มการตายของเซลล์ นอกจากนี้เอทานอลยังมีผลต่อการเผาผลาญของเซลล์และการสังเคราะห์โมเลกุลโดยการกระตุ้นให้เกิดการผลิตของ heat shock-like proteins อัตราของ RNA การสะสมโปรตีนลดระดับลง การเพิ่มการกลายพันธุ์ เปลี่ยนแปลงการเผาผลาญอาหาร การเปลี่ยนโปรตีนภายในเซลล์และเอนไซม์ glycolytic มีกิจกรรมลดลง

สำหรับผลกระทบเอทานอลหลักๆ ในยีสต์ เป็นเยื่อหุ้มเซลล์โปรตีนที่ไม่ชอบน้ำและโปรตีนที่ชอบน้ำ และเอนโดพลาสมิกเรติคิวลัม สำหรับความเครียดเอทานอลและการช็อกความร้อนการเปลี่ยนรูปร่างแวคิวโอล คือการเปลี่ยนแปลงจากโครงสร้างที่จะแยกเป็นเดี่ยวๆ จากออร์แกเนลล์ที่มีขนาดใหญ่ โครงสร้างและการทำงานของเมมเบรนที่ดูเหมือนจะเป็นเป้าหมายเด่นของเอทานอล การได้รับสารของยีสต์ไปแสดงผลเอทานอล ในของเหลวที่เยื้อหุ้มเซลล์เพิ่มขึ้นการลดลงของความพร้อมน้ำเนื่องจากการปรากฏตัวของเอทานอลที่ทำให้เกิดการยับยั้งเอนไซม์ที่สำคัญ glycolytic และโปรตีนเหล่านี้อาจจะเสียสภาพ ผลกระทบหลักๆของเอทานอลในเซลล์ยีสต์มีรายละเอียดใน ตารางที่ 1

ตารางที่ 2.1 ผลกระทบบางส่วนของเอทานอลในทางสรีรวิทยาของยีสต์

การทำงานของเซลล์และอิทธิพลของเอทานอล	ที่มา
ศักยภาพและการเจริญเติบโตของเซลล์	
- ยับยั้งการเจริญเติบโตและศักยภาพในการแบ่งเซลล์	Stanley et al. (1997)
- การลดลงของปริมาณเซลล์	Birch and Walker (2000)
การเผาผลาญ	
- ลด mRNA และระดับโปรตีน	Chandler et al. (2004),Hu et al. (2007)
- โปรตีนเสียสภาพและการทำงานของเอนไซม์ glycolytic ลดลง	Hallsworth et al. (1998)
- การเหนี่ยวนำของ heat shock-like proteins และโปรตีน อื่นๆ ที่ตอบสนองต่อความเครียด	Plesset et al. (1982)
- การสะสมของทรีฮาโลสภายในเซลล์	Lucero et al. (2000)
โครงสร้างของเซลล์และการทำงานของเยื่อหุ้มเซลล์	
- การเปลี่ยนแปลงลักษณะทางสัณฐานวิทยาของแวคิวโอล	Meaden et al. (1999)
- ยับยั้งการกระบวนการ endocytosis	Lucero et al. (2000)
- อัตราการเพิ่มกรดไขมันไม่อิ่มตัว/อิ่มตัวในเยื้อหุ้ม	Alexandre et al. (1994)
- การเพิ่มปริมาณของ ergosterol ของเยื่อหุ้ม	Sajbidor et al. (1995)
- การสูญเสียของการไล่ระดับสีไฟฟ้าและแรงกระตุ้นโปรตอน	Petrov and Okorokov (1990)
	Leao and van Uden (1984)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- ยับยั้งกระบวนการขนส่ง - ยับยั้งการกิจกรรม H^+ -ATPase - ของเหลวเยื่อหุ้มเซลล์เพิ่ม	Cartwright et al. (1986) Mishra and Prasad (1989)

ที่มา : Stanley และคณะ (2009)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3
อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 รำข้าวสาลี ซื้อมาจาก ร้าน แสงทองจตุจักร 1 เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียส

3.1.1.2 มันฝรั่ง

3.1.1.3 ข้าวเหนียว พันธุ์ กข6

3.1.1.4 น้ำตาลทราย ตรามิตรผล จากบริษัท น้ำตาลมิตรผล

3.1.1.5 น้ำดื่มตราสิงห์ จากบริษัท สิงห์ คอร์เปอเรชั่น จำกัด ในเครือบริษัท บุญรอดบริวเวอรี่ จำกัด,ประเทศไทย

3.1.2 จุลินทรีย์

3.1.2.1 *Amylomyces* sp. จากห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.1.2.2 *Saccharomyces cerevisiae* M30 จากห้องปฏิบัติการสาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก คณะอุตสาหกรรมเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

3.1.3 สารเคมีและสารอาหาร

สารเคมี

Ethanol 95%

Hydrochloric acid (HCl)

Sodium hydroxide (NaOH)

Sodium potassium tartrate ($FeSo_4 \cdot 7H_2O$)

Magnesium sulfate (Mg_2SO_4)

Sulfuric acid (H_2SO_4)

3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)

Ortho-Phenanthroline ($C_{12}H_8N_2.H_2O$)

Potassium dichromate ($K_2Cr_2O_7$)

Ferrous Ammonium Sulfate ($Fe(NH_4)_2(SO_2)_2 \cdot 6H_2O$)

สารอาหาร

Agar

Potato

D-glucose

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Yeast extract

Malt extract

Peptone

3.2 อุปกรณ์

เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ

เครื่อง Hi-Speed Centrifuge

เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์

เครื่องวัดความเป็นกรดด่าง

เครื่องชั่งชนิดละเอียด

เครื่องชั่งสองตำแหน่ง

เครื่องผสมสาร (Vortex)

เครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์

เครื่องกลั่น

ตู้บ่มเชื้อ

ตู้เขี่ยเชื้อ

ตู้อบเครื่องแก้ว

ตู้เย็น

ไมโครเวฟ

หม้อนึ่งความดันไอ

อีบลูลิโอมิเตอร์

หลอดปั่นเหวี่ยงพลาสติก ขนาด 15 ml

ไมโครปิเปต ขนาด 100 และ 1000 ไมโครลิตร

ทิป ขนาด ขนาด 100 และ 1000

กระบอกตวงพลาสติก 100, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

ขวดปรับปริมาตร 100, 250 และ 1000 มิลลิลิตร

บีกเกอร์ 250, 500 และ 1000 มิลลิลิตร

ปิเปต 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร

หลอดทดลอง 16 x 150 มิลลิลิตร

ผ้าขาวบางขนาด 30 x 50 เซนติเมตร

ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 และ 2000มิลลิลิตร

ฟลาสก์ ขนาด 250, 500 และ 2000มิลลิลิตร

ขวดดูแรน ขนาด 2000 มิลลิลิตร

หลอดกลั่นแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เขียง
มีด
ตะเกียงแอลกอฮอล์
แท่งแก้ว
ลูกแก้ว
ลูปเขี่ยเชื้อ
ช้อนตักสาร
ช้อนสแตนเลส
ผ้าขาวบาง
ผ้าดิบ
หม้อลาว
หวดนึ่งข้าว
ถาดพลาสติก

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

3.3.1 การเตรียมกล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp.ที่เลี้ยงบนอาหารรำข้าสาลีที่มีการเติมแมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 มิลลิโมล

3.3.1.1 การเตรียมเชื้อรา *Amylomyces* sp.

เริ่มจากการเตรียมเชื้อราที่เลี้ยงใน Potato DextroseAgar (PDA) ในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส โดยการเขี่ยเส้นใยเชื้อราลงในอาหารเหลว Potato Dextrose Broth (PDB) ที่บรรจุในหลอดทดลองขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ปริมาตร 10มิลลิลิตร บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 3 วัน

3.3.1.2 การเลี้ยงกล้าเชื้อราบนรำข้าวสาลีที่มีการเติมแมกนีเซียมซัลเฟต 0.1 มิลลิโมล

ชั่งรำข้าวสาลี 12 กรัม บรรจุในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตรเติมน้ำ 6.98 มิลลิลิตร จากนั้นเติมโลหะไอออนแมกนีเซียมซัลเฟต จาก Stock solution ที่ความเข้มข้น 5 มิลลิโมล ปริมาตร 0.02 มิลลิลิตร เพื่อให้มีความเข้มข้นของโลหะที่ 0.1 มิลลิโมลต่อฟลาสก์ ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที รอจนเย็นนำเชื้อราที่เจริญในหลอดอาหาร PDB จากข้อ 3.3.1.1 ทำการผสมเป็นเวลา 30 วินาที ใช้เข็มเขี่ยเส้นใยให้กระจายตัวออกจากกัน จากนั้นปิเปตเชื้อราปริมาณ 5 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์ที่มีรำข้าวสาลีที่ฆ่าเชื้อแล้ว บ่มในตู้บ่มที่อุณหภูมิ 32 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 3 วันจากนั้นนำกล้าเชื้อราไปอบแห้งที่อุณหภูมิ 42 องศาเซลเซียส ข้ามคืน

3.3.2 การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ทำการฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รอจนเย็นใช้ลูปเขี่ยเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 จากหลอด stock culture 1 ลูปใส่ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

YM ที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นนำไปให้อากาศโดยเครื่องเขย่าใช้ความเร็วในการเขย่าที่ 200 รอบต่อนาที เป็นเวลา 48 ชั่วโมง

3.3.3 การศึกษาเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่า โดยเชื้อรา *Amylomyces* sp. ที่เลี้ยงบนอาหารรำข้าวสาลีที่มีการเติมแมกซีเนียมซัลเฟต 0.1 มิลลิโมล

การศึกษานี้จะแบ่งระยะเวลาในการย่อยข้าวโดย *Amylomyces* sp. เป็น 5 เวลา ได้แก่การย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 การย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0 คือ ถ่ายกล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp. ลงในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว ทำการคลุกแคล้าให้ทั่วจากนั้นจะทำการเติมน้ำเชื่อมความเข้มข้น 15 องศาบริกซ์ และเติมยีสต์โดยทันที การย่อยข้าวชั่วโมงที่ 12, 24, 36 และ 48 คือ ลงกล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp. ลงในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้วทำการคลุกแคล้าให้ทั่วจากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิห้องเพื่อให้เกิดการย่อยข้าว 12, 24, 36, และ 48 ชั่วโมงตามลำดับ จึงทำการเติมยีสต์และผ่าส่า

3.3.3.1 ขั้นตอนการทดลอง

นำข้าวเหนียว 400 กรัม แช่น้ำอุ่น 3 ชั่วโมง นึ่งข้าวเหนียวให้สุก (ใช้เวลาประมาณ 30 – 40 นาที) จากนั้นนำข้าวเหนียวที่สุกพักให้เย็นลงในถาดพลาสติกที่ลวกด้วยน้ำร้อนแล้วเติมน้ำสิงห์ 400 มิลลิลิตร เพื่อแยกเมล็ดข้าวออกจากกัน เติมกล้าชื้อรา *Amylomyces* sp. จากข้อ 3.3.1 ในปริมาณ 0.2เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักข้าว คลุกเคล้าให้ทั่ว แล้วคลุมด้วยผ้าดิบที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว จากนั้นบ่มที่อุณหภูมิห้องตามระยะเวลาที่กำหนดไว้ เมื่อครบเวลาแล้วทำการวัดความหวานจากน้ำต้อยที่ได้ จากนั้นทำการผ่าส่าโดยเตรียมน้ำเชื่อมให้มีความหวาน 15 องศาบริกซ์ ปริมาตร 700 มิลลิลิตรนำข้าวที่ย่อยได้ใส่ลงน้ำเชื่อมเติมหัวเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* M30 ลงไปให้มีเชื้อยีสต์อยู่ที่ $1x10^6$ เซลล์/มิลลิลิตร บ่มที่อุณหภูมิห้อง และทำการเก็บตัวอย่างทุกวัน จนค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดจะคงที่ โดยตัวอย่างที่เก็บจะนำไปปั่นเหวี่ยง 5000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 20 นาที จากนั้นเก็บส่วนใสเพื่อนำไปวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ปริมาณกรด ปริมาณแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดด่าง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด และปริมาณเซลล์ ซึ่งจะแยกเก็บตัวอย่าง

3.3.4 การศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตไวน์ข้าว

หลังจากได้ระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าแล้ว จะนำระยะเวลาที่เหมาะสมในการย่อยข้าวนั้นมาทำการทดลองร่วมกับการศึกษาอุณหภูมิ เพื่อหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไวน์ข้าว โดยจะทำการหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เนื่องจากจะเกิดการหมักอย่างช้าๆและให้รสชาติที่ดี และที่อุณหภูมิห้อง (32 ± 2 องศาเซลเซียส) ซึ่งใช้เป็นตัวอย่างควบคุม

3.3.4.1 ขั้นตอนการทดลอง

ดำเนินการทดลองเช่นเดียวกับข้อ 3.3.3.1 แต่ให้นำไปบ่มที่อุณหภูมิห้องและที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสทำการเก็บตัวอย่างและวิเคราะห์ตัวอย่างเช่นเดียวกับข้อ 7.3.1 หลังจากหมักเสร็จแล้วทำการแยกการข้าวออกจากน้ำไวน์ นำไปตกตะกอนที่ 4 องศาเซลเซียสและนำมาการกรองโดยใช้กรวยกรองบุชเนอร์ จากนั้นทำการพาสเจอร์ไรซ์ที่ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 20 นาที และทำการทดสอบการยอมรับทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.5 การศึกษาผลของเอทานอลต่อการรอชีวิตของ *S. cerevisiae* M30

ศึกษาความอดทนต่อเอทานอลของ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ M30 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD ที่มีกลูโคส2 เปอร์เซ็นต์ และมีเอทานอลระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน 6 ระดับ ได้แก่ ความเข้มข้นเอทานอล 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 % v/v ซึ่งความเข้มข้นเอทานอล 0 เปอร์เซ็นต์จะใช้เป็นตัวอย่างควบคุม

3.3.5.1 ขั้นตอนการทดลอง

ดำเนินการเตรียมกล้าเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ M30 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD ที่มีกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ เช่นเดียวกับข้อ 3.3.2 จากนั้นเตรียมอาหาร YPD ที่มีกลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ ที่มีความเข้มข้นเอทานอลในระดับ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 %v/v ปริมาตร 50 มิลลิลิตร บรรจุใส่ขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ใส่เชื้อ *S. cerevisiae* M30 ให้มีเชื้อเริ่มต้นอยู่ที่ $3x10^7$ เซลล์/มิลลิลิตร จากนั้นให้อากาศโดยเครื่องเขย่าความเร็วรอบ 120 รอบต่อนาที และควบคุมอุณหภูมิที่ 30 องศาเซลเซียส ทำการเก็บตัวอย่างทุก 2 ชั่วโมง เป็นเวลา 24 ชั่วโมง เพื่อนับจำนวนเซลล์ยีสต์ที่มีชีวิตและคำนวนเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต

3.3.6 การวิเคราะห์ผลการทดลอง

3.3.6.1 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้วิธีไดโครเมทออกซิเดชัน (Wiliams และ Darwin, 1950)

3.3.6.2 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้ Eboliomerter (Zoeklein และคณะ, 1995)

3.3.6.3 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

3.3.6.4 การวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยการไตรเตรท (AOAC, 1990)

3.3.6.5 การนับจำนวนเซลล์ยีสต์โดยการย้อมสีด้วยเมทิลลีนบลู

3.3.6.6 การวัดค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดโดยใช้ Hand Refractometer (AOAC, 2000)

3.3.6.7 การวัดความเป็นกรดด่างโดยใช้ pH meter (AOAC, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

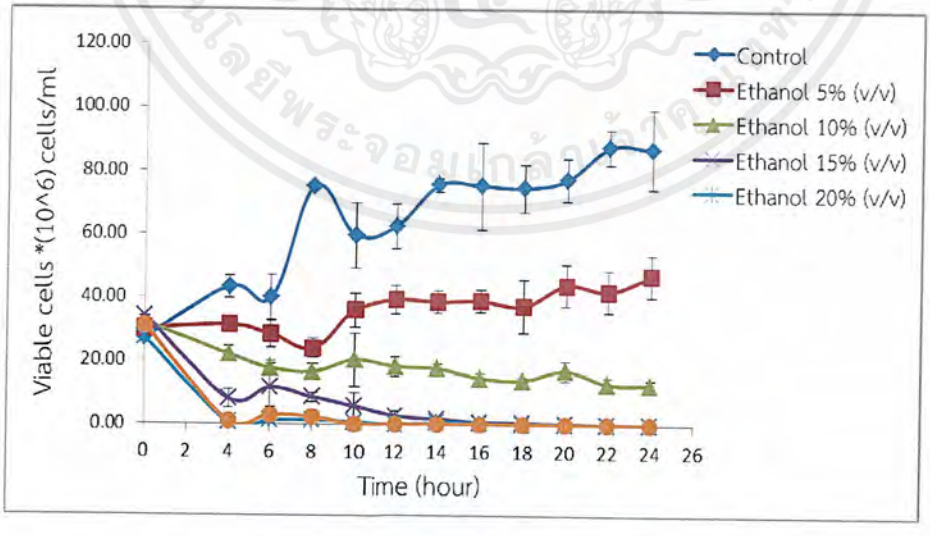
บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการทดลองการศึกษาผลของเอทานอลต่อการรอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30

การศึกษานี้ได้ทำการศึกษาผลของเอทานอลต่อการรอดชีวิตของ *S. cerevesiae* M30 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD ที่มี กลูโคส 2 เปอร์เซ็นต์ และมีสภาวะความเข้มข้นของเอทานอลที่แตกต่างกัน 5 สภาวะ ได้แก่ ความเข้มข้นเอทานอลที่ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร โดยที่ความเข้มข้นเอทานอลที่ 0 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร ใช้เป็นตัวอย่างควบคุม

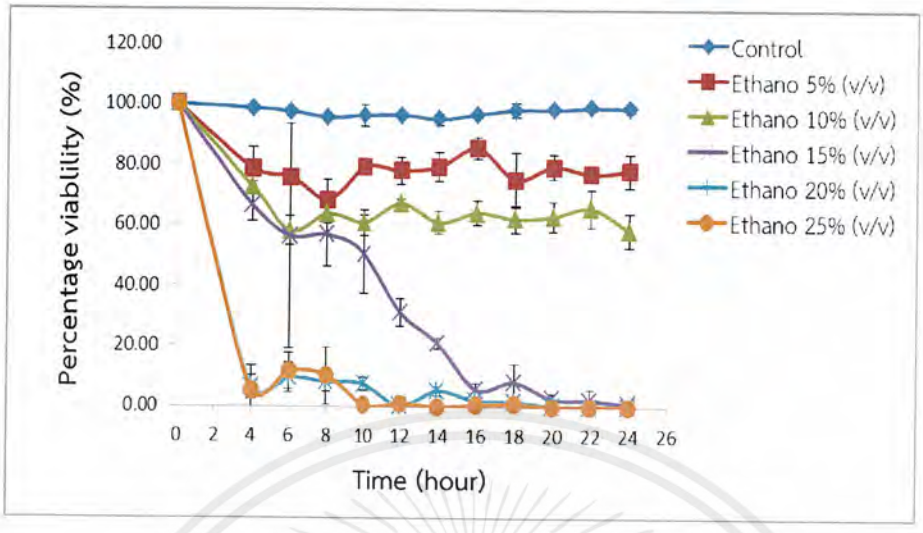
จากภาพที่ 4.1 จะเห็นได้ว่า เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง *S. cerevesiae* M30 ที่ความเข้มข้นเอทานอล 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ มีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตลดลงอย่างรวดเร็ว และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดลงอย่างรวดเร็วเช่นเดียวกัน ดังภาพที่ 4.2 โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นเอทานอล 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ เมื่อเปรียบเทียบกับตัวอย่างควบคุม ซึ่งจะเห็นได้ว่า ความเข้มข้นของเอทานอลที่เพิ่มสูงขึ้นมีผลต่อการเจริญและการตายของ *S. cerevesiae* M30 เนื่องจากเซลล์ยีสต์ไม่สามารถทนต่อเอทานอลที่ความเข้มข้นสูงได้

เมื่อเวลาผ่านไป 24 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตเหลือเท่ากับ $87.00\pm12.53\times10^{6}$, $47.00\pm6.56\times10^{6}$, $12.67\pm1.53\times10^{6}$, $0.14\pm0.14\times10^{6}$, $0.00\pm0.00\times10^{6}$ และ $0.00\pm0.00\times10^{6}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเหลือเท่ากับ 98.73±1.30, 78.03±5.38, 58.37±5.64, 0.87±0.96, 0.00±0.00 และ 0.00±0.00 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ



ภาพที่ 4.1 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต (เซลล์ต่อมิลลิลิตร) ของ *S. cerevesiae* M30 ภายใต้ความเข้มข้นของเอทานอลที่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD 2% กลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.2 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต (เปอร์เซ็นต์) ของ *S. cerevesiae* M30 ภายใต้ความเข้มข้นของเอทานอลที่แตกต่างกันในอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD 2% กลูโคส

4.2 ผลการศึกษาเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่า โดยเชื้อรา *Amylomyces* sp. ที่เลี้ยงบนอาหารรำข้าวสาลีที่มีการเติมแมกซีเนียมซัลเฟต 0.1 มิลลิโมล

งานวิจัยในหัวข้อนี้ทำโดยแบ่งระยะเวลาในการย่อยข้าวโดยใช้ *Amylomyces* sp. ที่เลี้ยงบนอาหารรำข้าวสาลีที่มีการเติมแมกซีเนียมซัลเฟต 0.1 มิลลิโมล เป็น 5 ช่วงเวลา ได้แก่การย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง การย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง คือถ่ายกล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp. ลงในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว จากนั้นทำการผ่าส่าโดยเติมน้ำเชื่อมเข้มข้น 15 องศาบริกซ์ และเติมยีสต์ *S. cerevisiae* M30 โดยทันที การย่อยข้าวที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง คือถ่ายกล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp. ลงในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) ตามเวลาที่กำหนด เมื่อบ่มครบเวลาแล้ว จึงทำการผ่าส่าและเติมยีสต์ *S. cerevisiae* M30

เมื่อทำการผ่าส่าและเติมยีสต์จะเป็นการเข้าสู่กระบวนหมัก ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 ช่วงเวลา มีผลการทดลองดังนี้

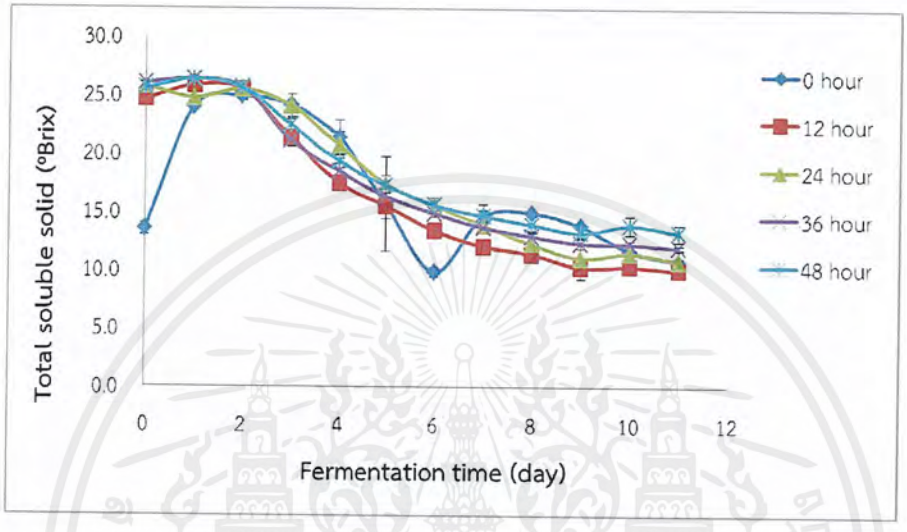
4.2.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดังภาพที่ 4.3 จะเห็นว่าในช่วงเริ่มต้นของการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดน้อยที่สุด ในระหว่างการหมักปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดค่อยๆเพิ่มขึ้นและสูงสุดในระหว่างการหมักวันที่ 2-3 จากนั้นจะลดลงอย่างช้าๆ การหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่าในช่วงเริ่มต้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดใกล้เคียงกัน และในระหว่างการหมักมีการลดลงของปริมาณของแข็งที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

ละลายได้ทั้งหมดใกล้เคียงกัน ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 เวลา มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเริ่มต้นเท่ากับ 13.50±0.50, 24.60±0.53, 25.73±0.31, 26.00±0.00 และ 25.53±0.46 องศาบริกซ์ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 11 วัน มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดเหลือเท่ากับ 10.2±1.1, 10.0±0.20, 10.80±0.20, 11.93±0.23 และ 12.40±0.69 องศาบริกซ์ ตามลำดับ



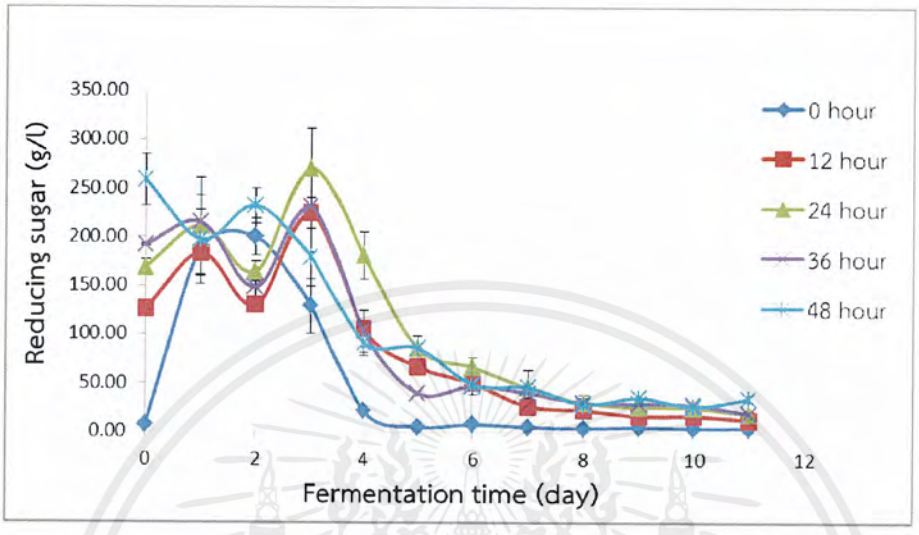
ภาพที่ 4.3 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

4.2.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังภาพที่ 4.4 จะได้เห็นว่า ในช่วงเริ่มต้นของการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ไม่เท่ากัน เนื่องจากมีระยะเวลาในการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลโดย *Amylomyces* sp. ที่ไม่เท่ากัน พบว่าไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นน้อยที่สุด เนื่องจากได้ถ่ายกล้าเชื้อราลงในข้าวเหนียวนึ่งสุกและทำการเติมยีสต์และผ่าส่าทันที จึงทำให้เชื้อรายังไม่ได้ย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลก่อน และไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 48 ชั่วโมง พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นมากที่สุด เนื่องจาก ระยะเวลาการย่อยข้าวที่ 48 ชั่วโมง *Amylomyces* sp. ย่อยข้าวได้เป็นน้ำตาลมากที่สุด เมื่อเติมยีสต์และผ่าส่าจึงทำให้มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นมากที่สุด และในระยะการหมักของ 3 วันแรก จะเห็นได้ว่า มีการเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เป็นเพราะว่าในระหว่างการหมัก *Amylomyces* sp. ยังสามารถย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลได้อยู่ และหลังจากการหมักผ่านไป 4 วัน ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 เวลา มีปริมาณลดลงอย่างช้าๆ เนื่องจากยีสต์นำไปใช้ในการเจริญ สร้างแอลกอฮอล์และสารต่างๆ โดยมีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นเท่ากับ 6.57±2.94, 126.07±4.42, 168.92±7.86, 192.12±1.10 และ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้
143391

258.70±26.20 กรัมต่อลิตร เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 11 วัน มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลือเท่ากับ 4.17±0.14, 12.34±2.62, 18.63±2.47, 19.00±2.64 และ 34.75±3.64 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

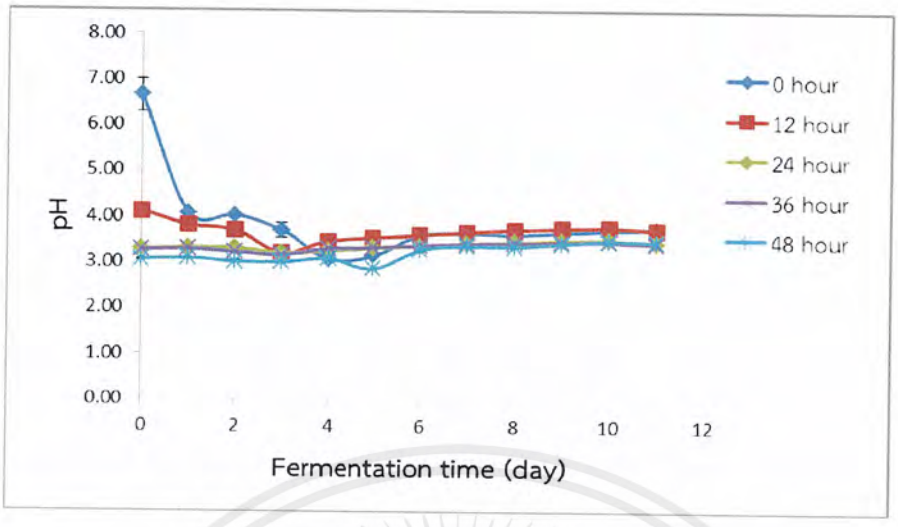


ภาพที่ 4.4 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

4.2.3 ความเป็นกรดด่าง

ความเป็นกรดด่าง ดังภาพที่ 4.5 จะเห็นได้ว่า ในช่วงเริ่มต้นการหมักของไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีค่าความเป็นกรดด่างสูงกว่าไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยมีความเป็นกรดด่างเริ่มต้นเท่ากับ 6.64±0.35, 4.11±0.09, 3.28±0.03, 3.26±0.03 และ 3.05±0.01 เมื่อผ่านการหมักวันที่ 0 พบว่าไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีค่าความเป็นกรดด่างลดลงอย่างรวดเร็ว และไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง มีค่าความเป็นกรดด่างลดลงเล็กน้อย เมื่อเข้าสู่การสลายกรดอินทรีย์เป็นแอลกอฮอล์ ค่าความเป็นกรดด่างของไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 เวลา จะปรับตัวขึ้นเล็กน้อย (นภดล และสมบูรณ์, 2556) เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 11 วัน มีความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.75±0.03, 3.72±0.06, 3.43±0.04, 3.42±0.01 และ 3.46±0.01 ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



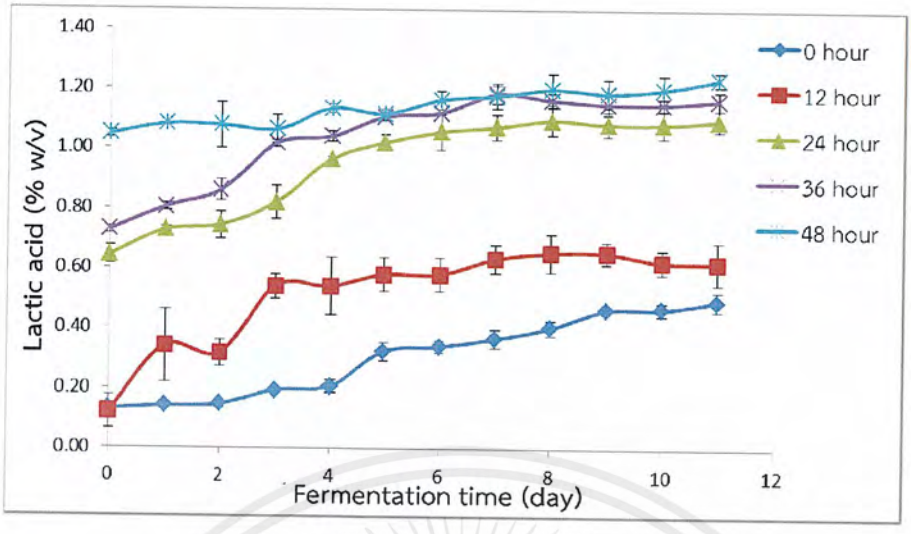
ภาพที่ 4.5 ความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

4.2.4 ปริมาณกรดแลคติก

ปริมาณกรดแลคติก ดังภาพที่ 4.6 จะเห็นได้ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 เวลา มีการสร้างปริมาณกรดแลคติกที่แตกต่างกัน พบว่าไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีปริมาณกรดแลคติกต่ำที่สุด และไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง มีปริมาณกรดแลคติกมากขึ้นตามลำดับ โดยไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 48 ชั่วโมง มีปริมาณกรดแลคติกมากที่สุด เมื่อสิ้นสุดการหมักเป็นเวลา 11 วัน ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 เวลา มีปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้เท่ากับ 0.49±0.03, 0.62±0.07, 1.10±0.04, 1.16±0.03 และ 1.23±0.02 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตรตามลำดับ

กรดแลคติกที่เกิดขึ้นถูกผลิตโดย *Amylomyces* sp. ที่ใช้น้ำตาลกลูโคสที่ได้จากการย่อยข้าว โดยผ่านการเปลี่ยนแปลงไพรูเวทไปเป็นแลคเตท (Zhan และคณะ, 2007) ซึ่งการที่ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีปริมาณกรดแลคติกต่ำที่สุด เนื่องจากในระหว่างการหมักเกิดการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลโดยเอนไซม์อย่างช้าๆ และ *Amylomyces* sp. นำน้ำตาลที่ถูกย่อยได้ไปผลิตกรดแลคติก ทำให้ได้ปริมาณกรดแลคติกน้อยกว่าไวน์ข้าวที่ได้จากเวลาในการย่อยข้าวช่วงเวลาอื่นที่มีน้ำตาลมากกว่า เนื่องจากได้ย่อยข้าวจนเป็นน้ำตาลก่อนการผ่าส่าและเติมยีสต์ นอกจากนี้ กรดแลคติกยังเกิดจากการสลายน้ำตาลกลูโคสโดยแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก โดยผ่านกระบวนการไกลโคไลซิส (Glycolysis) แบบไม่ใช้ออกซิเจนหรือมีออกซิเจนน้อย สายพันธุ์ของแบคทีเรียแลคติก เช่น แบคทีเรียแลคติกในสกุล *Lactobacillus, Lactococcus* และ *Streptococcus* (ไชยวัฒน์, 2553)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



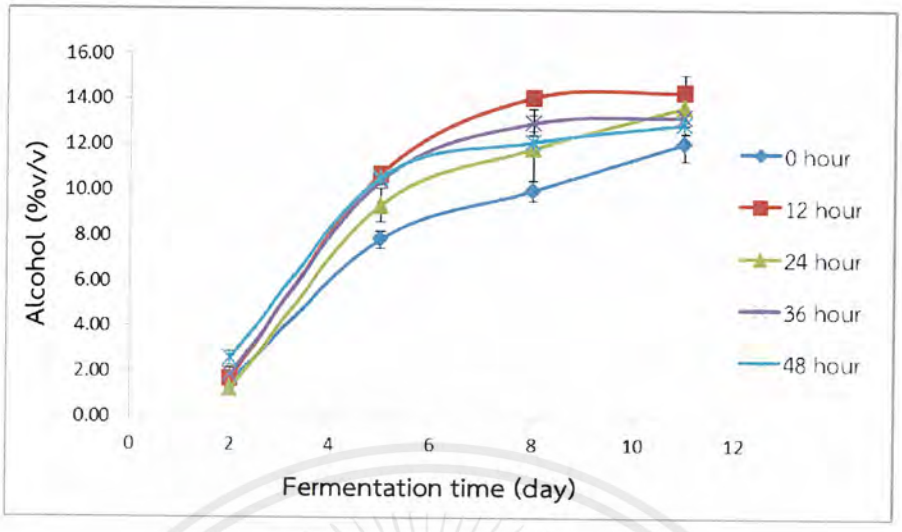
ภาพที่ 4.6 ปริมาณกรดแลคติก ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

4.2.5 ปริมาณแอลกอฮอล์

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ ดังภาพที่ 4.7 จะเห็นได้ว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 2-5 ของการหมัก หลังจากนั้น ปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อสิ้นสุดระยะเวลาการหมักที่ 11 วัน พบว่าไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 ช่วงเวลามีปริมาณแอลกอฮอล์ 12.11±0.79, 14.36±0.23, 13.70±1.42, 13.25±0.21 และ 12.94±0.43 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ตามลำดับ

ปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำที่สุด เนื่องจากข้าวไม่ได้ถูกย่อยให้เป็นน้ำตาลก่อนการผ่าส่าและเติมยีสต์ และในระหว่างการหมักข้าวจะถูกย่อยโดยเอนไซม์ให้เป็นน้ำตาลอย่างช้าๆ ทำให้ยีสต์นำน้ำตาลที่ได้ไปผลิตแอลกอฮอล์ได้น้อยกว่าปริมาณแอลกอฮอล์ของไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวช่วงเวลาอื่น ในระยะเวลาการหมักที่เท่ากัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



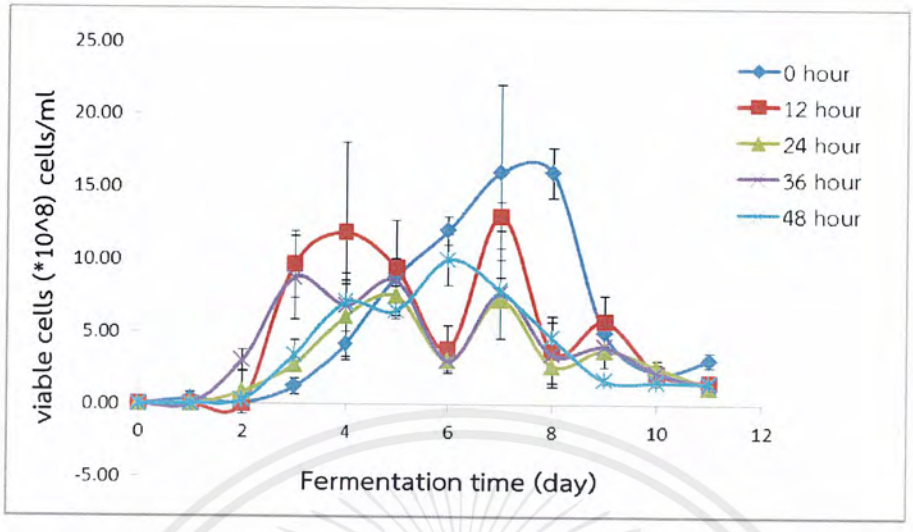
ภาพที่ 4.7 ปริมาณแอลกอฮอล์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

4.2.6 การเจริญของเชื้อยีสต์

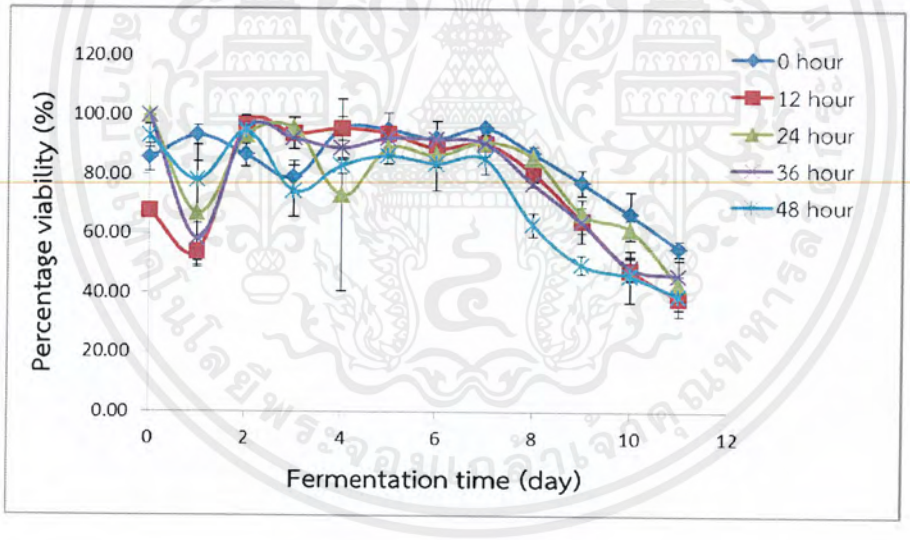
การศึกษาการเจริญของยีสต์วัดในรูปจำนวนเซลล์ที่มีชีวิต และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ดังภาพที่ 4.8 และ 4.9 ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 ช่วงเวลา (0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง) มีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตเริ่มต้นในรูปเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 85.67±4.63, 67.80±1.97, 100.00±00, 100.00±00 และ 93.07±3.96 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ในระหว่างการหมักจะเห็นได้ว่า ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตจะค่อยๆเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ และจะลดลงเมื่อใกล้ระยะเวลาที่สิ้นสุดการหมักอย่างรวดเร็ว ในขณะเดียวกันไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเพิ่มขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็ว และเมื่อการหมักผ่านไป 6 วัน จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเพิ่มขึ้นและลดลงอย่างรวดเร็วอีกครั้ง เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 11 วัน ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 ช่วงเวลา มีจำนวนเซลล์ที่มีชีวิตเหลือเท่ากับ $3.10\pm0.50\times10^{8}$, $1.57\pm0.45\times10^{8}$, $1.27\pm0.38\times10^{8}$, $1.37\pm0.15\times10^{8}$ และ $1.50\pm0.17\times10^{8}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเหลือเท่ากับ 55.50±2.50, 36.53±2.15, 43.17±8.25, 46.23±6.52 และ 39.23±6.82 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

การที่ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด เนื่องจากในระหว่างการหมักเกิดการย่อยข้าวโดยเอนไซม์อย่างช้าๆ ทำให้ยีสต์นำน้ำตาลกลูโคสไปใช้ในการเจริญและผลิตแอลกอฮอล์ได้ทันที ไม่มีการสะสมของน้ำตาลกลูโคส (เกื้อกูล, 2550) ส่งผลให้ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มีจำนวนเซลล์และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.8 จำนวนเซลล์ที่มีชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง



ภาพที่ 4.9 เปอร์เซ็นต์การการรอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง

ภาพที่ 4.10 แสดงลักษณะของไวน์ข้าวที่มีระยะเวลาในการย่อยข้าวก่อนการผ่าส่าและเติมยีสต์ที่แตกต่างกัน จะเห็นว่าระยะเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 (A), 12 (B), 24 (C), 36 (D) และ 48 (E) ชั่วโมง ในระหว่างการหมักวันที่ 4 ข้าวจะถูกย่อยและลอยขึ้นมาบนผิวหน้าของไวน์ข้าวในระหว่างที่เกิดการหมัก โดยจะสังเกตเห็นว่าไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 24(C), 36(D) และ 48(E) ชั่วโมง ข้าวมีลักษณะเละเนื่องจากข้าวถูกย่อยได้มากกว่า และข้าวจับตัวเป็นชั้นลอยขึ้นด้านบน ส่วนไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

0 (A) และ 12 (B) ชั่วโมง ข้าวมีลักษณะเป็นเศษเล็กๆจับตัวกันหนาลอยขึ้นด้านบน โดยเฉพาะไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 (A) ชั่วโมง

A B C

D E

ภาพที่ 4.10 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าที่ 0 (A), 12 (B), 24 (C), 36 (D) และ 48 (E) ชั่วโมง ในระหว่างการหมักวันที่ 4

ภาพที่ 4.11 แสดงลักษณะของไวน์ข้าวที่มีระยะเวลาในการย่อยข้าวก่อนการผ่าส่าและเติมยีสต์แตกต่างกัน เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 11 วัน จากภาพจะเห็นว่าไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 (A), 12 (B) ชั่วโมง ข้าวทั้งหมดตกลงสู่ก้นภาชนะ และไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 24 (C), 36 (D) และ 48 (E) ชั่วโมง จะเห็นว่ามีข้าวบางส่วนยังลอยอยู่บนผิวหน้าของไวน์ข้าว แต่บางส่วนค่อยๆตกลงสู่ก้นภาชนะเช่นเดียวกันกับที่ 0 (A), 12 (B) ชั่วโมง

F G H

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

I J

ภาพที่ 4.11 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าที่ 0 (F), 12 (G), 24 (H), 36 (I) และ 48 (J) ชั่วโมง เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 11 วัน

หลังจากได้ทำการศึกษาเวลาในการย่อยข้าวก่อนการผ่าส่าและเติมยีสต์ทั้งหมด 5 ช่วงเวลา ได้แก่ การย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่า ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวทั้ง 5 ช่วงเวลา จะให้ผลผลิตที่ใกล้เคียงกัน แต่ไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หรือการเติมกล้าเชื้อราพร้อมกับการเติมน้ำเชื่อมและยีสต์ เป็นการหมักในลักษณะ simultaneous saccharification and fermentation (SSF) คือการรวมเอากระบวนการย่อยครั้งสุดท้ายเข้าไว้ในกระบวนการหมัก (Dengfeng และคณะ, 2014) ทำให้ในระหว่างการหมักจะเกิดการย่อยข้าวโดยเอนไซม์จากเชื้อราอย่างช้าๆ น้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจะถูกยีสต์ใช้ไปในการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ทันที จึงไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นก่อนหมักจะมีค่าต่ำ และจะมีค่าต่ำตลอดการหมัก จึงไม่มีการสะสมของน้ำตาลกลูโคส ซึ่งช่วยให้ประสิทธิภาพการหมักของเชื้อยีสต์ดีขึ้นด้วย (เกื้อกูล และคณะ, 2550) อีกทั้งยังทำให้เกิดการผลิตปริมาณกรดแลคติกที่ต่ำ และช่วยประหยัดเวลาและพลังงานได้มากกว่าอีกด้วย ซึ่งต่างจากเวลาการย่อยข้าวที่ช่วงเวลาอื่น ที่เป็นกระบวนการหมักแบบปกติ ที่จะมีปริมาณน้ำตาลกลูโคสก่อนหมักสูง และจะลดลงเรื่อยๆ ซึ่งอาจส่งผลให้เชื้อยีสต์ถูกยับยั้งด้วยความเข้มข้นของปริมาณน้ำตาลกลูโคสที่สูงได้ (Hongyan และคณะ, 2013) และยังทำให้เกิดการผลิตกรดแลคติกที่สูง ดังนั้นจึงได้เลือกเวลาการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หรือการเติมกล้าเชื้อราพร้อมกับการเติมน้ำเชื่อมและยีสต์ เป็นเวลาที่เหมาะสมในการผ่าส่าและเติมยีสต์ที่สุด

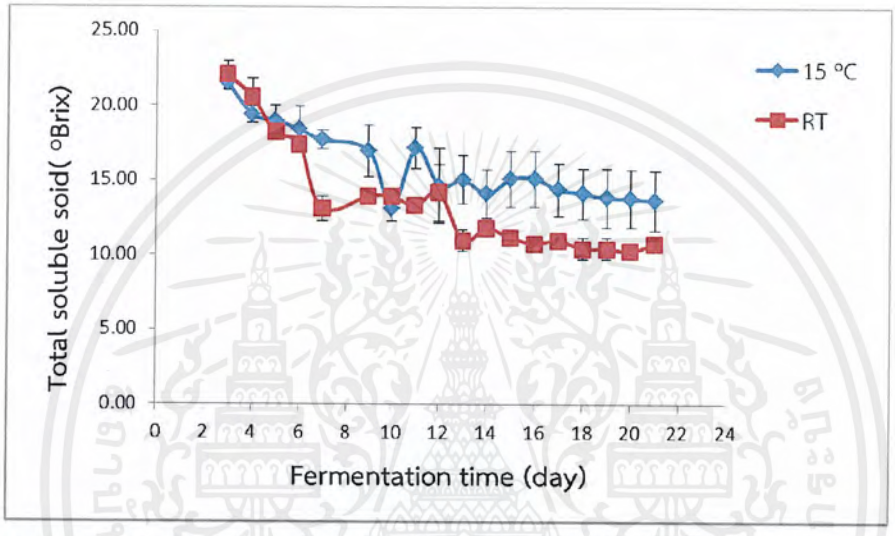
4.3 ผลการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์ข้าว

หลังจากได้ระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการผ่าส่าและเติมยีสต์แล้ว จะนำระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมนั้นมาทำการทดลองร่วมกับการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักไวน์ ซึ่งระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการผ่าส่าและเติมยีสต์ คือ ระยะเวลาการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง โดยจะนำมาหมักที่อุณหภูมิต่างแตกกัน ได้แก่การหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) ซึ่งใช้เป็นตัวอย่างควบคุม มีผลการทดลองดังนี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด

ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ดังภาพที่ 4.12 จะเห็นได้ว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง เริ่มต้นมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ใกล้เคียงกัน ในระหว่างการหมักพบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีการใช้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ช้ากว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสิ้นสุดการหมัก ที่ 21 วัน พบว่า มีปริมาณของแข็งที่ละลายเหลือเท่ากับ 13.67±1.97 และ 10.80±0.20 องศาบริกซ์ ตามลำดับ



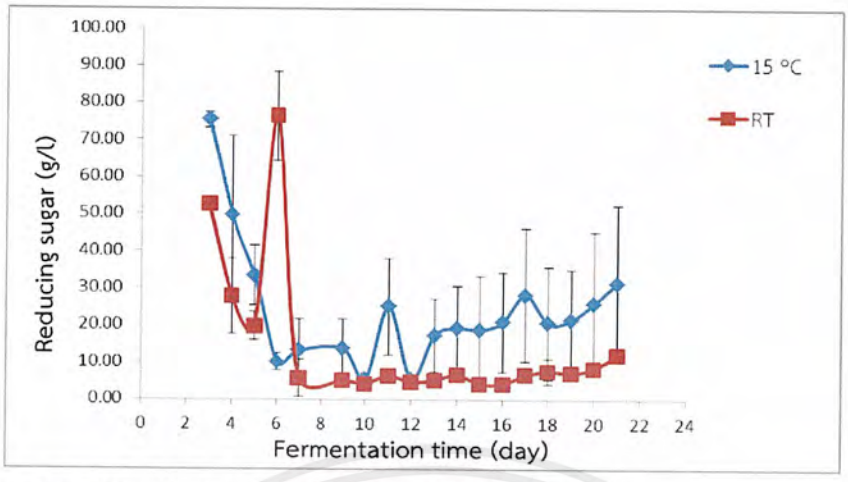
หมายเหตุ: RT = Room temperature (32±2 องศาเซลเซียส)

ภาพที่ 4.12 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0 หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส)

4.3.2 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ดังภาพที่ 4.13 จะเห็นได้ว่า ในช่วงแรกของการหมัก ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เริ่มต้นมากกว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง ในระหว่างการหมักพบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีการผลิตและใช้น้ำตาลรีดิวซ์อย่างช้าๆ ในทางตรงข้ามกันไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีการผลิตและใช้น้ำตาลรีดิวซ์ได้เร็วกว่า เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน พบว่ามีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลือเท่ากับ 31.41±21.02 และ 11.95±1.37 กรัมต่อลิตร ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

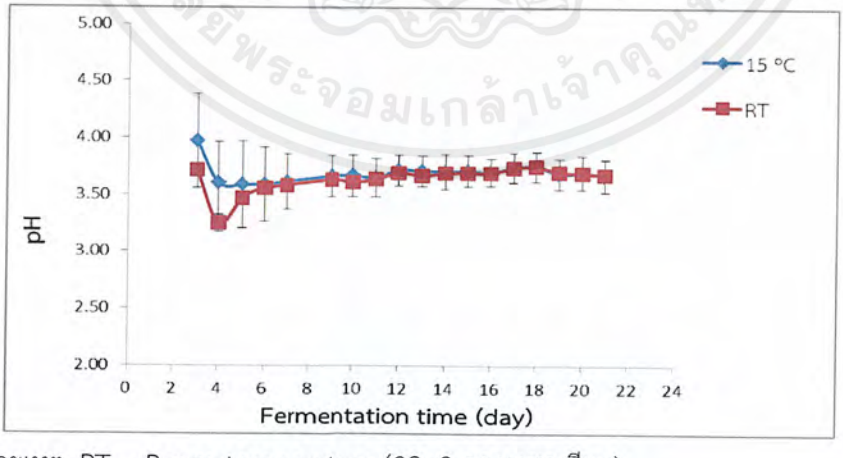


หมายเหตุ: RT = Room temperature (32±2 องศาเซลเซียส)

ภาพที่ 4.13 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0 หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส)

4.3.3 ความเป็นกรดด่าง

ความเป็นกรดด่าง ดังภาพที่ 4.14 จะเห็นได้ว่า ในช่วงแรกของการหมัก ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้องมีค่าความเป็นกรดด่างสูงและต่างกันเล็กน้อย แต่เมื่อระยะเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีค่าความเป็นกรดด่างลดลงและใกล้เคียงกัน เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน มีค่าความเป็นกรดด่างเท่ากับ 3.67±0.15 และ 3.68±0.00 ตามลำดับ



หมายเหตุ: RT = Room temperature (32±2 องศาเซลเซียส)

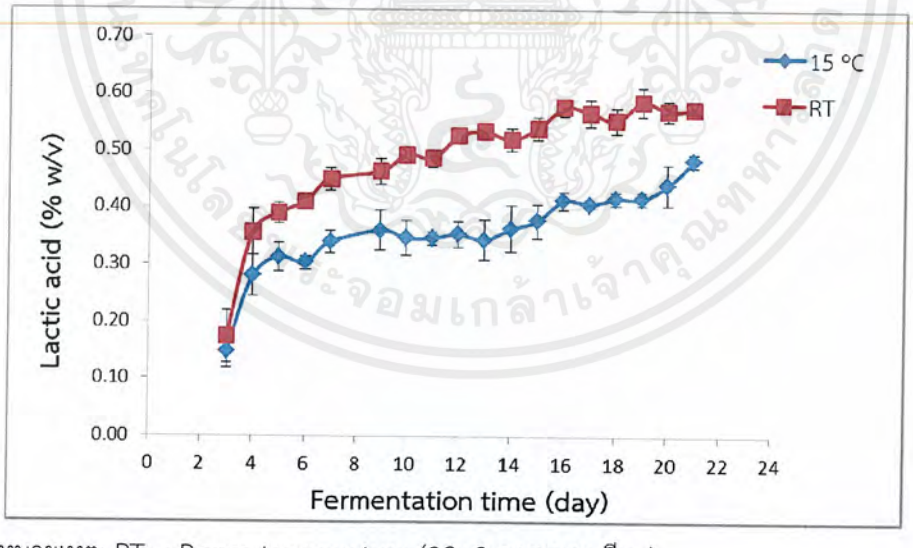
ภาพที่ 4.14 ความเป็นกรดด่าง ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวชั่วโมงที่ 0 หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.4 ปริมาณกรดแลคติก

ปริมาณกรดแลคติก ดังภาพที่ 4.15 จะเห็นได้ว่า ในระหว่างการหมักปริมาณกรดแลคติกจะถูกผลิตขึ้นเรื่อยๆ พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ผลิตกรดแลคติกได้ช้ากว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน พบว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ผลิตกรดแลคติกในปริมาณต่ำกว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณกรดแลคติกที่ผลิตได้เท่ากับ 0.48±0.01 และ 0.57±0.01 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร ตามลำดับ

จะเห็นได้ว่า การหมักที่อุณหภูมิที่แตกต่างกัน ส่งผลให้มีปริมาณกรดแลคติกที่ต่างกัน ซึ่งการหมักไวน์ข้าวที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส อาจมีสภาวะที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญและการทำงานของเอนไซม์ที่เชื้อรา *Amylomyces* sp. ผลิตขึ้น จึงทำให้ได้ปริมาณกรดแลคติกที่แตกต่างกัน นอกจากนี้อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการผลิตกรดแลคติกโดย *Lactobacillus* อยู่ระหว่าง 25-44 องศาเซลเซียส (ไชยวัฒน์, 2553) โดยเฉพาะที่อุณหภูมิ 33 องศาเซลเซียส *Lactobacillus* สามารถผลิตกรดแลคติกได้อย่างรวดเร็ว และการหมักที่อุณหภูมิสูง จะส่งผลให้การเจริญของยีสต์จะถูกยับยั้งจากการผลิตเอทานอลที่ใช้น้ำตาลกลูโคสเป็นสับสเตรท และ *Lactobacillus* จะนำน้ำตาลกลูโคสมาใช้ในการการเจริญและผลิตกรดแลคติกได้ดีกว่า (Dengfeng และคณะ, 2014) ซึ่งอาจทำให้ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิสูงอย่างการหมักที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) สามารถผลิตกรดแลคติกสูงกว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส



หมายเหตุ: RT = Room temperature (32±2 องศาเซลเซียส)

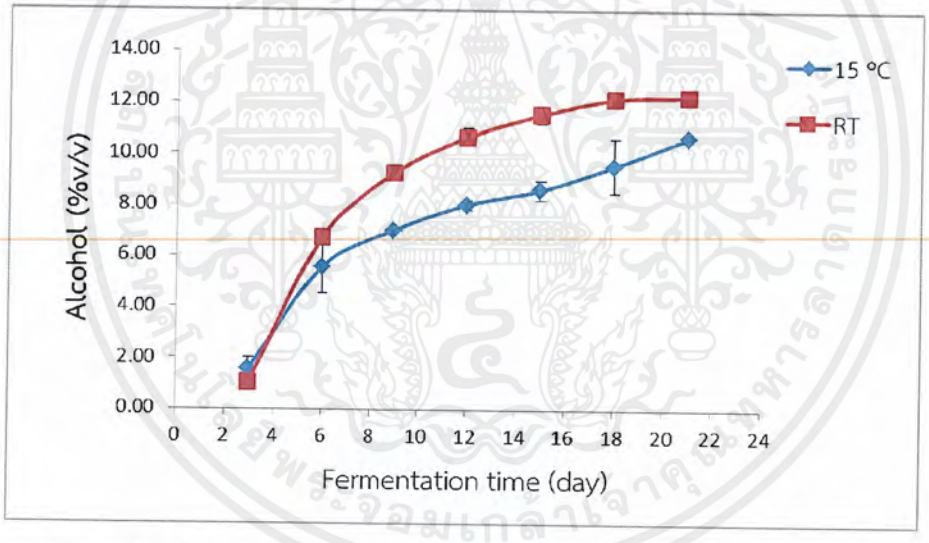
ภาพที่ 4.15 ปริมาณกรดแลคติก ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการ ย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.5 ปริมาณแอลกอฮอล์

การเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ ดังภาพที่ 4.16 จะเห็นได้ว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้ช้ากว่าไวน์ข้าวที่หมักที่ เมื่อสิ้นสุดการหมัก ที่ 21 วัน พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ15 องศาเซลเซียส สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้น้อยกว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้เท่ากับ 10.66±0.08 และ 12.24±0.05 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร

จากผลการทดลอง จะเห็นได้ว่าอุณหภูมิมีผลต่อจลนศาสตร์ของการผลิตเอทานอล การที่ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ15 องศาเซลเซียส สามารถผลิตแอลกอฮอล์ได้น้อยกว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง เป็นเพราะว่าการหมักที่อุณหภูมิต่ำ จะส่งผลให้ยีสต์มีอัตราการเกิดปฏิกิริยาในการหมักช้าลง จึงทำให้เกิดการผลิตแอลกอฮอล์ได้น้อยกว่า และการหมักที่อุณหภูมิสูง จะสามารถเร่งอัตราการผลิตเอทานอลได้มากกว่า จึงทำให้ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้องผลิตแอลกอฮอล์ได้มากกว่า (Dengfeng และคณะ, 2014)



หมายเหตุ: RT = Room temperature (32±2 องศาเซลเซียส)

ภาพที่ 4.16 ปริมาณแอลกอฮอล์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส)

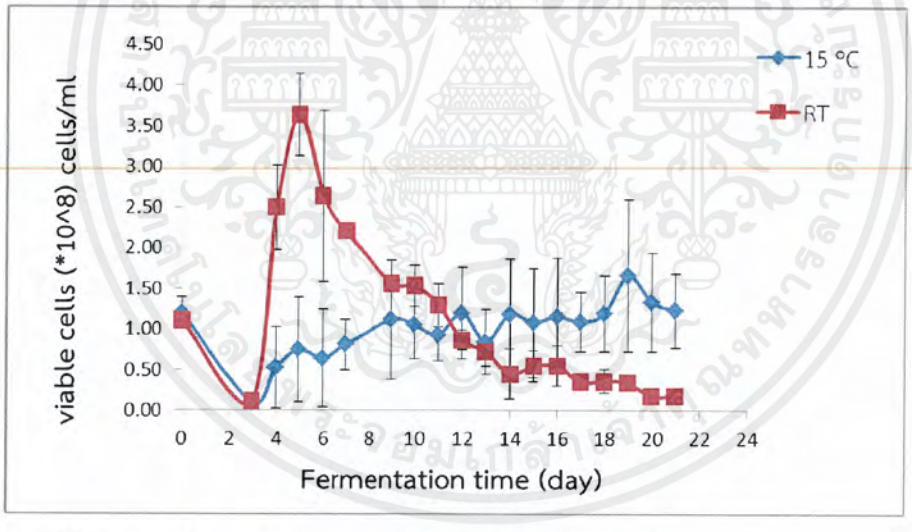
4.3.6 การเจริญของเชื้อยีสต์

การศึกษาการเจริญของยีสต์วัดในรูปจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิต และเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิต ดังภาพที่ 4.17 และ 4.18 จะเห็นได้ว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีปริมาณเซลล์ที่มีชีวิตเริ่มต้นในรูปเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์ ในช่วง 3 วันแรกของการหมัก พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตลดลงและจากนั้นเพิ่มขึ้น โดยเฉพาะจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง พบว่ามีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตเพิ่มขึ้นสูงกว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และเมื่อเวลาในการหมักเพิ่มขึ้น จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้องมีจำนวนลดลงช้าๆ ในขณะเดียวกัน จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส หลังจากมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตลงลดแล้ว มีการเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างช้าๆ เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน มีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตเหลือเท่ากับ $1.23\pm0.45\times10^{8}$ และ $0.18\pm0.10\times10^{8}$ เซลล์ต่อมิลลิลิตร และมีเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตเท่ากับ 92.73±3.47 และ 8.53±3.44 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ

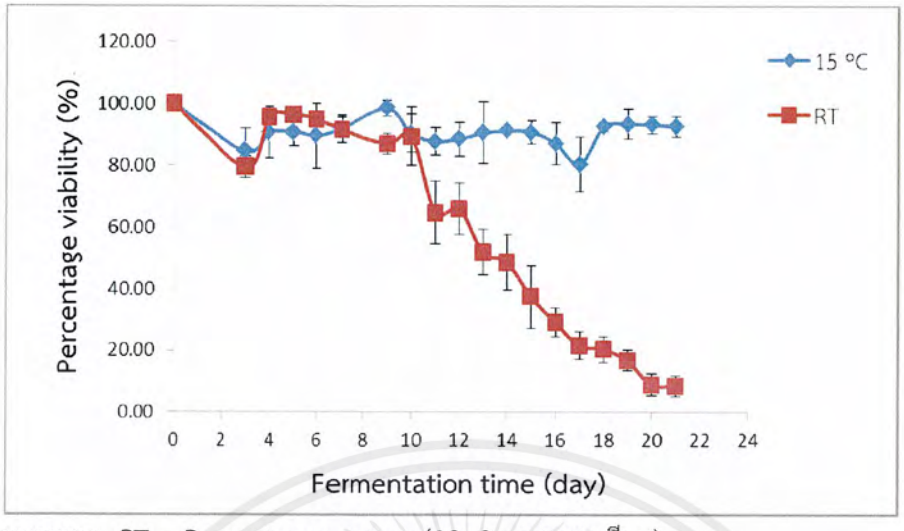
จะเห็นได้ว่า เมื่อสิ้นสุดการหมัก ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตสูงกว่าไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง เนื่องจากหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส ใช้ระยะเวลาในการหมักนาน เซลล์ยีสต์จะเจริญเติบโตอย่างช้าๆและหมักต่อไปได้ ในทางกลับกันการหมักที่อุณหภูมิห้อง เซลล์ยีสต์มีอัตราการเจริญเติบโตรวดเร็วและใช้ระยะเวลาในการหมักที่สั้นกว่าที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส เมื่อการหมักหยุดลงส่งผลทำให้เซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตลดต่ำลงอย่างมีนัยสำคัญ



หมายเหตุ: RT = Room temperature (32±2 องศาเซลเซียส)

ภาพที่ 4.17 จำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



หมายเหตุ: RT = Room temperature (32±2 องศาเซลเซียส)

ภาพที่ 4.18 เปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส)

ภาพที่ 4.19 แสดงลักษณะของไวน์ข้าว จากภาพจะเห็นว่าการหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (K) และและการหมักที่อุณหภูมิห้อง (M) ในระหว่างการหมักวันที่ 7 ข้าวจะถูกย่อยและเมื่อเกิดการหมักข้าวจะลอยขึ้นบนผิวหน้าของน้ำไวน์ข้าว โดยสังเกตเห็นว่าที่อุณหภูมิห้อง (M) ข้าวจะลอยขึ้นได้ดีเนื่องจากถูกย่อยและหมักได้ดีกว่า อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (K)

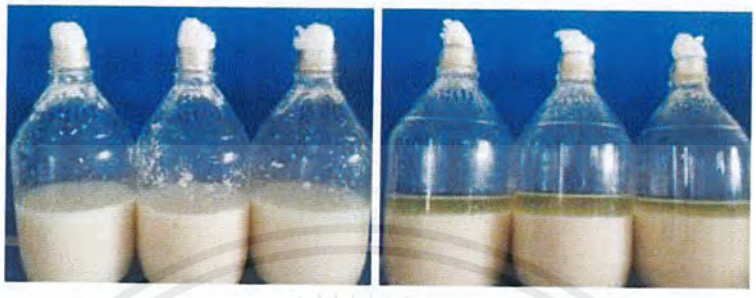
K M

ภาพที่ 4.19 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง ที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าหมักที่ 15 องศาเซลเซียส (K) และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) (M) ในระหว่างการหมักวันที่ 7

ภาพที่ 4.20 แสดงลักษณะของไวน์ข้าว เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน จากภาพจะเห็นว่าการหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (N) ยังมีข้าวบางส่วนที่ยังลอยตัวอยู่และมีบางส่วนที่ตกลงสู่ก้นของภาชนะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เนื่องจากมีการหมักที่ช้า และในขณะเดียวกันที่อุณหภูมิห้อง (O) ข้าวทั้งหมดตกลงสู่ก้นภาชนะ เนื่องจากไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้องใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นและจะหยุดการหมักเร็วกว่า ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส (N)



N O

ภาพที่ 4.20 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง ที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าหมักที่ 15 องศาเซลเซียส (N) และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) (O) เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน

ภาพที่ 4.21 แสดงลักษณะของไวน์ข้าวเมื่อผ่านการกรองและการพาสเจอร์ไรซ์ จากภาพ สีของไวน์ข้าวที่หมักที่ 15 องศาเซลเซียส (P) และที่อุณหภูมิห้อง (Q) มีสีเหลืองอ่อนใส ซึ่งเมื่อเปรียบลักษณะสีของไวน์ของทั้ง 2 อุณหภูมิ จะเห็นว่าการหมักที่ 15 องศาเซลเซียส (P) ไวน์ข้าวจะมีสีที่อ่อนและใสมากกว่าไวน์ข้าวที่อุณหภูมิห้อง (Q)

P Q

ภาพที่ 4.21 ไวน์ข้าวที่ได้จากระยะเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง ที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าหมักที่ 15 องศาเซลเซียส (P) และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) (Q) เมื่อผ่านการกรองและการพาสเจอร์ไรซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3.7 ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

เมื่อนำระยะเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่า มาทำการทดลองร่วมกับการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการผลิตไวน์แล้ว เมื่อสิ้นสุดการหมักจะนำมาประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส โดยวิธี Descriptive analysis with scaling

จากการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และ ที่อุณหภูมิห้อง จากผู้ทดสอบจำนวน 30 คน พบว่า การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏของไวน์ข้าวที่หมักที่ 15 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ 6.93 ± 1.17 เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิตพบว่ามีการยอมรับที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.70 ± 1.21

การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านสี พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่ 15 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ 6.90 ± 1.35 เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิตพบว่ามีการยอมรับที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง การยอมรับทางประสามสัมผัสในด้านสีของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 6.60 ± 1.40

การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่น พบว่า ไวน์ข้าวที่อุณหภูมิห้อง มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ 6.30 ±1.76 เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิตพบว่ามีการยอมรับที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส การยอมรับทางประสามสัมผัสในด้านกลิ่นของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.10 ± 1.58

การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านรสชาติ พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่ 15 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ 5.17 ±1.78 เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิตพบว่ามีการยอมรับที่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านรสชาติของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 4.1 ± 1.90

การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบโดยรวม พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่ 15 องศาเซลเซียส มีค่าเฉลี่ยสูงสุด คือ 6.17 ± 1.42 เมื่อทดสอบความแตกต่างทางสถิตพบว่ามีการยอมรับที่ไม่แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 กับไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง การยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านความชอบโดยรวมของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิห้อง มีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 5.53 ± 1.38

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสโดยใช้ผู้ทดสอบทั้งหมด 30 คน จะเห็นได้ว่าการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านกลิ่นและรสชาติของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95 ซึ่งผู้ทดสอบส่วนใหญ่มีความชอบในด้านกลิ่นของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสมากกว่า เนื่องจากการหมักที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เกิดการหมักที่เร็ว ยีสต์สร้างสารให้กลิ่นรสได้เร็วกว่าทำให้เกิดกลิ่นหอมมากกว่า ในด้านรสชาติพบว่าผู้ทดสอบส่วนใหญ่มีความชอบรสชาติของไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เซลเซียสมากกว่า เนื่องจากหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียสเกิดการหมักอย่างช้าๆ ส่งผลให้น้ำตาลจากการย่อยข้าวถูกนำไปใช้ได้ช้า จึงทำให้มีความหวานและรสชาติมากกว่า และการยอมรับทางประสาทสัมผัสในด้านลักษณะปรากฏ สีและความชอบโดยรวม พบว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่นที่ร้อยละ 95

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการศึกษาผลของเอทานอลต่อการรอดชีวิตของ *S. cerevisiae* M30 โดยมีสภาวะความเข้มข้นของเอทานอลที่แตกต่างกัน 5 สภาวะ ได้แก่ ความเข้มข้นเอทานอลที่ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร พบว่า ที่สภาวะความเข้มข้นของเอทานอลที่เพิ่มสูงขึ้น โดยเฉพาะที่ความเข้มข้นเอทานอลที่ 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์ มีผลอย่างมากต่อการอยู่ต่อการเจริญและการตายของ *S. cerevesiae* M30 เนื่องจากเซลล์ยีสต์ไม่สามารถทนต่อสภาวะความเข้มข้นเอทานอลสูงได้

จากการศึกษาเวลาการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการผ่าส่าและเติมยีสต์ทั้ง 5 ช่วงเวลา ได้แก่การย่อยข้าวที่ 0, 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง โดยการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง คือถ่ายกล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp. ลงในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว จากนั้นทำการผ่าส่าโดยเติมน้ำเชื่อมเข้มข้น 15 องศาบริกซ์ และเติมยีสต์โดยทันที การย่อยข้าวที่ 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง คือถ่ายกล้าเชื้อรา *Amylomyces* sp. ลงในข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว จากนั้นทำการบ่มที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) ตามเวลาที่กำหนด เมื่อบ่มครบเวลาแล้ว จึงทำการผ่าส่าและเติมยีสต์ พบว่าเวลาในการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการผ่าส่าและเติมยีสต์ที่สุด คือ เวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง เป็นการหมักในลักษณะ simultaneous saccharification and fermentation (SSF) คือการรวมเอากระบวนการย่อยครั้งสุดท้ายเข้าไว้ในกระบวนการหมัก ทำให้ในระหว่างการหมักจะเกิดการย่อยข้าวโดยเอนไซม์จากเชื้อราอย่างช้าๆ น้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นจะถูกยีสต์ใช้ไปในการหมักเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ทันที จึงไม่ค่อยมีการเปลี่ยนแปลงของน้ำตาลกลูโคสที่เกิดขึ้นในระหว่างการหมัก ส่งผลให้มีปริมาณน้ำตาลกลูโคสเริ่มต้นก่อนหมักจะมีค่าต่ำ และมีค่าต่ำตลอดการหมัก ทำให้ไม่มีการสะสมของน้ำตาลกลูโคส ซึ่งช่วยให้ประสิทธิภาพการหมักของเชื้อยีสต์ดีขึ้นด้วย อีกทั้งยังทำให้เกิดการผลิตปริมาณกรดแลคติกที่ต่ำ ซึ่งสามารถช่วยลดความเปรี้ยวในไวน์ข้าวได้ และยังสามารถลดเวลาและพลังงานในการผลิตได้ จากนั้นจึงเลือกเวลาในการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง มาทำการทดลองร่วมกับการศึกษาอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมัก โดยหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง (32±2 องศาเซลเซียส) พบว่า การหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีการหมักช้ากว่าการหมักที่อุณหภูมิห้อง เมื่อสิ้นสุดการหมักที่ 21 วัน พบว่า การหมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส มีปริมาณของแข็งละลายทั้งหมดและปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์เหลืออยู่สูงกว่า นอกจากนี้ ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิต่ำ แสดงให้เห็นถึงปริมาณกรดแลคติกและปริมาณแอลกอฮอล์ที่ต่ำกว่า และไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิต่ำยังมีจำนวนเซลล์ที่รอดชีวิตและเปอร์เซ็นต์การรอดชีวิตที่สูงกว่า

ผลการประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ พบว่า ไวน์ข้าวที่หมักที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง มีกลิ่นหอมและรสชาติแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P < 0.05$) แต่ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($P > 0.05$) ในด้านลักษณะปรากฏ สี และความชอบโดยรวม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองในการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไวน์ข้าว จากการหาเวลาการย่อยข้าวที่เหมาะสมต่อการเติมยีสต์และผ่าส่าแล้ว นำมาทำการทดลองร่วมกับหาอุณหภูมิที่เหมาะสมกับการผลิตไวน์ข้าว เพียงสองอุณหภูมิ คือ ที่อุณหภูมิ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งพบว่าในการหมักแต่ละอุณหภูมิให้กลิ่นและรสชาติของไวน์ข้าวที่แตกต่างกันออกไป ดังนั้นหากจะนำไปใช้ในการผลิตควรทำการศึกษาถึงความชอบของกลุ่มผู้บริโภค และทำการศึกษาการหมักที่อุณหภูมิอื่นด้วยเช่นกัน เพื่อพัฒนาให้การผลิตให้เหมาะสมกับความต้องการของผู้บริโภคและเพื่อให้ไวน์ข้าวมีคุณภาพที่ดียิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

เกื้อกูล ปิยะจอมขวัญ. 2550. เทคโนโลยีต้นแบบผลิตและกลั่นเอทานอลจากมันสำปะหลัง เพิ่มศักยภาพชุมชนและอุตสาหกรรม, *ใน* การสัมมนาเพื่อเผยแพร่งานวิจัย. สำนักงานคณะกรรมการวิจัยแห่งชาติ (วช.).

เจริญ เจริญชัย. 2554. การผลิตสุรากลั่นชุมชน. แหล่งที่มา: https://surathai.wordpress.com/2011/05/15/thaidistill/, 22 กุมภาพันธ์ 2558.

เจริญ เจริญชัย. 2550. จุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องกับการหมักสาโท. แหล่งที่มา: https://surathai.wordpress.com/2007/06/12/satho-micro/, 22 กุมภาพันธ์ 2558.

เจริญ เจริญชัย. 2553. ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์. แหล่งที่มา: https://surathai.wordpress.com/2010/06/12/factors/, 22 กุมภาพันธ์ 2558.

ไชยวัฒน์ นพเก้า. 2553. การศึกษาองค์ประกอบของอาหารและสภาวะการหมักที่เหมาะสมในการผลิตกรดแลคติกจากเวย์โดยแบคทีเรียแลคติก. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยศิลปกร.

ณรินทร ถนอมดำรงศักดิ์ และปกรณ์ จิรอนันตกุล. 2543. การศึกษาไวน์ข้าวที่หมักจากลูกแป้งเหล้าและเชื้อบริสุทธิ์. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะครุศาสตร์อุตสาหกรรมและวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี.

นภดล โพชกำเนิด และสมบูรณ์ ประสงค์จันทร์. 2556. การผลิตไวน์จากลูกจากโดยใช้การหมักด้วยยีสต์ทางการค้า. วารสารการพัฒนาชุมชนและคุณภาพชีวิต. 1(2): 81-88.

ปยะรัชช กลเมธ. 2551. การผลิตไวน์. แหล่งที่มา: http://www.agro.kmutnb.ac.th/e-learning/521302/5.php. วันที่สืบค้น 22 กุมภาพันธ์ 2558.

ภูชิสส์ ชุยมาเมือง และอุบล รัตนา. 2557. ผลของแคลเซียมคลอไรด์ และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อกิจกรรมของเอนไซม์ในโคจิจากรำข้าวสาลี. ปัญหาพิเศษ. สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

วิษณุ พันครู. 2555. สาโท. แหล่งที่มา: http://l3lackmann.blogspot.com/2013/05/blog-post.html, 22 กุมภาพันธ์ 2558.

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา. 2557. เอกสารประกอบคำสอนวิชาอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Non-Distillation Alcoholic Beverage Industry). สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง.

สำนักงานมาตรฐานอุตสาหกรรม. 2544. มาตรฐานไวน์. มอก. 2089-2544 ประกาศ ณ วันที่ 22 พฤศจิกายน 2544.

Amerine, M.A., Ough, C.S. 1980. Methods for analysis of musts and wines. New York Wiley-Interscience

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

AOAC. 1990. Official method of analysis. 15th Edn. Association of Official Agrilcultural Chemists Washington, DC.

Li, H., Jiao, A., Xu, X., Wu, C., Wei, B., Hu, X., Jin, Z., Tian, Y. 2013. Simultaneous saccharification and fermentation of broken rice:an enzymatic extrusion liquefaction pretreatment for Chinese rice wine production. Bioprocess Biosyst Eng. 36:1141–1148.

Liu, D., Tao Zhang, H., Xiong, W., Hu, J., Xu, B., Chung Lin, C., Xu, L., Jiang, L. 2014. Effec of temperature on chines rice wine brewing with hiht concentration presteamed whole sticky rice. BioMed Research International.

Miller, J. M., Chia, L. S., Goh, N K., Chia, T. F., Brouilliard, R.2003. Analysis and biological activities of anthocyanins. Phytochem. 64: 923-933.

Stanley, D.,Bandara, A., Fraser, S., Chambers, P.J.,Stanley, G.A. 2009. The ethanol stress response and ethanol tolerance of *Saccharomyces cerevisiae*. Applied Microbiology ISSN 1364-5072

Yoshizawa, K. 1999 Sake: production and flavor. Food Review international, 15(1): 83-107.

Zhang, Y.Z., Jin, B., Kelly, M.J. 2007. Production of lactic acid from renewable materials by Rhizopus fungi. Biochemical Engineering Journal. 35:251–263.

Zoeklein, B.W., Fugelsang, K.C., Gump, B.H., Nury, F.S. 1995. Wine analysis and production. New York Chapman & Hall

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
การเตรียมสารอาหาร

ก.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YM

1.1 สารอาหาร

1.1.1 D-glucose	10	กรัม
1.1.2 Yeast extract	3	กรัม
1.1.3 Malt extract	3	กรัม
1.1.4 Peptone	5	กรัม
1.1.5 น้ำกรอง	1	ลิตร

1.2 ขั้นตอนการเตรียม

ชั่ง D-glucose 10 กรัม Yeast extract 3 กรัม Malt extract 3 กรัม และ Peptone 5 กรัม ละลายในน้ำกรอง 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1ลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากัน บรรจุใส่ฟลาสก์ อุดด้วยจุกสำลี แล้วใช้ฟอยล์หุ้มจุกสำลีอีกชั้น นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.2 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD

2.1 สารอาหาร

2.1.1 D-glucose	20	กรัม
2.1.2 Yeast extract	10	กรัม
2.1.3 Peptone	20	กรัม
2.1.4 น้ำกรอง	1	ลิตร

1.2 ขั้นตอนการเตรียม

ชั่ง D-glucose 20 กรัม Yeast extract 10 กรัม และ Peptone 20 กรัม ละลายในน้ำกรอง 500 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 1 ลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากัน บรรจุใส่ฟลาสก์ อุดด้วยจุกสำลี แล้วใช้ฟอยล์หุ้มจุกสำลีอีกชั้น นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.3 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD ที่มีเอทานอลความเข้มข้นที่แตกต่างกัน

เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD เช่นเดียวกันกับข้อ ก.2

ตารางภาคผนวก ก 1 แสดงสัดส่วนของอาหารเลี้ยงเชื้อ YPD เอทานอล 95% และน้ำกรองที่ต้องเติมลงไปในปริมาตรที่แตกต่างกันของแต่ละความเข้มข้นเอทานอล

อาหารเลี้ยงเชื้อ YPD+ความเข้มข้นของเอทานอล			
ความเข้มข้นของเอทานอล (เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร)	อาหาร YPD (มิลลิลิตร)	เอทานอล 95% (มิลลิลิตร)	น้ำกรอง (มิลลิลิตร)
0	130	0	70
5	130	13.30	56.70
10	130	26.68	43.32
15	130	40.02	29.98
20	130	53.36	16.64
25	130	66.70	3.30

หมายเหตุ: ผสมอาหาร YPD ที่มีเอทานอลระดับความเข้มข้นที่แตกต่างกัน ในระดับ 0, 5, 10, 15, 20 และ 25 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตรต่อปริมาตร บรรจุใส่ฟลาสก์ ขนาด 250 มิลลิลิตร ปริมาตร 50 มิลลิลิตร

ก.4 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Agar (PDA)

4.1 สารอาหาร

Potato Dextrose Agar (PDA)

4.2 ขั้นตอนการเตรียม

นำ Potato Dextrose Agar (PDA) 3.9 กรัม ละลายในน้ำกรองอีก 50 มิลลิลิตร ปรับปริมาตรให้ได้ 100 มิลลิลิตร คนให้ส่วนผสมเข้ากัน ปิเปตสารอาหารใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิดขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

ก.5 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato Dextrose Broth (PDB)

5.1 สารอาหาร

5.1.1 มันฝรั่ง	200	กรัม
5.1.2 D-glucose	20	กรัม
5.1.3 น้ำกรอง	1	ลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ขั้นตอนการเตรียม

ปอกเปลือกมันฝรั่ง และล้างให้สะอาด หั่นเป็นชิ้นสี่เหลี่ยมจัตุรัสขนาดประมาณ 1 ลูกบาศก์เซนติเมตร ต้มในน้ำกรอง 500 มิลลิลิตร จนสุกไม่เละจนเกินไป กรองเนื้อมันฝรั่งออกด้วยผ้ากรอง เก็บส่วนน้ำเอาไว้ เติม D-glucose 20 กรัม คนให้ละลายเข้ากัน ปรับปริมาตรด้วยน้ำกรองให้ได้ 1 ลิตร ปิเปตสารอาหารใส่หลอดทดลองที่มีฝาปิดขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ปริมาตรหลอดละ 5 มิลลิลิตร นำไปฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
วิธีการวิเคราะห์

ข.1 การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้วิธีไดโครเมทออกซิเดชัน (Wiliams และ Darwin, 1950)

1.1 การเตรียมสารเคมี

1.1.1 สารละลายโปแทสเซียมไดโครเมท เตรียมโดยละลายโปแทสเซียมไดโครเมท ($K_2Cr_2O_7$) 33.77 กรัม ในน้ำกลั่นปริมาตร 450 มิลลิลิตร ค่อยๆเติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 325 มิลลิลิตร ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้วยน้ำกลั่น เก็บไว้ในขวดสีชา

1.1.2 สารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต เตรียมโดยละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต ($Fe(NH_4)_2(SO_2)_2.6H_2O$) ในน้ำกลั่นปริมาตร 750 มิลลิลิตร เติมกรดซัลฟิวริกเข้มข้น 25 มิลลิลิตร ลงไปอย่างช้าๆ ตั้งทิ้งไว้ให้เย็นและปรับปริมาตรให้เป็น 1 ลิตรด้าวยน้ำกลั่น เก็บไว้ในขวดสีชา

1.1.3 สารละลาย 1,10 ฟีแนนโทลีนเฟอร์รัสซัลเฟต เตรียมโดยละลายเฟอร์รัสซัลเฟต ($FeSO_4.7H_2O$) ในน้ำกลั่นปริมาตร 50 มิลลิลิตร เติมออโทฟีแนนโทรลีน (*O*-phenanthroline) 1.49 กรัม คนให้ละลายแล้วปริมาตรด้วยน้ำกลั่นเป็น 100 มิลลิลิตร

1.2 วิธีวิเคราะห์

1.2.1 เติมน้ำกลั่นลงในฟลาสก์สำหรับกลั่น 100 มิลลิลิตร

1.2.2 ปิเปตตัวอย่าง 1 มิลลิลิตรใส่ลงในฟลาสก์สำหรับกลั่น ต่อชุดกลั่น

1.2.3 ปิเปตสารละลายโปแทสเวียมไดโครเมท 25 มิลลิลิตร ใส่ในฟลาสก์ขนาด 50 มิลลิลิตร นำไปวางที่ปลายส่วนควบแน่น (condenser) โดยให้ปลายของส่วนควบแน่นจุ่มลงในสารละลายกลั่นด้วยความร้อนต่ำจนได้ distillate ร่วมกันสารละลายโพแทสซียมไดโครเมทจนมีปรมาตรประมาณ 40-45 มิลลิลิตร จึงหยุดกลั่น

1.2.4 ฉีดล้างส่วนอัดแน่นด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อยให้ลงไปรวมอยู่ในฟลาสก์สารละลายโปแทสเซียมไดโครเมท

1.2.5 นำขวดสารละลายที่ได้ไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาที เพื่อให้แอลกอฮอล์ทำปฏิกิริยากับสารโปแทสเซียมไดโครเมทที่อยู่ในสารละลายอย่างสมบูรณ์ จากนั้นถ่ายสารละลาย พร้อมทั้งฉีดสารละลายทั้งหมดลงสู่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ด้วยน้ำกลั่นเล็กน้อย

1.2.6 ไตเตรทกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟต จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีเขียวใส เติมสารละลาย 1-10 ฟีแนนโทรลีนเฟอร์รัสซัลเฟส ลงไปประมาณ 10 หยด แล้วไตเตรทต่อจนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล จนปริมาตรของสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตที่ใช้เป็นค่า V_A

1.2.7 ทำ blank โดยปิเปตน้ำกลั่น 1 มิลลิลตร ใส่ฟลาสก์ 250 มิลลิลิตร ที่มีสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โปแทสเซียมไดโครเมท 25 มิลลิลิตร นำไปแช่ในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 60-65 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 25 นาทีนำมาไตเตรทกับสารละลายเฟอร์รัสแอมโมเนียมซัลเฟตตามข้อ 6. จดปริมาตรสารละลายที่ใช้เป็นค่า V_B

1.2.8 นำค่า V_A กับ V_B ที่ได้คำนวณปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่าง

1.3 การคำนวณปริมาณแอลกอฮอล์

$$\text{ปริมาณแอลกอฮอล์ (\%v/v)} = 25 - \frac{25 - V_A}{V_B}$$

ข.2 การวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์โดยวิธี DNS (Miller, 1959)

2.1 การเตรียมสารเคมี

3,5-dinitrosalisacylic acid (DNS) เตรียมโดยละลาย DNS 20 กรัม ในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายด่างลงไปทีละน้อย (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายในน้ำ 300 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากันนำไปอังบนอ่างน้ำร้อนจนสารละลายใส แล้วเติมโพแทสเซียมทาเทรตลงไปที่ละน้อยจนครบ 600 กรัมปรับปริมาตรเป็น 2000 มิลลิลิตร เก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 ปิเปตตัวออย่างที่มีความเข้มข้นที่เหมาะสมปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2.2.2 เติมสารละลาย DNS ปริมาตร 1 มิลลิลิตร

2.2.3 นำไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที นำไปแช่ในอ่างน้ำเย็นเป็นเวลา 5 นาที

2.2.4 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากันนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร นำค่าที่ได้ไปเปรียบเทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างค่าดูดกลืนแสงสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่ มีความเข้มข้นในช่วง 0.1-1.0 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร โดยใช้น้ำกลั่นเป็น blank

2.3 การเตรียมกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เตรียมสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส ความเข้มข้น 1 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร โดยการละลายน้ำตาลกลูโคส 0.1 กรัมในน้ำกลั่น ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตร นำสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาเจือจางให้ความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1.0 มิลลิลิตรต่อมิลลิลิตร จากนั้นนำไปทดลองตามข้อ 1- ข้อ 4 บันทึกค่าดูดกลืนแสงของสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

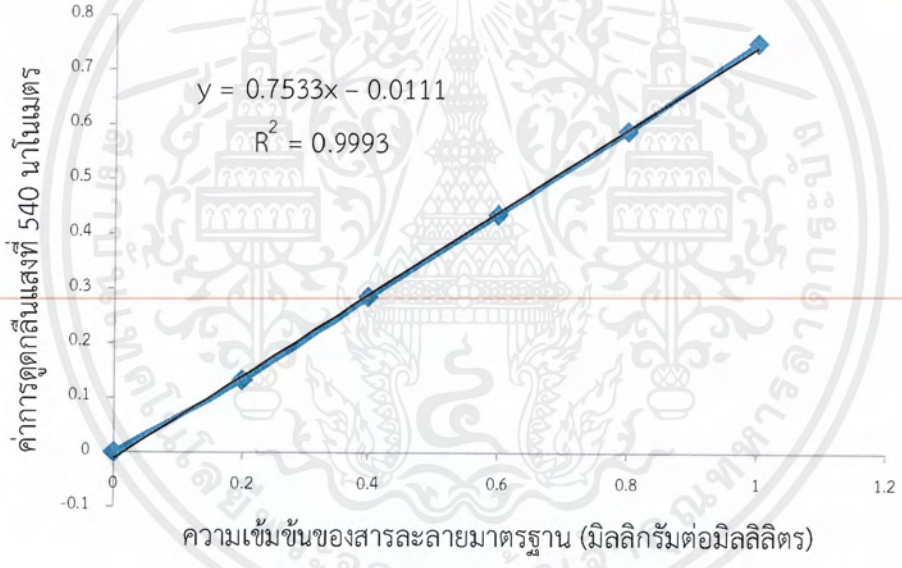
2.4 การคำนวณปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

$$\text{ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)} = \frac{\text{ค่าดูดกลืนแสง} \times \text{อัตราการเจือจาง}}{\text{ค่าความชันของกราฟมาตรฐาน}}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางภาคผนวก ข 2 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคส

ความเข้มข้นของกลูโคส (มิลลิกรัมต่อมิลลิตร)	ปริมาณน้ำกลั่น (มิลลิลิตร)	ปริมาตรสารละลายมาตรฐานกลูโคส (มิลลิลิตร)
0.2	0.8	0.2
0.4	0.6	0.4
0.6	0.4	0.6
0.8	0.2	0.8
1.0	0	1.0



ภาพภาคผนวก ข 2 กราฟแสดงความสัมพันธ์ระหว่างค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตรกับความเข้มข้นของสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร)

ข.3 การวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยการไตรเตรท (AOAC,1990)

3.1 การเตรียมสารเคมี

3.1.1 น้ำปลอดคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยต้มน้ำกลั่นให้เดือด 20 นาที

3.1.2 สารละลายฟีนอฟธาลีน โดยชั่งฟีนอฟธาลีน 1 กรัม ละลายในแอลกอฮอล์ 95% ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 สารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ 4 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร ด้วยน้ำกลั่น นำมาหาความเข้มข้นก่อนใช้ ได้ดังนี้

3.1.4 การหาความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานโซเดียมไฮดรอกไซด์ โดยชั่งโพแทสเซียมพาทาเลต ที่ผ่านการอบที่อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น โดยชั่งอย่างละเอียด 0.3 กรัม ใส่ลงในฟลาสขนาด 250 มิลลิลิตร เติมน้ำปลอดคาร์บอนไดออไซด์ 100 มิลลิลิตร เติมสารละลายฟีนอฟธาลีน 3 หยด ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล

3.1.5 การคำนวณความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐาน

$$\text{ความเข้มข้นสารมาตรฐาน(N)} = \frac{\text{น้ำหนักโพแทสเซียมพาทาเลต (กรัม)} \times 1000}{\text{ปริมาตรโซเดียมไฮดรอกไซด์ (มิลลิลิตร)} \times 204.299}$$

3.2 วิธีวิเคราะห์

3.2.1 นำตัวอย่างปริมาตร 5 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.2.2 เติมน้ำปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

3.2.3 หยดสารละลายฟีนอฟธาลีน 3 หยด

3.2.4 ไตเตรทด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 0.1 นอร์มัล จนกระทั่งถึงจุดยุติ โดยสารละลายจะเปลี่ยนเป็นสีชมพู

ข.4 การนับจำนวนเซลล์ยีสต์โดยใช้ Heamacytometer

4.1 สารเคมี

4.1.1 สารละลายโซเดียมซิเตรต

4.1.2 สารละลายซิเตรทเมทิลลีนบลู

4.2 วิธีการ

4.2.1 ปิเปตตัวอย่างที่ผ่านการเจือจางในระดับที่เหมาะสมปริมาตร 100 ไมโครลิตร เติมสารละลายซิเตรทเมทิลลีนบลู 100 ไมโครลิตร ผสมให้เข้ากันในหลอดทดลอง

4.2.2 นับจำนวนเซลล์มีชีวิตและไม่มีชีวิตภายหลัง 5 นาที โดยใช้กล้องจุลทรรศน์อิเล็กตรอน ซึ่งเซลล์ที่ย้อมติดสีคือ เซลล์ไม่มีชีวิต

4.2.3 คำนวณเซลล์มีชีวิตและร้อยละเซลล์มีชีวิต

4.3 การคำนวณเซลล์มีชีวิต

$$\text{จำนวนเซลล์ที่มีชีวิต (cell/ml)} = \frac{\text{จำนวนเซลล์ที่ไม่ติดสี} \times \text{อัตราการเจือจาง} \times 10^6}{4}$$

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ร้อยละของเซลล์มีชีวิต} = \frac{\text{เซลล์มีชีวิต} \times 100}{\text{จำนวนเซลล์ทั้งหมด}}$$

ข.5 การวิเคราะห์ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (AOAC, 2000)

5.1 เครื่องมือ

5.1.1 เครื่อง Hand refractometer

5.2 วิธีวิเคราะห์

5.2.1 ก่อนทำการวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำทั้งหมดทุกครั้ง ต้องทำการปรับมาตรฐานของเครื่อง (calibration) โดยใช้น้ำกลั่น ซึ่งค่าที่อ่านได้ปรับให้เท่ากับ 0

5.2.2 นำตัวอย่างมาวัดด้วยเครื่อง Hand refractometer ที่มีสเกลวัดค่าได้อยู่ในช่วงระหว่าง 0-32°Brix บันทึกค่าที่อ่านได้ในหน่วยของ°Brix

ข.6 การวัดความค่าเป็นกรดด่าง (พีเอช) (AOAC, 2000)

6.1 เครื่องมือที่ใช้วัด

7.1.1 เครื่อง pH meter

6.2 วิธีการวัด

6.2.1 ตรวจสอบความถูกต้องของเครื่อง pH meter ก่อนใช้ทุกครั้งด้วยสารละลายบัฟเฟอร์ความเป็นกรดด่าง 7 และ 4

6.2.2 นำตัวอย่างใส่ลงในบีกเกอร์

6.2.3 ทำการวัดความเป็นกรดด่าง โดยใช้ electrode ของ pH meter จุ่มลงไปในตัวอย่าง อ่านค่าความเป็นกรดด่างจาก จอ monitor ของเครื่อง pH meter

ข.7 การชิมไวน์

ใช้วิธี Descriptive analysis with scaling ซึ่งมีการให้คะแนนต่ำสุดคือ 1 และคะแนนสูงสุด คือ 9 โดยพิจารณาในด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม มีการให้คะแนนดังนี้ คือ 1 คะแนน = ไม่ชอบมากที่สุด, 2 คะแนน = ไม่ชอบมาก, 3 คะแนน = ไม่ชอบปานกลาง, 4 คะแนน = ไม่ชอบเล็กน้อย, 5 คะแนน = เฉยๆ, 6 คะแนน = ชอบเล็กน้อย, 7 คะแนน = ชอบปานกลาง, 8 คะแนน = ชอบมาก, 9 คะแนน = ชอบมากที่สุด

7.1 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสระหว่างไวน์ข้าวที่ได้จากการย่อยข้าวที่ 0 ชั่วโมง ที่หมักที่ 15 องศาเซลเซียส และที่อุณหภูมิห้อง

7.2 แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แบบประเมินการทดสอบทางประสาทสัมผัส

กรุณาชิมตัวอย่างไวน์ข้าวต่อไปนี้ พร้อมทั้งให้คะแนน โดยพิจารณาความชอบจากลักษณะต่างๆ ตามความหมายดังต่อไปนี้

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

ลักษณะที่พิจารณา	คะแนน	
	741	852
ลักษณะปรากฏ		
สี		
กลิ่น		
รสชาติ		
ความชอบโดยรวม		

ข้อเสนอแนะ

.....

.....

ข.8 การประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัส

ประเมินคุณภาพทางประสาทสัมผัสด้านลักษณะปรากฏ สี กลิ่น รสชาติ และความชอบโดยรวม โดยใช้ผู้ทดสอบซึ่งเป็นนักศึกษาและบุคลากรทั้งชายและหญิงของคณะอุตสาหกรรมเกษตรและคณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง จำนวน 30 คน วางแผนการทดลองแบบ Completely Randomized Design (CRD) ทดลอง 3 ซ้ำ เปรียบเทียบค่าเฉลี่ยโดยวิธี Least Significant Difference

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	ปัญจาภรณ์ แตกเงิน
วัน เดือน ปี เกิด	22 กันยายน 2535
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนบางบัวทอง ปัจจุบันศึกษาอยู่คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ที่อยู่	10/2 หมู่ 4 ถนนปทุมบางเลน แขวงขุนศรี เขตไทรน้อย จังหวัดนนทบุรี 11150

ชื่อ-นามสกุล	อุบลวรรณ แซ่อึ้ง
วัน เดือน ปี เกิด	31 ธันวาคม 2535
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลายที่โรงเรียนศรีพฤฒา ปัจจุบันศึกษาอยู่คณะอุตสาหกรรมเกษตร สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมัก สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ที่อยู่	2881 ถนนพัฒนาการ แขวงสวนหลวง เขตสวนหลวง กทม. 10250

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหาและต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้