การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวกล้องงอก

PRODUCTION OF VINEGAR FROM GERMINATED BROWN RICE WINE

สรศักย์ อังศุธรรธนวัฒน์

อนัญญา ชัยพรแก้ว

กวิศรา ตระกูลษา

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ 2561

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวกล้องงอก

PRODUCTION OF VINEGAR FROM GERMINATED BROWN RICE WINE

จัดทำโดย

สรศักย์ อังศุธรรธนวัฒน์ รหัสนักศึกษา 58080140

อนัญญา ชัยพรแก้ว รหัสนักศึกษา 58080142

กวิศรา ตระกูลษา รหัสนักศึกษา 58080227

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

....10.../...ก.ค..../...62...

(ศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษ	การผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวกล้องงอก	
ชื่อนักศึกษา	สรศักย์ อังศุธรธนวัฒน์	58080140
	อนัญญา ชัยพรแก้ว	58080142
	กวิศรา ตระกูลษา	58080227
หลักสูตร	วิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม	
ปีการศึกษา	2561	
อาจารย์ที่ปรึกษา	ศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง	

บทคัดย่อ

งานวิจัยนี้มีวัตถุประสงค์ในการศึกษากระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวกล้องงอก โดยทำการศึกษาการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยวิธีย่อยใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp. และวิธีการย่อยด้วยเอนไซม์ที่มีอยู่ในข้าวที่งอกโดยไม่ใช้เชื้อรา พบว่าการย่อยด้วยเชื้อรา จะเกิดการย่อยได้ดีที่สุดในวันที่ 1 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 16.9 ^{o}Brix และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ถึง 268.7075 มก/มล. อีกทั้งยังมีกลิ่นหอมของข้าวหมัก ส่วนการย่อยข้าวโดยไม่ใช้เชื้อรา จะเกิดการย่อยได้ดีที่สุดในวันที่สิ้นสุดการย่อยคือวันที่ 4 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 17.8 ^{o}Brix และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ 57.1228 มก/มล. แต่มีกลิ่นข้าวที่เน่าบูด ในขั้นตอนการหมักไวน์ใช้ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อย 2 แบบมาทำหมัก โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 พบว่าการใช้ข้าวที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อราจะให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงถึง 10.3% ส่วนข้าวที่ทำการย่อยแบบไม่ใช้เชื้อราไม่พบปริมาณแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้น ไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วยราสามารถนำไปทำน้ำส้มสายชูได้

คำสำคัญ: ข้าวกล้องงอก, ไวน์, น้ำส้มสายชูไวน์ข้าวกล้องงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Special problem title	Production of vinegar from germinated brown rice wine.	
Student name	Sorasak angsathornthanawat	Student ID 58080140
	Ananya Chaipornkaew	Student ID 58080142
	Kawidsara Trakoonsa	Student ID 58080227
Program	Bachelor of Science in Fermentation Technology in Food Industy	
Academic Year	2018	
Advisor	Prof.Dr.Warawut Krusong	

Abstract

This research, aimed to study about processing of produce vinegar by used germinated brown rice with mold, with 2 factors Amylomyces spp. and enzymatic(without MO) ingestion were studied. The result shown that ingested with mold gave the best ingestion at the first day found total soluble solid at 16.9 Brix and reducing sugar 268.7075 mg/ml. Furthormore, the smell from this sample better than the other one with fermented rice flavor. While the vinegar from enzymatic ingestion gave the best product when ingested for 4 days. And gave total soluble solid at 17.8 Brix and ruducing sugar at 57.1228 mg/ml. But the smell effected by spoiled rice. In wine fermented step, studied by using ingested germinated brown rice from 2 methods. The ingested germinated brown rice was fermented by using Saccharomyces cerevisiae FER1. The reault shown that the sample that ingested by using MO gave the highest alcohol content at 10.3%. while the sample without MO ingestion not found alcohol produced. Germinated brown rice wine from MO ingested can be bring to produce vinegar in the future.

Keywords: germinated brown rice, wine, germinated brown rice wine vinegar

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ผลงานวิจัยเรื่องการผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอก สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดีเนื่องจากได้รับความกรุณาเป็นอย่างสูงจาก ศ.ดร.วราวุฒิ ครูส่ง ที่ให้คำแนะนำปรึกษาและความช่วยเหลือ ตลอดการศึกษางานวิจัย ทั้งให้ข้อมูลความรู้ การปฏิบัติงานวิจัย วิเคราะห์สาเหตุ รวมถึงการจัดหาอุปกรณ์และวัตถุดิบ ตลอดจนชี้แนวทางในการดำเนินงานการแนะนำการแก้ไขปรับปรุงจนงานวิจัยสำเร็จให้รายงานฉบับนี้สำเร็จลุล่วงไปได้ด้วยดี

ทางผู้จัดทำจึงขอกราบขอบพรพระคุณ ศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง และคณาจารย์ทุกท่าน เป็นอย่างสูง ณ โอกาสนี้ ขอขอบคุณพี่นักวิทย์ที่ได้ให้ความรู้ชี้แนะในการใช้เครื่องมือรวมถึงการอำนวยความสะดวกในการเบิกจ่ายอุปกรณ์ต่างๆ รวมถึงการเบิกใช้ห้องในการทำวิจัย และพี่ช่างที่ได้มาซ่อมบำรุงของที่ได้พังหรือชำรุดทำให้งานดำเนินต่อไปได้ ขอขอบคุณพี่รัตติพร โพธิมล ที่คอยช่วยเหลือแนะนำ ชี้แนะแนวทางในการแก้ไขสิ่งต่างๆ ให้ความรู้ รวมถึงการให้กำลังใจในการทำปัญหาพิเศษ ให้ยืมอุปกรณ์สิ่งของในสิ่งที่ขาดเหลือจากงานวิจัย และขอบคุณเพื่อนทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในสิ่งต่างๆ ทั้งในส่วนที่เกี่ยวกับงานวิจัยและอื่นๆ ทั้งยกสิ่งของ ให้กำลังใจ

สุดท้ายขอขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ ที่คอยให้กำลังใจรวมถึงกำลังเงิน คอยให้คำปรึกษาในเรื่องต่างๆ ข้าพเจ้าจึงขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูงไว้ ณ โอกาสนี้

สรศักย์ อังศุธรธนวัฒน์

อนัญญา ชัยพรแก้ว

กวิศรา ตระกูลษา

1 กรกฎาคม พ.ศ.2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อ

กิตติกรรมประกาศ

บทที่ 1 บทนำ 1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ 1

1.2 วัตถุประสงค์ 1

1.3 ขอบเขตของการศึกษา 2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้ 2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 3

2.1 ข้าว (Rice) 3

2.2 โครงสร้างและส่วนประกอบของข้าว 3

2.3 การแบ่งประเภทและกลุ่มของข้าวไทย 4

2.4 ข้าวกล้อง (Brown rice) 5

2.5 ข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) 7

2.6 ประโยชน์ของข้าวกล้องงอก 8

2.7 GABA(gamma aminobutyric acid) 9

2.8 น้ำส้มสายชู (vinegar) 9

2.9 มาตรฐานคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมัก 11

2.10 กลไกการผลิตน้ำส้มสายชู 11

2.11 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก 13

2.12 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ 16

2.13 ประโยชน์ของน้ำส้มสายชูหมัก 17

2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง 17

บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง 20

3.1วัตถุดิบและสารเคมี 20

3.2 อุปกรณ์ 21

3.3 เครื่องมือ 22

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง 23
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์ 28
4.1 ผลการเปรียบเทียบระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกแบบใช้เชื้อรา *Amylomyces spp.* 28
และแบบไม่ใช้รา เตรียมสำหรับการหมักไวน์
4.2 ผลการเปรียบเทียบการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา 31
และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในการหมัก
4.3 ผลของการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวกล้องงอก 35
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ 36
5.1 สรุปผล 36
5.2 ข้อเสนอแนะ 36
บรรณานุกรม 37
ภาคผนวก 40
ภาคผนวก ก การเตรียมสาร และวิธีวิเคราะห์ 41
ภาคผนวก ข การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ 54
ภาคผนวก ค ตารางผลการทดลอง 55
ภาคผนวก ง ภาพประกอบ 59
ประวัติผู้เขียน 63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2.1 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้อง 100 กรัม	6
2.2 คุณค่าทางอาหารระหว่างข้าวกล้อง และข้าวขาว 100 กรัม	7
3.1 แสดงสัดส่วนผสมในการหมักไวน์	26
4.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ในระหว่างการย่อย ข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	28
4.2 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วย เชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	29
4.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วย เชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง	30
4.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก	32
4.5 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอก ที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก	33
4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอก ที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก	34
4.7 ปริมาณแอลกอฮอล์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอก ที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก	34
ก.1 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสใน ระดับต่างๆกับค่า Absorbance ที่ 540 นาโนเมตร ที่ได้จากการวิเคราะห์กลูโคสด้วยสาร DNS	42

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.1 แสดงสัดส่วนผสมในการหมักไวน์ 55
ค.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) 55
ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา
เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง
ค.2 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วย 56
เชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง
ค.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วย 56
เชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง
ค.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ในระหว่าง 57
การหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา และแบบไม่ใช้รา
โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก
ค.5 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอก 57
ที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1
ในการหมัก
ค.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบ 58
ใช้เชื้อรา และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก
ค.7 ปริมาณแอลกอฮอล์ ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา 58
และแบบไม่ใช้รา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

ภาพที่	หน้า
2.1 ข้าว	3
2.2 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว	4
2.3 ข้าวกล้อง	5
2.4 ข้าวกล้องงอก	8
2.5 น้ำส้มสายชู	10
2.6 โครงสร้างของเชื้อSaccharomyces cerevisiae	14
2.7 รูปร่างลักษณะของแบคทีเรีย Acetobacter aceti	15
2.8 วงจรการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์	16
3.1 เชื้อ Amylomyces spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	23
3.2 เชื้อ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA	23
3.3 โมแบน	24
3.4 การเลี้ยงยีสต์ใน YM : (ก) ใส่เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ; (ข) เลี้ยงเชื้อยีสต์บนเครื่องเขย่า	24
3.5 การย่อยข้าว : (ก) ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วย Amylomyces spp. ; (ข) ข้าวกล้องงอกที่ไม่ผ่านการย่อยด้วย Amylomyces spp.	25
3.6 การหมักไวน์ข้าวกล้องงอก : (ก) หมักข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วยรา ; (ข) หมักข้าวกล้องงอกที่ไม่ผ่านการย่อย	26
3.7 การเตรียมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูข้าวกล้องงอกในดูแรน	27
ภาพที่ 4.8ผลการเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์และกรดอะซิติกระหว่างการหมักในน้ำส้มสายชูข้าวกล้องงอก ความเข้มข้นทั้งหมด 8% ในวันที่ 0 - 19 (กรดอะซิติกเริ่มต้น 4.5% ; แอลกอฮอล์เริ่มต้น 3.5%)	35
ก. 1 กราฟมาตรฐานระหว่างค่าปริมาณกลูโคสกับค่า Absorbance ที่ 540 nm.	43
ก.2 เครื่อง Spectrophotometer	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก.3 เครื่อง Refractometer ATAGO, Japan 46

ก.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH) METTLER TOLEDO, China 49

ก.5 เครื่อง Ebulliometer Dujadin – Salleron, France 51

ก.6 แผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ 52

ง.1 เชื้อ Amylomyces spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 59

ง.2 เชื้อ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA 59

ง.3 โมแบน 60

ง.4 การเลี้ยงยีสต์ใน YM : (ก) ใส่เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 60
ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ; (ข) เลี้ยงเชื้อยีสต์บนเครื่องเขย่า

ง.5 การย่อยข้าว : (ก) ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วย Amylomyces spp. ; 61
(ข) ข้าวกล้องงอกที่ไม่ผ่านการย่อยด้วย Amylomyces spp.

ง.6 การหมักไวน์ข้าวกล้องงอก : (ก) หมักข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วยรา ; 61
(ข) หมักข้าวกล้องงอกที่ไม่ผ่านการย่อย

ง.7 การเตรียมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูข้าวกล้องงอกในดูแรน 62

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1
บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญ

น้ำส้มสายชูเป็นสิ่งที่ผู้คนรู้จักเป็นอย่างดี พบว่าใช้ในชีวิตประจำวันอยู่บ่อยๆ ไม่ว่าจะใช้สำหรับปรุงอาหาร เป็นสารกันบูด รวมทั้งสารทำความสะอาด ปัจจุบันมีการนำมาทำเป็นเครื่องดื่มอีกด้วย อีกทั้งข้าวกล้องงอก (Germinated brown rice) นั้นมีสารที่เป็นประโยชน์มากมาย ในระหว่างการงอก มีผลทำให้ปริมาณของอะไมโลสในเมล็ดข้าวลดลงสารอาหารที่ถูกเก็บไว้ในเมล็ดข้าวมีการย่อยสลายไปตามกระบวนการชีวเคมีได้เป็นคาร์โบไฮเดรตโมเลกุลเล็กลง กระบวนการงอกจะเกิดการย่อยแป้งให้กลายเป็นไปน้ำตาลโดยเอนไซม์ต่างๆ จึงทำให้ข้าวกล้องงอกมีประมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงขึ้น จากเมตาบอลิซึมของแป้งน้ำตาล โปรตีนจะถูกย่อยให้เป็นกรดอะมิโน และเปปไทด์ เกิดการสะสมของอาหารต่างๆ เช่น GABA โทโคฟีรอลและโทโคไตรอีนอล เป็นต้น (Kayahara and Tsukahara, 2000) สารที่สำคัญ คือ GABA (Gamma aminobutyric acid) ซึ่งมีคุณประโยชน์อย่างมาก น้ำส้มสายชูหมักโดยส่วนใหญ่เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำวัตถุดิบธรรมชาติ เช่น ธัญพืช ผลไม้ น้ำตาล หรือกากน้ำตาล มาทำการหมักให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ก่อน จากนั้นจึงหมักกับจุลินทรีย์ในกลุ่ม acetic acid bacteria จนได้กรดอะซิติก เราจึงสนใจที่จะทำน้ำส้มสายชูที่หมักจากข้าวกล้องงอก จากการวิจัยนี้จะทำให้เราได้รู้ว่าข้าวกล้องงอกนั้นสามารถนำมาทำน้ำส้มสายชูได้ และทำให้ได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบที่มีคุณค่า โดยผลการศึกษาที่ได้จะใช้เป็นทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภคเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ และเป็นอีกทางเลือกสำหรับภาคอุตสาหกรรมในการทำน้ำส้มสายชูหมัก

1.2 วัตถุประสงค์

1.2.1 ศึกษาการย่อยข้าวกล้องงอกโดยใช้ราและไม่ใช้รา รวมถึงการหมักไวน์จากข้าวกล้องงอก

1.2.2 ศึกษาการหมักไวน์จากข้าวกล้องงอก ซึ่งใช้ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้รา และไม่ใช้รา

1.2.3 ศึกษาการหมักน้ำส้มสายชู ปรับความเข้มข้น (Total concentration;TC) เป็น TC8 จากไวน์ข้าวกล้องงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.3 ขอบเขตของการศึกษา

ทำการศึกษากระบวนการหมักน้ำส้มสายชูตั้งแต่การหมักไวน์จากข้าวกล้องงอก ขั้นตอนการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลโดยการใช้รา และไม่ใช้รา การหมักลงถังเพื่อให้ได้ไวน์จากข้าวกล้องงอก จากนั้นก็จะนำไวน์ที่มีแอลกอฮอล์ไปหมักเพื่อให้ได้น้ำส้มสายชู TC8 ต่อไป

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้

1.4.1 ช่วยเพิ่มมูลค่าผลผลิตทางการเกษตรภายในประเทศ โดยนำมาทำการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์ไวน์และน้ำส้มสายชูหมัก

1.4.2 ช่วยเพิ่มคุณค่าทางโภชนาการในน้ำส้มสายชูหมัก โดยใช้วัตถุดิบจากธรรมชาติ และเป็นประโยชน์ต่อสุขภาพ

1.4.3 เป็นอีกทางเลือกหนึ่งสำหรับผู้บริโภคเพื่อลดความเสี่ยงต่อการเกิดโรคต่างๆ

1.4.4 สามารถนำความรู้ หรือข้อมูลจากการทดลองมาผลิตผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอกเป็นผลสำเร็จที่ดียิ่งขึ้น เพื่อที่จะนำข้อมูลจากการศึกษาไปประยุกต์ใช้ในงานวิจัยอื่น หรือประยุกต์ใช้ในระดับอุตสาหกรรมได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ข้าว (Rice) (ดัดแปลงจากอรอนงค์ นัยวิกุล,2547)

ตามพจนานุกรมฉบับราชบัณฑิตยราชสถาน (2525) ให้ความหมายคำว่า ข้าว หมายถึง เมล็ดพืชพวกหญ้าในวงศ์แกรมินีอี (Gramineae) ใช้เป็นอาหารสำคัญปลูกกันในประเทศร้อนโดยมาก แบ่งออกเป็นชนิดใหญ่ 2 ชนิด คือ ข้าวเจ้าและข้าวเหนียว ส่วนคำว่า ธัญ (ทัน) หรือ ธัญ - (ทันยะ-) หมายถึงข้ าวเปลือก คำว่า ธัญชาติ หมายถึง คำรวมเรียกข้าวต่างๆ เช่น ข้าวเปลือก ข้าวสาลี คำว่า ธัญญาหาร หมายถึง อาหาร คือ ข้าว และคำว่า ธัญพืช หมายถึง พืชข้าวกล้า ดังนั้น ข้าวจึง หมายถึง เมล็ดของธัญพืช หรือข้าวเปลือก เป็นธัญชาติ ชนิดหนึ่งซึ่งได้ มาจากเมล็ดของธัญพืชพวกหญ้า วงศ์แกรมิฐีอี

รูป 2.1 ข้าว

ที่มา : Amnat (2018)

2.2 โครงสร้างและส่วนประกอบของข้าว (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2014)

ข้าวเป็นธัญพืช (cereal grain) ชนิดหนึ่ง เมล็ดข้าว หุ้มด้วยชั้นเปลือก หลายชั้น ชั้นนอกสุดเป็นแกลบ (husk) ซึ่งเป็นเซลลูโลส (cellulose) และ เฮมิเซลลูโลส (hemicellulose) เมื่อสีเอาชั้นแกลบออกจะได้ข้าวกล้อง ในเมล็ดข้าวกล้องประกอบด้วย จมูกข้าวหรือคัพภะ (germ หรือ embryo) และส่วนเอนโดสเปอร์ม หรือข้าวขาว ห่อหุ้มด้วยชั้นรำข้าว (rice bran) ซึ่งประกอบด้วยเยื่อหุ้มเมล็ดหลายชั้น เยื่ออาลูโรน (aleurone layer) หรือชั้นรำ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ละเอียด เป็นชั้นในสุดที่ติดกับเอนโดสเปอร์ม มีโปรตีนสูง และไขมันสูง นอกจากนี้ยังประกอบไปด้วย cellulose และ hemicellulose

จมูกข้าว (germ) อยู่ติดกับ endosperm ทางด้าน lemma เป็นส่วนที่จะเจริญเป็นต้นต่อไปประกอบด้วย ต้นอ่อน (plumule) รากอ่อน (radicle) เยื่อหุ้มต้นอ่อน (coleoptile) เยื่อหุ้มรากอ่อน (coleorhiza) ท่อน้ำท่ออาหาร (epiblast) และใบเลี้ยง (scutellum) มีโปรตีน และลิพิด (lipid) วิตามินและแร่ธาติสูง

เอนโดสเปอร์ม (endosperm) คือส่วนเมล็ดข้าวสารที่นำมารับประทาน มีส่วนประกอบส่วนใหญ่ คือ คาร์โบไฮเดรต (carbohydrate) ที่เป็นสตาร์ช (starch) ซึ่งมี amylose และ amylopectin เป็นส่วนประกอบหลัก อยู่รวมเป็นเม็ดสตาร์ช (starch granule) โปรตีนในข้าวที่ขัดสีแล้วมีปริมาณ ร้อยละ 7-8 โดยสามารถจำแนกตามความสามารถในการละลายได้ 4 ชนิดคือ albumin, globulin, prolamin และ glutelin ซึ่งโปรตีนเหล่านี้มีบทบาทในการขัดขวางการพองตัวของเม็ดสตาร์ช (starch granule)

รูป 2.2 ส่วนประกอบของเมล็ดข้าว

ที่มา : somsak (2538)

2.3 การแบ่งประเภทและกลุ่มของข้าวไทย

(มาตรฐานสินค้าเกษตร ข้าวไทย โดย สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ, 2560)

2.3.1 ข้าวไทยแบ่งตามระดับการแปรสภาพข้าวเป็น 3 ประเภท ดังนี้

ก) ข้าวเปลือก

ข) ข้าวกล้อง

ค) ข้าวขาวและข้าวเหนียวขาว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3.2 ข้าวไทยแบ่งตามปริมาณแอมิโลสเป็น 4 กลุ่ม ดังนี้

ก) กลุ่มข้าวเจ้านุ่ม แป้งของข้าวขาวมีปริมาณแอมิโลสต่ำ (ตั้งแต่ 13.0% ถึง 20.0% โดยน้ำหนัก ที่ระดับความชื้น 14% โดยน้ำหนัก) และข้าวมีค่าการสลายเมล็ดในด่างระดับ 6 ถึงระดับ 7 เมื่อหุงสุกเป็นข้าวสวยแล้วเมล็ดจะอ่อนนุ่ม ค่อนข้างเหนียว

ข) กลุ่มข้าวเจ้าร่วน แป้งของข้าวขาวมีปริมาณแอมิโลสปานกลาง (มากกว่า 20.0% ถึง 25.0% โดยน้ำหนัก ที่ระดับความชื้น 14% โดยน้ำหนัก) เมื่อหุงสุกเป็นข้าวสวยแล้วเมล็ดข้าว จะร่วน ค่อนข้างนุ่ม

ค) กลุ่มข้าวเจ้าแข็ง แป้งของข้าวขาวมีปริมาณแอมิโลสสูง (มากกว่า 25.0% ขึ้นไปโดยน้ำหนัก ที่ระดับความชื้น 14% โดยน้ำหนัก) เมื่อหุงสุกเป็นข้าวสวยแล้วเมล็ดข้าวร่วนและแข็ง

ง) กลุ่มข้าวเหนียว แป้งของข้าวเหนียวขาวมีปริมาณแอมิโลสต่ำมากหรือไม่มีเลย ข้าวมี ค่าการสลายเมล็ดในด่างระดับ 6 ถึงระดับ 7 เมื่อนึ่งสุกเมล็ดข้าวจะเหนียวและจับติดกัน

2.4 ข้าวกล้อง (Brown rice) (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2013)

ข้าวกล้อง คือ ข้าวที่สีเอาเปลือก (แกลบ) ออกไป โดยยังมีจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวเหลืออยู่ ซึ่งจมูกข้าวและเยื่อหุ้มเมล็ดข้าวนี้ เป็นส่วนที่มีคุณค่าทางโภชนาการสูง มีสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อร่างกายมาก

รูป 2.3 ข้าวกล้อง

ที่มา : Szalay (2018)

สำหรับข้าวซ้อมมือ เป็นชื่อเรียกข้าวที่เอาเปลือกออกโดยวิธีการตำในครกไม้ ซึ่งเป็นวิธีที่ใช้ในสมัยโบราณ ชาวบ้านโดยทั่วไปจะใช้วิธีตำข้าวกินกันเอง จึงเรียกข้าวที่ตำว่า ข้าวซ้อมมือ แต่ในปัจจุบันใช้เครื่องจักรสีข้าวแทน จึงเรียกข้าวที่สีเอาเปลือกออกว่า ข้าวกล้อง และบางคนยังคงเรียกข้าวที่สีเอาเปลือกออกโดยไม่ขัดให้ขาวว่า ข้าวซ้อมมือ ส่วน ข้าวขาวหรือข้าวสาร คือข้าวที่เกิดจากการสีขัดหลายๆ ครั้ง จนเยื่อหุ้มเมล็ดและจมูกข้าวหลุดออกไป เหลือแต่เนื้อในของข้าว (แป้ง)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารอาหารในข้าวกล้องที่มีคุณค่าทางโภชนาการและเป็นประโยชน์ต่อร่างกาย

ข้าวกล้อง มีโปรตีนประมาณ 6-12 เปอร์เซ็นต์ การขัดสีข้าวกล้องจนมีสีขาวจะทำให้โปรตีนสูญหายไปประมาณ 30 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนี้ในข้าวกล้องยังประกอบไปด้วย วิตามิน เช่น vitamin B1, Vitamin B2, Vitamin B6, Vitamin E, niacin และเกลือแร่ ได้แก่ แคลเซียม เหล็ก ฟอสฟอรัส ทองแดง ซึ่งจะช่วยให้ส่วนต่างๆ ของร่างกายทำงานอย่างมีประสิทธิภาพ และมีเส้นใยอาหารมาก (dietary fiber) ซึ่งจะทำให้ท้องไม่ผูก และช่วยป้องกันมะเร็งในลำไส้ใหญ่ มีผลทำให้สุขภาพดีขึ้น เมื่อรับประทานข้าวกล้องเป็นประจำทุกวัน

ตารางที่ 2.1 คุณค่าทางโภชนาการของข้าวกล้อง 100 กรัม

คุณค่าทางโภชนาการ	ข้าวกล้อง
ความชื้น (กรัม)	11.17
โปรตีน (กรัม)	8.34
ไขมัน (กรัม)	2.27
คาร์โบไฮเดรต (กรัม)	76.89
ใยอาหาร (กรัม)	5.12
เถ้า (กรัม)	1.33
ค่าพลังงาน (กิโลแคลอรี)	361.35

ที่มา : สำนักพัฒนาผลิตภัณฑ์ข้าว กรมการข้าว (2550)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.2 คุณค่าทางอาหารระหว่างข้าวกล้อง และข้าวขาว 100 กรัม

	ข้าวกล้อง	ข้าวขาว	ดีกว่า %
โปรตีน (กรัม)	7.6	6.4	19
Thiamine (B1)(มิลลิกรัม)	0.34	0.07	385
Riboflavin (B2)(มิลลิกรัม)	0.05	0.03	66
Niacin (B3)(มิลลิกรัม)	0.62	0.11	463
Pantothenic acid (B5)(มิลลิกรัม)	1.5	0.25	81
Folic acid(มิลลิกรัม)	20	3	455
แคลเซียม (มิลลิกรัม)	32	24	33
เหล็ก (มิลลิกรัม)	1.6	0.8	100
แมกนีเซียม (มิลลิกรัม)	52	14	271
แมงกานีส (มิลลิกรัม)	1.5	0.9	67
สังกะสี (มิลลิกรัม)	1.9	1.5	27
โคบอลต์ (ไมโครกรัม)	4.2	0.9	367
ทองแดง (ไมโครกรัม)	360	230	57
ไอโอดีน (ไมโครกรัม)	2.2	2	10

ที่มา : สถาบันวิจัยข้าว กรมวิชาการเกษตร (2542)

2.5 ข้าวกล้องงอก (germinated brown rice) (วรรณฤดี ดวงเกิด, 2015)

ข้าวกล้องงอก (Germinated brown rice หรือ “GABA-rice”) ถือเป็นนวัตกรรมหนึ่งที่กำลังได้รับความสนใจเป็นอย่างมาก เนื่องจากข้าวกล้องงอกเป็นการนำข้าวกล้องมาผ่านกระบวนการงอกซึ่งโดยปกติแล้ว ในตัวข้าวกล้องเองประกอบด้วยสารอาหารจำนวนมาก เช่น ใยอาหาร กรดไฟติก (Phytic acid) วิตามินซี วิตามินอี และ GABA (gamma aminobutyric acid) ซึ่งช่วยป้องกันโรคต่างๆ เช่น โรคมะเร็ง เบาหวาน เมื่อนำข้าวกล้องมาแช่น้ำเพื่อทำให้งอก จะทำให้ข้าวกล้องมีสารอาหารโดยเฉพาะ GABA เพิ่มขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูป 2.4 ข้าวกล้องงอก

ที่มา : วรรณฤดี ดวงเกิด (2015)

เมื่อข้าวอยู่ในสภาวะที่มีการเจริญเติบโต จะมีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมี การเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีการเปลี่ยนจะเริ่มขึ้น เมื่อน้ำแทรกเข้าไปในเมล็ดข้าวโดยจะกระตุ้นให้เอนไซต์ภายในเมล็ดข้าวทำงานเมื่อเมล็ดข้าวทำงาน เมื่อเมล็ดข้าวเริ่มงอก (malting) สารอาหารที่ถูกเก็บไว้ในเมล็ดข้าวจะถูกย่อยสลายไปตามกระบวนการทางชีวเคมีจนเกิดเป็นสารประเภทคาร์โบไฮเดรตที่ มีโมเลกุลเล็กลง (oligosaccharide) และน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing suger) นอกจากนี้โปรตีนภายในเมล็ดข้าวก็จะถูกย่อยให้เกิดเป็นกรดอะมิโนและเปปไทด์ รวมทั้งยังพบการสะสมสารเคมี สำคัญต่างๆ เช่น แกมมาออริซานอล (Gamma-aminobutyric acid) หรือ ที่รู้จักกันว่า “สารกาบา” (GABA)

2.6 ประโยชน์ของข้าวกล้องงอก (สุนัน และจตุรงค์, 2556)

ข้าวกล้องที่งอกแล้วนับว่ามีประโยชน์มากกว่าข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการงอก เนื่องจากมีสารกาบา (GABA) ของกรดกลูตามิก ดังนั้นการเลือกรับประทาน ข้าวกล้องงอกจึงนับว่าเป็นอีกทางเลือกสำหรับผู้ป่วย อย่างไรก็ตามควรบริโภคควบคู่ กับการรักษาด้วยยาแผนปัจจุบันด้วยเช่นกัน ดังนั้นสามารถสรุปคุณประโยชน์ของ ข้าวกล้องงอกได้ดังนี้

2.6.1 มีสารกาบา (GABA) ช่วยป้องกันโรคอัลไซเมอร์ โรควิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ โรคลมชัก ช่วยผ่อนคลาย ทำให้จิตใจสงบ หลับสบาย ลดความเครียดวิตกกังวล ลดความดันโลหิต

2.6.2 มีสารต้านอนุมูลอิสระกลุ่มฟีโนลิค (Phenolic compounds) ช่วยยับยั้ง การเกิดฝ้า ชะลอความแก่

2.6.3 มีวิตามินอี (Vitamin E) ลดการเหี่ยวย่นของผิว

2.6.4 มีสารออริซานอล (Orizanal) ช่วยควบคุมระดับฮอร์โมน ลดอาการ ผิดปกติของวัยทอง

2.6.5 มีเยื่อใยอาหาร (Food Fiber) ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกัน มะเร็งลำไส้ และลดอาการท้องผูก ฯลฯ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อย่างไรก็ตามถึงแม้ข้าวกล้องงอกจะมีประโยชนแต่ก็ไม่เหมาะสำหรับผู้ป่วย ที่เป็นโรคเกาต์ เนื่องจากเมล็ดข้าวกล้อง รวมถึงยอดผักต่างๆ ที่กำลังจะงอก จะมี สารยูริคจำนวนมาก ดังนั้นจึงไม่เหมาะกับคนที่เป็นโรคเกาต์ ซึ่งเป็นโรคเกิดจากการที่ มีสารยูริคจำนวนมากสะสมอยู่ตามข้อจะเกิดการอักเสบได้ รวมถึงผู้บริโภคบางกลุ่ม ที่มีอาการแพ้ เมื่อบริโภคข้าวกล้องงอกก็ควรหลีกเลี่ยงเช่นกัน

2.7 GABA (gamma aminobutyric acid) (กฤษณา สุดทะสาร, 2014)

GABA เป็นกรดอะมิโนที่ผลิตจากกระบวนการdecarboxylation ของกรดกลูตามิก (glutamic acid) กรดนี้จะมีบทบาทสำคัญในการทำหน้าที่เป็นสารสื่อประสาท(neurotransmitter) ในระบบประสาทส่วนกลาง นอกจากนี้ GABA ยังถือเป็นสารสื่อประสาทประเภทสารยับยั้ง (inhibitor) โดยจะทำหน้าที่รักษาสมดุลในสมองที่ได้รับการกระตุ้น ซึ่งช่วยทำให้สมองเกิดการผ่อนคลายและนอนหลับสบาย อีกทั้งยังทำหน้าที่ช่วยกระตุ้นต่อมไร้ท่อ (anterior pituitary) ซึ่งทำหน้าที่ผลิตฮอร์โมนที่ช่วยในการเจริญเติบโต (HGH) ทำให้เกิดการสร้างเนื้อเยื่อ ทำให้ กล้ามเนื้อเกิดความกระชับ และเกิดสาร lipotropic ซึ่งเป็นสารป้องกันการสะสมไขมัน

การวิจัยพบว่าการบริโภคข้าวกล้องงอกที่มีสารกาบามาใช้ในวงการแพทย์เพื่อรักษาโรคเกี่ยวกับระบบประสาทต่างๆหลายโรค เช่น วิตกกังวล โรคนอนไม่หลับ โรคลมชัก เป็นต้น รวมทั้งผลการวิจัยด้านสุขภาพระบุว่า ข้าวกล้องงอกที่ประกอบด้วยสารกาบา มีผลช่วยลดความดันโลหิตลด LDL (Low Density Lipoprotein) ลดอาการอัลไซเมอร์ ลดน้ำหนัก ทำให้ผิวพรรณดี และใช้บำบัดโรคเกี่ยวกับระบบประสาทส่วนกลางได้ดี

2.8 น้ำส้มสายชู (vinegar) (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2016)

น้ำส้มสายชู เป็นเครื่องปรุงรสอาหาร (seasoning) ที่เรารู้จักและใช้กันอย่างแพร่หลายในชีวิตประจำวัน คำว่า vinegar มาจากคำว่า vin aigre เป็นภาษาฝรั่งเศส แปลว่า ไวน์เปรี้ยว เพราะน้ำส้มสายชู ในสมัยเริ่มต้นได้จากการหมัก (fermentation) เอทิลแอลกอฮอล์ในไวน์ด้วยแบคทีเรียใน
กลุ่ม Acetobacter และ Gluconobacter ทำให้ได้กรดน้ำส้ม (actetic acid) ซึ่งมีรสเปรี้ยว

กรดน้ำส้ม (acetic acid) มีสมบัติที่ให้รสเปรี้ยว เพราะไม่มีพิษต่อร่างกาย ใช้หมักดองถนอมอาหาร (food preservation) ด้วยการดอง (pickling) และใช้สารปรับอาหารให้เป็นกรด (acidification)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูป 2.5 น้ำส้มสายชู

ที่มา : Lee (2017)

ประเภทของน้ำส้มสายชูแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

น้ำส้มสายชูจัดเป็นอาหารที่กำหนดคุณภาพหรือมาตรฐาน ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ.2543 เรื่อง น้ำส้มสายชู ประเภทของน้ำส้มสายชูนั้นแบ่งออกเป็น 3 ชนิด ได้แก่

2.8.1 น้ำส้มสายชูหมัก คือน้ำส้มสายชูที่ได้จากการหมักเมล็ดธัญพืช เช่น ข้าว ข้าวโพดผลไม้ เช่น สับปะรด แอปเปิล หรือ น้ำตาล กากน้ำตาล (molass)

วัตถุดิบที่มีน้ำตาล (sugar) เช่น ผลไม้ต่างๆ เป็นอาหารของยีสต์ได้โดยตรง ส่วนวัตถุดิบที่มีสตาร์ช (starch) เช่น ข้าวจะต้องเปลี่ยนเป็นโมเลกุลของน้ำตาลก่อน

การผลิตน้ำส้มสายชูหมัก เป็นการหมักสองขั้นตอน คือ การหมักน้ำตาลให้เกิดแอลกอฮอล์ (alcoholic fermentation) โดยใช้ยีสต์ (yeast) ตามด้วยการหมักแอลกอฮอล์ให้เกิดกรดแอซีกติก (aceticacid fermentation) ด้วยแบคทีเรียในกลุ่มAcetobacter และ Gluconobacter ในภาวะที่มีออกซิเจน น้ำส้มสายชูที่หมัก จะใส ไม่มีตะกอน ยกเว้นตะกอนที่เกิดขึ้นตามธรรมชาติ มีกลิ่นหอมตามกลิ่นของวัตถุดิบ มีรสชาติดี มีรสหวานของน้ำตาลที่ตกค้างมีกลิ่นของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก ความเข้มข้นขึ้นอยู่กับ ชนิดและปริมาณน้ำตาลของวัตถุดิบที่ใช้ในการหมัก และมีปริมาณกรดน้ำส้ม (acetic acid) ไม่น้อยกว่า 4%

2.8.2 น้ำส้มสายชูกลั่น เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอทธิลอัลกอฮอล์กลั่นเจือจาง (dilute distilled alcohol) มาหมักกับเชื้อน้ำส้มสายชู หรือเมื่อหมักแล้วนำไปกลั่น (distillation) หรือได้จากการนำน้ำส้มสายชูหมักมากลั่น น้ำส้มสายชูกลั่นจะต้องมีลักษณะใส ไม่มีตะกอน และมีปริมาณกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4%

2.8.3 น้ำส้มสายชูเทียม เป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการนำเอากรดน้ำส้ม (acetic acid) ซึ่งสังเคราะห์ขึ้นทางเคมี เป็นกรดอินทรีย์มีฤทธิ์เป็นกรดอ่อนมีความเข้มข้นประมาณ 95% มาเจือจางจนได้ปริมาณกรด 4-7% ลักษณะใส ไม่มีสี กรดน้ำส้มที่นำมาเจือจางจะต้องมีความบริสุทธิ์สูงเหมาะสมที่จะนำมาเป็นอาหารได้ และน้ำที่ใช้เจือจางต้องเหมาะสมที่จะใช้ดื่มได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำส้มสายชูปลอมได้จากนำกรดน้ำส้มชนิดเข้มข้น (glacial acetic acid) หรือ "หัวน้ำส้ม" ซึ่งปกติจะใช้ในอุตสาหกรรมฟอกหนัง สิ่งพิมพ์ สิ่งทอ มาเจือน้ำ น้ำส้มดังกล่าวแม้ว่าจะเป็นกรดน้ำส้มแต่ไม่มีความบริสุทธิ์เพียงพอที่จะนำมาบริโภคได้ ไม่ได้มีวัตถุประสงค์ที่ใช้เป็นอาหาร มีโลหะหนัก หรือวัตถุเจือปนอื่นๆ มีราคาถูก มากเมื่อเปรียบเทียบกับน้ำส้มสายชูที่เป็นอาหารได้ และ หากปริมาณกรดน้ำส้มสูงเกินไปจะเกิดอันตรายต่อผู้บริโภค คือ อาจทำให้เกิดอาการท้องร่วงอย่างรุนแรงเนื่องจากผนังลำไส้ไม่ดูดซึมอาหาร รวมทั้งได้มีการนำเอากรดแร่อิสระบางอย่าง เช่น กรดกำมะถัน หรือ กรดซัลฟุริก (sulphuric acid) ซึ่งเป็นกรดแก่มาเจือจางด้วยน้ำมากๆ แล้วบรรจุขวดขาย นับว่าเป็นอันตรายอย่างยิ่งเพราะกรดกำมะถันเป็นกรดที่มีสรรพคุณกัดกร่อนรุนแรงมาก จะทำให้เกิดอันตรายต่อระบบทางเดินอาหารและตับ น้ำส้มสายชูเหล่านี้จึงไม่ปลอดภัยที่จะนำมาบริโภค

2.9 มาตรฐานคุณภาพของน้ำส้มสายชูหมัก

ประกาศกระทรวงสาธารณสุข ตามประกาศกระทรวงสาธารณสุข (ฉบับที่ 204) พ.ศ. 2543 น้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น (กระทรวงสาธารณสุข, 2552) ต้องมีคุณภาพมาตรฐาน ดังนี้

2.9.1 มีกรดน้ำส้มไม่น้อยกว่า 4 กรัมต่อ 100 มิลลิลิตร ที่ 27 องศาเซลเซียส

2.9.2 มีสารปนเปื้อนได้ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม (ก) สารหนูไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม (ข) ตะกั่ว ไม่เกิน 1 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม (ค) ทองแดงและสังกะสีไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม (ง) เหล็ก ไม่เกิน 10 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

2.9.3 ไม่มีกรดน้ำส้มที่มิได้มาจากการผลิตน้ำส้มสายชูหมักหรือน้ำส้มสายชูกลั่น

2.9.4 ไม่มีกรดกำมะถัน (Sulfuric acid) หรือกรดแร่อิสระอย่างอื่น

2.9.5 ใส ไม่มีตะกอน เว้นแต่น้ำส้มสายชูหมักตามธรรมชาติ

2.9.6 ไม่มีหนอนน้ำส้ม (vinegar eel)

2.9.7 ใช้น้ำสะอาดเป็นส่วนผสม

2.9.8 ใช้วัตถุเจือปนอาหารได้ดังนี้ (ก) ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไม่เกิน 70 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม (ข) กรดแอล-แอสคอร์บิก ไม่เกิน 400 มิลลิกรัม ต่อน้ำส้มสายชู 1 กิโลกรัม

2.9.9 มีแอลกอฮอล์ตกค้าง ไม่เกินร้อยละ 0.5

2.9.10 การแต่งสีให้ใช้น้ำตาลเคี่ยวไหม้หรือสีคาราเมล

2.10 กลไกการผลิตน้ำส้มสายชู (มาลัยและฉกามาศ, 2009)

กลไกการผลิตน้ำส้มสายชูจากวัตถุดิบประเภทน้ำตาล มี 2 ขั้นตอน คือ

2.10.1 การหมักน้ำตาลให้เป็นเอทานอล ซึ่งเป็นกระบวนการหมักแบบไม่ใช้อากาศ และอาศัยเชื้อยีสต์ใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สกุล *Saccharomyces cerevisiae* ดังสมการที่แสดงอย่างง่าย ๆ คือ

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CO_2 + 2C_2H_5OH$$

2.10.2 การเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติก โดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียในกลุ่ม acetic acid bacteria ทำการหมักในสภาพที่มีอากาศ สำหรับปฏิกิริยาออกซิเดชันที่เกิดขึ้นสามารถแบ่งออกเป็น 3 ขั้น ดังนี้

ขั้นตอนแรกเป็นการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นอะเซตัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์แอลกอฮอล์ดีไฮโดรเจนเนส เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้

$$2C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow 2CH_3CHO + 2H_2O$$

แอลกอฮอล์ อะเซตัลดีไฮด์

ขั้นตอนที่สองเป็นการเปลี่ยนอะเซตัลดีไฮด์ให้ไปเป็นไฮเดรตอะเซตัลดีไฮด์ (Hydrate acetaldehyde) โดยอาศัยเอนไซม์อะเซตัลดีไฮด์ ดีไฮโดรเจนเนส (Acetaldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้

$$CH_3CHO + H_2O \longrightarrow CH_3\text{-}CH(OH)$$

อะเซตัลดีไฮด์ ไฮเดรต อะเซตัลดีไฮด์

ขั้นตอนที่สามเป็น ขั้นตอนการสร้างกรดอะซิติกโดยที่เกิดปฏิกิริยาการส่งโปรตอน 2 ตัว ของไฮเดรตอะเซทัลดีไฮด์ไปยังอะตอมของออกซิเจนเกิดกรดอะซิติกออกมา ทั้งนี้โดยอาศัยเอนไซม์ อัลดีไฮด์ ดีไฮโดรเจนเนส (Acetaldehyde dehydrogenase) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้

เป็นขั้นตอนการสร้างกรดอะซิติก โดยที่เกิดการส่งโปรตอน 2 ตัว ของ hydrate acetaldehyde ไปยังอะตอมของออกซิเจนจนเกิดกรดอะซิติกออกมา ทั้งนี้โดยอาศัยเอนไซม์ aldehyde dehydrogenase เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา ดังนี้

$$CH_3\text{-}CH(OH)\text{-}OH + O \longrightarrow CH_3COOH + H_2O$$

ไฮเดรต อะเซตัลดีไฮด์ กรดอะซิติก

สรุปปฏิกิริยาการเปลี่ยนแอลกอฮอล์ให้เป็นกรดอะซิติกได้ดังนี้

$$C_2H_5OH + O_2 \longrightarrow CH_3COOH + H_2O$$

การเปลี่ยนแปลงในขั้นนี้ต้องการออกซิเจนมาก เพื่อที่จะไปออกซิไดซ์แอลกอฮอล์ไปเป็นกรดน้ำส้ม จึงควรหมักในภาชนะปากกว้าง เพื่อให้มีเนื้อที่สัมผัสอากาศได้มากหรือมีการกวนบ่อยๆให้อากาศผ่านเข้าในถังหมัก รวมทั้งกรรรมวิธีอื่นๆ อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักนั้นขึ้นอยู่กับเชื้อจุลินทรีย์ที่ใช้ และกรรมวิธีการผลิตโดยทั่วๆไป ประมาณ 26-29 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

ในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมัก ถ้าใช้วัตถุดิบประเภทต่างๆที่ไม่ใช้แอลกอฮอล์จะต้องมีการนำวัตถุดิบนั้นมาหมักให้ได้แอลกอฮอล์ก่อนด้วยเชื้อยีสต์จากนั้นจึงหมักแอลกอฮอล์ที่ได้เพื่อผลิตกรดอะซิติกโดยอาศัยเชื้อแบคทีเรียที่สามารถออกซิไดซ์แอลกอฮอล์เป็นกรดอะซิติกได้ดังนั้นจุลินทรีย์ที่เกี่ยวข้องในกระบวนการผลิตน้ำส้มสายชูหมักจึงแบ่งเป็น 2 กลุ่ม ดังนี้

2.11.1 เชื้อยีสต์

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรมหลายประเภท เช่น ไวน์ เบียร์ไซเดอร์ (cider) สุรากลั่น ขนมปังโปรตีนเซลล์เดียวและที่สำคัญคือ เอทธานอลโดยยีสต์ที่ใช้สำหรับผลิตเอทธานอลระดับอุตสาหกรรม คือ *Saccharomyces cerevisiae, S. uvarum(carlsbergensis), Shizosaccharomyces pombe และ Kluyvermyces fragilis* สำหรับ *S. cerevisiae* เป็นยีสต์ที่ทนต่อสภาวะแวดล้อมต่างๆที่ไม่เหมาะสมได้ดีกว่ายีสต์ชนิดอื่นดังนั้นในปัจจุบันการผลิตเอทธานอลส่วนใหญ่จึงใช้ ยีสต์ *S. cerevisiae* การพิจารณาคัดเลือกจุลินทรีย์มาใช้สำหรับการผลิตเอทธานอลนั้น การให้ผลผลิตสูงและมีอัตราการหมักเอทธานอลสูงเป็นเรื่องที่ต้องให้ความสาคัญเป็นอันดับแรก นอกจากนี้ลักษณะที่ได้รับความสนใจในการคัดเลือกยีสต์ที่จะนำไปใช้ในอุตสาหกรรมผลิตเอทธานอลเพื่อใช้เป็นเชื้อเพลิงและสารเคมีคือ ความทนเอทธานอล ความทนอุณหภูมิสูง ความทนแรงดันออสโมซิส และความสามารถในการจับกลุ่มตกตะกอน ปัจจัยเหล่านี้ได้รับความสนใจ ทั้งนี้เพราะตามทฤษฎีการหมักเอทธานอล จากน้ำตาลกลูโคส 1 g จะให้เอทธานอล 0.51 g แต่ในทางปฏิบัติทั่วไป กลูโคส 1 g จะให้เอทธานอลประมาณ 90 % ของผลผลิตทางทฤษฎี (theoretical yield) ของเอทธานอลเท่านั้น และมีส่วนหนึ่งนำไปสร้างเซลล์นอกจากนั้น ประสิทธิภาพการหมักเอทธานอลอาจลดลงและการหมักยาวนานขึ้นเนื่องจากปัจจัยหลายอย่าง ที่สำคัญที่สุดคือการยับยั้งด้วยเอทธานอล โดยทั่วไปพบว่าการเจริญและการหมักเอทธานอลของยีสต์จะถูกยับยั้งด้วยเอทธานอล กล่าวคือ เอทธานอลเข้มข้น 1-2% โดยน้ำหนัก จะทำให้ การเจริญของยีสต์ลดลงและการเจริญของยีสต์จะหยุดเมื่อมีเอทธานอล 4.7-7.8% โดยน้ำหนัก (Panchal and Tavares, 1990) จากรายงานของ Sera และคณะในปีค.ศ. 2000 พบว่าการแยก *Saccharomyces cerevisiae* 4 สายพันธุ์ที่ทนอุณหภูมิสูง ทนแรงดันออสโมซิส จับกลุ่มตะกอนได้และทุกสายพันธุ์เจริญได้ที่ 44 °C โดยสายพันธุ์ V 3 ที่อุณหภูมิ 40 °C ให้เอทธานอลสูงสุด เท่ากับ 60 g/l จากกลูโคส 150 g/l ในขณะที่บ่มที่ 30 °C สามารถผลิตเอทธานอลได้ 75 g/l ตามปกติยีสต์เจริญได้ดีที่ pH 5.5 และมีน้ำตาลพวก hexose, ammonium salt, เกลือแร่, trace element และวิตามินบางชนิดเป็นแหล่งของสารอาหาร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

รูป 2.6 โครงสร้างของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา :Saey (2014)

นอกจากนี้ยังมีการคัดเลือกยีสต์ สำหรับผลิตแอลกอฮอล์เพื่อนำไปผลิตกรดโดยตรง อาทิเช่น ในการผลิตน้ำส้มสายชูจากไวน์หรือ wine vinegar ยีสต์ที่ใช้คือ *Saccharomyces ellipsoideus*ซึ่งคัดเลือกมาให้หมักไวน์ที่อุณหภูมิ 25-30 °C จะทำให้ได้น้ำส้มสายชูหมักที่มีกลิ่นและรสดีนอกจากนี้ยังมียีสต์ในจีนัส *Saccharomyces* อีกหลายสายพันธุ์ที่ใช้หมักแอลกอฮอล์เพื่อเป็นวัตถุดิบในการหมักน้ำส้มสายชู ได้แก่ *S. cerevisiae, S. diastaticus และ S. carlsbergensis* เป็นต้น

2.11.2 แบคทีเรียที่ผลิตกรดอะซิติก (acetic acid bacteria)

แบคทีเรียกลุ่มที่ผลิตกรดอะซิติกได้ คือ แบคทีเรียในแฟมิลี *Acetobacteraceae* จีนัส *Acetobacter* และ *Gluconobacter* เป็นแบคทีเรียแกรมลบ เซลล์มีรูปร่างแท่งสั้น อยู่เป็นเซลล์เดี่ยวหรืออยู่เป็นคู่จัดเป็น obligate aerobes มีลักษณะเฉพาะคือสามารถออกซิไดซ์เอทธานอลเป็นกรดอะซิติกได้ในปริมาณที่มากกว่า และสามารถออกซิไดซ์กรดอะซิติกต่อไปได้จนกลายเป็นแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำ จึงเรียกแบคทีเรียพวกนี้ว่า “โอเวอร์ออกซิไดซ์เซอร์” (Overoxidizer) และ เจริญได้ดีที่อุณหภูมิ 25-30 °C ในสภาพแวดล้อมที่มี pH 5.4-6.3 สำหรับจีนัส *Acetobacter* จะมี peritrichous flagella และสามารถออกซิไดส์กรดอะซิติกเป็นคาร์บอนไดออกไซด์และน้ำได้โดยอาศัยวัฏจักรเครปส์ส่วนจีนัส *Gluconobacter* มี polar flagella ไม่สามารถออกซิไดซ์กรดอะซิติกต่อได้ เนื่องจากมีวัฏจักรเครปส์ที่ไม่สมบูรณ์ จึงเรียกว่า “อันเดอร์ออกซิไดซ์เซอร์ (Underoxidizer) ซึ่งความสามารถในการออกซิไดซ์เอทานอลไปเป็นกรดอะซิติก สามารถที่จะไปใช้ประโยชน์ในด้านการผลิตน้ำส้มสายชูซึ่งมีรสเปรี้ยวที่เกิดจากกรดอะซิติกเป็นส่วนใหญ่ ซึ่งตามมาตรฐานอุตสาหกรรมต้องมีกรดอะซิติกไม่น้อยกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร ดังนั้นการผลิตน้ำส้มสายชูจึงเลือกใช้ *Acetobacter* โดยเลือกใช้สายพันธุ์ที่สามารถให้ปริมาณกรดอะซิติกมากกว่า 4 กรัม ต่อ 100 มิลลิลิตร

นอกจากนี้ทั้ง 2 จีนัสยังมีความแตกต่างกันที่ปฏิกิริยาทางชีวเคมีด้วย แบคทีเรียกลุ่มนี้พบได้ทั่วไปในธรรมชาติที่มีแอลกอฮอล์ที่เกิดจากการหมักน้ำตาลหรือแป้งในพืชของยีสต์พบในน้ำหวานของดอกไม้ ดอกไม้ ผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

น้ำผึ้ง สาเก ไวน์ปาล์ม ไวน์องุ่น ไซเดอร์ ผลไม้เน่า น้ำผลไม้สด ตลอดจนบริเวณผิวหน้าของเบียร์หรือเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ยังไม่ผ่านการพาสเจอไรส์ ทั้งนี้ทำให้เกิดการเสียของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์โดยเฉพาะไวน์กลายเป็นน้ำส้มสายชู ปัจจุบันการผลิตในระดับอุตสาหกรรมจะใช้แบคทีเรียจีนัส *Acetobacter* ผลิตน้ำส้มสายชูหมัก

รูป 2.7 รูปร่างลักษณะของแบคทีเรีย *Acetobacter aceti*

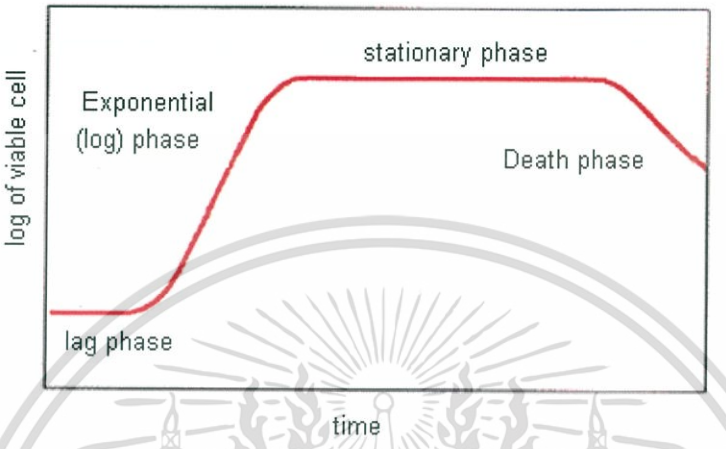
ที่มา : Scimat (2016)

สำหรับคุณสมบัติของเชื้อในสกุล *Acetobacter* จะเห็นได้ว่าเชื้อแบคทีเรียที่สามารถผลิตกรดอะซิติกได้คือ *Acetobacter* และ *Gluconobacter* เชื้อทั้งสองชนิดนี้แม้อยู่ในสกุลเดียวกันแต่ก็มีความแตกต่างกันตรงที่ *Acetobacter* สามารถผลิตกรดอะซิติกขึ้นได้มากกว่า *Gluconobacter*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.12 การเจริญเติบโตของจุลินทรีย์ (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2014)

แบคทีเรียมีการแบ่งตัวเพิ่มจำนวนมากขึ้น รูปแบบของการเจริญของแบคทีเรียจะเป็นไปดังภาพประกอบ ซึ่งแบ่งเป็นระยะต่างๆได้ 4 ระยะ ดังนี้



รูป 2.8 วงจรการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์

ที่มา : (พิมพ์เพ็ญ และ นิธิยา, 2014)

2.12.1 Lag phase (ระยะพัก) เป็นระยะแรกที่แบคทีเรียเริ่มพบกับอาหารและสิ่งแวดล้อมใหม่ แบคทีเรียจะปรับตัวให้เข้ากับอาหารและสิ่งแวดล้อมนั้น มีการสร้างเอนไซม์ที่เหมาะสม ที่จะใช้กับอาหารเลี้ยงเชื้อมีการสร้างโปรตีน และส่วนประกอบอื่นๆ ที่สำคัญของเซลล์ ตอนระยะท้ายๆ ของระยะนี้ เซลล์อาจจะมีขนาดใหญ่ขึ้นกว่าเดิมเล็กน้อย และพร้อมที่จะแบ่งตัว ระยะ lag นี้อาจจะยาวนานแตกต่างกัน ขึ้นอยู่กับอาหารเลี้ยงเชื้อ ในการแปรรูปอาหารจะพยายามยืดช่วงนี้ไปให้ยาวนานที่สุด เช่น การใช้อุณหภูมิต่ำ (cold storage)

2.12.2 Exponential หรือ log phase (ระยะแบ่งตัวทวีคูณ) เป็นระยะที่แบคทีเรียมีการเพิ่มจำนวนมากที่สุด มีอัตราการแบ่งตัวคงที่ ส่วนประกอบทางเคมีของเซลล์ และกระบวนการต่างๆ ตลอดจนสมบัติทางสรีรวิทยาเป็นแบบเดียวกัน

2.12.3 Stationary phase (ระยะคงจำนวนเซลล์) เป็นระยะที่แบคทีเรียมีจำนวนคงที่ ซึ่งแสดงว่าแบคทีเรียไม่มีการเพิ่มจำนวนอีก หรือคืออัตราเกิดเท่ากับอัตราตาย การที่แบคทีเรียเจริญแล้วเข้าสู่ระยะ stationary นี้เพราะอาหารเลี้ยงเชื้อใกล้จะหมดลง แบคทีเรียจึงเจริญช้าลง นอกจากนี้ ของเสียที่แบคทีเรียสร้างขึ้นยังยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.12.4 Death phase หรือ decline phase (ระยะเซลล์ตาย) เป็นระยะสุดท้าย แบคทีเรียที่มีอยู่จะตายลงมากกว่าแบคทีเรียที่เพิ่มจำนวนขึ้น ทั้งนี้เป็นเพราะอาหารอาจหมด และมีสารพิษสะสมอยู่เป็นจำนวนมาก

2.13 ประโยชน์ของน้ำส้มสายชูหมัก (Adams, 1985)

2.13.1 จะช่วยชะลอความแก่ ปรับสมดุลในร่างกาย กำจัดพิษในร่างกาย (Detox) บรรเทาอาการปวดหัว

2.13.2 ช่วยการทำงานของหัวใจ ช่วยปรับระดับกรดและด่างในร่างกายให้อยู่ในระดับสมดุล

2.13.3 ทำให้ประจำเดือนมาเป็นปกติ บรรเทาอาการปวดข้อและโรคเกาต์

2.13.4 ช่วยกำจัดนิ่วในไตและในถุงน้ำดี บำรุงสายตา และช่วยให้ระบบปัสสาวะเป็นปกติ

2.13.5 แก้ปัญหาเรื่องระบบการย่อยอาหารและการดูดซึมอาหาร

2.13.6 ช่วยรักษาโรคทางเดินปัสสาวะติดเชื้อ

2.13.7 ช่วยรักษาอาการเจ็บคอ คันคอ และขับพิษออกจากคอ กลั้วคอทุกครึ่งชั่วโมง แม้แต่ผู้มีสุขภาพดีก็ควรจะกลั้วคอ ๑-๒ครั้งต่ออาทิตย์ เพื่อให้พิษออกจากร่างกาย

2.13.8 ช่วยบรรเทาอาการอาหารไซนัส ปวดหัว

2.13.9 ช่วยป้องกันอาการผมแห้ง หนังศรีษะมัน ผมร่วง และรังแค

2.13.10 ช่วยบรรเทาอาการอาหารเป็นพิษ

2.13.11 ช่วยให้ร่างกายใช้ประโยชน์จากแคลเซียมได้ดีขึ้น

2.13.12 ช่วยในเรื่องของการขับถ่ายให้เป็นปกติ

2.14 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Kayahara และ Tsukahara (2000)ได้รายงานว่า การรับประทานข้าวกล้องงอกอย่างต่อเนื่องจะส่งผลดีต่อสมอง ป้องกันอาการปวดหัว บรรเทาอาการท้องผูก ป้องกันมะเร็งในลำไส้ ควบคุมระดับน้ำตาลในเลือด ป้องกันโรคหัวใจ ลดความดันโลหิต นอกจากนี้ข้าวกล้องงอกยังประกอบด้วยสาร phytic acid ที่ช่วยต่อต้านการเกิดอนุมูลอิสระ inositolsเร่งกระบวนการเผาผลาญไขมัน ป้องกันการเกิดภาวะหลอดเลือดหัวใจตีบตัน สารประกอบของวิตามินอี(tocotorienols) ปกป้องผิวหนังจากรังสี UV และ prolylendopeptideป้องกันการเกิดโรคอัลไซเมอร์อีกด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จิราภรณ์ บาลชื่น (2009) ศึกษาพันธุ์ข้าวที่เพาะปลูกในภาคใต้จำนวน 3 สายพันธุ์ (ข้าวเหนียวดำเปลือกดำ ข้าวสังข์หยดพัทลุง และข้าวเฉี้ยงพัทลุง) การศึกษาสภาวะการงอกที่เหมาะสมของข้าวกล้องที่ให้ปริมาณแกมมา-อะมิโนบิวเทอริกเอซิด (สารกาบา) มากที่สุด โดยนำข้าวกล้องแช่ในสารละลายที่มีค่าพีเอชต่างๆ ได้แก่ พีเอช 7, 5, 3, 2 และน้ำกลั่น ที่อุณหภูมิห้อง (30 ± 2 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 5 ชั่วโมง แล้วนำไปเพาะให้งอกในระบบเปิดและระบบปิด เป็นเวลา 12, 24, 36 และ 48 ชั่วโมง พบว่า สภาวะการเพาะที่ให้ปริมาณสารกาบามากที่สุด คือ การแช่ข้าวกล้องงอกในสารละลายพีเอช 3 และทำให้งอกในระบบปิด โดยข้าวสังข์หยดพัทลุงและข้าวเฉี้ยงพัทลุง ใช้เวลางอก 36 ชั่วโมง ข้าวเหนียวดำเปลือกดำ ใช้เวลางอก 48 ชั่วโมง ปริมาณสารกาบาในข้าวกล้องงอกพันธุ์ข้าวเหนียวดำเปลือกดำ ข้าวสังข์หยดพัทลุง และข้าวเฉี้ยงพัทลุง มีค่าเพิ่มขึ้น 11.28, 16.74, และ 9.43 เท่า เมื่อเทียบกับข้าวกล้องที่ไม่ผ่านการงอก

Spinosa et al. (2015)ทำการศึกษาการผลิตน้ำส้มสายชู โดยใช้ข้าวหมักแอลกอฮอล์ (ไวน์ข้าว (Oryza sativa L.)) พิจารณาจากปริมาณเทคโนโลยีที่มีอยู่อย่างจำกัดในการผลิตน้ำส้มสายชูข้าวและจากตลาดผู้บริโภคที่มีศักยภาพ สารละลายแอลกอฮอล์ที่มีเอทานอล 6.28% (w/v) ถูกทำให้ออกซิไดซ์โดยกระบวนการหมักในอาหารเหลวเพื่อผลิตน้ำส้มสายชู กระบวนการหมักกรดอะซิติกเกิดขึ้นที่อุณหภูมิ 30± 0. 3องศาเซลเซียสในFRINGS® Acetator (Germany) เพื่อผลิตน้ำส้มสายชูและผ่านกระบวนการ 10รอบน้ำส้มสายชูมีความเป็นกรดเท่ากับ 6.85% (w/v) แอลกอฮอล์ 0.17% (w/v) แร่ธาตุ 1.26% (w/v) และสารสกัดแห้ง 1.78% (w/v) องค์ประกอบกรดอินทรีย์ที่มีอยู่ในน้ำส้มสายชูข้าวคือกรด cis-aconitic (6มก/.ล.), กรดมาเลอิก)3 มก/.ล.), กรด trans-aconitic (3มก/.ล.), กรดซิคีมิก +ซักซินิก(4มก/.ล.), กรดแลคติก)300 มก/.ล.), กรดฟอร์มิก)180 มก/.ล.), กรดออกซาลิก)3 มก/.ล.), กรดฟูมาริก (3มก/.ล.) และ itaconic acid (1มก/.ล(.

Phuapaiboon (2017) การศึกษาครั้งนี้มีวัตถุประสงค์เพื่อผลิตน้ำส้มสายชูหมักเพื่อสุขภาพจากข้าวกล้องงอก ใช้ข้าว 4 ชนิด คือ ข้าวหอมนิล (ข้าวสีม่วง), ข้าวไรซ์เบอรี่งอก (ข้าวสีม่วง), และข้าวหอมมะลิแดง (ข้าวแดง) โดยมีข้าวไรซ์เบอร์รี่ที่ไม่ผ่านการงอกเป็นตัวควบคุม หลังจาก 4 วันของการหมักแอลกอฮอล์ มีปริมาณแอลกอฮอล์ถึง 8.55% สำหรับตัวอย่างข้าวทั้งหมด และปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดลดลงจาก 12.04-14.03°Brix เป็น 4°Brix ในระหว่างการหมักกรดอะซิติกมีการเปลี่ยนแปลงค่า pH เล็กน้อย ความเป็นกรดเพิ่มขึ้นจาก 0.51-2.82% ความเข้มข้นของกรดแกมม่า-อะมิโนบิวทริก(GABA)ในทุกตัวอย่างอยู่ระหว่าง 1.14 ถึง 1.73 มก.ต่อลิตร และมีปริมาณ GABA สูงสุดในข้าวหอมนิล น้ำส้มสายชูทุกชนิดมีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระ โดยเฉพาะอย่างยิ่งกิจกรรมการขับ 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) ในน้ำส้มสายชูจากข้าวไรซ์เบอรี่งอกและข้าวหอมมะลิแดงงอกนั่นค่อนข้างสูงเมื่อเทียบกับตัวอย่างอื่น ๆ การทดสอบทางประสาทสัมผัสข้าวหอมมะลิแดงมีคะแนนการยอมรับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยรวมสูงกว่าตัวอย่างอื่น ๆ การศึกษาครั้งนี้แสดงให้เห็นว่าน้ำส้มสายชูหมักข้าวที่ผ่านการหมักแล้วสามารถนำมาใช้เป็นผลิตภัณฑ์ใหม่ที่มีฤทธิ์ต้านอนุมูลอิสระซึ่งเทียบเท่ากับผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูชนิดอื่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1วัตถุดิบ

ข้าวกล้องงอก

รำข้าวหยาบ

รำข้าวละเอียด

เชื้อจุลินทรีย์ *Acetobacteraceti*

เชื้อจุลินทรีย์ *Amylomyces* spp.

เชื้อจุลินทรีย์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1

น้ำกรอง

น้ำกลั่น

น้ำตาล

3.1.2 สารเคมี

Acetic acid	Merck KGaA, Germay
Dinitrosaicylic acid (DNS)	CARlO ERBA, Italy
Etanol	โรงงานสุรากรมสรรพสามิต
Glucose	UNILAB, Australia
Magnesium sulfate	UNIVAR, New Zealand
Malt extract	HIMEDIA, New Zealand
Peptone	HIMEDIA, Australia
Potato Dextrose Agar	HIMEDIA, India
Sodium hydroxide	UNIVAR, New Zealand
Yeast extract	HIMEDIA,New Zealand

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2 อุปกรณ์

กระบะพลาสติก

กระบอกตวง (Cylinder)

เข็มเขี่ยเชื้อ (Needle)

ขวดดูแรน (Duran)

ขวดรูปชมพู่ (Erlenmeyer flask)

ขวดวัดปริมาตร (Volumetric flask)

คิวเวทท์ (Cuvette)

คลิปหนีบกระดาษ

คีม (Forceps)

ช้อนตักสาร

ตะเกียงแอลกอฮอล์

ตะแกรงใส่หลอดทดลอง (Test tube rack)

ถังพลาสติก ขนาด 20 L

แท่งแก้วคนสาร

บิวเร็ตต์(Burette)

บีกเกอร์ (Beaker)

ปิเปตต์ (Pipette)

ปั๊มลม

ผ้าขาวบาง

ฟิลเตอร์ (Filter)

ลูกยางแดง

ลูกแก้ว

ลูกยางแดง

ลูปเขี่ยเชื้อ (Loops)

หม้อหุงข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หลอดเซนติฟิวก์ (หลอด Centrifuge)

หลอดทดลอง (Test tube)

หลอดหยด (Dropper)

3.3 เครื่องมือ

เครื่องชั่งน้ำหนัก (Balance)	Mettler Toledo, Germany
เครื่องชั่งทศนิยม 2 ตำแหน่ง (Analytical balance)	Ohaus Corp. Pine Brock, U.S.A
เครื่องซีลสูญญากาศ (Vacuum packing machine)	
เครื่องผสมสารละลาย (Vortex)	Scientific Industries, U.S.A
เครื่องวัดการดูดกลืนแสง (Spectrophotometer)	Genesys 20 Becthai Bangkok equipment & Chemical co., Ltd, Germany.
เครื่องวัดค่าพีเอช (pH meter)	METTLER TOLEDO, China
เครื่องวัดค่าความเข้มข้น (Hand-held Refractometer)	ATAGO, Japan
เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์ (Ebulliometer)	Dujadin – Salleron, France
เครื่องหมุนเหวี่ยง (Centrifuge)	EBA20, Herrich, Germany
เครื่องให้ความร้อน (Hot plate)	MSH – 20A, Wisestir, Germany
ตู้อบลมร้อน (Hot air over)	Heraeus, Germany
หม้อนึ่งฆ่าเชื้อภายใต้ความดันไอน้ำ (Autoclave)	Tommy, Japan

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

ขั้นตอนการทดลองนี้จะเป็นการเปรียบเทียบการย่อยข้าวกล้องงอกโดยการใช้รา และไม่ใช้รา รวมไปถึงการหมักไวน์จากข้าวกล้องงอก จนกระทั่งได้เป็นน้ำส้มสายชู

3.4.1 การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ชั่งอาหารเลี้ยงเชื้อ Potato dextrose agar (PDA) ละลายในน้ำกลั่น 1000ml ไปให้ความร้อนจนใส จากนั้นก็แบ่งใส่หลอดทดลองประมาณ 7-6ml เข้าฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียล 15 นาที จากนั้นนำมาเอียง ทิ้งไว้ให้เย็นจนวุ้นแข็ง

3.4.2 การเตรียมเชื้อ

การเตรียมเชื้อรา นำ needle มาเขี่ยเชื้อ *Amylomyces* spp.ลงในหลอดอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิห้อง วัน 3

ภาพที่ 3.1เชื้อ *Amylomyces* spp. ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

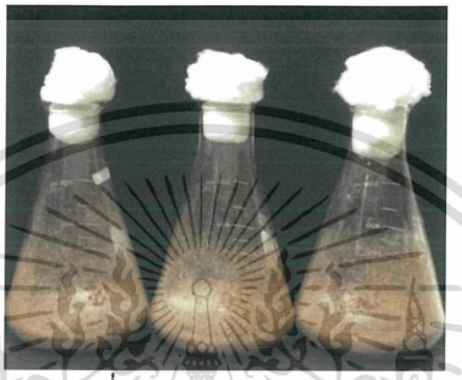
การเตรียมเชื้อยีสต์ นำ loop มาเขี่ยเชื้อ *S. cerevisiae* FER1 ลงในหลอดอาหาร PDA ที่เตรียมไว้ บ่มที่อุณหภูมิห้อง วัน 1

ภาพที่ 3.2 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.3 การเตรียม Mold bran

ชั่งรำข้าวละเอียดและรำข้าวหยาบมาอย่างละ 10 กรัมใส่ฟลาสก์ ดูด $MgSO_4$ 0.25% ปริมาตร 5 ml ผสมให้เข้ากัน แล้วนำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียล 60 นาที จำนวน 2 รอบ แล้วถ่ายเชื้อ *Amylomyces* spp. ที่เตรียมไว้จำนวน 2 หลอด คลุกผสมกัน แล้วนำไปบ่มอุณหภูมิห้อง 3 วันก็จะได้ Mold bran



ภาพที่ 3.3 Mold bran

3.4.4การเตรียมเชื้อยีสต์ใน YM

เลี้ยงเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* FER1ในอาหารเลี้ยงเชื้อ Yeast Extracted Peptone Dextrose broth Glucose (YM) ที่อุณหภูมิห้อง บนเครื่องเขย่า เป็นเวลา 1 คืน

ภาพที่ 3.4 การเลี้ยงยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ใน YM : (ก) การถ่ายเชื้อยีสต์ลงในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ; (ข) เลี้ยงเชื้อยีสต์บนเครื่องเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.5 การย่อยข้าว

หุงข้าวกล้องงอกแบ่งใส่ถาดกระบะพลาสติกทิ้งให้เย็น การย่อยข้าวแบบใช้รา จะนำโมแบน 1 ฟลาสก์คลุกกับข้าวให้ทั่ว ส่วนการย่อยข้าวแบบไม่ใช้รา คือไม่ใส่โมแบนเติมแต่น้ำกรอง ทั้งสองแบบจะต้องทำการปรับความชื้นโดยการเติมน้ำกรองแล้วคลุกให้ทั่ว เกลี่ยให้สม่ำเสมอเจาะรูข้าว จุด ปิดด้วยผ้าขาวบางที่ผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้ง 8 วัน 4 ไว้ให้ย่อยข้าว เป็นเวลาเก็บตัวอย่างทุกวัน วันที่ 0 – 4 นำไปวิเคราะห์ โดยนำน้ำต้อยที่เก็บไปหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว 5500 รอบต่อนาที เป็นเวลา 30 นาที นำส่วนใสไปทำการวิเคราะห์ ดังนี้

3.4.5.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้เครื่อง hand refractometer

3.4.5.2 ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH – meter

3.4.5.3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยวิธี DNS-method (Miller,1959)

ภาพที่ 3.5 การย่อยข้าว: (ก) ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วย *Amylomyces* spp.; (ข) ข้าวกล้องงอกที่ไม่ผ่านการย่อยด้วย *Amylomyces* spp.

3.4.6 การหมักไวน์ข้าวกล้องงอก

นำน้ำกรองต้มกับน้ำตาล ปรับ Brix ให้มากกว่า 18 จากนั้นนำมาพักให้เย็น แล้วใส่ข้าวที่ผ่านการย่อยแล้ว 4 วัน จากนั้นเติมยีสต์ที่เลี้ยงใน YM คนให้เข้ากัน หมักทิ้งไว้ประมาณ 7 วัน จะได้ไวน์จากข้าวกล้องงอก

ทำการหมักไวน์ โดยอัตราส่วนระหว่างข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้รา เชื้อยีสต์ และน้ำเชื่อมดังตาราง (ตารางที่ 3.1) ส่วนผสมทั้งหมดจะหมักในภาชนะที่ปิดสนิทและผ่านการฆ่าเชื้อแล้ว นำไปหมักที่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุณหภูมิห้อง และในระหว่างการหมักจะมีการเก็บตัวอย่างวันเว้นวัน โดยนำไวน์ที่เก็บมาหมุนเหวี่ยง (centrifuge) ที่ความเร็ว6000 รอบต่อนาที เป็นเวลา 10 นาที นำส่วนใสไปทำการวิเคราะห์ ดังนี้

3..46 1.ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด โดยใช้เครื่อง hand refractometer

3..462.ค่าความเป็นกรดด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH-meter

3..46 3.ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยวิธี DNS-method (Miller ,1959)

3.4.6 4.ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้เครื่อง Ebulliometer

ภาพที่ 3.6 การหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วยเชื้อรา

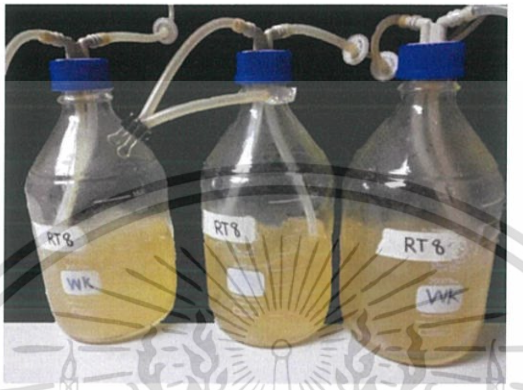
ตารางที่ 3.1 แสดงสัดส่วนผสมในการหมักไวน์

วัตถุดิบ	สัดส่วนในการผสม (L)
ข้าวที่ถูกย่อยแบบใช้เชื้อรา	2.5
น้ำเชื่อม	7
ยีสต์	0.5

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.4.7 การเตรียมหัวเชื้อในขวดดูแลน

ไวน์ข้าวกล้องงอกทำการหมักในดูแลนเป็นหัวเชื้อ ใช้ขวดดูแลน ขนาด 2 ลิตร ปรับความเข้มข้นเป็น TC8 (Total concentration; TC) มีกรดอะซิติกเริ่มต้น 4.5% และแอลกอฮอล์เริ่มต้น 3.5% ใส่เชื้อ *Acetobacter aceti* โดยติดตามผลการหมักทุกๆ 0.5 วัน จนกว่าปริมาณแอลกอฮอล์จะต่ำกว่า 3% จะได้เป็นน้ำส้มสายชู



ภาพที่ 3.7 การเตรียมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูข้าวกล้องงอกในดูแรน

3.4.7.1 ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้เครื่อง Ebulliometer

3.4.7.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดโดยการไตรเตรท (AOAC, 2000)

3.4.8 การหมักน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอก

ทำการขยายขนาดการหมัก โดยหมักลงในถังหมัก 100 ลิตร เป็นระบบ Semi-continuous โดยการเริ่มหมัก ทำการปรับถังเป็น 30 ลิตร มีกรดเริ่มต้น 4.5% และแอลกอฮอล์เริ่มต้น 3.5% เติมหัวเชื้อที่ได้จากดูแลน เปิดระบบทำการตรวจผล เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 0-0.5% จะทำการเติมไวน์เพิ่ม โดยจะทำการปรับถังเป็น 50 ลิตร TC8 ทำการตรวจผลเหมือนเดิม เมื่อปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำกว่า 0.5% จะเปลี่ยนระบบเป็นรอบที่1ได้ผลิตภัณฑ์น้ำส้มสายชูหมักจากข้าวกล้องงอก นำตัวอย่างไปวิเคราะห์

3.4.8.1 ปริมาณแอลกอฮอล์ โดยใช้เครื่อง Ebulliometer

3.4.8.2 วิเคราะห์ปริมาณกรดโดยการไตรเตรท (AOAC, 2000)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการเปรียบเทียบระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกแบบใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp.และแบบไม่ใช้รา เตรียมสำหรับการหมักไวน์

จากสังเกตด้วยตาเปล่าพบว่าตอนทำการย่อยด้วยเชื้อจุลินทรีย์ *Amylomyces* spp.จะปกคลุมขาวทั่วข้าว เชื้อราจะสร้างเส้นใย ชอนไชไปทั่วข้าว และย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล แต่ราเป็นสีขาว จึงไม่ทำให้ข้าวเปลี่ยนสี เนื่องจากมองไม่เห็นเส้นใยชัดเจน เพื่อทราบถึงวิธีการย่อยแป้ง จึงนำมาวัดปริมาณของแข็งที่ละลาย และปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์

ผลการวิเคราะห์การย่อยข้าวกล้องงอกแบบใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp.และแบบไม่ใช้รา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) โดยใช้เครื่อง hand refractometer ซึ่งทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ การย่อยข้าวแบบใช้เชื้อราวันที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 2.9, 16.9, 17.1, 16.1และ 7.3 °Brix ตามลำดับ การย่อยข้าวแบบไม่ใช้เชื้อราวันที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 1.3, 17.4, 18.1, 18.6 และ 17.8 °Brix ตามลำดับ (ตารางที่ 4.1)

ตารางที่ 4.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) *ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา Amylomyces* spp.และไม่ใช้เชื้อราเป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

วันที่	ย่อยข้าวแบบใช้รา	ย่อยข้าวแบบไม่ใช้รา
0	2.9	1.3
1	16.9	17.4
2	17.1	18.1
3	16.1	18.6
4	7.3	17.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH-meterทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ การย่อยข้าวแบบใช้เชื้อราวันที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 5.95, 4.08, 3.86, 3.68 และ 3.60 ตามลำดับ การย่อยข้าวแบบไม่ใช้เชื้อราวันที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 6.47, 5.43, 4.29, 3.80 และ 3.75ตามลำดับ (ตารางที่ 4.2)

ตารางที่ 4.2 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา *Amylomyces* spp. และไม่ใช้เชื้อราเป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

วันที่	ย่อยข้าวแบบใช้รา	ย่อยข้าวแบบไม่ใช้รา
0	5.95	6.47
1	4.08	5.43
2	3.86	4.29
3	3.68	3.80
4	3.60	3.75

หลังจากย่อยข้าว วัดปริมาณกรดในตัวอย่าง พบว่า การย่อยข้าวด้วยเชื้อรามีปริมาณกรดต่ำกว่าการย่อยข้าวแบบไม่ใช้เชื้อรา การเติมเชื้อราใช้ในการย่อยมีอิทธิพลต่อค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) จาการทดลองของ Ellis et al.(1976) พบว่า เชื้อรา *Amylomyces* spp. สามารถย่อยแป้งเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคส และผลิตกรดแลคติก ดังนั้นจึงเห็นว่าราจะสร้างกรดแลคติก ทำให้ข้าวมีความเป็นกรด คือมีค่า pH ต่ำลงจนเกือบถึง 3.5 ทำให้เกิดสภาพที่เหมาะสมกับการเจริญของเชื้อยีสต์ และยับยั้งแบคทีเรียที่จะทำให้ข้าวบูดเน่า

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำการตรวจติดตามด้วยวิธี DNS-method (Miller, 1959) ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ การย่อยข้าวแบบไม่ใช้เชื้อราวันที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 17.42, 268.70, 88.36, 78.96 และ 18.72 ตามลำดับ การย่อยข้าวแบบไม่ใช้เชื้อราวันที่ 0, 1, 2, 3 และ 4 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 1.13, 36.34, 21.62, 13.45 และ 57.12 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.3) จากการวิเคราะห์ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ พบว่า การย่อยแบบใช้รา ช่วงการย่อยวันที่ 1 จะมีค่าปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด ส่วนการย่อยแบบไม่ใช้รา ช่วงการย่อยวันที่ 4 ที่เป็นวันที่สิ้นสุดการย่อย จะมีค่าน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุด ดังแสดงในตารางที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา *Amylomyces* spp. และไม่ใช้เชื้อราเป็นระยะเวลา 4 วันที่อุณหภูมิห้อง

วันที่	ย่อยข้าวแบบใช้รา	ย่อยข้าวแบบไม่ใช้รา
0	17.42	1.13
1	268.70	36.34
2	88.36	21.62
3	78.96	13.45
4	18.72	57.12

Saccharification ของแป้งข้าว เปลี่ยนไปเป็น Glucose และ Fermented Sugar โดยเอนไซม์อะไมเลสจากรา จากการศึกษาวิจัยของ เจริญ เจริญชัย (2549) พบว่าราที่เหมาะสมในการผลิตกล้าเชื้อ คือ *Amylomyces* spp. เนื่องจากสามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็ว และสร้างกรดในปริมาณที่เหมาะสม และมีกลิ่นหอมของข้าวหมัก

กระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (Saccharification) โดยราจะสร้างเอนไซม์กลุ่มอะไมเลสประกอบด้วยแอลฟาอะไมเลส (alpha amylase) เบต้าอะไมเลส (beta amylase) และกลูโคอะไมเลส (glucoamylase) ย่อยโครงสร้างแอลฟาฟอร์ม (α-form)ในโมเลกุลของเม็ดแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลใหญ่น้ำตาลโมเลกุลคู่และน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวตามลำดับสภาวะการหมักต้องการอากาศสำหรับการเจริญของรากลุ่มที่มีความสำคัญและมีบทบาทในการสร้างเอนไซม์ปริมาณมากได้แก่ราใน Class Zygomycetes Order Mucorales Family Mucoraceae ได้แก่จีนัสสำคัญคือ *Amylomyces* spp.ได้แก่ *Amylomyces rouxii* คุณสมบัติของราในคลาสนี้คือสร้างเอนไซม์ที่มีแอคทิวิตี้สูงพร้อมกับสร้างกรดอินทรีย์เช่นกรดฟูมาลิกกรดซิตริกและกรดแลคติกโดยเฉพาะรา *Amylomyces rouxii* ที่มีระดับการสร้างน้ำตาลรีดิวซ์สูงสุดในกลุ่มเนื่องจากมีเอนไซม์ glucoamylase และไม่ทำให้เกิดรสเปรี้ยวเป็นที่น่าสังเกตว่ากรดที่เกิดขึ้นนี้จะเป็นตัวช่วยยับยั้งพวกจุลินทรีย์อื่นที่เป็นสาเหตุของการปนเปื้อนได้ที่เรียกว่า Protected Fermentation เชื้อราจะสร้างเส้นใยจำนวนมากแผ่กระจายปกคลุมบนผิวเมล็ดข้าวและแทรกตัวเข้าไปในช่องว่างระหว่างเมล็ดข้าวบางส่วนแทงทะลุเข้าไปในเมล็ดข้าวราจะสร้างเอนไซม์จำนวนมากออกมาย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ได้แก่มอลโตไตรโอส (maltotriose) มอลโตส(maltose) กลูโคส (glucose) และน้ำตาลนอนเฟอร์เมนต์ได้แก่ลิมิตเดกซ์ตริน (limit dextrins) และสร้างกรดอินทรีย์และยังได้สารอาหารและวิตามินที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ส่วนการย่อยข้าวแบบไม่ใช้เชื้อรานั้น จะใช้อะไมเลสที่มีอยู่ในข้าวที่งอก โดยมีตัวอย่างการที่พบอะไมเลสในข้าวที่งอก ในปี ค.ศ.1833 Anselme Payen และ Jean-François Persoz นักเคมีชาวฝรั่งเศสก็สามารถแยกเอนไซม์อะไมเลสออกจากข้าวบาร์เลย์งอก และตั้งชื่อใหม่ให้เอนไซม์อะไมเลสที่พบในข้าวบาร์เลย์งอกนี้ว่า “diastase” โดยวิธีการเติมน้ำในการย่อยแบบไม่ใช้รา มาจากการที่ศึกษาการงอกของเมล็ด เมื่อเมล็ดได้รับน้ำ เมล็ดจะดูดน้ำเข้าไปทำให้เมล็ดพองตัวขยายขนาด และมีน้ำหนักเพิ่มขึ้น น้ำจะเป็นตัวกระตุ้นปฏิกิริยาทางชีวเคมีต่างๆ ภายในเมล็ดมีการกระตุ้นการสร้างเอนไซม์เพื่อย่อยสลายสารอาหารที่สะสมในเมล็ดเอนไซม์ที่เกิดขึ้นในเมล็ด เช่น อะไมเลส จะย่อยแป้ง (เกตวดี, 2555) เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้จึงเพิ่มขึ้น

4.2 ผลการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในการหมัก

นำเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* FER1 มาทำการหมักไวน์ ยีสต์เป็นสิ่งมีชีวิตขนาดเล็กเซลล์เดียว ซึ่งจะสร้างน้ำย่อย เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ โดยปราโมทย์ (2538) กล่าวถึงวิธีการย่อยข้าวและแป้งที่นิยมทำในประเทศไทย ซึ่งกล้าเชื้อที่นิยมนำมาหมักในระดับโรงงานคือ เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* เนื่องจากเป็นสายพันธุ์ที่ให้กลิ่นรสดี ทนแอลกอฮอล์สูง สามารถย่อยแป้งได้รวดเร็ว เจริญและหมักได้ที่อุณหภูมิสูง ทนต่อความเป็นกรดได้ดี และเป็นสายพันธุ์ที่มีความคงทนไม่กลายพันธุ์ง่าย

ผลการวิเคราะห์การหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* FER1 ในการหมักเป็นระยะเวลา 8 วัน ที่อุณหภูมิห้อง ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด (Total soluble solids) โดยใช้เครื่อง hand refractometer ซึ่งทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ การหมักไวน์โดยใช้ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อราวันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 17.3, 11.8, 7.3, 6.3 และ 6.3 °Brix ตามลำดับ (ตารางที่4.4) ซึ่งการลงถังหมักไวน์ข้าวกล้องงอกนั้นจะทำการปรับให้ได้ประมาณ 17-18 °Brix ก่อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

***ตารางที่* 4.4** ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย
0	17.3
2	11.8
4	7.3
6	6.3
8	6.3

จะเห็นว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง เนื่องจากยีสต์สามารถใช้น้ำตาลซึ่งอยู่ในรูปน้ำตาลรีดิวซ์ โดยยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นเมื่อเวลาผ่านไปปริมาณของแข็งที่ละลายจึงลดลง โดยน้ำตาลส่วนหนึ่งจะถูกยีสต์นำไปใช้ในการเจริญเติบโตเพื่อเพิ่มจำนวนเซลล์ บางส่วนถูกนำไปใช้ในการสังเคราะห์ผลพลอยได้อื่นๆ เช่น กลีเซอรอล เอสเทอร์ แอลดีไฮด์ เอมิลแอลกอฮอล์ ไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ ฟูเซลออยล์ และกรด (สาวิตรี, 2533)

ค่าความเป็นกรด-ด่าง (pH) โดยใช้เครื่อง pH-meterทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ การหมักไวน์โดยใช้ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อราวันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มีค่าความเป็นกรด-ด่าง เท่ากับ 3.83, 3.70, 3.62, 3.66 และ 3.68 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.5)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.5 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย
0	3.83
2	3.7
4	3.62
6	3.66
8	3.66

หลังจากผ่านการย่อยข้าวด้วยรา แล้วนำข้าวที่ได้ไปหมักไวน์ เมื่อเติมเชื้อยีสต์ลงไปหมักปริมาณกรดจะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วง 5 วันแรกของการหมัก จากนั้นจะคงที่ โดยยีสต์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ คาร์บอนไดออกไซด์ และมีกรดต่างๆ เกิดขึ้นในวัฏจักรเครบ ได้แก่ กรดซัคซินิก มาลิก แลกติก และซิตริก (Fleet, 1992) โดยกรดซัคซินิก และแลกติก มีปริมาณใกล้เคียงกันและรวมกันมีปริมาณคิดเป็น 80 เปอร์เซ็นต์ของกรดอินทรีย์ทั้งหมด (Kodama and Yoshizawa, 1997) จึงทำให้ปริมาณกรดเพิ่มขึ้นในช่วงแรกของการหมัก

ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ ทำการตรวจติดตามด้วยวิธี DNS-method (Miller, 1959) ทำการทดลองอย่างละ 3 ซ้ำ ได้ค่าเฉลี่ยดังนี้ การหมักไวน์โดยใช้ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อราวันที่ 0, 2, 4, 6 และ 8 มีปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ เท่ากับ 616.24, 302.78, 14.18, 5.75 และ 5.26 ตามลำดับ (ตารางที่ 4.6)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.6 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย
0	616.2
2	302.7
4	14.1
6	5.7
8	5.2

การหมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย มีการใช้น้ำตาลรีดิวซ์มากในช่วงวันที่ 0-4 ซึ่งเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* FER1 จะเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

ตรวจติดตามปริมาณแอลกอฮอล์โดยใช้เครื่อง Ebullionmeter พบว่า การหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา วันที่ 0 จะเริ่มมีแอลกอฮอล์เกิดขึ้น และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดระยะการหมักไวน์พบว่าข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อราให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากที่สุดถึง 10.3%

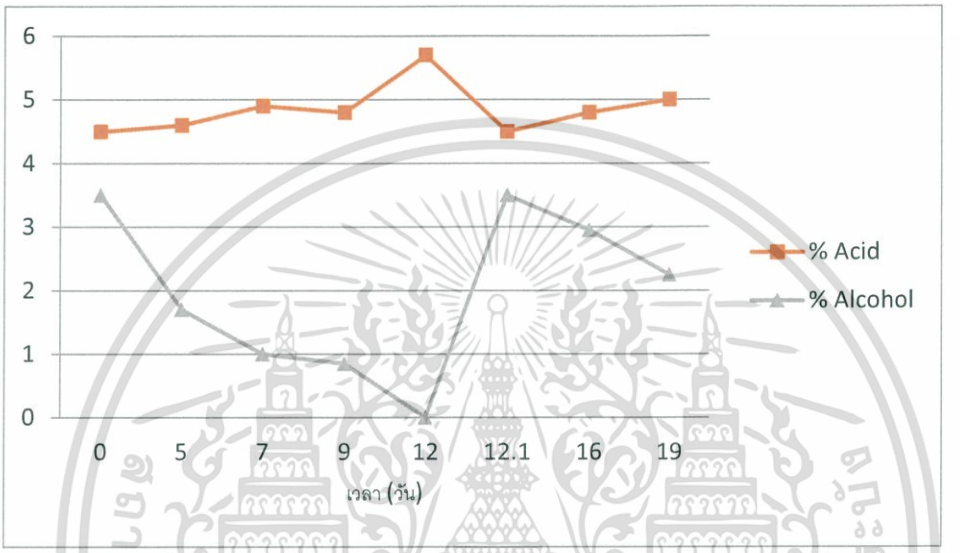
ตารางที่ 4.7 ปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย
0	0.5
2	5.6
4	9
6	9.9
8	10.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ผลของการหมักน้ำส้มสายชูจากไวน์ข้าวกล้องงอก

การหมักน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอก ไวน์ที่ใช้เป็นไวน์ที่หมักจากข้าวกล้องงอกที่ผ่านย่อยด้วยเชื้อรา ผลที่ได้ คือ เมื่อเวลาผ่านไปปริมาณแอลกอฮอล์จะลดลง แปรผกผันกับปริมาณกรดอะซิติกที่เพิ่มมากขึ้น (ภาพที่ 4.8) โดยหมักลงในถังหมัก 100 ลิตร เป็นระบบ Semi-continuous



ภาพที่ 4.8 ผลการเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์และกรดอะซิติกระหว่างการหมักในน้ำส้มสายชูข้าวกล้องงอก ความเข้มข้นทั้งหมด 8% (กรดอะซิติกเริ่มต้น 4.5% ; แอลกอฮอล์เริ่มต้น 3.5%)

การหมักเริ่มต้นลงถัง นำหัวเชื้อที่ทำการเลี้ยงในดูแรนมาเติมลงในถังหมัก 100 ลิตร ปริมาณน้ำหมักอยู่ที่ 30 ลิตร ทำการปรับความเข้มข้นให้เป็น TC8 (กรดอะซิติกเริ่มต้น 4.5% ; แอลกอฮอล์เริ่มต้น 3.5%) พบว่าแอลกอฮอล์จะเริ่มมีการลดลงเรื่อยๆ ของการหมัก วันที่ 12ปริมาณแอลกอฮอล์หมดและพบว่าเชื้อ *Acetobacter aceti* สามารถผลิตกรดอะซิติกอยู่ที่ 5.7 ของการหมักในระยะเวลา 12วัน หลังจากนั้นทำการเพิ่มปริมาณน้ำหมักให้อยู่ที่ 50 ลิตร ทำการปรับความเข้มข้นให้เป็น TC8 เมื่อถึงวันที่ 19 จะมีปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ที่ 2.25% และพบว่าเชื้อ *Acetobacter aceti*สามารถผลิตกรดอะซิติกอยู่ที่ 5

จะเห็นได้ว่าช่วง Start-up phase เชื้อ *Acetobacter aceti*ได้มีการปรับตัว (Lag phase) เชื้อจึงมีการเจริญน้อย จึงทำให้เชื้อไม่สามารถผลิตกรดอะซิติกออกมาได้ตามที่ต้องการแต่พอผ่านช่วง Start-up phase เข้าสู่ช่วง Operational phase เชื้อจึงได้มีการสร้างกรดขึ้นมาได้ตามที่ต้องการ เมื่อทำการเพิ่มปริมาณน้ำหมักแล้วทำการหมักต่อไปเรื่อยๆ ผลที่ได้น่าจะมีปริมาณกรดอะซิติกที่สูงยิ่งขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5
สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการศึกษาย่อยข้าวกล้องงอกแบบใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp.และแบบไม่ใช้รา เพื่อใช้เตรียมสำหรับการหมักไวน์ ทั้งสองวิธีสามารถย่อยข้าวแล้วให้น้ำตาลรีดิวซ์ได้ โดยการใช้รานั้นจะมีน้ำตาลรีดิวซ์ที่สูงที่สุดในการหมักช่วงวันที่ 1 ส่วนวิธีย่อยข้าวแบบไม่ใช้รานั้นให้น้ำตาลรีดิวซ์ที่มากสุดในวันที่ 4 ที่สิ้นสุดการย่อย โดยเชื้อรา *Amylomyces* spp. สามารถย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้อย่างรวดเร็ว สร้างกรดในปริมาณที่เหมาะสม และมีกลิ่นหอมของข้าวหมัก แต่วิธีที่ไม่ใช้รานั้นจะเกิดการปนเปื้อนจากเชื้อแบคทีเรียตัวอื่น ทำให้กลายเป็นข้าวที่มีกลิ่นบูดเน่า

จากการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกโดยทำการติดตามปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมด ค่าพีเอช ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์และแอลกอฮอล์ ในการหมักไวน์จะใช้ข้าวที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา ไวน์ข้าวกล้องงอกที่ได้จะมีแอลกอฮอล์เกิดขึ้น และเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ เมื่อสิ้นสุดระยะการหมักไวน์พบว่าให้ปริมาณแอลกอฮอล์ที่มากที่สุดถึง 10.3%

ไวน์ข้าวกล้องงอกสามารถนำมาทำน้ำส้มสายชูได้ โดยไวน์ข้าวกล้องงอกที่ใช้มาจากการย่อยข้าวกล้องงอกแบบใช้รา ทำให้ได้น้ำส้มสายชูที่มีกลิ่นหมักที่ดี

5.2 ข้อเสนอแนะ

หลังจากได้ไวน์ข้าวกล้องงอกแล้วควรนำไปทำการนึ่งภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 30 นาที เพราะการต้มไม่สามารถทำให้เชื้อที่ปนเปื้อนมากับไวน์ลดลงไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

กิตติศักดิ์ ศรีทุมมา. 2552. การศึกษาพันธุขาวไรพื้นเมืองที่มีศักยภาพ เพื่อใช
ในระบบเกษตรยั่งยืน ของอำเภอเฉลิมพระเกียรติ จังหวัดนาน. ปริญญาการศึกษามหาบัณฑิต. สาขาวิชา
วิทยาศาสตรศึกษา. มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ.

เกตวดี ชังชะนา. 2555.การงอกของเมล็ด. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
https://sites.google.com/site/chiwwithyachanm5/home/bth-thi5-reuxng-kar-ngxk-khxng-meld. 20 มิถุนายน 2562

กมลชนก และคณะ. 2561. การผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอก. สาขา
เทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณ
ทหารลาดกระบัง.

กฤษณา สุดทะสาร. 2014.ข้าวกล้องงอก. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก:
https://guru.sanook.com/5991.10ธันวาคม2561

เจริญ เจริญชัย. 2548. บทบาทของยีสต์และราจากลูกแป้งในการหมักข้าว.
วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. คณะวิศวกรรมและเทคโนโลยี
การเกษตร. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

เจริญ เจริญชัย. 2549. การพัฒนากล้าเชื้อสำเร็จเพื่อการผลิตผลิตภัณฑ์
อาหารจากข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต. คณะวิศวกรรมศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราช
มงคลธัญบุรี.

จิราภรณ์ บาลชื่น. 2009. สารออกฤทธิ์ชีวภาพในข้าวกล้องงอกและการ
ประยุกต์ใช้. วิทยานิพนธ์ปริญญาดุษฎีบัณฑิต. สาขาเทคโนโลยีอาหาร. มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2538. การควบคุมขบวนการหมักส่าขาวและส่าแดง. การ
สัมมนาและควบคุมการหมักและการวิเคราะห์เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์. กรมสรรพสามิต.
กระทรวงการคลัง. กรุงเทพฯ

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2013.ข้าวกล้อง. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/2203/
brown-rice.18 มิถุนายน 2562

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2014.ข้าว. [ออนไลน์]. เข้าถึง
ได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1657/rice. 18 มิถุนายน 2562

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และนิธิยา รัตนาปนนท์. 2016.น้ำส้มสายชู. [ออนไลน์].
เข้าถึงได้จาก: http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1183/
vinegar.10ธันวาคม2561

วรรณฤดี ดวงเกิด. 2015. ข้าวกล้องงอกสารพัดประโยชน์. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้
จาก: https://live.phuketindex.com/th/germinated-brown-rice-1816.10ธันวาคม2561

วิราสิณี จันทร์เป็ง และนพพล เล็กสวัสดิ์. 2556. อะไมเลส. สาขาวิศวกรรม
กระบวนการอาหาร. คณะอุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

สำนักงานมาตรฐานสินค้าเกษตรและอาหารแห่งชาติ กระทรวงเกษตรและ
สหกรณ์. 2560. ข้าวไทย. เล่มที่ 134. กรุงเทพฯ.

สุนัน ปานสาคร และจตุรงค์ ลังกาพินธุ์. 2556. ข้าวกล้องงอกทำง่าย ได้
ประโยชน์สูง. พิมพ์ครั้งที่ 1. ปทุมธานี: สถาบันวิจัยและพัฒนา. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลธัญบุรี.

สุพัฒน์ ใต้เวชศาสตร์. 2554. เอกสารประกอบการอบรมการแปรรูปข้าวกล้อง.
มหาวิทยาลัยเทคโนโลยี ราชมงคลล้านนา. ลำปาง

สร้อยสุดา พรภักดีวัฒนา. 2542. การผลิตไวน์ข้าวจากข้าวนาปรัง.
วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต. สาขาวิชาเทคโนโลยี
ชีวภาพ. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2533. การปรับปรุงพันธุ์ยีสต์ที่ใช้หมักแอลกอฮอล์โดยใช้
เทคนิคโปรโตพลาสต์ฟิวชั่น. เอกสารประกอบการควบคุมและวิเคราะห์เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์. กรมสรร
พามิต. กระทรวงการคลัง. กรุงเทพฯ.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2547. ข้าว:วิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี. กรุงเทพฯ.
สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์

Adams. 1985. Vinegar. In: Wood BJB, editor. Microbiology of fermented
foods. New York: IFT Press. p 1–45.

Amnat, B. 2018.รู้จักข้าวหอมมะลิไทย ความภูมิใจของคนไทยในระดับ
สากล. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http://www.lovefarmer.org/?p =2340. 19 มิถุนายน 2562

AOAC. 2000. Official method of analysis of AOAC international: The Association of Official
Analytical Chemists, 17th. Washington D.C.

Banchuen, J. 2010. Bio-active compounds in germinated brown rice and
its application. Ph.D. Dissertation. Department of Food Technology. Prince of Songkla
University.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Fleet. 1992. Wine micro and biotechnology. Horwood Acedemic Publishers. Switzerland.

Kayahara,H and Tsukahara,K. 2000. Flavor, health and nutritional quality of pre-germinated brown rice. International Chemical Congress of Pacific Basin Societies in Hawaii.

Kodama,K. and K.Yoshizawa. 1997. Sake, pp.423-475. In A.H. Rost. Alcoholic Beverages. Vol.1. Academic Press, London.

Lee, J. 2017.เสน่ห์ของ "น้ำส้มสายชู" ตัวแทนรสชาติแบบญี่ปุ่น. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: http:// matcha-jp.com/th/3956.11 ธันวาคม 2561

Miller GL. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chemistry. 1959;31(3):426–428.

Nilgen, H. et al., 2014. Functional properties of vinegar. Journal of food science. Institute of food technologists.

Phuapaiboon,P. 2017. Gamma-aminobutyric acid, total anthocyanin content and antioxidant activity of vinegar brewed from germinated pigmented rice. Food Technology. Faculty of Agricultural Technology. Rajabhat Maha Sarakham University.

Saey. 2014. For yeast life span, calorie restriction may be a wash. [Online]. Available: https://www.sciencenews.org/article/yeast-life-span-calorie-restriction-may-be-wash. 12 June 2019

Scimat. 2016. Acetobacter aceti bacteria. [Online]. Available: https://fineartamerica.com/featured/1-acetobacter-aceti-bacteria-scimat.html. 15 June 2019

Somsak. 2538.ข้าวสารอาหารมากกว่า15ชนิด. [ออนไลน์]. เข้าถึงได้จาก: https://www.doctor.or.th/article/detail/4032. 18 มิถุนายน 2562

Spinosa, W. A., Santos Júnior, V. D., Galvan, D., Fiorio, J. L., & Gomez, R. J. H. C. (2015). Vinegar rice (*Oryza sativa* L.) produced by a submerged fermentation process from alcoholic fermented rice. *Food Science and Technology, 35*(1), 196-201.

SZalay, J. 2018. Brown rice: health benefits & nutrition facts. [Online]. Available: https://www.livescience.com/50461-brown-rice-health-benefits-nutrition-facts.html. 18 june 2019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

การเตรียมสารและวิธีวิเคราะห์

ก. 1 วิธีการเตรียมสารวิเคราะห์เอนไซม์เบต้าอะไมเลสและแอลฟ่าอะไมเลส (Stoll and Blanchard, 1990)

ก.1.1 วิธีเตรียมโซเดียมอะซิเตรตบัฟเฟอร์พีเอช 5.2

1.1.1 วิธีการเตรียมอะซิติกแอซิต (CH_3COOH)

1.1.1.1 เตรียมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตรด้วยกระบอกตวง

1.1.1.2 อะซิติกแอซิต (CH_3COOH) 0.016 M เตรียมโดยชั่ง acetic acid 0.9608กรัมลงในบีกเกอร์ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.1.2. วิธีเตรียมโซเดียมอะซิเตรต ($CH_3COONa.3H_2O$)

1.1.2.1 เตรียมน้ำกลั่น 1000 มิลลิลิตรด้วยกระบอกตวง

1.1.2.2 โซเดียมอะซิเตรต ($CH_3COONa.3H_2O$) 0.016M เตรียมโดยชั่ง $CH_3COONa.3H_2O$ 1.312 กรัมลงในบีกเกอร์ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น

1.1.2.3 นำอะซิติกแอซิต 0.016M และโซเดียมอะซิเตรต 0.016M ผสมกันให้ได้พีเอช 5.2 โดยใช้เครื่องพีเอชมิตเตอร์เป็นตัววัด

ก.1.2 วิธีการเตรียมน้ำแป้งความเข้มข้น 1%

1.2.1 เตรียมน้ำกลั่น 99 มิลลิลิตรลงในบีกเกอร์โดยถูกให้ความร้อนด้วย Hot plate

1.2.2 ชั่งแป้ง 1 กรัมลงบนกระดาษฟรอยด์

1.2.3 รอให้น้ำกลั่นเดือดแล้วเทแป้งลงในบีกเกอร์

1.2.4 รอให้น้ำแป้งเย็นตัวลงปรับปริมาตร 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่นด้วยขวดปรับปริมาตร

ก.1.3 วิธีการเตรียมDinitrosalicylic acid (DNS) (Miller, 1959)

1.3.1 โซเดียมออกไซด์ (NaOH) 2M เตรียมโดยชั่ง NaOH 8 กรัมลงในบีกเกอร์ที่อุณหภูมิ 80 - 90 องศาเซลเซียสให้ละลาย

1.3.2 ชั่งDinitrosalicylic acid 1 กรัมเทลงในบีกเกอร์ที่มีโซเดียมออกไซด์ละลายอยู่คนให้เข้ากัน

1.3.3 โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรต ($C_4H_4KNaO_6.4H_2O$) เตรียมโดยชั่ง 30 กรัมลงใน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บีกเกอร์ละลายด้วยน้ำกลั่น 50 มิลลิลิตร

1.3.4 นำบีกเกอร์โพแทสเซียมโซเดียมทาร์เทรตผสมกับโซเดียมออกไซด์ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

ก.1.4 การเตรียมสารละลายกลูโคสมาตรฐาน (Bernfeld, 1955)

1.4.1 นำน้ำตาลไปอบ 100 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 1 ชั่วโมง

1.4.2 ชั่งกลูโคส 0.0901 กรัมและละลายน้ำจากนั้นปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตรขวดปรับปริมาตรใช้เป็นสารละลายมาตรฐานน้ำตาลกลูโคสที่มีปริมาณกลูโคส 5 ไมโครโมล/มิลลิลิตร

ก.1.5 การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคสโดยใช้สารDinitrosalicylic acid (DNS)

1.5.1 ดูดสารละลายมาตรฐานกลูโคสใส่หลอดเพื่อให้ได้ความเข้มข้นของกลูโคสในระดับต่าง ๆ ตั้งแต่ 0 -5 ไมโครโมลดังตารางผนวกที่ ก.1

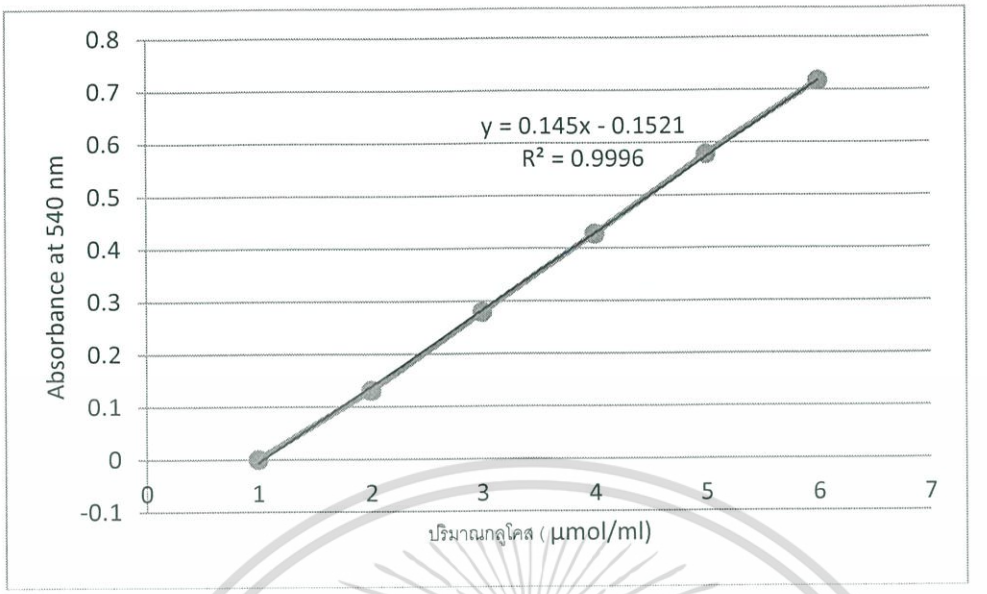
1.5.2 เติมสาร DNS 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดกลูโคสมาตรฐานทุกหลอดและต้มในน้ำเดือด 10 นาทีจะเกิดสีน้ำตาลตามระดับปริมาณกลูโคสในแต่ละหลอดจากนั้นนำไปแช่ในน้ำเย็นทันที

1.5.3 นำไปวัดค่า Absorbance ที่ 540 นาโนเมตรและนำค่าที่ได้มา plot เป็นกราฟมาตรฐาน

ตารางผนวกที่ ก.1 ค่าความสัมพันธ์ระหว่างความเข้มข้นของกลูโคสในระดับต่างๆกับค่า Absorbance ที่ 540 นาโนเมตร ที่ได้จากการวิเคราะห์กลูโคสด้วยสาร DNS

หลอดที่	ปริมาณกลูโคส (μmol/ml) + H_2O)	Absorbance at 540 nm
1	0.0 + 1.0	0.000
2	0.2 + 0.8	0.131
3	0.4 + 0.6	0.279
4	0.6 + 0.4	0.427
5	0.8 + 0.2	0.578
6	1.0 + 0.0	0.717

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ ก. 1กราฟมาตรฐานระหว่างค่าปริมาณกลูโคสกับค่า Absorbance ที่ 540 nm.

ก. 2 วิธีประเมินค่าการทำงานของเอนไซม์เบต้าอะไมเลส และ แอลฟ่าอะไมเลส

ก. 2.1 ทำการสกัดเอนไซม์เบต้าอะไมเลส โดยใช้อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียส แอลฟ่าอะไมเลส ใช้อุณหภูมิ 72 องศาเซลเซียส ใช้ข้าวกล้องงอกที่นำมาทดสอบ 100 กรัม ต่อน้ำ 2 ลิตร ให้ความร้อนเก็บตัวอย่างนำมาวิเคราะห์นาทีที่ 0 , 15 , 30 และ 45 นาที โดยการเตรียมหลอดทดลอง 4 หลอด แต่ละหลอดให้เติมน้ำแป้ง 1 % 0.5 ml นำไปบ่มที่อุณหภูมิที่ต้องการทดสอบเอนไซม์ เช่นต้องการทดสอบเบต้าอะไมเลส นั้นหมายความว่ามีการใช้อุณหภูมิ 63 องศาเซลเซียสในการบ่มน้ำแป้งไว้ 5 นาที เพื่อให้แป้งเหมาะสมต่อการทำงาน หลังจากนั้นนำน้ำที่สกัดได้จากข้าวมาทำการเจือจางด้วยบัฟเฟอร์โซเดียมอะซิเตตบัฟเฟอร์ที่ pH 5.2 ที่ความเข้มข้นต่างๆ ปิเปตลงอย่างละ 0.5 ml เติมสาร Dinitrosalicylic acid ลงทั้ง 4 หลอด หลอดละ 1 ml นำไปต้มกับอุณหภูมิน้ำเดือด 10 นาที แล้วจึงนำขึ้นมาเติมน้ำกลั่นอีก 10 ml นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาว 540 nm. เทียบกราฟกับมาตรฐานกลูโคส

นิยาม 1 หน่วยของอะไมเลสต่อมิลลิลิตร อะไมเลส 1 มิลลิลิตร ย่อยแป้งได้น้ำตาลกลูโคส1 ไมโครโมล ในเวลา 1 นาที ที่อุณหภูมินั้นๆที่ใช้ (Bernfeld, 1955)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นำค่าการดูดกลืนแสงของ Sample – Control = ค่า Y ของกราฟ

สมมติ Y = MX

M = ค่าความชันที่ได้จากกราฟ

X = Y/M (umole glucose)

Enzyme 0.5 ml. = Y/M

1.0 ml. = $\frac{Y/M \times 2 \times \text{Dilution}}{10}$ (umole glucose / enzyme 1 ml.)

นำข้อมูลที่คำนวณได้มาสรุปผลได้ตามนิยามที่กำหนดจะทราบปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นจากการย่อยของ เอนไซม์แต่ละตัว และนำมาวิเคราะห์ผลการทดลอง

ก. 3 วิธีการเคราะห์ตัวอย่างปริมาณน้ำตาลที่เอนไซม์สามารถย่อยได้ โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 nm. ด้วยเครื่อง SpectophotometerGenesys

ก. 3.1 หลักการของการดูดกลืนแสง

เมื่อให้แสงผ่านสารละลายของสารที่ดูดกลืนแสงในช่วงความยาวคลื่นที่ตั้งไว้แสงบางส่วนจะถูก สารดูดไว้ ทำให้แสงที่ผ่านออกจากสารละลายมีความเข้มข้นน้อยลง ซึ่งสามารถตรวจวัดได้ด้วยเครื่องวัดปริมาณ แสงภายในเครื่องและแสดงออกมาทางหน้าปัด ที่มีสเกลบอกทั้งเปอร์เซ็นต์ที่แสงผ่าน (% Transmission) และการดูดกลืนแสง (absorbance; A)ปริมาณแสงที่ถูกดูดไว้ขึ้นอยู่กับจำนวนโมเลกุลของสารที่ดูดกลืนแสงได้ตั้งตามที่แสง ผ่านซึ่งเป็นไปตามกฎของเบียร์ (Beer's law) คือ

ค่าการดูดกลืนแสง = – log 1/10 = Kcl

เมื่อ I_0 = ความเข้มข้นของแสง

I = ความเข้มข้นของแสงหลังผ่านสารละลาย

K = ค่าคงที่ของการดูดแสงซึ่งมีค่าเฉพาะสำหรับสารหนึ่งๆ และช่วง คลื่น หนึ่งๆ

c = ความเข้มข้นของสารละลาย

l = ระยะทางที่แสงผ่านสารละลาย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค่า K อาจกำหนดเป็น E1% 1 cm คือ เป็นการดูดกลืนแสงของสารละลายของสารที่มีความเข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์และความยาวของระยะทางที่แสงผ่าน 1 cm หรือกำหนดเป็น EM หรือ สัมประสิทธิการ ดูดกลืนแสง M คือ ค่าการดูดกลืนแสงของสารละลายที่มีความเข้มข้น 1 gmoll-1 และความยาวของระยะทางที่แสง ผ่าน 1 cm นอกจากนี้การดูดกลืนแสงของสารอาจแสดงได้เป็นเปอร์เซ็นต์ที่แสงผ่าน ตามสมการ เปอร์เซ็นต์แสงผ่าน = 1/10 x 100 จะเห็นว่าค่าการดูดกลืนแสงกับค่าเปอร์เซ็นต์แสงผ่าน ตรงกันข้ามกัน คือ ค่าการดูดกลืนแสง 0 หน่วย เท่ากับ 100 เปอร์เซ็นต์และค่าการดูดแสง ∝เท่ากับ0 เปอร์เซ็นต์แสงผ่านสเกลค่าดูดกลืนแสงเป็น log ส่วน เปอร์เซ็นต์แสง ผ่านเป็น linear โดยทั่วไปแล้ว มักวัดค่าดูดกลืนแสงซึ่งเป็นปฏิภาคตรง กับความเข้มข้นของสารละลาย

ภาพผนวกที่ ก.2 เครื่อง Spectrophotometer
Genesys 20 Becthai Bangkok equipment & Chemical co., Ltd, Germany

ก. 3.2 วิธีการใช้เครื่องมือการวัดค่าดูดกลืนและการส่องผ่าน

3.2.1 กดปุ่ม A/T/C เลือกโหมดในการวัดการดูดกลืนแสงการส่องผ่าน ซึ่งจะมีตัวอักษรปรากฏหน้าจอเครื่อง

3.2.2 กดปุ่ม nm หรือ nm เลือกค่าความยาวคลื่น (หากกดปุ่มค้างไว้ความยาวคลื่นจะเปลี่ยนไปอย่างรวดเร็ว)

3.2.3. ใส่ Blank (ตัวทำละลายอ้างอิง) ลงในช่องใส่สารตัวอย่างและปิดฝา (ตำแหน่งของ Cell ที่ส่องผ่านจะมีทิศทางตามลูกศร)

3.2.4. กดปุ่ม 0 ABS/100% T เพื่อตั้งค่า blank0 A หรือ 100% T

3.2.5. นำ Blank ออกและใส่ (Control) ไปวัดและอ่านค่าที่หน้าจอแสดงผลแล้วจดบันทึก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.6. นำตัวอย่างที่ได้ ใส่เข้าช่องคิวเวต ปิดฝา และอ่านค่าที่หน้าจอแสดงผลแล้วจดบันทึก

ก. 4 การวัดปริมาณน้ำตาลโดยใช้รีแฟรคโตมิเตอร์

ก. 4.1. หลักการ

การวัดปริมาณน้ำตาลโดยใช้รีแฟรคโตมิเตอร์ (Refractometer) เป็นการวัดโดยอาศัย หลักการของการหักเหของแสงของสารตัวอย่างเปรียบเทียบกับน้ำกลั่นในสารตัวอย่างมีโมเลกุลหลายชนิดที่มีคุณสมบัติในการหักเหแสง การใช้เครื่องวัดการหักเหแสงมีสเกลเป็นองศาบริกซ์ โดยมีการเทียบกับสารละลายซูโครส ค่าที่ได้เป็นสเกลดัชนีการหักเหแสง (refractive index scale) ซึ่งสามารถอ่านค่า องศาบริกซ์โดยตรงของสารตัวอย่าง การวัดปริมาณน้ำตาลในน้ำผลไม้เป็นการวัดของแข็งที่สามารถละลายได้ (soluble solids) ในน้ำผลไม้นั้นๆ ซึ่งของแข็งที่สามารถละลายได้ส่วนใหญ่เป็นน้ำตาลประมาณ 90-95 เปอร์เซ็นต์ นอกจากนั้นจะเป็นกรดและสารประกอบอื่นๆ ที่สามารถละลายได้ ค่าที่วัดออกมาเทียบเท่ากับน้ำหนักของน้ำตาล (กรัม) ในน้ำผลไม้ 100 กรัม หรือมีค่าเท่ากับเปอร์เซ็นต์ การวัดปริมาณน้ำตาลโดยวิธีนี้จะทำให้ทราบว่าควรปรับปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นกี่องศาบริกซ์เพื่อให้ได้ไวน์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ตามที่ต้องการ อย่างไรก็ตาม ของแข็งที่ละลายทั้งหมดโดยเฉพาะเอทานอลในน้ำผลไม้มีผลต่อค่าดัชนีการหักเหแสง ดังนั้นสารตัวอย่างที่ได้จากการหมักจะให้องศาบริกซ์ผิดพลาดได้สูง (Zoecklein et.al, 1995)

ภาพผนวกที่ ก.3 เครื่อง Refractometer ATAGO, Japan

ก. 4.2 วัสดุอุปกรณ์

4.2.1 เครื่องรีแฟรคโตมิเตอร์

4.2.2 หลอดหยด

4.2.3 น้ำกลั่น

4.2.4 ตัวอย่างน้ำผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. 4.3 วิธีการ

4.3.1 ใช้ผ้าสะอาดนุ่มชุบน้ำ ทำความสะอาดปริซึม และเช็ดให้แห้ง

4.3.2 ใช้น้ำกลั่นหยดลงบนปริซึม 1-2 หยด ปิดฝาครอบ (day light plate) โดยให้น้ำกลั่นกระจายทั่วพื้นผิวของปริซึม ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ จากนั้นมองผ่านเลนส์ตา และปรับตัวเลขให้เป็น "0"โดยใช้ไขควงหมุนน็อตที่อยู่ใกล้กับฝาครอบ เมื่อปรับได้แล้ว ให้ทำความสะอาดปริซึมอีกครั้ง

4.3.3 ใช้หลอดหยดดูดน้ำผลไม้ใส่ลงในปริซึม 1-2 หยด

4.3.4 ปิดแผ่นครอบโดยให้น้ำผลไม้กระจายทั่วพื้นผิวของปริซึม

4.3.5 ระวังอย่าให้มีฟองอากาศ เพราะจะมีผลทำให้ค่าที่อ่านได้ผิดพลาดไป

4.3.6 มองผ่านเลนส์ตา และอ่านค่าตรงระดับเส้นรอยต่อที่ตัดกับพื้นสีฟ้า

4.3.7 ค่าที่อ่านได้มีหน่วยเป็นองศาบริกซ์ ซึ่งเทียบเท่ากับเปอร์เซ็นต์น้ำตาล (จำนวนกรัมของน้ำตาลต่อ 100 กรัมของสารตัวอย่าง)

4.3.8 ใช้กระดาษเช็ดเลนส์เอาน้ำผลไม้ที่ติดอยู่กับปริซึมออก แล้วทำความสะอาดด้วยน้กลั่น และเช็ดให้แห้งก่อนนำเครื่องมือเก็บใส่กล่อง

ก. 5การวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยการวัดพีเอช (AOAC, 2000)

ก. 5.1 วิธีเตรียมรีเอเจนต์

5.1.1 น้ำปราศจากคาร์บอนไดออกไซด์ เตรียมโดยน้ าต้มกลั่น 20 นาที ปิดฝาเพื่อ ป้องกันไม่ให้ CO2 ละลายลงในน้ำกลั่น แล้วทิ้งให้เย็น

5.1.2 โซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 1 N เตรียมโดยชั่งโซเดียมไฮดรอกไซด์ (NaOH) 40 กรัม ลงในบีกเกอร์ ปรับปริมาตรให้เป็น 1000 มิลลิลตร ด้วยน้ำกลั่นต้ม

ก. 5.2 วิธีตรียมฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphtalein) ฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphtalein) 1% เตรียมโดยชั่งฟีนอล์ฟทาลีน (Phenolphtalein) 1 กรัม ปรับปริมาตรให้เป็น 100 มิลลิลิตร ด้วย 95% แอลกอฮอล์

ก. 5.3 วิธีทำ Standardization

5.3.1 อบโพแทสเซียมไฮโดรเจนพาทาเลท ใช้แท่งแก้วค่อยๆกดให้ผลึกของ KHC8H4O4 ละเอียดเป็นผงใส่ลงในขวดชั่ง วางขวดชั่งลงในบีกเกอร์ขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดด้วยกระจกนาฬิกา แล้วนำไปอบที่ 120 องศาเซลเซียส นาน 2 ชั่วโมง ทิ้งให้เย็นในโถดูดความชื้น ก.1.3.2 ชั่ง KHC8H4O4 ที่แห้งแล้วให้ได้น้ าหนัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

โดยละเอียดทศนิยม 2 ตำแหน่งให้น้ำหนัก อยู่ระหว่าง 0.51-0.52 กรัม ใส่ลงในขวดรูปกรวยขนาด 250 มิลลิลิตร ที่มีน้ำกลั่นปราศจาก CO2 50 มิลลิลิตร คนจนสารละลายหมด

5.3.2 หยด 1% ฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด ทำ blank โดยใช้น้ำกลั่นปราศจาก CO ใส่ในขวดรูปกรวดโดยไม่ต้องเติม KHC8H4O4 หยดฟีนอล์ฟทาลีน 3 หยด

5.3.3 ไทเทรต blank กับสารละลาย NaOH ที่เตรียมไว้ประมาณ 2-3 หยด เมื่อถึงจุด ยุติสารละลายจะเปลี่ยนจากไม่มีสีเป็นสีชมพู ให้ว่าง blank ไว้ข้างบิวเรต

5.3.4 ไทเทรตกับ 1 N NaOH จนสารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูใสจางๆ

5.3.5 บันทึกปริมาตรของ NaOH ที่ใช้ (ปริมาตรของNaOH ไม่ควรแต่งต่างกันเกิน 0.1 มิลลิลิตร)

5.3.6 คำนวณNormality ตามสูตร

$$\text{Normality} = \frac{\text{กรัมของ } KHC_8H_4O_4 \times 1000}{204.22 \times \text{ml ของ NaOH}}$$

ก. 5.4 การวิเคราะห์ตัวอย่าง

5.4.1 ตวงน้ำกลั่นที่ต้มแล้ว 50 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปชมพู่ขนาด 200 มิลลิลิตร เติม 1% ฟีนอล์ฟทาลีน 2-3 หยด

5.4.2 ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน1 N NaOH จนได้สีชมพูจางๆ หรือพีเอชเท่ากับ 8.2 ปริมาตรที่ไทรเทรตเป็นค่า blank และใช้เป็นสารละลายเทียบสีมาตรฐาน

5.4.3 ปิเปตตัวอย่าง 5 มิลลิลิตร ลงในน้ำกลั่นที่ต้มแล้ว 200 มิลลิลิตร ลงในขวดรูปกรวยขนาด 500 มิลลิลิตร เติม 1% ฟีนอลีฟทาลีน 1 มิลลิลิตร

5.4.4 ไทเทรตด้วยสารละลายมาตรฐาน 1 N NaOH เทียบสีจุดยุติให้ได้สีเดียวกับสารละลายมาตรฐาน

5.4.5 ทำการไทเทรตตัวอย่างอย่างน้อย 3 ซ้ำ

5.4.6 คำนวณความเป็นกรดตามสูตร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

$$\text{ค่าความเป็นกรด} = \frac{(V)(N)(Eq.Wt)(100)}{(1000)(V)}$$

V =ปริมาตรของสารละลายมาตรฐาน NaOH

N =นอร์มัลที่แท้จริงของสารละลายมาตรฐานNaOH

V= ปริมาตรของตัวอย่างที่ใช้

Eq.Wt = น้ำหนักสมดุลของกรดทาร์ทาริค (tartaric) = 75, มาลิค (malic)= 67, ซิตริก (citric) = 64, แลคติต (lactic) = 90, ซัลฟูริก (sulfuric) = 49,อะซิติก (aceti)=60)

ก. 6 การวิเคราะห์ปริมาณกรดโดยการวัดพีเอช

ก. 6.1 บทนำ

การวัดพีเอช (pH) ในวัตถุดิบก่อนการหมักถือว่ามีความสำคัญโดยเฉพาะอย่างยิ่งในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ กรดมีผลต่อคุณภาพกลิ่นและรส (flavor) สี (color) และความคงตัว (stability) ตลอดจนระยะเวลาในการเก็บบ่มของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์

ภาพผนวกที่ ก.4 เครื่องวัดค่าความเป็นกรด-เบส (pH) METTLER TOLEDO, China

ก. 6.2 วัสดุอุปกรณ์

6.2.1 สารละลายตัวอย่าง

6.2.2 พีเอชมิเตอร์

6.2.3 บีกเกอร์ ขนาด 50 มิลลิลิตร

6.2.4 น้ำกลั่น

6.2.5 กระดาษซับ

6.2.6 แท่งแม่เหล็ก (magnetic bar)

6.2.7 เครื่องกวนแม่เหล็ก (magnetic stirrer)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ก. 6.3 สารเคมี

6.3.1 สารละลายบัฟเฟอร์ มาตรฐาน พีเอช 7.00

6.3.2 สารละลายบัฟเฟอร์ มาตรฐาน พีเอช 4.00

6.3.3 สารละลายบัฟเฟอร์ มาตรฐาน พีเอช 10.00

ก. 6.4 วิธีการ

6.4.1 ศึกษาวิธีการใช้พีเอชมิเตอร์ จากคู่มือของแต่ละบริษัท

6.4.2 ปรับพีเอชมิเตอร์ ให้พร้อมที่จะใช้งานด้วยสารละลายบัฟเฟอร์มาตรฐาน

6.4.3 ล้างหัววัดพีเอช (pH electrode) ให้สะอาดด้วยน้ำกลั่น ซับหัววัดด้วยกระดาษซับชนิดนุ่มที่สุด (ห้ามเช็ดหรือขัดหัววัดเด็ดขาด)

6.4.4 จุ่มหัววัดในสารตัวอย่างที่มีการกวนด้วยเครื่องกวนแม่เหล็ก

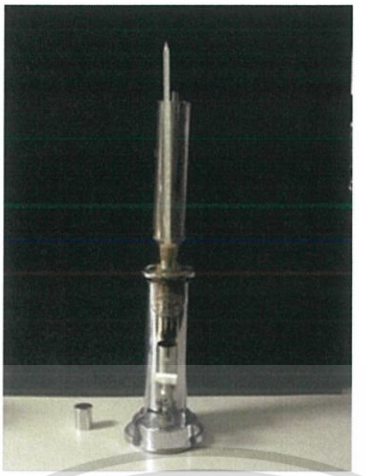
6.4.5 อ่านค่าพีเอชที่วัดได้ซึ่งค่าพีเอชที่ได้สามารถนำไปคำนวณหาความเข้มข้นของไฮโดรเจนไอออน

ก. 7 การวิเคราะห์หาปริมาณของแอลกอฮอล์โดยวิธี Ebulliometric analysis

ก. 7.1 หลักการ

ในการหาปริมาณแอลกอฮอล์โดยวิธีนี้จะอาศัยหลักการวัดจุดเดือด (boiling point) ของสารตัวอย่างที่ลดลงเมื่อเทียบกับจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ โดยถ้าปริมาณของแอลกอฮอล์ในสารตัวอย่างเพิ่มขึ้น จะทำให้จุดเดือดของสารตัวอย่างลดลงจากจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์มากขึ้น เครื่องมือที่ใช้ในการวัดปริมาแอลกอฮอล์จะอาศัยหลักการนี้ที่เรียกว่า อีบูลลิโอมิเตอร์ ซึ่งเครื่องมือนี้จะนิยมนำไปใช้ในโรงงานอุตสาหกรรมผลิตไวน์ ไวน์ผลไม้ สุรากลั่น และอุตสาหกรรมผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์อื่นๆ เนื่องจากเป็นเครื่องมือที่ใช้งานง่ายให้ความสะดวก และรวดเร็วในการวิเคราะห์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพผนวกที่ ก.5 เครื่อง Ebulliometer Dujadin–Salleron, France

ก. 7.2 วัสดุอุปกรณ์

7.2.1 ชุดเครื่องอีบูลลิโอมิเตอร์

7.2.2 กระบอกตวง ขนาด 50 มิลลิลิตร

ก. 7.3 สารเคมี

7.3.1 น้ำกลั่นบริสุทธิ์ (Double distilled water)

7.3.2 น้ำเย็น หรือ น้ำแข็ง

7.3.3 โซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร)

ก. 7.4 วิธีการ

7.4.1 หาจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์

7.4.1.1 ตวงน้ำบริสุทธิ์ 30 มิลลิลิตร หรือใช้หลอดที่มากับเครื่องมือ โดยตวงให้ถึง “EAU”ใส่ลงใน Boiling chamber (A)

7.4.1.2 ใส่เทอร์โมมิเตอร์ (C) ให้ปลายอยู่เหนือน้ำใน Boiling chamber

7.4.1.3 ต้มด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์จนกระทั่งเดือด (B) เมื่อถึงจุดเดือดอุณหภูมิจะคงที่อ่านอุณหภูมิจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์จากเทอร์โมมิเตอร์

7.4.1.4 นำค่าจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่อ่านได้ไปตั้งในแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต แอลกอฮอล์ (Dosage de l’Alcool dans les Vins) โดยตั้งค่าจุดเดือดของน้ำบริสุทธิ์ที่อ่านได้ (ดู

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สเกลด้านใน) ให้ตรงกับ 0.0 % แอลกอฮอล์ (ดูสเกลด้านนอก) หรือตำแหน่งที่มีเครื่องหมาย

ภาพผนวกที่ ก.6 แผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

7.4.2 หาจุดเดือดของสารตัวอย่าง

7.4.2.1 ตวงสารตัวอย่าง 50 มิลลิลิตร หรือใช้หลอดที่มากับเครื่องมือตวงให้ถึงขีด “VIN”ใส่ลงใน Boiling chamber

7.4.2.2 เติมน้ำเย็น หรือน้ำแข็งลงไปในส่วนควบแน่น (D)

7.4.2.3 ใส่เทอร์โมมิเตอร์ให้ปลายอยู่เหนือน้ำใน Boiling chamber

7.4.2.4 ต้มด้วยตะเกียงแอลกอฮอล์จนกระทั่งเดือด เมื่อถึงจุดเดือดอุณหภูมิจะคงที่ประมาณ 15-30 วินาที อ่านจุดเดือดของสารตัวอย่าง

7.4.2.5 อ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ของสารตัวอย่าง (ดูที่สเกลด้านนอก) ที่อยู่ตรงกับจุดเดือดของสารตัวอย่าง (ดูที่สเกลด้านใน) จากแผ่นอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์

ก. 7.5 ข้อควรปฏิบัติ

7.5.1 ควรล้างทำความสะอาด Boiling chamber ทุกครั้งที่เปลี่ยนสารตัวอย่าง

7.5.2 ในส่วนของ Boiling chamber ถ้ามีคราบของสารตัวอย่างติดอยู่ให้ล้างทำความสะอาดด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 เปอร์เซ็นต์

7.5.3 ถ้าสารตัวอย่างมีน้ำตาลมากกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ จะมีผลต่อค่าเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่หาได้ โดยมีผลทำให้จุดเดือดลดลง ซึ่งจะทำให้วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้มากกว่าที่เป็นจริง วิธีการแก้ทำได้โดย

7.5.3.1 กลั่นแยกแอลกอฮอล์ออกมาก่อน จากนั้นนำส่วนที่กลั่นได้(distillate)ไปหาจุดเดือด

7.5.3.2 เจือจางสารตัวอย่างให้มีปริมาณน้ำตาลน้อยกว่า 2 เปอร์เซ็นต์ แล้วจึงนำไปหาจุดเดือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7.5.3.3 หาปริมาณน้ำตาลรีดิวส์ในหน่วยเปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) แล้วนำมาคูณด้วย 0.05 (ค่าคงที่) จากนั้นนำไปหักลบออกจากเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ที่หาได้

7.5.4ในกรณีที่สารตัวอย่างต้มแล้วเกิดฟองให้ป้องกันโดยการเติม Tween 80หรือ สารป้องกันการเกิดฟองชนิดอื่นๆลงไป 1-2หยด ก่อนเริ่มการหาจุดเดือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข
การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ

ข. 1 การเตรียม Potato Dextrose Agar (PDA)

Potato Dextrose Agar	39	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

นำไปทำการให้ความร้อนโดยใช้เครื่องไมโครเวฟคนให้อาหารละลายเป็นสีเหลืองใส ทำการปิเปตอาหารใส่หลอดทดลอง 6 ml นำไปนึ่งภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที เสร็จนำหลอดทดลองไปเอียงปล่อยทิ้งไว้ให้เย็น

ข. 2 การเตรียม Yeast extract malt extract broth (YM broth)

Yeast extract	1.5	กรัม
Malt extract	1.5	กรัม
Peptone	2.5	กรัม
Glucose	5	กรัม

เติมน้ำกลั่นให้ได้ปริมาตรสุดท้าย 500 มิลลิลิตร นำไปนึ่งภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

ตารางผลการทดลอง

ตารางที่ ค.1 แสดงสัดส่วนผสมในการหมักไวน์

วัตถุดิบ	สัดส่วนในการผสม (L)
ข้าวที่ถูกย่อยแบบใช้รา	2.5
น้ำเชื่อม	7
ยีสต์	0.5

ตารางที่ ค.1ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย				หมักไวน์ข้าวที่ไม่ใช้รายย่อย			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	3.0	2.8	3.0	2.9	2.4	0.6	1.0	1.3
1	14.8	17.4	18.4	16.9	16.8	17.4	18.0	17.4
2	16.0	17.0	18.2	17.1	16.2	18.2	19.8	18.1
3	16.0	15.4	17.0	16.1	16.4	19.4	20.0	18.6
4	6.4	8.0	7.6	7.3	17.4	17.8	18.2	17.8

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.2ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย				หมักไวน์ข้าวที่ไม่ใช้รายย่อย			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	5.95	5.93	5.97	5.95	6.49	6.48	6.44	6.47
1	4.13	4.09	4.03	4.08	5.53	5.27	5.50	5.43
2	3.79	3.71	4.07	3.86	4.80	3.99	4.09	4.29
3	3.53	3.64	3.87	3.68	3.84	3.72	3.85	3.80
4	3.64	3.57	3.58	3.60	3.72	3.76	3.78	3.75

ตารางที่ ค.3ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการย่อยข้าวกล้องงอกด้วยเชื้อรา Amylomyces spp. และไม่ใช้เชื้อรา เป็นระยะเวลา 4 วัน ที่อุณหภูมิห้อง

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย				หมักไวน์ข้าวที่ไม่ใช้รายย่อย			
	1	2	3	เฉลี่ย	1	2	3	เฉลี่ย
0	23.30	14.75	14.20	17.42	1.62	1.34	0.43	1.13
1	587.23	108.44	110.44	268.70	31.51	33.21	44.31	36.34
2	83.03	86.03	96.03	88.36	12.90	34.91	17.05	21.62
3	72.42	69.62	94.83	78.96	14.25	13.20	12.90	13.45
4	17.80	22.10	16.25	18.72	53.92	53.32	64.12	57.12

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.4 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Total soluble solids) ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย			
	1	2	3	เฉลี่ย
0	17.4	17.2	17.2	17.3
2	12.0	12.0	11.4	11.8
4	6.6	8.0	7.2	7.3
6	6.0	6.0	7.0	6.3
8	6.0	6.0	7.0	6.3

ตารางที่ ค.5 ค่าความเป็นกรด – ด่าง (pH) ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย			
	1	2	3	เฉลี่ย
0	3.79	3.77	3.92	3.83
2	3.77	3.71	3.62	3.70
4	3.66	3.62	3.58	3.62
6	3.73	3.61	3.63	3.66
8	3.73	3.67	3.64	3.68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ค.6ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย			
	1	2	3	เฉลี่ย
0	806.32	614.24	428.17	616.24
2	350.14	285.11	273.10	302.78
4	13.00	17.00	12.55	14.18
6	4.57	6.05	6.64	5.75
8	4.51	4.18	7.11	5.26

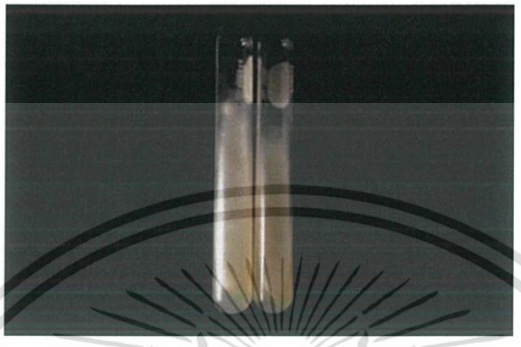
ตารางที่ ค.7ปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยแบบใช้เชื้อรา โดยใช้เชื้อยีสต์ Saccharomyces cerevisiae FER1 ในการหมัก

วันที่	หมักไวน์ข้าวที่ใช้รายย่อย			
	1	2	3	เฉลี่ย
0	0.2	0.6	0.7	0.5
2	5.1	5.7	6.1	5.6
4	9.4	8.7	8.8	9.0
6	10.4	9.6	9.7	9.9
8	10.1	10.3	10.4	10.3

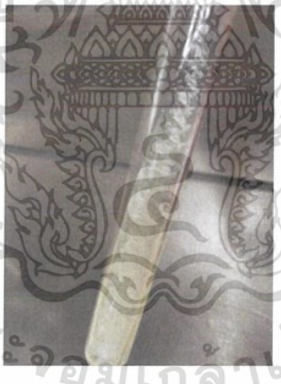
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ง

ภาพประกอบ

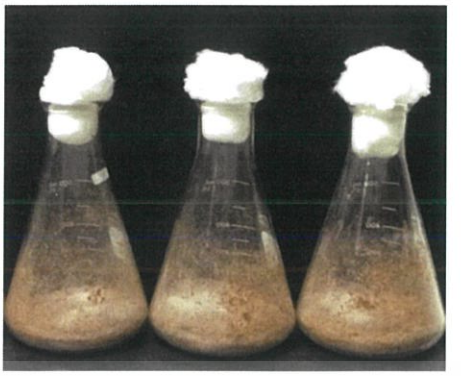


ภาพที่ ง.1เชื้อ *Amylomyces spp.* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA



ภาพที่ ง.2 เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae FER1* ในอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA

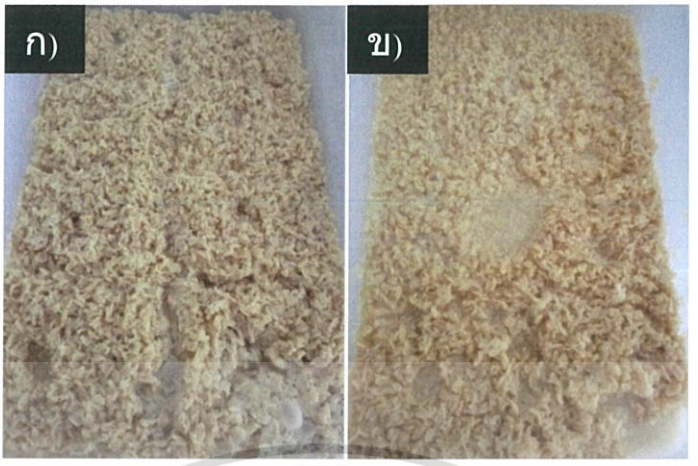
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



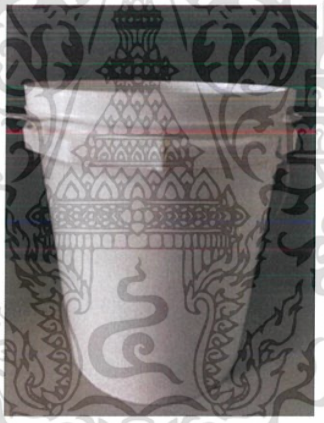
ภาพที่ ง.3โมแบน

ภาพที่ ง.4การเลี้ยงยีสต์ใน YM : (ก) ใส่เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* FER1 ในอาหารเลี้ยงเชื้อ YM ; (ข) เลี้ยงเชื้อยีสต์บนเครื่องเขย่า

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

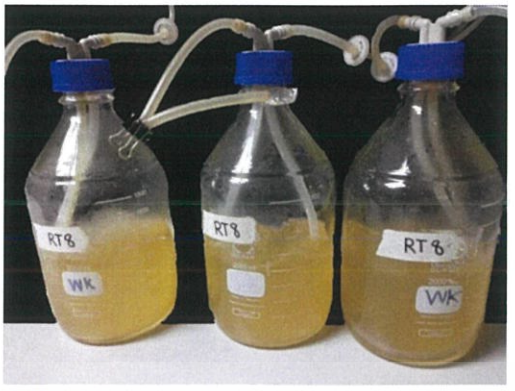


ภาพที่ ง.5การย่อยข้าว: (ก) ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วย *Amylomyces spp.*; (ข) ข้าวกล้องงอกที่ไม่ผ่านการย่อยด้วย *Amylomyces spp.*



ภาพที่ ง.6 การหมักไวน์ข้าวกล้องงอกที่ผ่านการย่อยด้วยรา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ ง.7 การเตรียมหัวเชื้อน้ำส้มสายชูข้าวกล้องงอกในดูแรน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นายสรศักดิ์ อังศุธรธนวัฒน์
วัน เดือน ปี เกิด	
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาจากโรงเรียน
	ปัจจุบันศึกษาอยู่ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
	หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	บริษัท สยามแม็คโคร จำกัด (มหาชน)
ผลงานวิจัย	การผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอก
ชื่อ-นามสกุล	นางสาวอนัญญา ชัยพรแก้ว
วัน เดือน ปี เกิด	24 พฤษภาคม 2540
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาจากโรงเรียนวชิรธรรมสาธิต
	ปัจจุบันศึกษาอยู่ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
	หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	ห้างหุ้นส่วนจำกัด คิคโคเคน
ผลงานวิจัย	การผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอก
ชื่อ-นามสกุล	นางสาวกวิศรา ตระกูลษา
วัน เดือน ปี เกิด	14ตุลาคม 2539
ประวัติการศึกษา	สำเร็จการศึกษามัธยมศึกษาจากโรงเรียนเฉลิมพระเกียรติสมเด็จพระศรีนครินทร์ ระยอง
	ในพระราชูปถัมภ์สมเด็จพระเทพรัตนราชสุดาฯ สยามบรมราชกุมารี
	ปัจจุบันศึกษาอยู่ คณะอุตสาหกรรมเกษตร
	หลักสูตรวิทยาศาสตรบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
	สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ประสบการณ์ทำงาน	บริษัท เอก-ชัย ดีสทริบิวชั่น ซิสเทม จำกัด
ผลงานวิจัย	การผลิตน้ำส้มสายชูจากข้าวกล้องงอก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้