ปัญหาพิเศษ (45497)

เรื่อง

การปรับปรุงขบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าว

(Improvement Ethanol Production from Rice)

โดย

นายบุญเลิศ กลิ่นพยอม

นายก้าวหน้า วุฒิโอฬารกุล

นางสาวบุระมาศ นวะสุชาติ

ACC. NO.....
Date Received 16 ส.ค. 2534
Call No.....

เสนอ

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะเทคโนโลยีการเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้า วิทยาเขตเจ้าคุณทหาร

ลาดกระบัง

เพื่อความสมบูรณ์แห่งปริญญาวิทยาศาสตร์บัณฑิต (อุตสาหกรรมเกษตร)

พ.ศ.2533

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สำนักหอสมุดกลาง มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กำแพงแสน

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

เรื่อง การปรับปรุงขบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าว

(Improvement Ethanol Production from Rice)

T096469

โดย นายบุญเลิศ กลิ่นพยอม

นายก้าวหน้า วุฒิโอฬารกุล

นางสาวบุระมาศ นาะสุชาติ

ได้รับปริญญาเห็นชอบจาก...

(หม่อมหลวง ปฏิพัทธ์) ..... 30/มี.ค./34 อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

(หม่อมหลวง ปฏิพัทธ์) ..... 30/มี.ค./34 กรรมการของภาควิชา

(ดร.ทองสุข สุดารา) ..... 30/มี.ค./34 กรรมการของภาควิชา

ปพ.
ป653ก
2534

ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

(ผศ.ดร.ประพันธ์ ศิริวัฒนกิจ)

หัวหน้าภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร

วันที่ 1 เดือน พ.ค. 2534

เลขหมู่.....
เลขทะเบียน 96469
วัน,เดือน,ปี.....

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทคัดย่อ

เรื่อง

การปรับปรุงขบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าว

(Improvement Ethanol Production from Rice)

การศึกษากรรมวิธีที่เหมาะสม สำหรับการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียว เพื่อการส่งออกโดยใช้กระบวนการ 2 ขั้นตอนคือ กระบวนการย่อยสลายแป้งเป็นน้ำตาลโดยเชื้อรา Aspergillus oryzae หรือ Rhizopus oryzae และกระบวนการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นเอธานอล โดยใช้ยีสต์ Saccharomyces cervisiae. Sc. 90 ทำการผลิตโดยใช้กรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น โดยเลี้ยงเชื้อราบนข้าวเหนียว ซึ่งเรียกว่า koji เปรียบเทียบกับกรรมวิธีการหมักแบบไทย ซึ่งเลี้ยงเชื้อราบนส่วนผสมของรำหยาบ รำละเอียดและปลายข้าว ซึ่งเรียกว่า Mold bran ทำการทดลองที่อุณหภูมิประมาณ 35 °C ใช้เวลาหมักเป็นแอลกอฮอล์โดยใช้ยีสต์ 3 วัน ที่ความเข้มข้นน้ำตาลเริ่มต้น 15, 20, 25, 30 และ 35 %

จากการศึกษาพบว่า การผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียวโดยกระบวนการที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น โดยใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae หรือ Rhizopus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลที่เหมาะสมเป็น 25 % จะให้เอธานอล 11.54 %, 9.86 % ตามลำดับ การผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียว โดยกระบวนการหมักแบบไทย โดยใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae หรือ Rhizopus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลที่เหมาะสมเป็น 30 %, 25 % จะให้เอธานอล 6.21 %, 9.15 % ตามลำดับ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนิยม

ปัญหาพิเศษฉบับนี้สำเร็จได้ด้วยดี ขอกราบขอบพระคุณอาจารย์วราวุฒิ ครูส่ง ที่กรุณาให้คำปรึกษาแนะนำ และให้ยืมเครื่องมือในการทดลอง และขอกราบขอบพระคุณอาจารย์เหมือนเดือน พิศาลพงศ์ ที่กรุณาให้คำปรึกษาและแนะนำ ตลอดจนการตรวจแก้ไขข้อบกพร่องของปัญหาพิเศษฉบับนี้

ขอขอบพระคุณคุณวิไล สนธิเพิ่มพูน เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร ตลอดจนเพื่อนๆและน้องๆทุกคน โดยเฉพาะอย่างยิ่ง คุณกัลยา จรรยาวัฒนานนท์ และคุณสมพร พงษ์ธัญญะวิริยะ ที่ช่วยถ่ายรูป ขอขอบคุณคุณพิชินี สุจริตพงศ์ คุณสุชาทิพย์ เจียรนิพัฒน์พงศ์ คุณมงคล ศิริมังคลานุรักษ์ ที่ให้ความช่วยเหลือจนปัญหาพิเศษนี้สำเร็จลงด้วยดี และขอขอบคุณคุณเจริญ อารีอาสนธรรม ที่กรุณาน่าโปรแกรมที่ใช้เขียนกราฟมาให้จากระยอง คุณพัชรินทร์ โมทนียชาติ ที่กรุณาให้ใช้เครื่องคอมพิวเตอร์ที่บ้าน

ท้ายที่สุดนี้ ขอกราบขอบพระคุณ คุณพ่อ คุณแม่ และท่านที่มีพระคุณทุกๆท่านที่กรุณาให้คำแนะนำสั่งสอนและเป็นกำลังใจให้ตลอดมา

บุญเลิศ กลิ่นพยอม
ก้าวหน้า วุฒิโอฬารกุล
บุระมาศ นวะสุชาติ

เมษายน 2534

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญ

	หน้า
สารบัญตาราง	(1)
สารบัญภาพ	(4)
สารบัญตารางภาคผนวก	(9)
สารบัญภาพภาคผนวก	(10)
คำนำ	1
วัตถุประสงค์	2
การตรวจเอกสาร	3
อุปกรณ์และวิธีการ	22
ผลการทดลอง	27
สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง	65
เอกสารอ้างอิง	74
ภาคผนวก	80

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง

ตารางที่		หน้า
1	องค์ประกอบของข้าวสารในประเทศไทย	4
2	แหล่งผลิตเอนไซม์ ชนิดและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น	10
3	ขั้นตอนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำตาลโดยยีสต์ ผ่าน Embden-Meyerhof pathway	14
4	ปริมาณความชื้นของข้าวนึ่งและ mold bran ของเชื้อ Aspergillus oryzae และ Rhizopus oryzae	27
5	ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี pour plate ของเชื้อ Aspergillus oryzae และ Rhizopus oryzae	28
6	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	29
7	ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	29
8	ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	30
9	ปริมาณเซลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	30
10	log number of yeast cells/ml ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	31

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
11	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	32
12	ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	32
13	ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	33
14	ปริมาณเซลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	3:
15	log number of yeast cells/ml ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	34
16	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	35
17	ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	35

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตาราง (ต่อ)

ตารางที่		หน้า
18	ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	36
19	ปริมาณเซลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	36
20	log number of yeast cells/ml ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	37
21	ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	38
22	ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	38
23	ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	39
24	ปริมาณเซลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	39
25	log number of yeast cells/ml ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	40

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ

ภาพที่		หน้า
1	แนวทางในการผลิตแอลกอฮอล์ โดยผ่าน Embden-Meyerhof pathway	13
2	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %	41
3	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %	42
4	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %	43
5	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %	44
6	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %	45

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
7	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %	46
8	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %	47
9	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %	48
10	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %	49
11	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %	50
12	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %	51

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
13	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %	52
14	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %	53
15	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %	54
16	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %	55
17	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %	56
18	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %	57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
19	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %	58
20	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %	59
21	pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %	60
22	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	61
23	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	62
24	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	63

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพ (ต่อ)

ภาพที่		หน้า
25	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	64
26	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	66
27	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	67
28	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	68
29	เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %	69
30	ลักษณะ Koji ของเชื้อรา Aspergillus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่นึ่งจนสุกมาทำ ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	73
31	ลักษณะ Koji ของเชื้อรา Rhizopus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่นึ่งจนสุกมาทำ ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	73

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญตารางภาคผนวก

ตารางที่		หน้า
1	ผลการทดลองวัดค่า O.D. ของ standard glucose	89
2	ผลการทดลองวัดค่า O.D. ของข้าวเหนียวสุกผสม koji ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น และ ข้าวเหนียวสุกผสม mold bran ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	89

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบาญภาพภาคผนวก

ภาพที่		หน้า
1	Heamacytometer สำหรับนับเซล	86
2	ขยายตารางบน Heamacytometer	86
3	แสดงค่า optical density ของ standard glucose	90
4	ลักษณะ koji ของเชื้อรา Aspergillus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่ง 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 5 นาที มาทำ ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	95
5	ลักษณะ koji ของเชื้อรา Rhizopus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านกวรนึ่ง 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 5 นาที มาทำ ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	95
6	ลักษณะการเพาะเชื้อรา Rhizopus oryzae และ Aspergillus oryzae ใน flask ตามกรรมวิธีการหมักแบบไทย	96
7	ลักษณะ mold bran ของ Aspergillus oryzae ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	97
8	ลักษณะ mold bran ของ Rhizopus oryzae ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย	97

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

คำนำ

การปรับปรุงขบวนการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าว

(Improvement Ethanol Production from Rice)

สาเกเป็นเครื่องดื่มที่นิยมกันมากในประเทศญี่ปุ่น ได้มาจากการใช้ข้าวเป็นวัตถุดิบ ซึ่งจะถูกย่อยสลายเป็นน้ำตาลโดยเชื้อรา Aspergillus oryzae ซึ่งเลี้ยงบนข้าวนึ่งที่เรียกว่า Koji คล้ายๆกับการใช้ข้าวมอลท์ในการทำเบียร์ ซึ่งได้มีการค้นคว้าและพัฒนากรรมวิธีในการผลิตติดต่อกันมาเป็นเวลาช้านานจนปัจจุบันคุณภาพของสาเกได้มาตรฐาน มีโรงงานน้อยใหญ่รวมทั้งสิ้นประมาณ 4000 โรงงาน ทั่วประเทศญี่ปุ่น ปัจจุบันนอกจากสาเกจะเป็นที่นิยมดื่มกันในประเทศญี่ปุ่นแล้ว ยังเป็นที่นิยมดื่มกันในบางประเทศ เช่น สหรัฐอเมริกา เป็นต้น อีกด้วย โดยมีโรงงานผลิตสาเกที่ทันสมัยในแคลิฟอร์เนีย

เนื่องจากการผลิตเหล้าสาเกที่ประเทศญี่ปุ่นนั้นต้องเสียค่าใช้จ่ายสูง ทั้งในแง่ของวัตถุดิบ แรงงานตลอดจนขบวนการผลิตในขั้นตอนต่างๆ ดังนั้นจึงต้องมีการนำเข้าของแอลกอฮอล์จากข้าวเพื่อใช้ผลิตเหล้าสาเก และประเทศไทยก็เป็นประเทศหนึ่งที่ผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวเพื่อส่งไปญี่ปุ่น โดยแอลกอฮอล์จากข้าวที่ส่งไป จะถูกนำไปปรุงแต่งเพื่อให้ได้เป็นเหล้าสาเกอีกครั้งหนึ่ง แต่การผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวในประเทศไทยเพื่อส่งไปขายยังประเทศญี่ปุ่นในปัจจุบันพบว่าประสิทธิภาพการผลิตแอลกอฮอล์ยังไม่ดีนัก นอกจากนี้เทคนิคกรรมวิธีพื้นฐานของการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียวของไทยแตกต่างจากของญี่ปุ่นอยู่หลายประการ เชื้อราที่ผลิตเอนไซม์ที่ใช้ในการย่อยข้าวของประเทศไทยใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae ในรูปของลูกแป้ง(mold bran) ขณะที่ประเทศญี่ปุ่นใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae ในรูปของโคจิ(koji) ซึ่งให้กลิ่นรสที่แตกต่างกัน ปัจจัยเหล่านี้เป็นผลให้กลิ่นรส และคุณภาพของแอลกอฮอล์แตกต่างจากที่ตลาดญี่ปุ่นต้องการ ดังนั้นจึงควรที่จะทำการศึกษาหากรรมวิธีการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวที่เหมาะสม เพื่อเพิ่มประสิทธิภาพในการผลิตแอลกอฮอล์และให้ได้แอลกอฮอล์ที่มีคุณภาพสูงตรงตามที่ตลาดต้องการ เพื่อให้สามารถขยายตลาดการส่งออกแอลกอฮอล์จากข้าวของไทยได้มากขึ้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

วัตถุประสงค์

1. เพื่อศึกษาหากรรมวิธีการผลิตที่เหมาะสมที่สุดในการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าว โดยพิจารณาจาก
   1.1 กรรมวิธีการผลิตแบบไทยโดยใช้เชื้อ Aspergillus oryzae
   1.2 กรรมวิธีการผลิตแบบไทยโดยใช้เชื้อ Rhizopus oryzae
   1.3 กรรมวิธีการผลิตแบบญี่ปุ่นโดยใช้เชื้อ Aspergillus oryzae
   1.4 กรรมวิธีการผลิตแบบญี่ปุ่นโดยใช้เชื้อ Rhizopus oryzae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การตรวจเอกสาร

ปัจจุบันอุตสาหกรรมการหมักมักจะใช้แป้งเป็นวัตถุดิบ แล้วเปลี่ยนแป้งให้เป็นกลูโคสเพื่อเป็นแหล่งคาร์บอนที่ดีของจุลินทรีย์(ไกรฤกษ์, 2526) การเลือกใช้วัตถุดิบประเภทแป้ง เพื่อใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ส่วนใหญ่นิยมใช้ธัญญพืชหรือพืชที่สะสมสารพวกแป้ง(Starch) ไว้ในส่วนรากหรือส่วนหัว ซึ่งวัตถุดิบที่นำมาใช้จะแตกต่างกันไปในแต่ละภูมิประเทศคือ ในบางประเทศแถบยุโรปใช้มันฝรั่ง ข้าวมาเลย์ ข้าวมอลท์ ข้าวโพดและข้าวไรย์ ในสหรัฐอเมริกาใช้ข้าวโพด ข้าวไมโล(ข้าวฟ่างขนาดเล็ก) และมันสำปะหลัง ในรัสเซียใช้ข้าวไรย์ มันฝรั่งและข้าวสาลี ประเทศแถบเอเชียและอาฟริกาใช้ข้าวเจ้า มันเทศ มันสำปะหลังและข้าวฟ่าง (Gerald, 1975 ; Teixeiroและคณะ, 1959 ; Boruff และ Van Lanem, 1947 ; Kent, 1975 ; วรชิน, 2492 ; อุทัย, 2506) ในประเทศไทยนิยมใช้ข้าวเหนียวเป็นวัตถุดิบในการผลิต เนื่องจากข้าวเหนียวให้กลิ่นรสที่ดีกว่าข้าวเจ้า (เฉลิม, 2493 ; มนตรี, 2521) ข้าวเหนียวและข้าวเจ้าประกอบด้วยแป้งเป็นส่วนใหญ่ซึ่งมีสูตรทั่วๆไปคือ $(C_6H_{12}O_6)_n$ และ n มีค่าไม่น้อยกว่า 1,000 โมเลกุลของแป้งประกอบด้วยแอลฟา-ดี-กลูโคไพราโนส (α-D-glucopyranose) ซึ่งต่อด้วยพันธะ 1,4 กลูโคซิดิก(1,4 glucosidic linkages) โดยสร้างสะพานออกซิเจน(oxygen bridge)ขึ้น ระหว่างคาร์บอนตัวที่หนึ่งกับคาร์บอนตัวที่สี่ของกลูโคสโมเลกุลตัวถัดไป(ไกรฤกษ์, 2526)

แป้งประกอบด้วยโครงสร้างโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ (Polimer) ของกลูโคส 2 ชนิด (Pomeranz, 1973 ; Kerr, 1950 ; Whistler ; Paschall, 1967) คือ

1)amylose เป็นโครงสร้างโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ที่เกิดจากกลูโคสประมาณ 1,100 -4,400 โมเลกุลต่อกันเป็นสายตรง(linear chain) โดยไม่มีการแตกแขนงด้วย α-D (1,4) glucosidic bond

2)amylopectin เป็นโครงสร้างโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ของกลูโคสที่ต่อกันด้วย α-D (1,6) glucosidic bond และ α-D(1,4) glucosidic bond โครงสร้างมีลักษณะเป็นร่างแหมีการแตกแขนงที่พันธะ 1,3 หรือ 1,6 โมเลกุลของ amylopectin ใหญ่กว่าโมเลกุลของ amylose มาก(Adams, 1953 ; Mayer, et al., 1951 ; Reed 1966)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แป้งจากแหล่งต่างกันจะมี amylose และ amylopectin อยู่ในสัดส่วนที่แตกต่างกัน ข้าวเจ้าประกอบด้วย amylopectin ประมาณ 60-90 % และ amylose ประมาณ 10-30 % ส่วนข้าวเหนียวประกอบด้วย amylopectin 95 % ส่วน amylose มีน้อยมาก บางครั้งพบว่าไม่มีเลย (กมลทิพย์, 2533) ข้าวที่ใช้ผลิตสุราในประเทศไทยเป็นข้าวสาร ซึ่งองค์ประกอบของข้าวสารเจ้าและข้าวสารเหนียวแสดงดังตารางที่ 1

ตารางที่ 1 องค์ประกอบของข้าวสารในประเทศไทย

องค์ประกอบ	ข้าวสารเหนียว(100 กรัม)	ข้าวสารเจ้า(100 กรัม)
ความชื้น (กรัม)	11.90	11.00
แคลอรี่ (หน่วย)	366.00	367.00
ไขมัน (กรัม)	1.00	0.60
คาร์โบไฮเดรท (กรัม)	79.70	80.40
เส้นใย (กรัม)	0.20	0.30
โปรตีน (กรัม)	6.90	7.30
แคลเซียม (กรัม)	16.00	8.00
ฟอสฟอรัส (มก.)	95.00	104.00
เหล็ก (มก.)	1.10	1.00
วิตามิน (มก.)	0.17	0.18
ไนอาซีน (มก.)	2.60	2.50

ที่มา กรมพลศึกษา, 2510

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบประเภทแป้งนั้นมีหลักสำคัญ 2 ประการ (Rasario, 1982) คือ

หลักข้อที่ 1 การเปลี่ยนหรือการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลที่หมักได้

หลักข้อที่ 2 การเปลี่ยนน้ำตาลที่หมักได้เป็นแอลกอฮอล์

การหมักแอลกอฮอล์จากวัตถุดิบประเภทแป้งจะได้ผลดี ถ้าการควบคุมขบวนการหมักทั้ง 2 ประการ ทำอย่างมีประสิทธิภาพ

การเปลี่ยนหรือการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลที่หมักได้ทำได้ 3 วิธีคือ

1.การใช้งานไซม์หรือน้ำย่อย

เอนไซม์หรือน้ำย่อยสำหรับเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลอยู่ในกลุ่มเอนไซม์อะไมเลสที่สำคัญได้แก่ α-amylase และ glucoamylase เอนไซม์ตัวแรกจะย่อยแป้งให้เป็น dextrin ส่วนเอนไซม์ตัวหลังจะย่อย dextrin ให้เป็นน้ำตาลมอลโตสและน้ำตาลกลูโคส การใช้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดดังกล่าวนี้จำเป็นต้องควบคุมอุณหภูมิและ pH ให้เหมาะสมเพื่อให้การทำงานของเอนไซม์มีประสิทธิภาพสูงสุด เอนไซม์กลุ่มอะไมเลสที่ผลิตขายเพื่อการค้าที่พบมี BAN, SAN, TERMAMYL, FUNGAL AMYLASE เป็นต้น เอนไซม์เหล่านี้ผลิตจากเชื้อจุลินทรีย์ ควรเก็บในขวดกันแสงและที่เย็น ประสิทธิภาพของเอนไซม์จะลดลงถ้าเก็บนานเกินไปหรือเก่า

2.การใช้กรดเป็นตัวย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล

โดยกรดที่นิยมใช้ย่อยสลายแป้งได้แก่ กรดเกลือ, กรดซัลฟุริค, กรดฟอสฟอริคและกรดคาร์บอนิค ฯลฯ

การใช้กรดย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลนั้น นิยมใช้ในการผลิตน้ำเชื่อมกลูโคลมากกว่านำไปใช้เพื่อเปลี่ยนแปลงแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคสสำหรับนำไปใช้ในการผลิตแอลกอฮอล์ด้วยยีสต์ ทั้งนี้เพราะเมื่อใช้โซเดียมคาร์บอเนตหรือแคลเซียมคาร์บอเนตปรับสภาพน้ำเชื่อมให้เป็นกลาง จะเกิดเกลือของกรดขึ้นในน้ำเชื่อม ซึ่งจะไปมีผลต่อการเจริญของยีสต์ในช่วงการหมักทำให้ผลผลิตแอลกอฮอล์ลดลง และสิ่งที่สำคัญที่สุดคือ ทำให้เกิดการกัดกร่อนของกรดต่ออุปกรณ์เครื่องมือ เครื่องใช้ที่เป็นโลหะด้วย (Reed, 1966)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แต่อาจมีการใช้กรดเจือจางในขั้นตอนนี้ได้เพียงช่วยทำให้น้ำแป้งที่มีความหนืดสูงมีความหนืดลดลง(dextrinization) ทำให้ได้น้ำแห้งที่มีสภาพเหมาะสมที่จะนำไปปฏิบัติการต่อและสามารถถูกย่อยสลายให้เป็นน้ำตาลกลูโคสได้ง่ายเมื่อใช้เอนไซม์เป็นตัวย่อยสลายน้ำแป้งต่อไป (เยาวลักษณ์, 2524)

3.การใช้จุลินทรีย์ประเภทที่ผลิตเอนไซม์ amylase หรือใช้เอนไซม์ amylase จากเชื้อจุลินทรีย์ย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาล

จุลินทรีย์เหล่านี้หากจะต้องนำมาใช้ต้องคัดเลือกสายพันธุ์และศึกษาสภาพแวดล้อมที่เหมาะสมต่างๆ บางครั้งจำเป็นต้องใช้วิทยาการทางวิศวกรรมพันธุศาสตร์ เพื่อปรับปรุงสายพันธุ์ให้มีประสิทธิภาพสูง เชื้อแบคทีเรียที่ใช้คือ Bacillus subtilis, Bacillus mesenterions เชื้อราได้แก่ Aspergillus oryzae, Aspergillus niger, Aspergillus awamori, Rhizopus oryzae, Mucor sp., Amylomyces sp. etc. ส่วนยีสต์ได้แก่ Endomycopsis fibuligera เป็นต้น

ตามทฤษฎีการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล แป้ง 1 กรัม น้ำหนักแห้งจะเปลี่ยนเป็นน้ำตาลกลูโคส 1.11 กรัม น้ำหนักแห้ง (ประดิษฐ์, 2527)

เอนไซมที่มีบทบาทต่อการย่อยแป้ง

เอนไซม์ที่ย่อยแป้งมีดังนี้ คือ

1.α-anylase (1,4-α-D-Glucan glucanohydrolase, E.C. 3.2.1.1) พบในเมล็ดพืชที่กำลังงอก ในน้ำย่อยของตับและน้ำลาย เชื้อราและแบคทีเรียบางชนิด เอนไซม์ชนิดนี้เข้าย่อยในโมเลกุลของแป้งแบบสุ่ม(random)เฉพาะที่ α-D(1,4) glucosidic bond แต่จะไม่สามารถย่อยสลายที่พันธะ α-D(1,6) glucosidic bond ทำให้โครงสร้างโมเลกุลของแป้งถูกตัดให้สั้นลง ทำให้ได้ limit dextrin, มอลโตสและกลูโคส (Windish และ Mhatre, 1965)

2.β-amylase (1,4-α-D- Glucan maltohydrolase, E.C. 3.2.1.2) เป็นเอนไซม์ที่พบมากในพืชชั้นสูง เช่น ข้าวมอลท์และมันเทศ เอนไซม์ชนิดนี้ย่อยโมเลกุลของแป้งที่พันธะ α-D(1,4) glucosidic bond จากปลายด้านที่ไม่มีคุณสมบัติเป็นรีดิวซ์(non reducing end)ทีละ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สองโมเลกุลของกลูโคส แต่ไม่สามารถย่อยพันธะ α-D (1,6) glucosidic bond ทำให้ได้น้ำตาลมอลโตสเป็นส่วนใหญ่ และ limit dextrin โมเลกุลใหญ่ๆ (Windish และ Mhatre, 1965)

3.isoamylase และ pullulanase เป็นเอนไซม์ที่พบในจุลินทรีย์ สามารถย่อยแป้งได้เฉพาะตำแหน่ง α-D (1,6) glucosidic bond เท่านั้น ซึ่งจะตัดโมเลกุลของแป้งให้เป็นสายตรงๆ ทำให้ได้ผลิตภัณฑ์ของ oligosaccharide (Boyer, 1971 ; จตุรพร, 2528)

4.Glucoamylase (1,4-α-D- Glucan Glucanglucohydrolase, E.C. 3.2.1.3) เอนไซม์ชนิดนี้สามารถย่อยสลายแป้งให้เป็นน้ำตาลกลูโคส(D-glucose)ได้อย่างสมบูรณ์ โดยย่อยได้ทั้ง amylose และ amylopectin ที่ α-D(1,4), α-D(1,2) และ α-D(1,6) glucosidic bond การเข้าย่อยของเอนไซม์จะย่อยจากปลายที่ไม่มีคุณสมบัติเป็นรีดิวซ์ (non reducing end)เข้ามาทีละหนึ่งโมเลกุลของกลูโคส (Pazur และ Ando, 1959)

Glucoamylase เป็นเอนไซม์ที่ผลิตได้จากจุลินทรีย์หลายชนิด เช่น Rhizopus sp., Aspergillus sp., Endomycopsis sp. โดยมีกรรมวิธีการผลิตในระดับอุตสาหกรรม 2 วิธีคือ โดยวิธีเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารแข็งและเลี้ยงจุลินทรีย์ในอาหารเหลว สำหรับการผลิต Glucoamylase จาก Rhizopus sp. นั้นผลิตโดยเลี้ยงราบนอาหารแป้งเพราะถ้าเลี้ยงในอาหารเหลวเส้นใยของเชื้อราจะจับกันเป็นก้อนใหญ่ (Radley, 1976) และการผลิต glucoamylase จากเชื้อราซึ่งเลี้ยงบนอาหารแป้งได้เปรียบกว่าการเลี้ยงราในอาหารเหลวหลายประการ เช่น ความคงตัวต่ออุณหภูมิ (Temperatnre stability) และต่อความเป็นกรดเป็นด่าง(pH stability) ของเอนไซม์ (Alazard และ Raimbanlt, 1981)

การเลี้ยงจุลินทรีย์บนอาหารแข็งนั้น ความชื้นของอาหารมีความสำคัญมาก (Nisho et al., 1979 ; Raimbault และ Alazard, 1980) ซึ่งพบว่าความชื้น 40-55 % เป็นความชื้นที่เหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับสารตั้งต้นที่ใช้ในการเลี้ยงเชื้อรา วราวุฒิ (2529) กล่าวว่าการที่มีความชื้นหรือน้ำมากเกินไป จะทำให้มีช่องว่างของอากาศน้อย ความชื้นสูงจะทำให้แบคทีเรียเจริญขึ้นมาได้ง่าย โอกาสที่จะเสียก็จะมีมากขึ้น เชื้อราจะเจริญขึ้นมาเป็นปุยขาวและสร้างเอนไซม์ โดยมากจะใช้เวลา 3-5 วัน ถ้าทิ้งไว้นานเกินไปเชื้อจะสร้างสปอร์จำนวนมากเอนไซม์มีปริมาณลดลง โดยปกติเราจะเห็นเชื้อราขึ้นคลุมเป็นปุยขาวทั่วเมล็ด เมื่อหักดูเห็นเส้นใยแทงเข้าไปในเมล็ดขาว ถ้ามีความชำนาญก็รู้ว่านำไปหมักได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักโดยเชื้อราต้องคำนึงถึงลักษณะที่สำคัญต่อ ความสามารถของเชื้อในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ความสามารถในการสร้างกลิ่นรสที่ดี ลักษณะการเจริญที่รวดเร็วเตรียมสปอร์ของเชื้อได้ง่าย เชื้อมีความสามารถในการย่อยแป้งอย่างคงที่ อย่างไรก็ตามโรงงานจะต้องมีการคัดเลือกเชื้ออยู่เรื่อยๆ เพราะเมื่อเก็บไว้ใช้นานๆและถ่ายต่อไปเรื่อยๆก็มีโอกาสที่เชื้อจะย่อยแป้งได้น้อยลง โดยเฉพาะถ้าเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีน้ำตาลกลูโคส เช่น PDA โอกาสที่เชื้อจะมีความสามารถในการย่อยแป้งลดลงเป็นไปได้มาก ดังนั้นการใช้น้ำต้มจากหัวมันฝรั่งเพียงอย่างเดียวผสมวุ้น โดยไม่ต้องเติมกลูโคสจะเหมาะสำหรับการเลี้ยงราพวกนี้ ข้อสำคัญก็คือ เชื้อพวกนี้ย่อยแป้งได้ดีอยู่แล้ว จึงไม่จำเป็นต้องเติมน้ำตาลลงไป เมื่อน้ำตาลอยู่ในอาหารเชื้อไม่จำเป็นต้องย่อยแป้ง ความสามารถในการย่อยแป้งจะค่อยๆหมดไป นอกจากนี้เชื้อเองก็ยังมีการกลายพันธุ์โดยธรรมชาติ เชื้อที่กลายพันธุ์และมีลักษณะด้อยลงมีโอกาสที่จะเพิ่มจำนวนได้ดีในอาหาร PDA เมื่อถ่ายเชื้อไปเรื่อยๆก็จะได้เชื้อที่มีความสามารถลดลง (วราวุฒิ, 2529)

เชื้อราโดยทั่วไปต้องการอากาศหรือออกซิเจนเพื่อการเจริญ ซึ่งผิดกับเชื้อยีสต์และแบคทีเรียหลายชนิดถึงแม้ไม่มีออกซิเจนก็เจริญได้ดี การเลี้ยงเชื้อราจึงต้องคำนึงถึงการให้มีอากาศถ่ายเท การให้อากาศผ่านเครื่องฝุ่นละอองจะช่วยให้เชื้อราเจริญได้ดีและมีกิจกรรมสูงขึ้น เชื้อราพวก Aspergillus sp. ซึ่งมีสปอร์เขียวแกมเหลืองหรือสีดำ ต้องการออกซิเจนมากกว่า Rhizopus sp. (วราวุฒิ, 2529)

นอกจากความชื้นในอาหารแล้ว ความชื้นในอากาศที่เพาะเลี้ยงเชื้อราก็เป็นปัจจัยที่สำคัญในการผลิต Glucoamylase จาก Rhizopus oryzae ต้องใช้อากาศที่อิ่มตัวด้วยความชื้นอุณหภูมิระหว่างการเพาะเลี้ยงเป็นปัจจัยที่ต้องควบคุมด้วยความระมัดระวัง เพราะเมื่อราเจริญจะเกิดความร้อนทำให้อุณหภูมิสูงขึ้นและลดการสร้าง Glucoamylase (ไกรฤกษ์, 2526) อุณหภูมิที่เหมาะสมขึ้นกับชนิดของเชื้อรา เช่น Amylomyces sp. ต้องเพาะเลี้ยงที่ 30 °C สำหรับ Rhizopus oryzae 35 °C และ Aspergillus oryzae 35 °C (Narahara และคณะ, 1982) ถ้าอุณหภูมิสูงเกินไปการเจริญและการสร้างเอนไซม์จะลดลงและปัญหากับแบคทีเรียจะมีมากขึ้น การควบคุมอุณหภูมิและความชื้นจึงเป็นมาตรการที่สำคัญที่จะไม่ให้เสียเพราะเกิดเปรี้ยว ซึ่งมีสาเหตุมาจากแบคทีเรีย (วราวุฒิ, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

องค์ประกอบของอาหารเลี้ยงเชื้อและ pH เป็นสิ่งจำเป็นต้องควบคุมให้เหมาะสมเช่นเดียวกัน ซึ่งสภาพที่เหมาะสมขึ้นอยู่กับชนิดของเชื้อรา นอกจากนี้การพลิกกลับอาหารแข็งระหว่างการหมักก็จำเป็นสำหรับการเพาะเลี้ยงในอาหารแข็งเพื่อให้สารอาหาร, pH รวมทั้งอากาศมีความสม่ำเสมอตลอดทั้งระบบ ซึ่งการพลิกกลับอาหารแข็งจะสิ้นเปลืองแรงงานมาก ถ้าจะหลีกเลี่ยงการพลิกอาหารก็จะต้องทำชั้นอาหารให้บาง ซึ่งจะสิ้นเปลืองเนื้อที่และค่าใช้จ่ายในการทำถาดชั้นมากขึ้น(ดวงกมล, 2530) pH สำหรับการเจริญของเชื้อราค่อนมาทางกรด ในช่วงแรกของการเจริญของเชื้อราจะสร้างกรดจำนวนมาก บ่อยครั้งที่ pH ลดลงไปถึง 3.2 ในช่วงวันแรก แล้ว pH จะเพิ่มขึ้นอย่างช้าๆ จนสูงกว่า 4 หรือ 5 ในที่สุด ปัญหามักจะเกิดขึ้นเมื่อแบคทีเรียเจริญขึ้นมาและสร้างกรดจน pH ต่ำกว่า 3.5 ทำให้การสร้างเอนไซม์ของเชื้อราไม่ดีและเอนไซม์ที่สร้างแล้วไม่ทำงาน (วราวุฒิ, 2529)

การเพาะเชื้อในอาหารแข็งนิยมการคลุกสปอร์ลงบนอาหาร ทำให้ระยะเวลาการผลิตเอนไซม์ช่วงหนึ่งเสียไปกับการงอกจากสปอร์และกระจายเส้นใยให้ทั่วถึงอาหารแข็งนั้น ปริมาณสปอร์ที่เหมาะสมสำหรับ Amylomyces sp. คือ $5X10^5$ สปอร์/ก.อาหารเลี้ยงเชื้อ ถ้าปริมาณสปอร์มากเกินไปจะทำให้ปริมาณการผลิตเอนไซม์ลดลง (จตุรพร, 2528)

จากการทดลองของ Pichyangkura และคณะ(1981)โดยเลี้ยงเชื้อรา Aspergillus oryzae บนข้าวไทยต่างๆ 5 ชนิดที่ความชื้น 37-40 % เพื่อผลิตเอนไซม์ที่ใช้ย่อยแป้ง (α-amylase และ glucoamylase) พบว่าข้าวหอมมะลิให้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดสูงสุด และข้าวเหนียวให้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดต่ำสุด

แหล่งผลิตเอนไซม์ ชนิดและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้นแสดงในตารางที่ 2

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2 แหล่งผลิตเอนไซม์ ชนิดและผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น

แหล่ง	ชนิดของเอนไซม์	ผลิตภัณฑ์ที่เกิดขึ้น
พืช		
ข้าวมอลท์	ɑ, β	M
มันเทศ	β	M
ถั่วเหลือง	β	M
สัตว์		
น้ำลาย	ɑ	D,M
ตับอ่อน	ɑ	D,M
จุลินทรีย์		
Bacillus subtilis	ɑ	M,D
B. stearothermophillus	ɑ	M,D
Clostridium sp.	G.A	G.(100%)
Rhizopus sp.	G.A., ɑ	G.(100%)
Aspergillus niger	G.A., ɑ, trans	G.(80%)
Aspergillus oryzae	ɑ, G.A., Trans	G.(70%)
Endomycopsis sp.	ɑ, G.A	G.(90%)
Oospora sp.	ɑ	D

หมายเหตุ G.A. = glucoamylase
α = α-amylase
β = β-amylase
trans = trans-glucosidase
M = maltose
D = dextrin
G = glucose

ที่มา Windish และ Mhatre, 1965

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนน้ำตาลที่หมักได้เป็นแอลกอฮอล์

แบคทีเรียและยีสต์หลายสายพันธุ์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลบางชนิดให้เป็นแอลกอฮอล์ได้เนื่องจากจุลินทรีย์เหล่านี้สร้างน้ำย่อยหรือเอนไซม์ปล่อยออกจากเซลของมัน ปกติน้ำย่อยหรือเอนไซม์จากจุลินทรีย์ชนิดหนึ่งชนิดใดจะมีหลายชนิดปนกันจำเป็นต้องคัดเลือกสายพันธุ์และควบคุมสภาวะแวดล้อมให้เหมาะสมเพื่อให้จุลินทรีย์นั้นผลิตเอนไซม์ที่ต้องการได้สูงสุด และมีประสิทธิภาพที่สุด แบคทีเรียที่ผลิตแอลกอฮอล์จากน้ำตาลได้ดีเช่น Zymomonas mobilis เป็นต้น แต่จากการสังเกตแล้วไม่น่าเชื่อถือนัก เมื่อมองถึงเหตุผลและสภาพแวดล้อมทั่วๆไป ข้อสำคัญก็คือ แบคทีเรียพวกนี้เลี้ยงยากแล้วก็ยังตายง่ายอีก เจริญได้ดีใน pH ที่สูงกว่ายีสต์และหมักแอลกอฮอล์ได้ต่ำกว่ายีสต์ โดยมากหมักได้ไม่ถึง 10 % ในขณะที่ยีสต์หมักได้อย่างน้อย 12 % นอกจากนี้กลิ่นก็คล้ายไปทางน้ำตาลเมา ดังนั้นลู่ทางที่จะใช้แบคทีเรียหมักแอลกอฮอล์ยังอยู่ในขั้นทดลองเท่านั้น(วราวุฒิ, 2529) ส่วนยีสต์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ดีได้แก่พวก Saccharomyces sp. ตามทฤษฎีน้ำตาลกลูโคส 1 กรัมจะเปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์(เอธานอล)ได้ 0.511 กรัมโดยน้ำหนัก Rose และ Harrison (1971) ; Summer และ Somers (1974) กล่าวว่าในขบวนการหมักจำเป็นต้องมีสารอินทรีย์พวกฟอสเฟต(phosphate) ซึ่งมีความสำคัญต่อขบวนการหมัก นอกจากนี้เกลือของแคลเซียม โปแตสเซียมและแมงกานีสก็จัดเป็นธาตุอาหารที่จำเป็นสำหรับยีสต์ ส่วนใหญ่วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักมักพบแร่ธาตุเหล่านี้อยู่ด้วยการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลและแอลกอฮอล์จะมีสมการดังนี้

$$(C_6H_{10}O_5)n + nH_2O \xrightarrow{\text{enzyme or acid}} nC_6H_{12}O_6 \xrightarrow{\text{yeast bacteria}} 2nC_2H_5OH + 2nCO_2$$

162 กรัม		180 กรัม		92 กรัม	88 กรัม
		(100 กรัม)		(51.1กรัม)	(49.8 กรัม)
แป้ง/เซลลูโลส หรือHexan	น้ำ	น้ำตาล 6 คาร์บอน		เอทธิล แอลกอฮอล์	ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

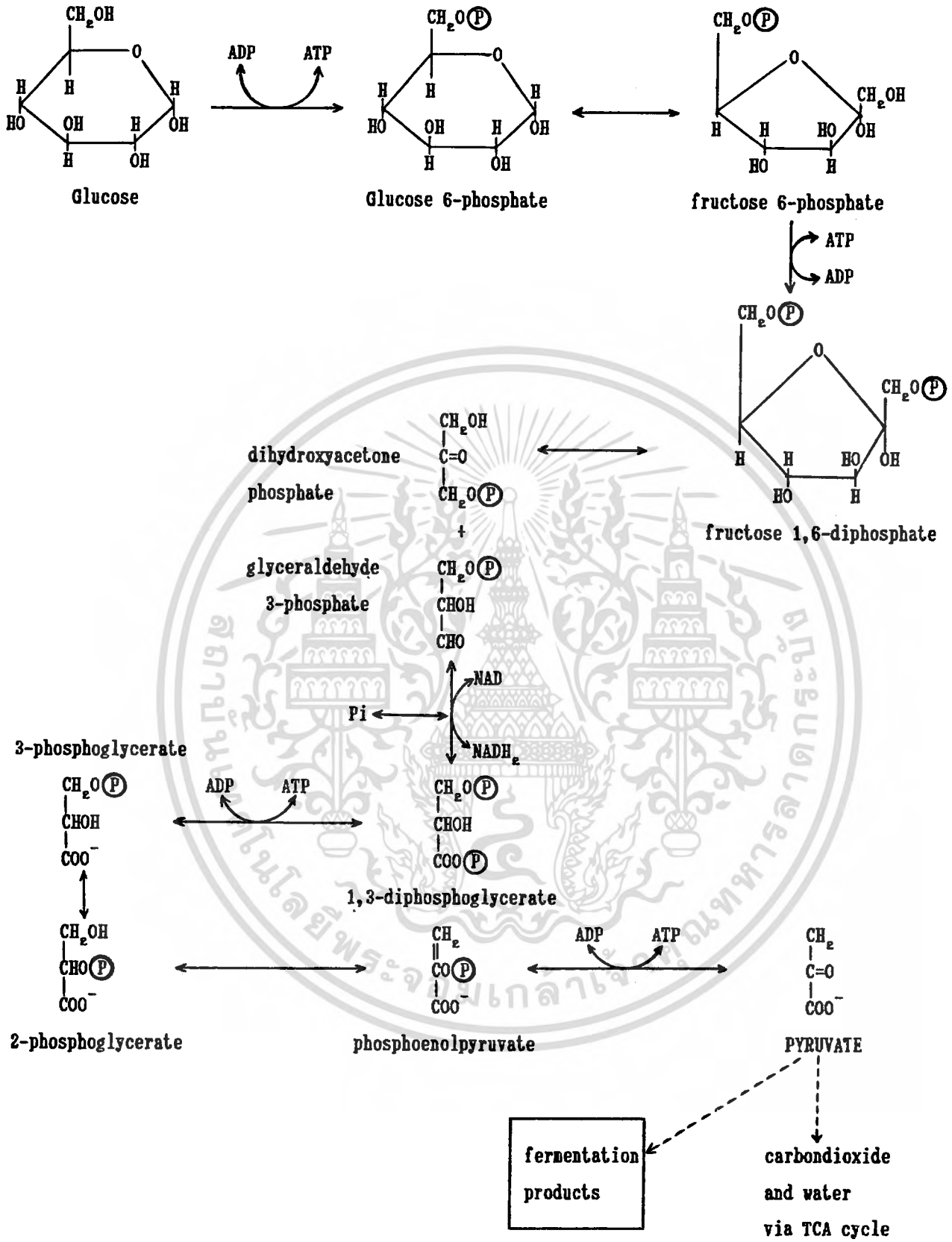
ตามทฤษฎีดังสมการข้างบนนี้ ถ้าใช้แป้ง 162 กรัมทำการย่อยด้วยเอนไซม์หรือกรดจะได้น้ำตาล 180 กรัม เมื่อหมักด้วยยีสต์จะได้เอทธิลแอลกอฮอล์ 92 กรัม และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ 88 กรัมหรือถ้าให้ยีสต์หมักน้ำตาล 100 กรัม จะได้เอทธิลแอลกอฮอล์ 51.1 กรัม และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์อีก 49.8 กรัม แต่ในทางปฏิบัติแล้วน้ำตาลที่ใช้ไปทั้งหมดมีเพียง 95 % เท่านั้น ที่เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ อีก 5 % ยีสต์จะนำไปใช้ในการเจริญ สร้างพลังงานและสร้างสารพลอยได้อื่นๆอีก

ในการหมักแอลกอฮอล์ในระดับอุตสาหกรรม จะได้ผลิตผลต่างๆดังนี้ (วราวุฒิ, 2529)

1.	Ethanol	48.4 %
2.	Carbon dioxide	46.5 %
3.	Acetaldehyde	0-0.03 %
4.	Acetic acid	0.05-0.25 %
5.	Glyceral	2.5-3.6 %
6.	Lactic acid	0-0.2 %
7.	Succinic acid	0.5-2.77 %
8.	Funsel oil	0.25-0.5 %
9.	Furfural	Trace

สำหรับแนวทางในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์ อาศัย Embden-Meyerhof pathway ซึ่งประกอบด้วยขั้นตอนต่างๆและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องดังนี้(วราวุฒิ, 2529)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 แนวทางในการผลิตแอลกอฮอล์ โดยผ่าน Embden-Meyerhof pathway

ไม่วากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 3 ขั้นตอนและเอนไซม์ที่เกี่ยวข้องในการสร้างแอลกอฮอล์จากน้ำตาลโดยยีสต์ผ่าน Embden-Meyerhof pathway

Step	Reaction	Enzyne	Type*	ΔG°
1	Glucose+ATP——>Glucose6-phosephate+ADP $+H^+$	Hexokinase	a	-4.0
2	Glucose-6phosphate $\rightleftharpoons$ fructose6 6-phosephate	Phosphoglucose isomerase	c	+0.4
3	Fructose 6-phosphate+ATP ——> Fructose 1,6-diphosphate+ADP $+H^+$	Phosphofructokinase	a	-3.4
4	Fructose 1,6-diphosphate $\rightleftharpoons$ dihydroxyacetone phosphate + glyceraldehyde 3phosphate	Aldolase	e	+5.7
5	Dihydroxyacetone phosphate $\rightleftharpoons$ glyceraldehyde 3-phosphate	Triose phosephate isomerase	c	+1.8
6	Glyceraldehyde 3-phosphate+Pi+NAD $\rightleftharpoons$ 1,3diphosphoglycerate+NADH+H^+	Glyceraldehyde 3-phosphate dehydrogenase	f	+1.5
7	1,3 Diphosphoglycerate + ADP $\rightleftharpoons$ 3-phosphoglycerate + ATP	Phosphoglycerate kinase	a	-4.5
8	3-phosphoglycerate $\rightleftharpoons$ 2-phosphoglycerate	Phosphoglyceromutase	b	+1.1
9	2-Phosphoglycerate $\rightleftharpoons$ Phosphoenolpyruvate+H_2O	Enolase	d	+0.4
10	Phosphoenolpyruvate——>pyruvate+ATP	Pyruvate kinase	a	-7.5
11	Pyruvate $+H^+$ ——>acetaldehyde+CO_2	Pyruvate decarboxylase		
12	Acetaldehyde+ NADH + H^+ ——> Ethanol + NAD^+	Alcohol dehydrogenase		

* reaction type: (a) Phosphoryl transfer (d) Dehydration
(b) Phosphoryl shift (e) Aldol cleavage
(c) Isonerization (f) Phosphorylation couple oxidation

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

<u>ปัจจัยที่สำคัญต่อยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์</u> (วราวุฒิ, 2529)

ในการทำให้ยีสต์เจริญและหมักแอลกอฮอล์ได้ดีที่สุด ปัจจัยที่สำคัญเกี่ยวกับการเจริญของยีสต์ได้แก่ ธาตุอาหาร เกลือแร่ วิตามิน อุณหภูมิ pH ความเข้มข้นของน้ำตาลและสารบางอย่างที่มีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์

1.ผลของธาตุอาหาร เกลือแร่ และวิตามินต่อการหมัก

เมื่อพิจารณาถึงผลของธาตุอาหารแต่ละชนิดต่อการเจริญของยีสต์ สามารถแยกออกเป็นพวกดังนี้

1.1 ไนโตรเจน ยีสต์มีไนโตรเจนเป็นองค์ประกอบประมาณ 10 % ของน้ำหนักแห้ง ดังนั้นไนโตรเจนจึงเป็นธาตุอาหารที่จำเป็น โดยทั่วไปยีสต์สามารถใช้ ammonium ions เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ แต่ในยีสต์บางชนิดต้องการกรดอะมิโนที่เฉพาะเท่านั้น เพราะกรดอะมิโนดังกล่าวเป็นตัวควบคุมการทำงานของ glycolysis pathway สำหรับไนเตรทและไนไตรท์ ยีสต์ทั่วไปไม่สามารถนำมาใช้ได้ นอกจากยีสต์บางชนิด เช่น <u>Candida utilis</u> (Prescott, 1959)

แหล่งไนโตรเจนที่นิยมใช้ในอุตสาหกรรมการหมักแอลกอฮอล์ นิยมใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตเป็นส่วนใหญ่

1.2 ฟอสฟอรัส โดยมากใช้ในรูปเกลือฟอสเฟต มีความสำคัญต่อการเจริญเติบโตของเซล เพราะมันควบคุมการสังเคราะห์ไขมันและคาร์โบไฮเดรทและรักษาสภาพของผนังเซล ดังนั้นฟอสเฟตจึงเป็น ionic factor ที่สำคัญที่สุด ในการหาอัตราการหมัก(rate of fermentation)

1.3 ซัลเฟอร์ ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบประมาณ 0.4 % ของน้ำหนักแห้ง โดยอยู่ในรูปของเมไธโอนีน(methionine, amino acid)แต่เนื่องจากเมไธโอนีนมีราคาแพงมาก ดังนั้นในอุตสาหกรรมจึงใช้เกลือแอมโมเนียมซัลเฟตแทน (เกลือ inorganic sulphate จะถูกเปลี่ยนเป็น methionine ภายในเซลของยีสต์ แต่ต้องอาศัยพลังงาน 2 moles ATP/mole SO_4^{2-} reduced)

1.4 แร่ธาตุต่างๆ(Trace elements) แร่ธาตุที่มีความสำคัญต่อการเจริญและการหมักของยีสต์แบ่งออกได้เป็น 3 พวก ได้แก่

1.4.1 macroelements ได้แก่ K, Mg, Ca, Zn, Fe, Mn, Cl ยีสต์ต้องการ 0.1-1.0 mM

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4.2 microelements ได้แก่ Co, B, Cd, Cr, Cu, I, Mo, Va ยีสต์ต้องการในระดับ 0.1-100 μM

1.4.3 inhibitors Ag, As, Bd, Hg, Li, Ni, Os, Pd, Te ถ้ามีในระดับความเข้มข้นสูงกว่า 10-100 μM จะมีผลยับยั้งการเจริญเติบโตและการหมักโดยยีสต์

ในบางครั้งถ้ามี microelements และ macroelements ในปริมาณมากจะมีผลไปยับยั้งการเจริญเติบโตและการหมักของยีสต์ได้เช่นกัน

1.5 วิตามิน เป็นตัวควบคุม metabolism ของยีสต์ โดยจะควบคุมเอนไซม์ที่เกี่ยวข้อง ทั้งนี้เพราะวิตามินเป็น coenzymes หรือสารเริ่มต้น(precursors) ที่ทำให้เอนไซม์สามารถทำงานได้เต็มที่ วิตามินที่ยีสต์ต้องการส่วนใหญ่เป็นไบโอตินและแพนโธธีนิคแอซิด

1.6 Growth promoting factors ได้แก่ กรดอะมิโน กรดนิวคลีอิค กรดไขมันและสเตอรอยด์(steroid) ซึ่งสารเหล่านี้ถูกใช้ไปในขบวนการสังเคราะห์และเพิ่มปริมาณเอธานอล (ethanol yield)

Growth factor ที่สำคัญสำหรับยีสต์หลายชนิดได้แก่ inosital ในรูปของ Phosphatidyl inostol ทำหน้าที่สำคัญในการรักษาสภาพของเมมเบรนของยีสต์ซึ่งจะมีผลต่อการควบคุมอัตราการหมัก (rate of fermentation) ต่อไป

2.ผลของอุณหภูมิต่อการหมัก

อุณหภูมินับว่ามีความสำคัญมาก ระดับที่ยีสต์หมักแอลกอฮอล์ได้ดีสำหรับยีสต์ที่ใช้กันอยู่ตามโรงงานทั่วไปนั้นอยู่ในช่วง 30-35 °C และจะทนไปได้ถึง 37 °C ถ้าสูงขึ้นไปถึง 40 °C ส่วนใหญ่จะชะงักการเจริญแม้ว่าการหมักจะดำเนินไปได้ถ้ามีปริมาณยีสต์มากพอแล้ว

ถ้าอุณหภูมิในช่วง 10 ชั่วโมงแรกสูงกว่า 37 °C แล้วอาจจะเกิดปัญหาแบคทีเรียเจริญขึ้นมามากเกินไปและจะเป็นผลให้ยีสต์ไม่สามารถเจริญต่อไปได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักที่อุณหภูมิสูงจะทำให้เกิดแอลกอฮอล์หนัก(fusel oil) ซึ่งจะไปมีผลต่ออาการมึนและปวดหัวของผู้บริโภค การลดอุณหภูมิของถังหมักเป็นค่าใช้จ่ายที่เพิ่มขึ้น แต่ก็คงจะคุ้มถ้าสามารถหมักแอลกอฮอล์ได้ในระดับ 9-10 % ภายในเวลา 24-36 ชั่วโมง (วราวุฒิ, 2529)

สาเหตุที่อุณหภูมิในระหว่างการหมักเพิ่มขึ้น เนื่องมาจากกิจกรรมของยีสต์ กล่าวคือในการหมักแอลกอฮอล์ กลูโคส 1 โมเลกุลจะให้ปริมาณความร้อน 26 แคลอรี่ ดังนี้ (Underkofler and Hickler, 1954)

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2C_2H_5OH + 2CO_2 + 26.0 \text{ แคลอรี่}$$

ความร้อนที่เกิดขึ้นเป็นพวก exothermic energy ดังนั้นจึงถ่ายเทลงสู่น้ำหมักทำให้น้ำหมักมีอุณหภูมิสูงขึ้น

3.ผลของ pH ต่อการหมัก

ยีสต์และราชอบเจริญในสภาพที่เป็นกรดพอสมควร คือในระดับ pH 3.8-5.5 ถ้า pH ต่ำกว่า 3 ยีสต์ก็จะไม่เจริญ การปรับ pH ให้อยู่ในระดับที่เหมาะสมต่อการเจริญของยีสต์และราจะช่วยยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียที่ปะปนอยู่ด้วย เพราะแบคทีเรียทั่วไปชอบเจริญในสภาพที่ pH เป็นกลาง แต่ก็มีแบคทีเรียบางชนิด โดยเฉพาะแบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกที่เจริญได้ดีในระดับ pH ที่ยีสต์เจริญ และมักจะสร้างปัญหาเมื่อแบคทีเรียพวกนี้สร้างกรดมามากเกินไป

4.ผลของความเข้มข้นของเอธานอล

เอธานอลที่ได้จากการหมักเองกลับมีผลมายับยั้งการเจริญและการหมักของยีสต์ จะเห็นได้ว่าถ้าเอธานอลมีความเข้มข้นสูงขึ้น อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์จะลดลง ซึ่งจะทำให้อัตราการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

96469

ลดลงไปด้วย ทั้งนี้เนื่องจากเอธานอลไปมีผลต่อเอนไซม์และสรีรวิทยาของเซล ในกรณีแรกเอธานอลจะมีผลต่อการทำงานของเอนไซม์ alcohol dehydrogenase และ hexokinase ในกรณีหลังมีผลต่อเมมเบรนของเซลยีสต์ กล่าวคืออาจมีการทำลายหรือทำให้เมมเบรนเปลี่ยนแปลงไป

อย่างไรก็ตาม นอกจากการยับยั้งการหมักด้วยเอธานอลที่เกิดขึ้นแล้ว ยังต้องมีปัจจัยอื่นควบคู่ไปด้วย เช่น ความเข้มข้นของน้ำตาลสูงและอุณหภูมิสูง เป็นต้น ซึ่งจะทำให้เกิดผลยับยั้งต่อยีสต์อย่างรุนแรง

<u>ข้อควรปฏิบัติและระมัดระวังในการควบคุมขบวนการหมัก</u>

1.การใช้เชื้อราบริสุทธิ์

1.1 ควรใช้สายพันธุ์เชื้อราที่ได้คัดเลือกเป็นอย่างดีแล้วว่ามีความสามารถในการย่อยแป้งได้ดีให้กลิ่นหอม เจริญได้รวดเร็ว ไม่สร้างกรดสูงมากนักและควรทนอุณหภูมิสูงได้ดี

1.2 ควรเก็บรักษาเชื้อต้นตอ(stock culture) เป็นอย่างดี ให้มีโอกาสกลายพันธุ์น้อยที่สุด เช่น ทำ lyophilized โดยนำเชื้อมาทำให้แข็ง(freeze) โดยทันทีแล้วดูดอากาศ(vacuum) ระเหยน้ำออกให้หมด จนแห้งสนิทแล้วลนไฟหลอมปิดปากหลอดให้เชื้อที่แห้งสนิทแล้วมีสภาพเป็นสูญญากาศ เก็บรักษาไว้ในที่เย็น หรือเก็บแช่แข็งภายในถังไนโตรเจนเหลว เป็นต้น

1.3 เชื้อราที่นำมาใช้เตรียมสปอร์ทุกครั้งต้องแน่ใจว่าเป็นเชื้อบริสุทธิ์ ปราศจากเชื้อปนเปื้อนอื่นใด

1.4 เชื้อราที่นำมาใช้เตรียมสปอร์ทุกครั้งต้องแน่ใจว่าไม่กลายพันธุ์ คือยังคงมีคุณสมบัติเหมือนเชื้อต้นตอเดิมทุกประการ โดยเฉพาะความสามารถในการย่อยแป้งไม่ด้อยลง ยังคงให้กลิ่นรสดีดังเดิม

1.5 เพื่อให้ความสามารถในการสร้างเอนไซม์ amylase ของเชื้อไม่ลดน้อยลง อาหารเลี้ยงเชื้อที่ใช้ทุกครั้งต้องมีแป้งเป็นส่วนประกอบอยู่ด้วยเสมอ เพราะหากเลี้ยงเชื้อในอาหารที่มีน้ำตาลแทนแป้งไปนาน เชื้ออาจสูญเสียคุณสมบัติที่ดีในการย่อยแป้งได้โดยง่าย

1.6 หลอดเชื้อที่นำมาใช้ทำสปอร์ไม่ควรเป็นเชื้อเก่า ถ้าเป็นเชื้อเก่าควรทำ preculture คือถ่ายเชื้อลงหลอดใหม่ ประมาณจนเชื้อเจริญดีจึงนำมาใช้งาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.การเตรียมสปอร์ของเชื้อรา

ควรเตรียมให้สปอร์ของเชื้อบริสุทธิ์มากที่สุด ปราศจากเชื้อปนเปื้อนอื่นๆ เมล็ดข้าวและภาชนะที่ใช้ต้องนึ่งให้ปราศจากเชื้อและทำการเขี่ยเชื้อโดยเทคนิคปลอดเชื้อ ควบคุมความชื้นภายในให้เหมาะสมให้เชื้อสร้างสามารถสปอร์ได้มากสมบูรณ์และแข็งแรงมากที่สุด สปอร์ที่ได้ควรเก็บในที่เย็นแห้งและมีโอกาสปนเปื้อนน้อยที่สุด

3.การเตรียม mold bran

3.1 ไม่ใช้สปอร์ที่มีอายุนานเกินไป จนมีอัตราเชื้อรอดตายน้อยลงมาก

3.2 ควบคุมส่วนผสม ปริมาณความชื้น อุณหภูมิและอากาศ ให้เหมาะสำหรับการเจริญของเชื้อรามากที่สุด

3.3 ระมัดระวังไม่ให้เชื้อปนเปื้อนมีโอกาสตกลงไปและมีโอกาสเจริญได้น้อยที่สุด ห้องหรือบริเวณที่คลุกหรือผสมเชื้อและบ่มเชื้อต้องไม่หมักหมมเป็นที่สะสมของของเชื้อปนเปื้อนต่างๆ

3.4 mold bran ที่เตรียมเสร็จแล้วควรจะได้ทำการตรวจสอบจำนวนเชื้อที่สามารถงอกได้เมื่อเตรียมเสร็จใหม่ๆ และตรวจสอบอัตราเชื้อที่รอดตาย เมื่อเก็บไว้เป็นช่วงระยะเวลาต่างๆ เพื่อจะได้แน่ใจว่านำเชื้อที่มีประสิทธิภาพมาใช้งานทุกครั้ง

4.การเตรียมข้าว

4.1 ควรแช่ข้าวให้นานพอที่น้ำสามารถซึมไปได้ถึงส่วนในสุดของเมล็ดข้าวเมื่อนำมานึ่งและไม่ทำให้เมล็ดข้าวแข็งเป็นไต

4.2 นึ่งข้าวให้สุกพอดีไม่แฉะมาก และเมล็ดข้าวไม่ดิบ

4.3 เมื่อล้างน้ำแล้วควรพยายามให้ข้าวสะเด็ดน้ำมากที่สุด มีความชื้นน้อยที่สุดเพื่อแบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเหม็นเปรี้ยวมีโอกาสเจริญได้น้อยที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.การคลุกเชื้อ mold bran และย่อยข้าว

5.1 ควรให้เชื้อรากระจายสม่ำเสมอมากที่สุด เพื่อเชื้อราจะเจริญได้ทั่วถึงและย่อยข้าวได้อย่างมีประสิทธิภาพ

5.2 ข้าวที่คลุก mold bran แล้วควรใส่ในภาชนะหรือห้องบ่มให้เมล็ดข้าวโปร่งมากที่สุด เพราะเชื้อราต้องการอากาศในการเจริญเติบโต ถ้ามีอากาศมากเชื้อราจะเจริญได้เร็ว จึงควรใส่ให้มีพื้นที่ผิวหน้ามากที่สุดและไม่ควรใส่หนามากเกินไป เพราะนอกจากจะมีอากาศไม่พอแล้วหากบ่มปริมาณมากอาจเกิดการสะสมความร้อนมากทำให้เชื้อราที่กำลังเจริญหยุดชงักและตายไป

5.3 ขณะเชื้อราย่อยข้าวควรระมัดระวังไม่ให้อุณหภูมิสูงมากเกินไป และระมัดระวังให้มีการปนเปื้อนน้อยที่สุด

5.4 ควรสุ่มตัวอย่างมาตรวจวัดความหวานหรือปริมาณน้ำตาล และวัดปริมาณกรดสักวันละครั้ง ตั้งแต่เริ่มน้ำต้อยออกมาจนย่อยเสร็จ

6.การหมัก

6.1 เติมน้ำในปริมาณที่เหมาะสม ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับผู้ผลิตว่าต้องการความเข้มข้นของน้ำตาลเป็นเท่าไรจะหมักให้ได้แอลกอฮอล์สักเท่าใดโดยวัดความหวานของน้ำต้อยแล้วคำนวณปริมาณน้ำที่จะต้องเติมโดยปกติจะปรับให้มีน้ำตาลประมาณ 12-20 % ซึ่งจะหมักแอลกอฮอล์ได้ 6-10 % โดยปริมาตร

6.2 เชื้อยีสต์ที่นำมาใช้ต้องเป็นสายพันธุ์ดีที่คัดเลือกไว้แล้ว และเป็นกล้าเชื้อที่กำลังแข็งขันแข็งแรง เติมกล้าเชื้อยีสต์ที่แข็งแรงในปริมาณที่เหมาะสม ประมาณ 3-8 %

6.3 หากแอลกอฮอล์เกิดขึ้นช้าหรือการหมักไม่ดี บางครั้งอาจเป็นเพราะข้าวที่นำมาใช้บางรุ่นมีสารไนโตรเจนที่ไม่พอสำหรับเชื้อยีสต์ ให้เติมในรูปของแอมโมเนียมซัลเฟตประมาณ 0.03 - 0.05 % หรือแอมโมเนียมฟอสเฟตในปริมาณที่เท่ากัน วิธีนี้ความจริงชาวบ้านก็ใช้กันในการทำกระแช่หรือหมักเหล้าโดยปัสสาวะใส่ไหหมัก สารยูเรียในปัสสาวะจะเพิ่มไนโตรเจนช่วยให้ยีสต์หมักได้ดี หรือกรณีที่มีข่าวว่ามีการนำเอายาฆ่าหญ้า เช่น กรัมม็อกโซน ใส่เพื่อให้หมักเหล้าได้ดีกรีแรงขึ้นนั้นความจริงยาฆ่าหญ้านี้ช่วยเพียงไปเพิ่มสารไนโตรเจนที่ยังขาดอยู่จึงทำให้ยีสต์หมักแอลกอฮอล์ได้ดีขึ้นแต่ยาดังกล่าวเป็นอันตรายต่อสุขภาพจึงไม่ควรใช้โดยเด็ดขาด ควรใช้ปุ๋ยแอมโมเนียหรือยูเรียยังจะดีกว่า เพราะปลอดภัยและได้ผลเหมือนกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.4 ควรตรวจวัดอุณหภูมิในถังหมักเป็นระยะๆ และคอยควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงเกินไป

6.5 ควรสุ่มตัวอย่างมาตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ และความเป็นกรดเป็นระยะๆอย่างน้อยวันละครั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ห้องสมุดคณะเทคโนโลยีการเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าลาดกระบัง

วัตถุดิบ อุปกรณ์ และวิธีการ

วัตถุดิบ อุปกรณ์

1. วัตถุดิบที่ใช้

   1.1 ข้าวสารเหนียว

2. สารเคมี

   2.1 25 % HCl

   2.2 1 N , 4 molar NaOH

   2.3 glucose (AR grade)

   2.4 Copper reagent และ Nelson reagent สำหรับหาน้ำตาล ตามวิธีของ Samoghi and Nelson

   2.5 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$

   2.6 $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$

   2.7 NaK tratrate

   2.8 $CuSO_4 \cdot 5H_2O$

   2.9 Na_2SO_4

   2.10 Na_2SO_4

   2.11 Ammonium molibdate

   2.12 Ammonium sulfate

3. อุปกรณ์

   3.1 กล้องจุลทรรศน์

   3.2 Haemacytometer

   3.3 refractometer

   3.4 หม้อนึ่งความดัน (autoclave)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

14083

3.5 เครื่องแก้วที่ใช้ในการวิเคราะห์

3.6 ตู้บ่มเชื้อ

3.7 pH-meter

3.8 Spectrophotometer

3.9 เครื่องชั่งน้ำหนัก

3.10 หม้อนึ่งข้าวเหนียว

3.11 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.12 ลวดเขี่ยเชื้อ

4. อาหารเลี้ยงเชื้อ

4.1 PDA

5. เชื้อจุลินทรีย์

5.1 Saccharomyces cervisiae Sc.90

5.2 Aspergillus oryzae

5.3 Rhizopus oryzae

วิธีการ

กรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

1. เลี้ยงเชื้อรา Aspergillus oryzae ใน PDA นาน 5-6 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C จนมีสปอร์สีเขียว
2. ใช้น้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว ใส่ลงในหลอดเชื้อรา 5 มล./หลอด
3. ผสมเชื้อรากับข้าวนึ่ง โดยใช้เชื้อรา 1 หลอด ต่อ ข้าว 100 กรัม ผสมให้เข้ากัน
   (ข้าวผ่านการแช่น้ำ 10 นาที แล้วนำไปนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นในข้าวนึ่ง)
4. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 34-36 °C เป็นเวลา 24 ชม. โดยใส่ในถาดลึกประมาณ 2 นิ้ว แต่ละถาดใส่ข้าวประมาณ 1/2 กิโลกรัม รองด้วยผ้าขาวบาง 4-5 ชั้นและปิดทับด้วยผ้าขาวบางอีก 4-5 ชั้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แล้วนำไปใส่ในถุงพลาสติกโดยไม่ต้องปิดปากถุงอีกทีหนึ่ง (ก่อนจะนำเข้าบ่ม ให้ใช้น้ำอุ่นฉีดสเปรย์ในตู้บ่มก่อน)

หมายเหตุ ขณะบ่มให้ดูว่ามีหยดน้ำเกาะที่ถุงพลาสติกหรือไม่ ถ้ามีให้เอาออกจากตู้บ่มเลย แต่ถ้าไม่มี เมื่อครบเวลา 24 ชม. ก็ให้เอาออก

5. นำไปทำให้แห้ง โดยใช้หนังยางรัดเป็นก้อน ก้อนหนึ่งประมาณ 1/2 กิโลกรัม ใส่ถาด นำไปผึ่งที่ร่ม 2-3 วัน จนหมาดดี แล้วค่อยนำไปตากแดดอ่อนๆให้แห้งสนิท 2-3 วัน ก็จะสร้างสปอร์มากมาย เรียกว่า TANE-KOJI ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี pour plate

6. เอาข้าวแช่น้ำ 10 นาที นำไปนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำให้เย็นลง อุณหภูมิประมาณ 35 °C

7. ผสม tane-koji 60-100 กรัม ต่อ ข้าวนึ่ง 1,000 กรัม (ข้าวผ่านการแช่น้ำ 10 นาที แล้วนำไปนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 5 นาที) คลุกให้เข้ากัน

8. นำเข้าไปบ่มในตู้บ่มเก็บความชื้นอุณหภูมิ 26-28 °C หลังจากบ่มนาน 10-12 ชม.ให้คลุกอีก เพื่อควบคุมอุณหภูมิ ความชื้น ให้เชื้อราเจริญได้สม่ำเสมอโดยทั่วถึงกัน หลังจากนั้นอีก 10-12 ชม. จะมองเห็นจุดสีขาวของเชื้อราที่ขึ้นบนเมล็ดข้าวได้ด้วยตาเปล่า ให้นำเมล็ดข้าวมาเกลี่ยบนกระด้ง กระด้งละประมาณ 1.5-2.0 กิโลกรัม เอาผ้าขาวบางรองข้างใต้ เกลี่ย คลุมด้วยผ้าขาวบางอีก 4-5 ชั้น เพื่อเก็บความชื้น ความสูงของข้าวจากกระด้งประมาณ 1 นิ้ว (ไม่เกิน $1\frac{1}{2}$ นิ้ว) นำไปวางซ้อนกันเป็นชั้นๆ จากนั้นทำการคลุกเมล็ดข้าวด้วยมือเบาๆทุก 6-8 ชม.(ทั้งหมด 4 ครั้ง) จนครบ 40-48 ชม. ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่า KOJI ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี pour plate

9. เก็บเข้าตู้เย็นไว้ใช้

10. นึ่งข้าวเหนียวให้สุก แล้วทำให้เย็นลง

11. คลุก koji ลงไปในอัตราส่วน koji ต่อ ข้าวเหนียวสุก เท่ากับ 1:4 นำไปบ่มในขวดโหล เป็นเวลา 3 วัน (ต้องคอยควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงเกิน 40 °C เพราะถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้อีกเพียงเล็กน้อย เชื้อราก็จะหยุดการเจริญ ทำให้การย่อยข้าวไม่สมบูรณ์)

12. เติม $(NH_4)_2SO_4$ 0.05 %, yeast 3 %, น้ำซึ่งเติมให้มีน้ำตาล 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % และเติมกรดแลคติก เพื่อปรับ pH 3.6-3.8 นำไปหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- pH โดยใช้ pH-meter
- % alcohol โดยใช้ Gas Chromatography
- ปริมาณน้ำตาล โดยใช้ refractometer
- ปริมาณเชื้อ โดยวิธีการนับโดยตรงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย Haemacytometer

13.ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึง 12 แต่เปลี่ยนเชื้อราเป็น Rhizopus oryzae

กรรมวิธีการหมักแบบไทย

1.เลี้ยงเชื้อรา Rhizopus oryzae ใน PDA นาน 5-6 วัน ที่อุณหภูมิ 30 °C จนมีสปอร์สีเทาดำ

2.ใช้ข้าวเหนียว 20 กรัม ใส่ใน flask ขนาด 500 มล. แช่น้ำ 10 นาที เทน้ำทิ้งให้หมด เกลี่ยข้าวให้ติด flask นำไปนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 5 นาที แล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้นของข้าวใน flask

3.ใช้ช้อนที่ฆ่าเชื้อแล้วตักสปอร์เชื้อราเพียงเล็กน้อยใส่ลงใน flask นำไปบ่มในตู้บ่มเก็บความชื้นที่อุณหภูมิ 35 °C เป็นเวลา 4-5 วันเชื้อราจะเจริญเต็มที่และสร้างสปอร์สีเทาดำ (นำไปผึ่งให้แห้งสนิทจะเก็บไว้ได้นาน)

4.ใช้รำหยาบ รำละเอียดและปลายข้าว คลุกผสมกันในอัตราส่วน 1:1:1 และเติมน้ำอีกประมาณ 1 ส่วน โดยกะให้พอเหมาะคือ ขนาดพอบีบด้วยกำมือแล้วยังเกาะติดกันไม่ร่วนและพอดีไม่มีน้ำหยดออกมาเมื่อบีบเต็มที่ นำไปนึ่งฆ่าเชื้อที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นแล้วทำการวิเคราะห์ปริมาณความชื้น

5.คลุกสปอร์จาก flask ลงไปประมาณ 0.05-0.3 % คลุกให้ทั่ว จากนั้นนำไปใส่กระด้งคลุมด้วยผ้าสะอาด วางซ้อนกันบนชั้นในตู้บ่มเก็บความชื้น บ่ม 2-3 วัน เชื้อราก็จะเจริญเต็มที่และเส้นใยสานกันเป็นร่างแห ทำให้รำและปลายข้าวจับกันเป็นก้อน นำไปผึ่งในที่ร่ม 2-3 วัน จนหมาดดี แล้วค่อยนำไปตากแดดอ่อนๆให้แห้งสนิท 2-3 วัน ใส่ถุง เก็บไว้ในที่เย็นและไม่ให้มีความชื้นเข้า ผลิตภัณฑ์ที่ได้เรียกว่า mold bran ตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์โดยวิธี pour plate

6.นึ่งข้าวเหนียวให้สุก แล้วทำให้เย็นลง

7.คลุก mold bran ลงไป 0.05-0.5 % นำไปบ่มในขวดโหล เป็นเวลา 3 วัน (ต้องคอยควบคุมอุณหภูมิไม่ให้สูงเกิน 40 °C เพราะถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้อีกเพียงเล็กน้อย เชื้อราก็จะหยุดการเจริญ

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำให้การย่อยข้าวไม่สมบูรณ์)

8. เติม $(NH_4)_2SO_4$ 0.05 %, yeast 3 %, น้ำซึ่งเติมให้มีน้ำตาล 15 %, 20 %, 25 %, 30 %, 35 % และเติมกรดแลคติก เพื่อปรับ pH 3.6-3.8 นำไปหมักที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน เก็บตัวอย่างที่เวลา 0, 24, 36, 48, 60 และ 72 ชั่วโมง เพื่อตรวจสอบ

- pH โดยใช้ pH-meter
- % alcohol โดยใช้ Gas Chromatography
- ปริมาณน้ำตาล โดยใช้ refractometer
- ปริมาณเชื้อ โดยวิธีการนับโดยตรงภายใต้กล้องจุลทรรศน์ด้วย Haemacytometer

9. ทำซ้ำตั้งแต่ข้อ 1 ถึง 8 แต่เปลี่ยนเชื้อราเป็น Aspergillus oryzae

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการทดลอง

ตารางที่ 4 ปริมาณความชื้นของข้าวนึ่งและ mold bran ของเชื้อ Aspergilus oryzae และ Rhizopus oryzae

	ปริมาณความชื้นเฉลี่ย (%)	
	Aspergillus oryzae	Rhizopus oryzae
ข้าวที่แช่น้ำ 10 นาที แล้วนำไปนึ่งที่ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 5 นาที	37.92	39.22
ข้าวใน flask ที่แช่น้ำ 10 นาที แล้วนำไปนึ่งที่ ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 5 นาที	27.08	26.20
mold bran	46.17	45.44

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 5 ปริมาณจุลินทรีย์ที่ตรวจวิเคราะห์โดยวิธี pour plate ของเชื้อ Aspergilus oryzae และ Rhizopus oryzae

	ปริมาณจุลินทรีย์ที่มีในตัวอย่างอาหาร (เซลต่อกรัม)	
	Aspergillus oryzae	Rhizopus oryzae
Tane-koji	178×10^6	93×10^4
Koji	216×10^5	$<30 \times 10^5$
Mold Bran	198×10^4	45×10^4

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 6 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	0.0445	0.0408	0.0542	0.0523	0.2404
24	1.3545	1.2974	1.0978	0.4590	0.5123
36	5.1000	5.2397	6.9715	4.5236	3.1961
48	5.7238	6.9040	8.6566	8.6908	8.3446
60	5.7276	7.3183	9.0785	10.0320	10.9709
72	5.6447	9.1296	11.5408	10.7526	12.0442

ตารางที่ 7 ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	3.59	3.70	3.78	3.78	3.80
24	3.80	3.85	4.20	4.10	4.08
36	3.52	3.61	3.80	3.99	4.00
48	4.05	4.10	4.35	4.30	4.35
60	4.00	4.10	4.35	4.30	4.35
72	3.68	3.80	3.95	3.92	4.00

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 8 ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักเมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	8.0	10.8	12.4	16.2	19.6
24	8.2	10.0	14.6	18.0	21.0
36	5.9	7.8	10.7	14.9	18.9
48	4.1	5.9	7.8	10.4	13.8
60	4.0	5.3	7.0	8.9	11.0
72	4.0	5.2	6.8	8.2	10.4

ตารางที่ 9 ปริมาณเซลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	2.00×10^{6}	2.80×10^{6}	3.20×10^{6}	6.90×10^{6}	1.99×10^{7}
24	3.78×10^{7}	3.98×10^{7}	3.98×10^{7}	1.58×10^{8}	1.74×10^{8}
36	4.17×10^{7}	4.57×10^{7}	5.01×10^{7}	1.20×10^{8}	1.99×10^{8}
48	3.89×10^{7}	4.20×10^{7}	3.98×10^{7}	1.62×10^{8}	1.90×10^{8}
60	3.54×10^{7}	4.15×10^{7}	3.89×10^{7}	1.32×10^{8}	1.90×10^{8}
72	3.50×10^{7}	3.89×10^{7}	3.77×10^{7}	1.23×10^{8}	1.48×10^{8}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 10 log number of yeast cells/ml ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	6.30	6.45	6.51	6.84	7.30
24	7.58	7.60	7.60	8.20	8.24
36	7.62	7.66	7.70	8.08	8.30
48	7.59	7.62	7.60	8.21	8.28
60	7.55	7.62	7.59	8.12	8.28
72	7.54	7.59	7.58	8.09	8.17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 11 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	0.7274	1.0254	1.2393	1.5520	1.0162
24	1.9419	3.1864	4.1612	5.0227	5.9580
36	4.0706	5.7828	7.9834	9.7291	8.6497
48	5.0322	6.3610	7.6363	8.8295	9.6799
60	5.8351	7.5926	8.3196	9.5663	10.6051
72	6.0998	7.6000	9.8620	10.0239	10.3975

ตารางที่ 12 ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	3.60	3.62	3.70	3.68	3.60
24	3.40	3.38	3.40	3.42	3.50
36	3.40	3.40	3.50	3.56	3.60
48	3.49	3.50	3.60	3.65	3.78
60	3.46	3.58	3.68	3.70	3.80
72	3.38	3.50	3.58	3.60	3.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 13 ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักเมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	7.4	9.4	12.0	14.8	17.4
24	6.8	8.0	10.1	12.0	14.0
36	5.6	6.4	8.0	9.8	11.8
48	4.5	5.2	6.8	8.2	10.2
60	4.2	5.1	6.4	8.0	10.2
72	4.0	5.2	6.4	8.0	10.5

ตารางที่ 14 ปริมาณเชลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	4.80×10^{6}	6.00×10^{6}	6.60×10^{6}	7.90×10^{6}	1.88×10^{7}
24	3.16×10^{7}	6.30×10^{7}	3.16×10^{7}	9.90×10^{7}	1.26×10^{8}
36	3.20×10^{7}	6.00×10^{7}	4.17×10^{7}	1.10×10^{8}	1.69×10^{8}
48	3.19×10^{7}	6.10×10^{7}	4.47×10^{7}	9.50×10^{7}	1.65×10^{8}
60	3.30×10^{7}	5.80×10^{7}	3.87×10^{7}	8.90×10^{7}	1.58×10^{8}
72	3.15×10^{7}	5.40×10^{7}	3.85×10^{7}	8.80×10^{7}	1.43×10^{8}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 15 log number of yeast cells/ml ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	6.68	6.78	6.82	6.90	7.27
24	7.50	7.80	7.50	7.99	8.10
36	7.51	7.78	7.62	8.04	8.23
48	7.50	7.78	7.65	7.98	8.22
60	7.52	7.86	7.59	7.95	8.20
72	7.50	7.73	7.59	7.94	8.16

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 16 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	0.1023	0.0918	0.0841	0.0765	0.8505
24	0.8290	0.5735	0.4800	0.4501	0.6786
36	1.5283	1.1833	0.5487	1.4107	0.4626
48	2.2522	2.1897	2.2026	2.1451	1.2309
60	2.8475	3.1896	3.4331	4.4535	3.1089
72	2.8900	4.1565	4.6855	6.2129	3.4965

ตารางที่ 17 ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	3.72	3.75	3.69	3.71	3.75
24	3.85	3.80	3.75	3.92	4.05
36	3.72	3.70	3.78	3.75	3.85
48	3.65	3.62	3.58	3.68	3.85
60	3.69	3.60	3.59	3.65	3.75
72	3.68	3.70	3.70	3.75	3.88

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 18 ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	9.4	12.6	15.6	18.8	21.6
24	10.4	13.8	16.2	19.6	22.6
36	9.6	13.0	15.4	19.0	22.8
48	8.6	11.9	14.0	17.3	22.0
60	7.4	10.6	12.8	15.4	21.0
72	7.0	9.2	11.4	14.0	20.2

ตารางที่ 19 ปริมาณเชลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	2.00×10^{6}	3.30×10^{6}	6.50×10^{6}	6.80×10^{6}	1.02×10^{7}
24	1.58×10^{7}	1.99×10^{7}	2.51×10^{7}	1.20×10^{7}	1.99×10^{7}
36	1.91×10^{7}	2.51×10^{7}	3.31×10^{7}	3.16×10^{7}	2.51×10^{7}
48	2.45×10^{7}	2.50×10^{7}	3.16×10^{7}	3.20×10^{7}	3.98×10^{7}
60	2.33×10^{7}	2.49×10^{7}	2.82×10^{7}	3.10×10^{7}	3.80×10^{7}
72	2.10×10^{7}	2.51×10^{7}	2.70×10^{7}	2.80×10^{7}	3.50×10^{7}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 20 log number of yeast cells/ml. ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	6.30	6.52	6.81	6.83	7.01
24	7.20	7.30	7.40	7.08	7.30
36	7.28	7.40	7.52	7.50	7.40
48	7.39	7.40	7.50	7.51	7.60
60	7.37	7.40	7.45	7.49	7.58
72	7.32	7.40	7.43	7.45	7.54

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 21 ปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	0.9223	1.3271	1.4947	1.7159	1.8716
24	0.3374	4.4323	4.5427	4.3017	3.8623
36	2.8993	3.5569	5.0447	5.4728	5.8370
48	4.1134	5.2078	6.8990	6.8933	7.8179
60	4.0670	6.0564	4.5101	6.1300	6.9365
72	4.3073	6.2282	9.1510	8.8653	3.8534

ตารางที่ 22 ความเป็นกรด-ด่างในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	3.70	3.63	3.69	3.71	3.60
24	3.40	3.60	3.50	3.40	3.40
36	3.30	3.50	3.60	3.40	3.40
48	3.54	3.54	3.50	3.60	3.56
60	3.40	3.50	3.50	3.50	3.60
72	3.50	3.50	3.60	3.62	3.70

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 23 ปริมาณน้ำตาล(°Brix)ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมักเมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	10.0	12.8	16.0	19.2	21.8
24	9.0	12.0	14.2	17.4	20.4
36	8.5	11.0	13.0	16.0	18.8
48	8.0	10.0	11.8	14.6	17.2
60	7.8	9.6	11.2	13.9	16.1
72	7.8	9.2	11.0	13.4	15.5

ตารางที่ 24 ปริมาณเซลยีสต์ต่อมิลลิลิตรในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

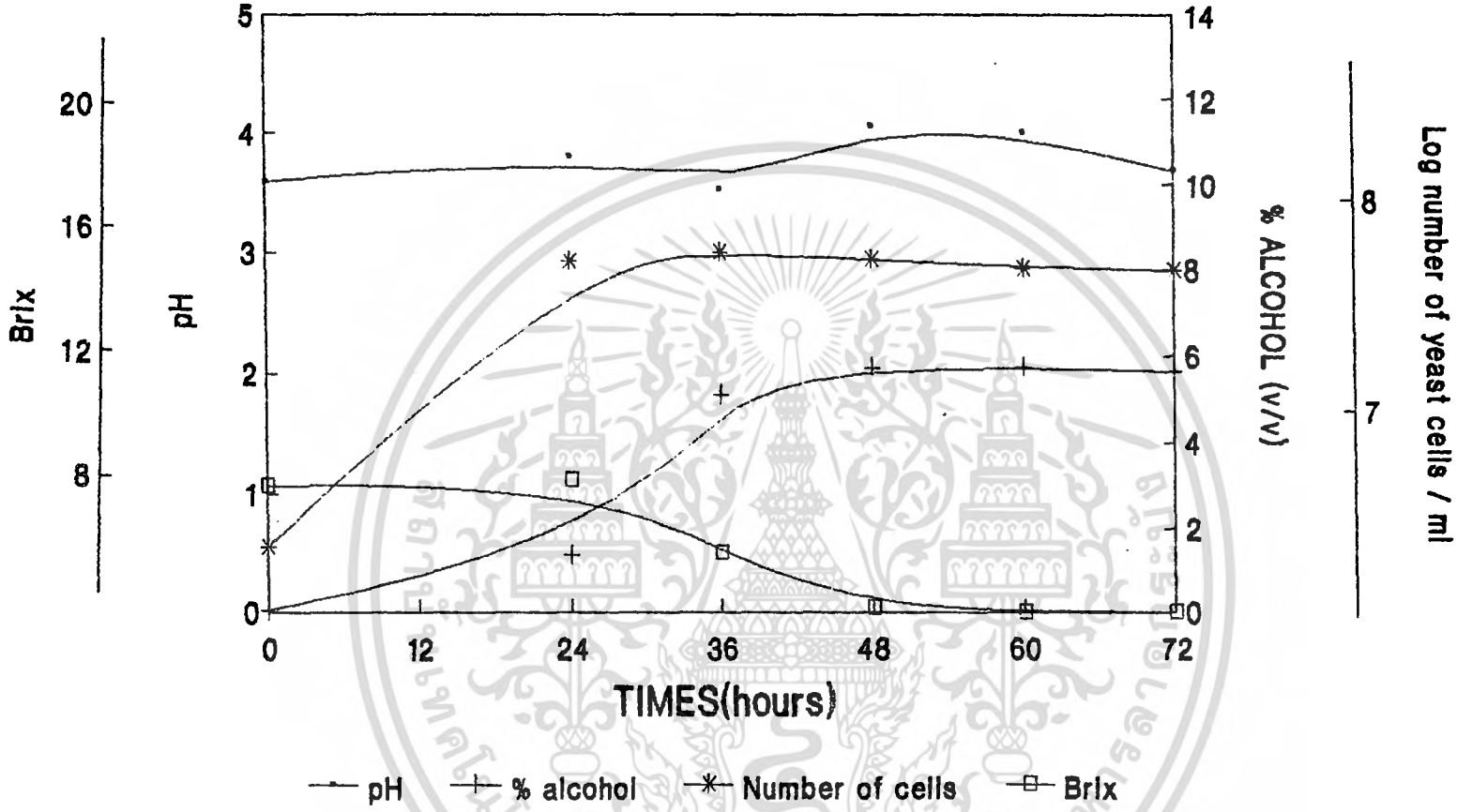
เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	2.90×10^{6}	3.55×10^{6}	5.01×10^{6}	6.31×10^{6}	1.99×10^{7}
24	1.26×10^{7}	2.24×10^{7}	1.78×10^{7}	2.23×10^{7}	3.98×10^{7}
36	1.58×10^{7}	3.16×10^{7}	2.14×10^{7}	3.54×10^{7}	5.01×10^{7}
48	1.78×10^{7}	3.23×10^{7}	2.16×10^{7}	3.53×10^{7}	5.10×10^{7}
60	1.78×10^{7}	3.11×10^{7}	2.16×10^{7}	3.16×10^{7}	5.23×10^{7}
72	1.79×10^{7}	3.24×10^{7}	2.15×10^{7}	3.14×10^{7}	4.56×10^{7}

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

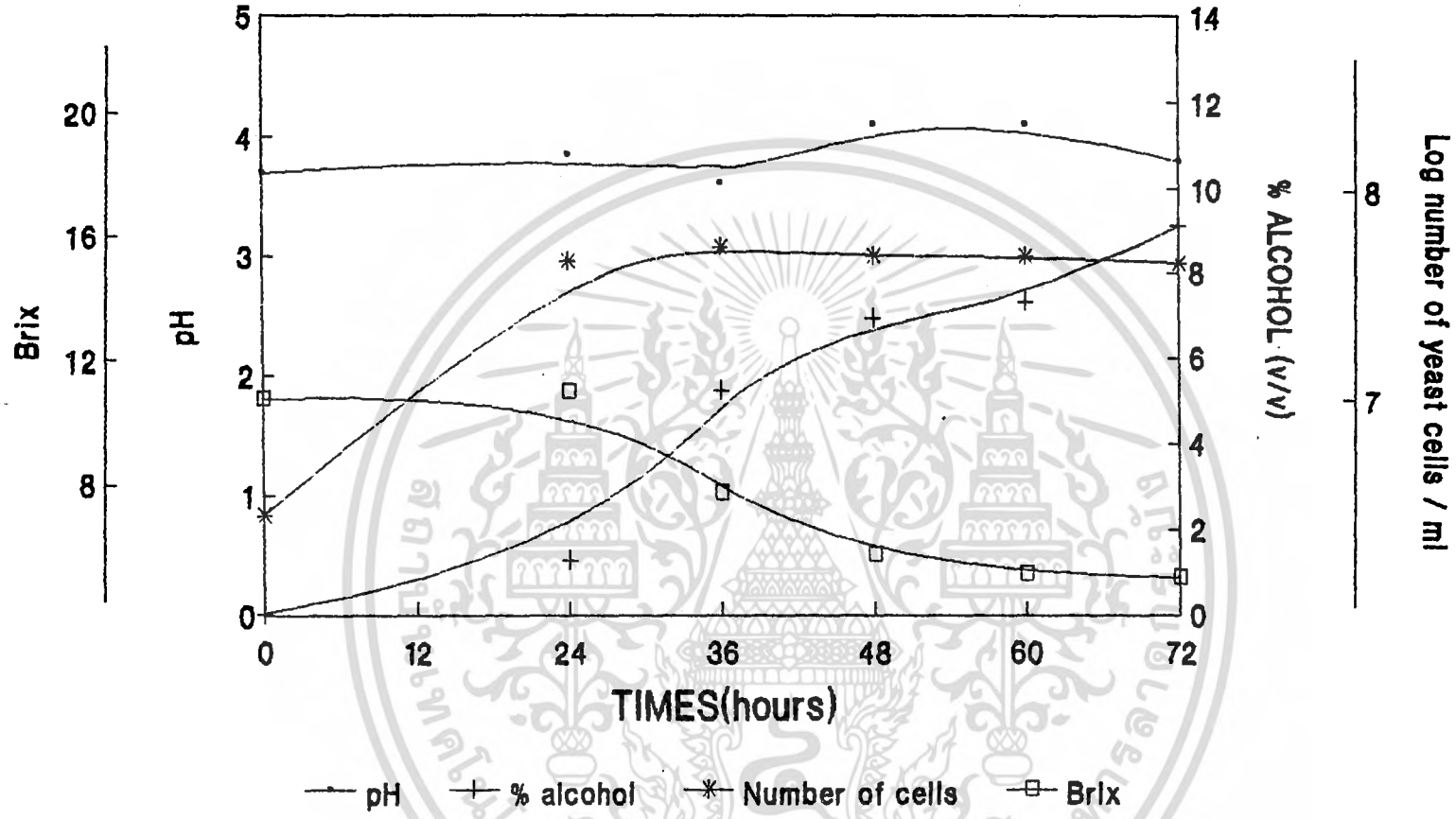
ตารางที่ 25 log number of yeast cells/ml. ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้ Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เวลาที่บ่ม(ชม.)	ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น (%)				
	15 %	20 %	25 %	30 %	35 %
0	6.46	6.55	6.70	6.80	7.30
24	7.10	7.35	7.25	7.35	7.60
36	7.20	7.50	7.33	7.55	7.70
48	7.25	7.49	7.33	7.50	7.72
60	7.25	7.51	7.33	7.50	7.66
72	7.22	7.50	7.33	7.49	7.62

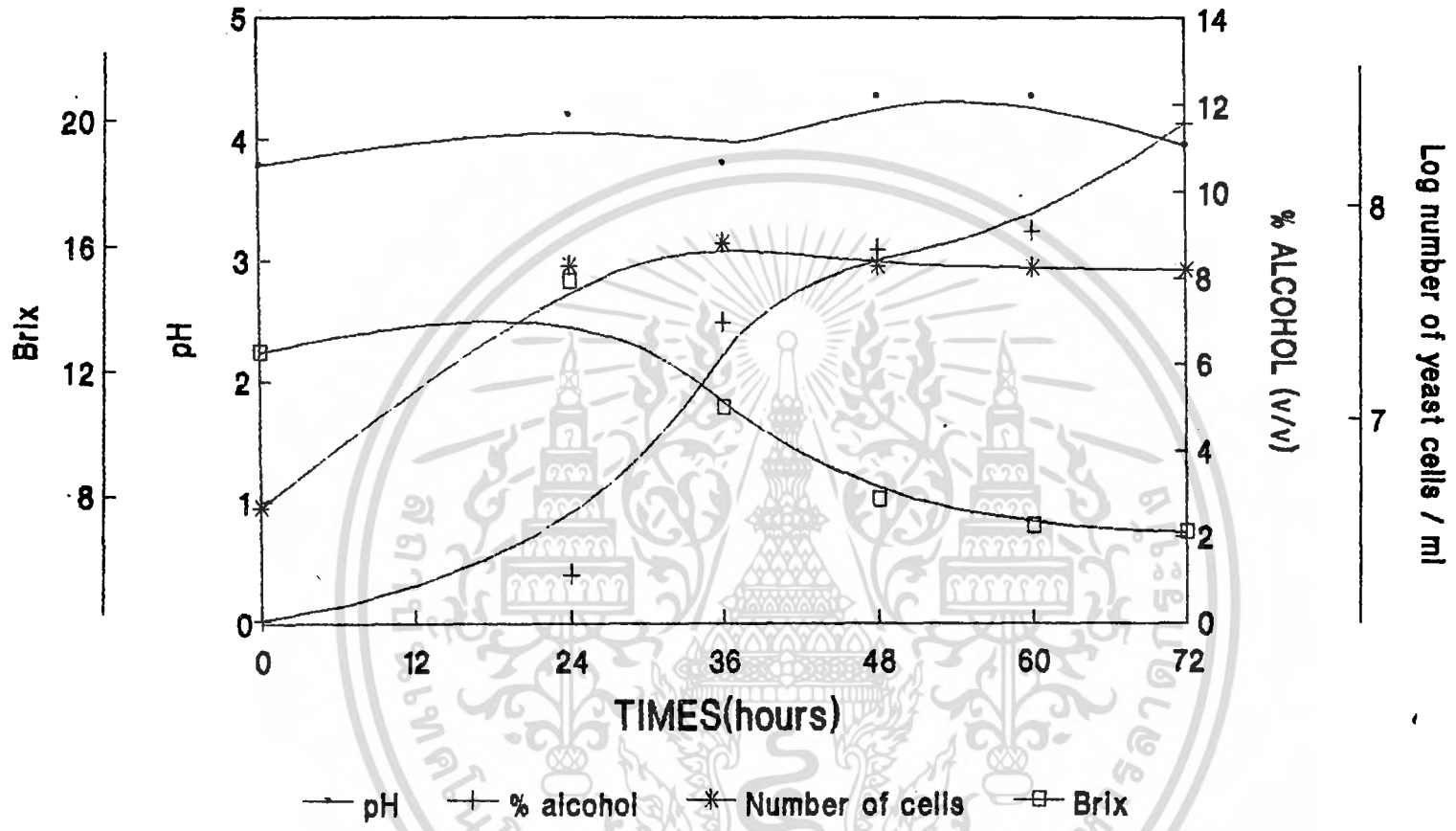
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



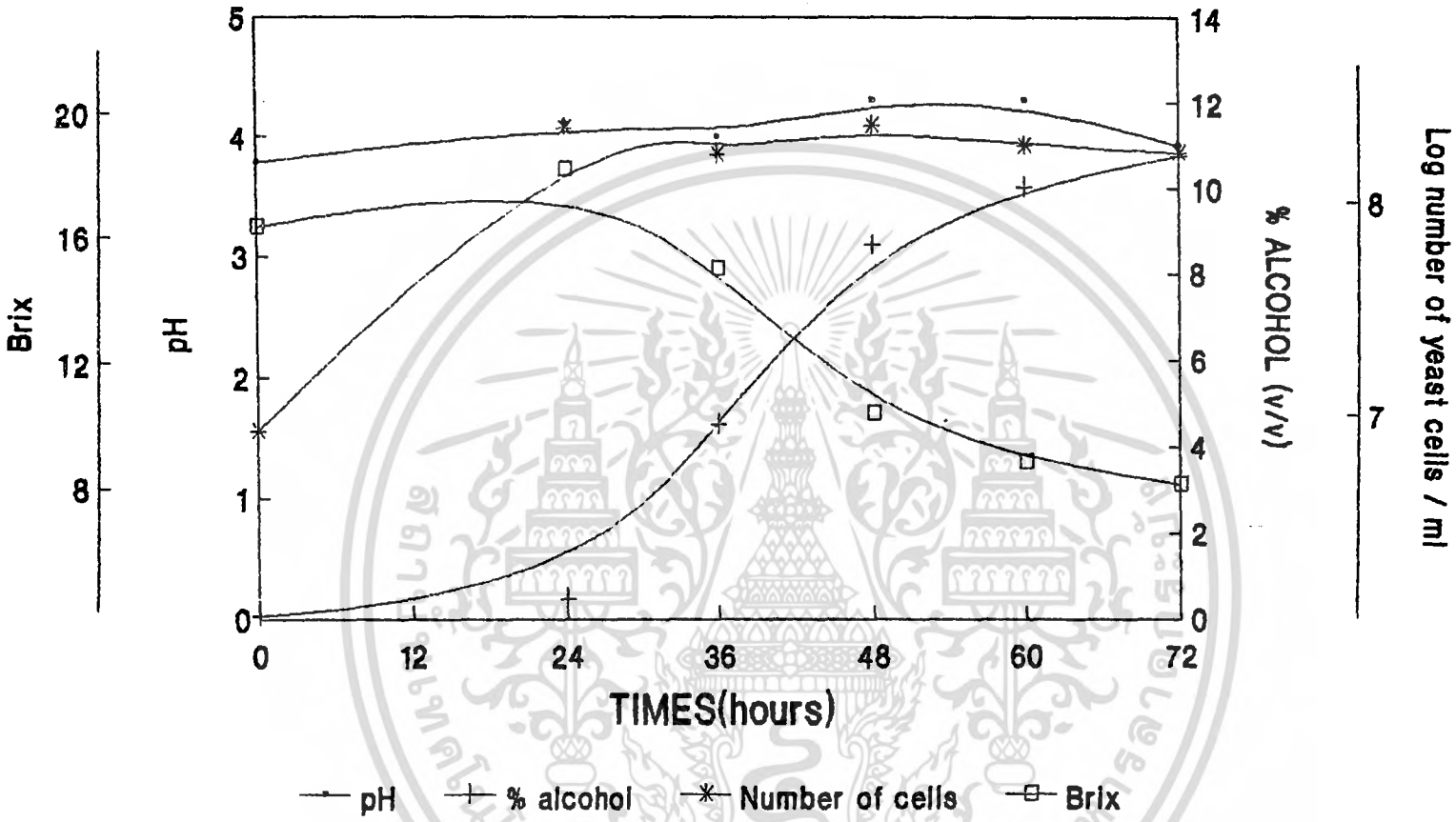
ภาพที่ 2 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %



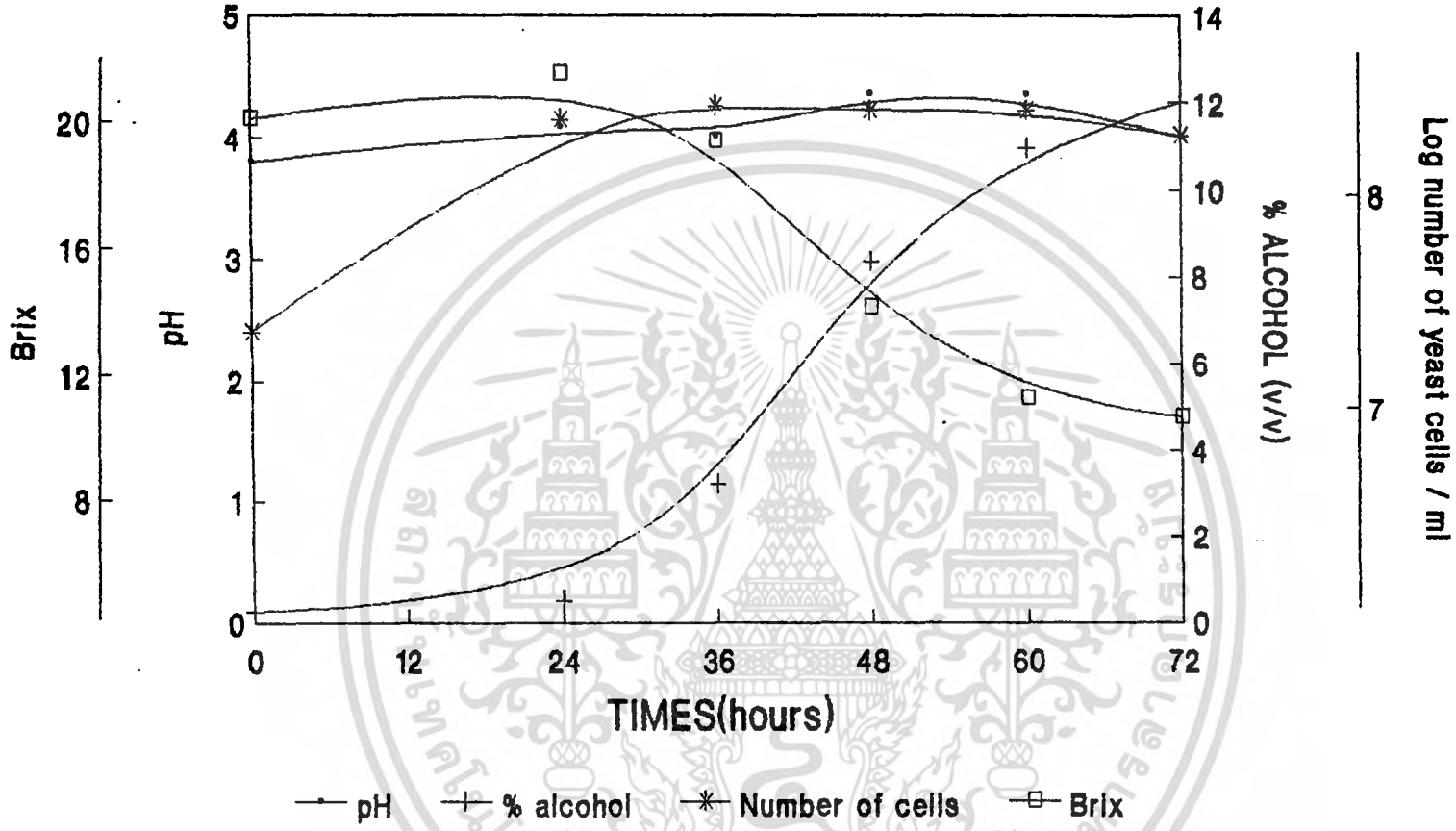
ภาพที่ 3 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %



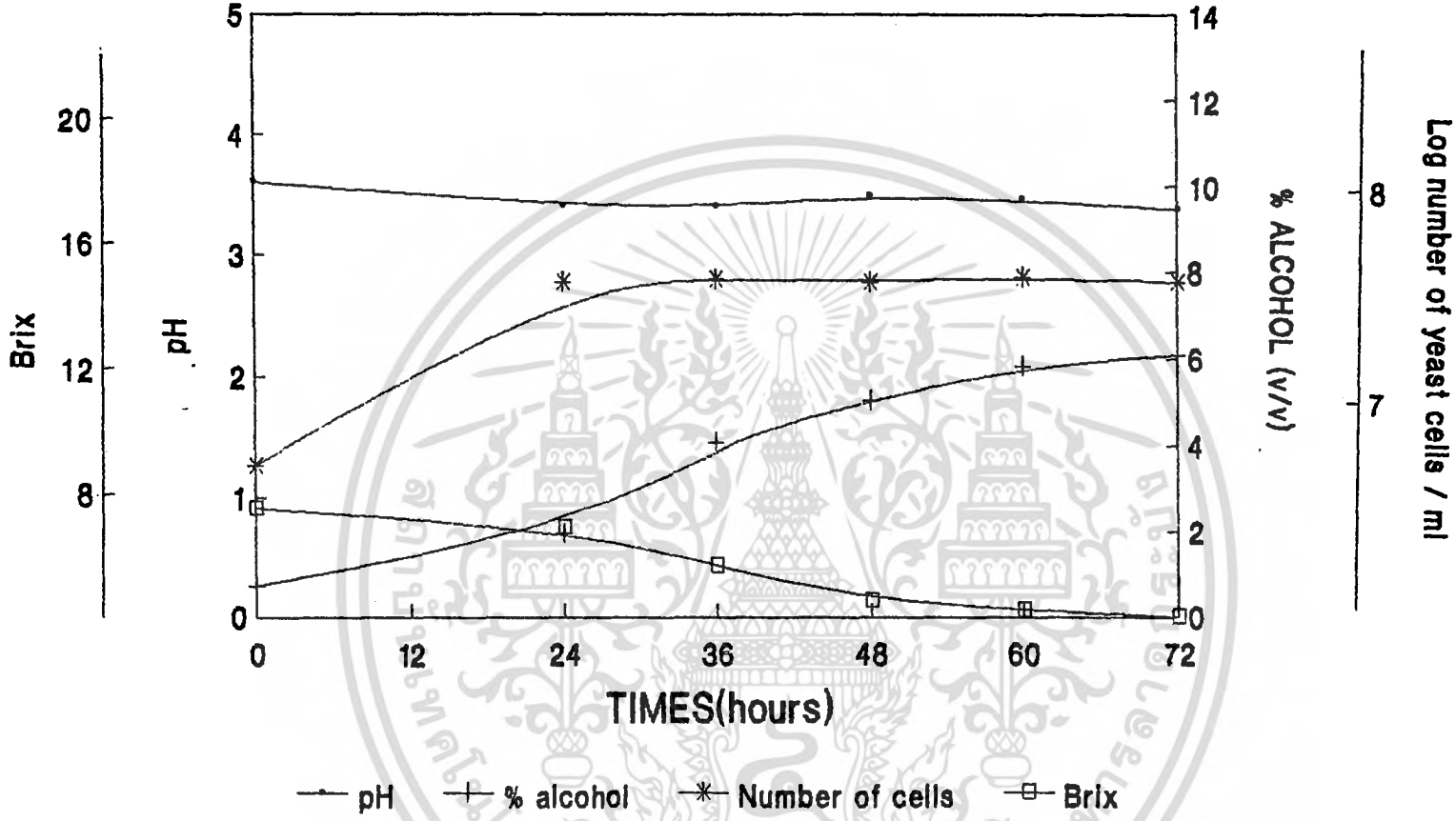
ภาพที่ 4 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %



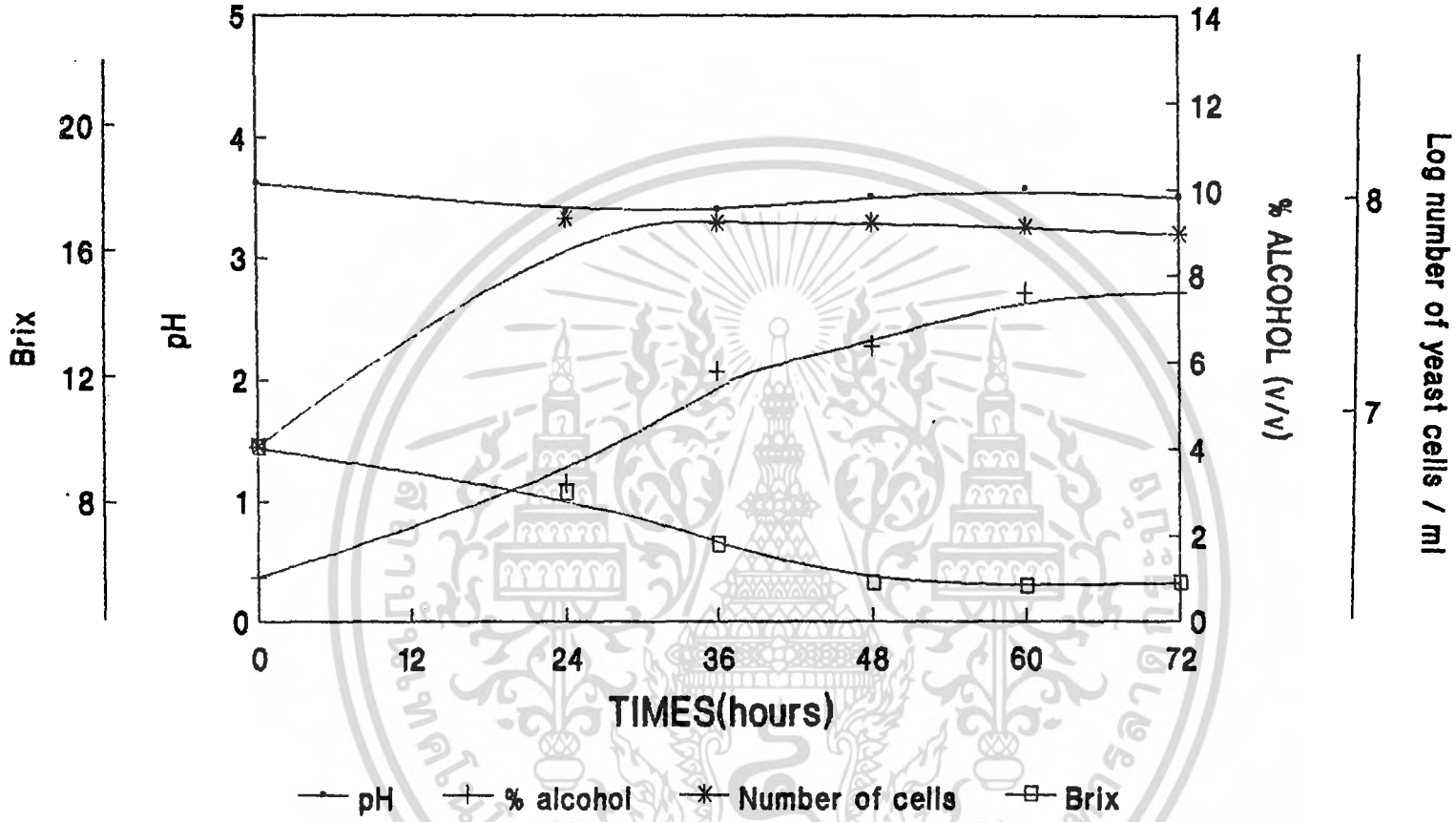
ภาพที่ 5 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %



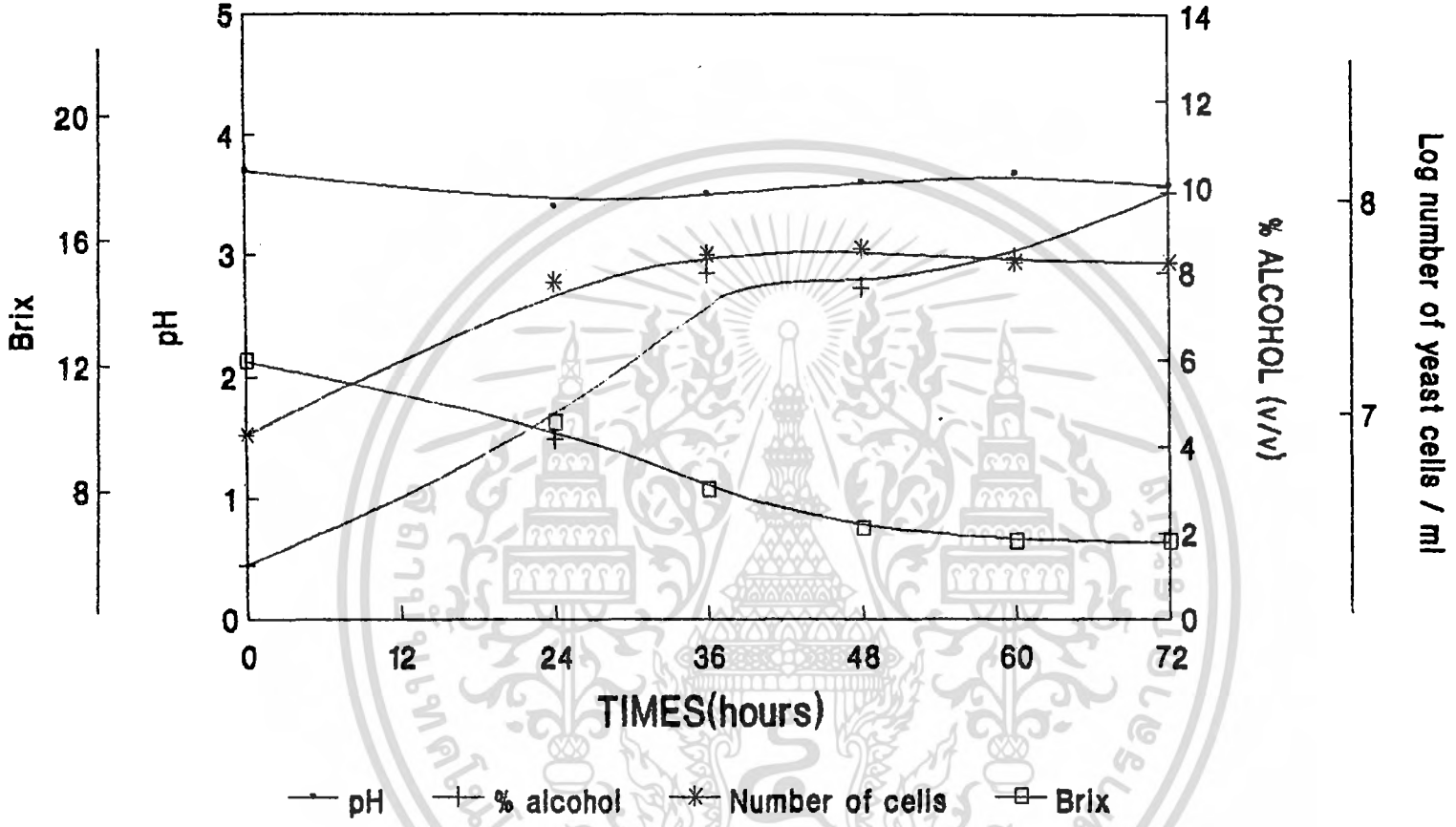
ภาพที่ 6 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %



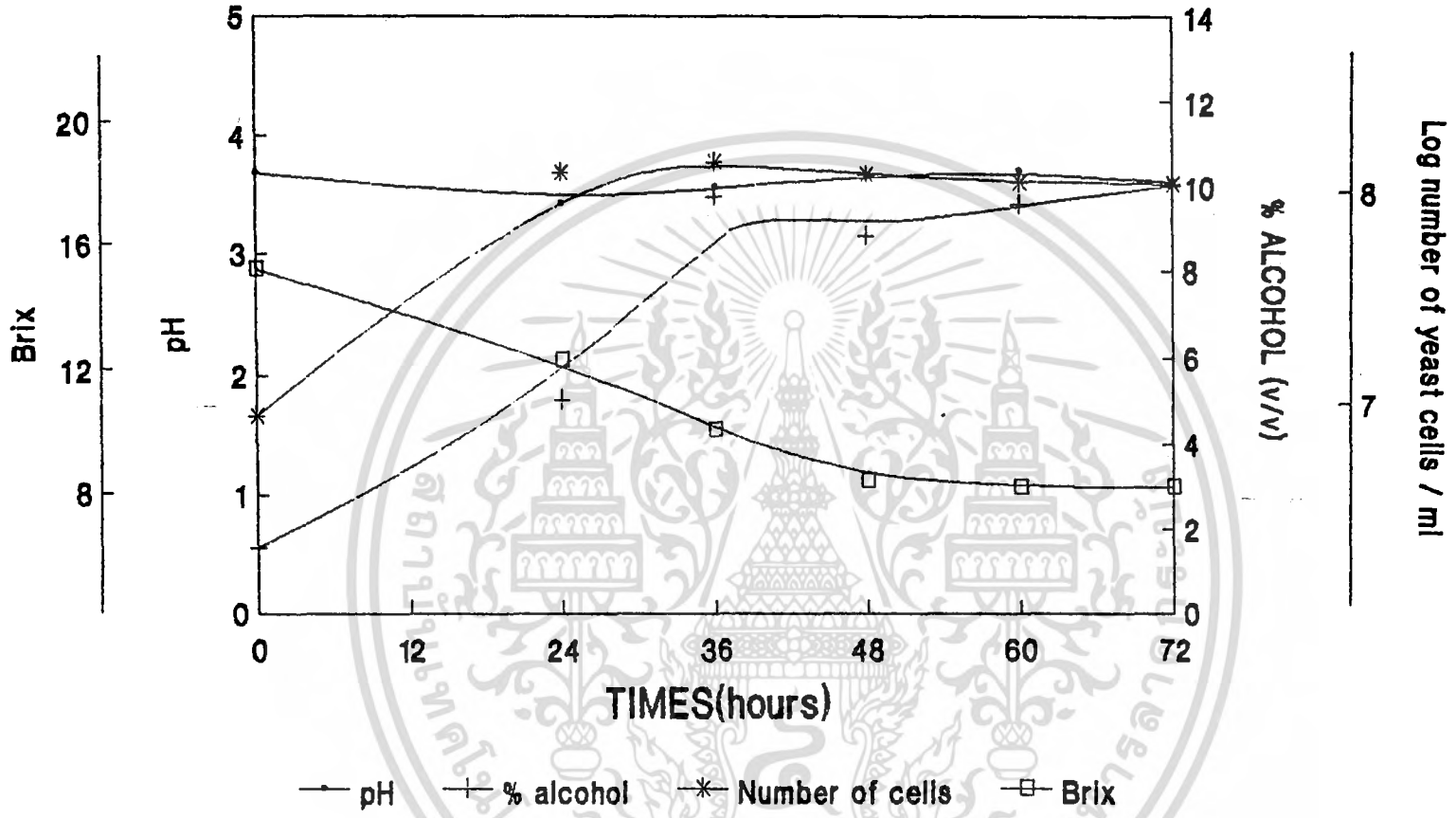
ภาพที่ 7 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %



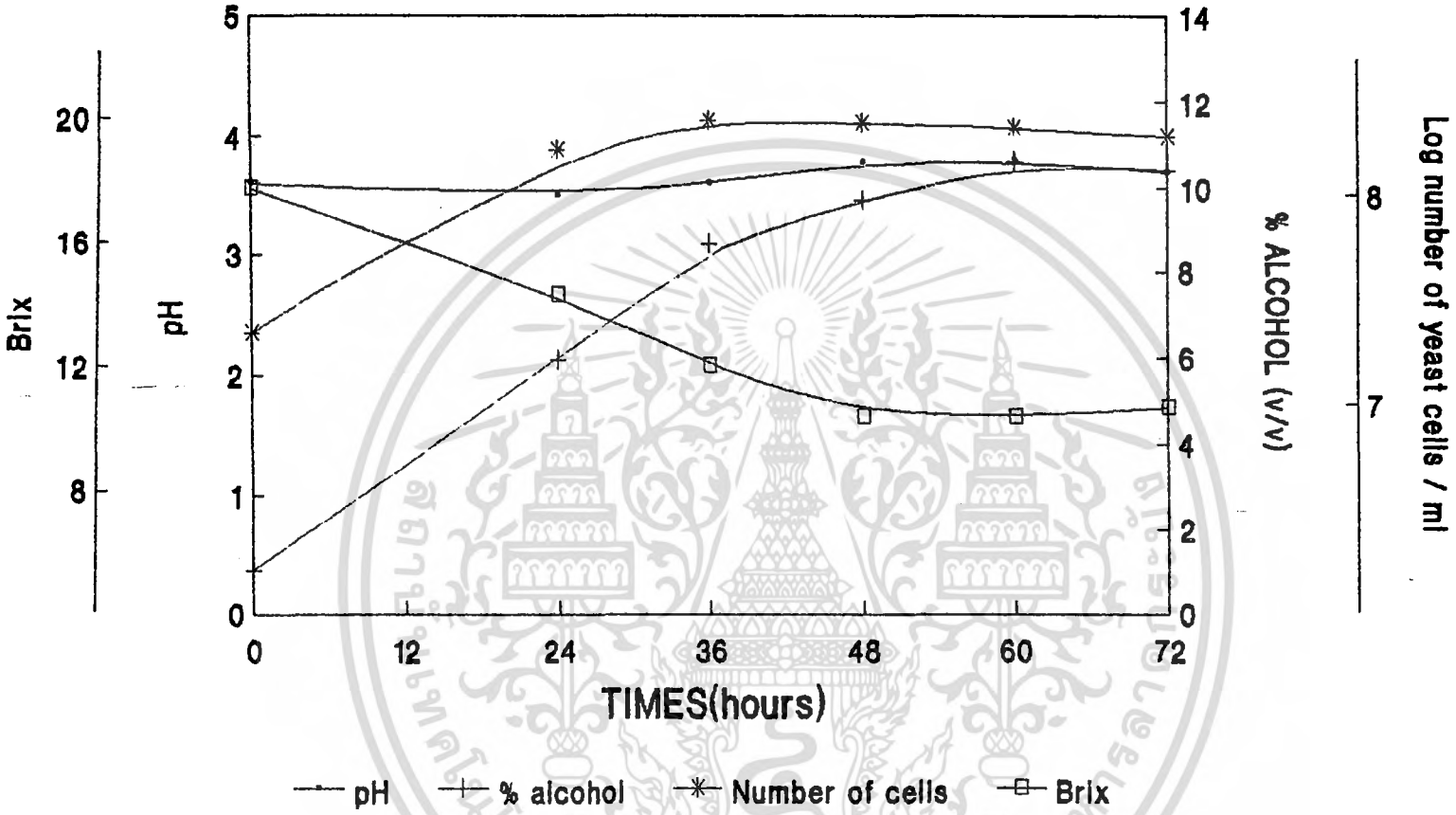
ภาพที่ 8 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %



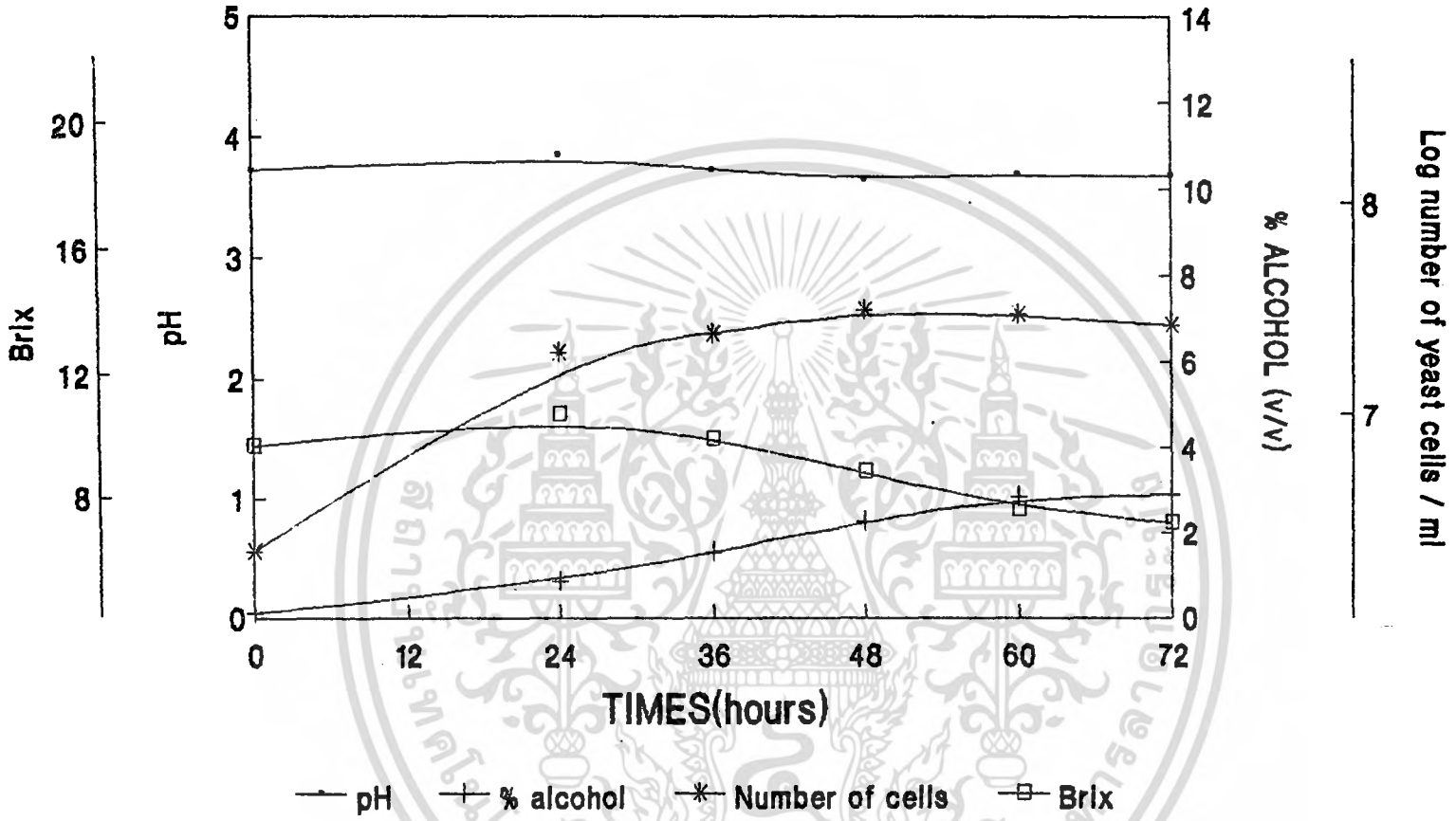
ภาพที่ 9 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %



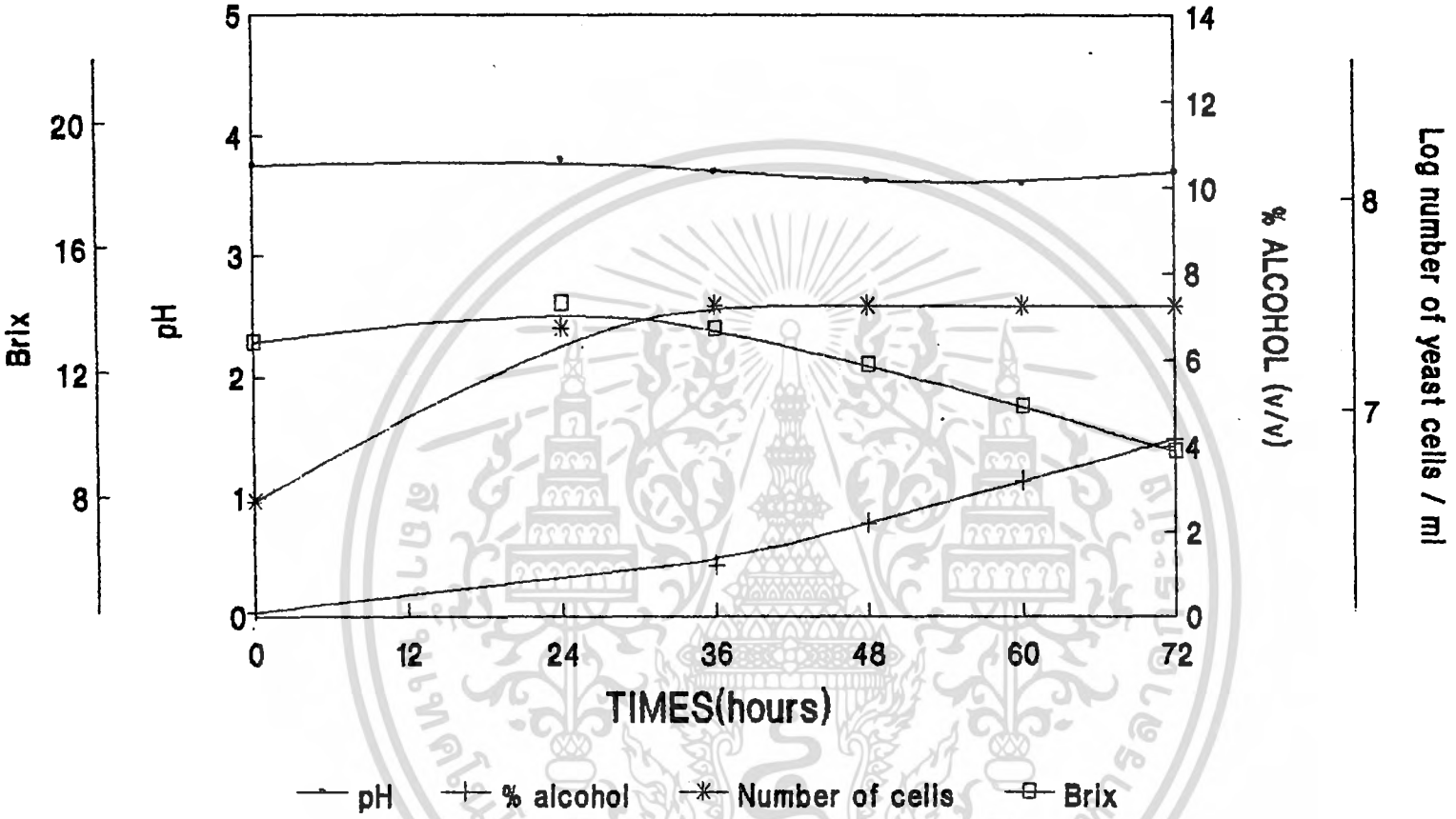
ภาพที่ 10 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %



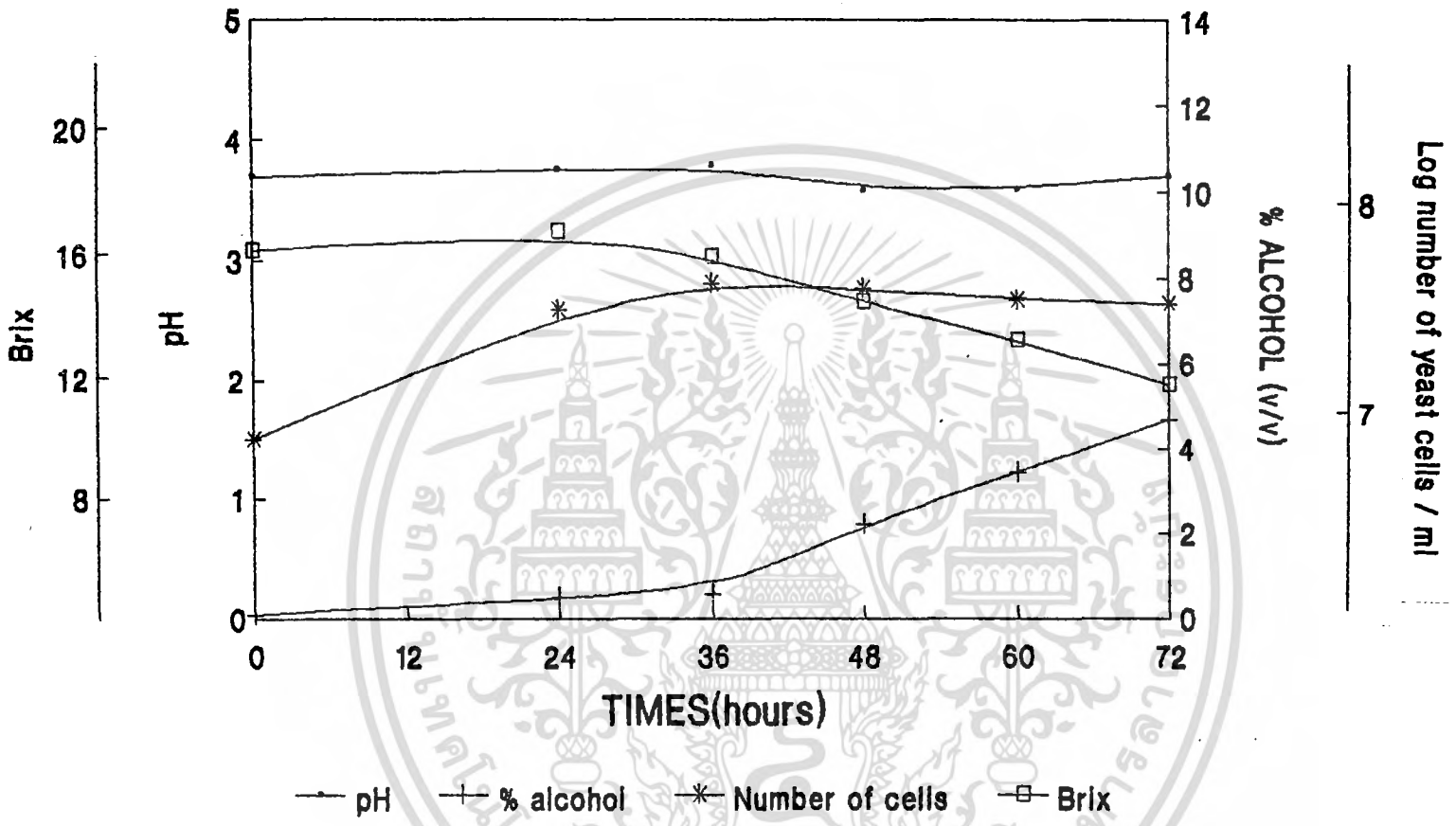
ภาพที่ 11 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %



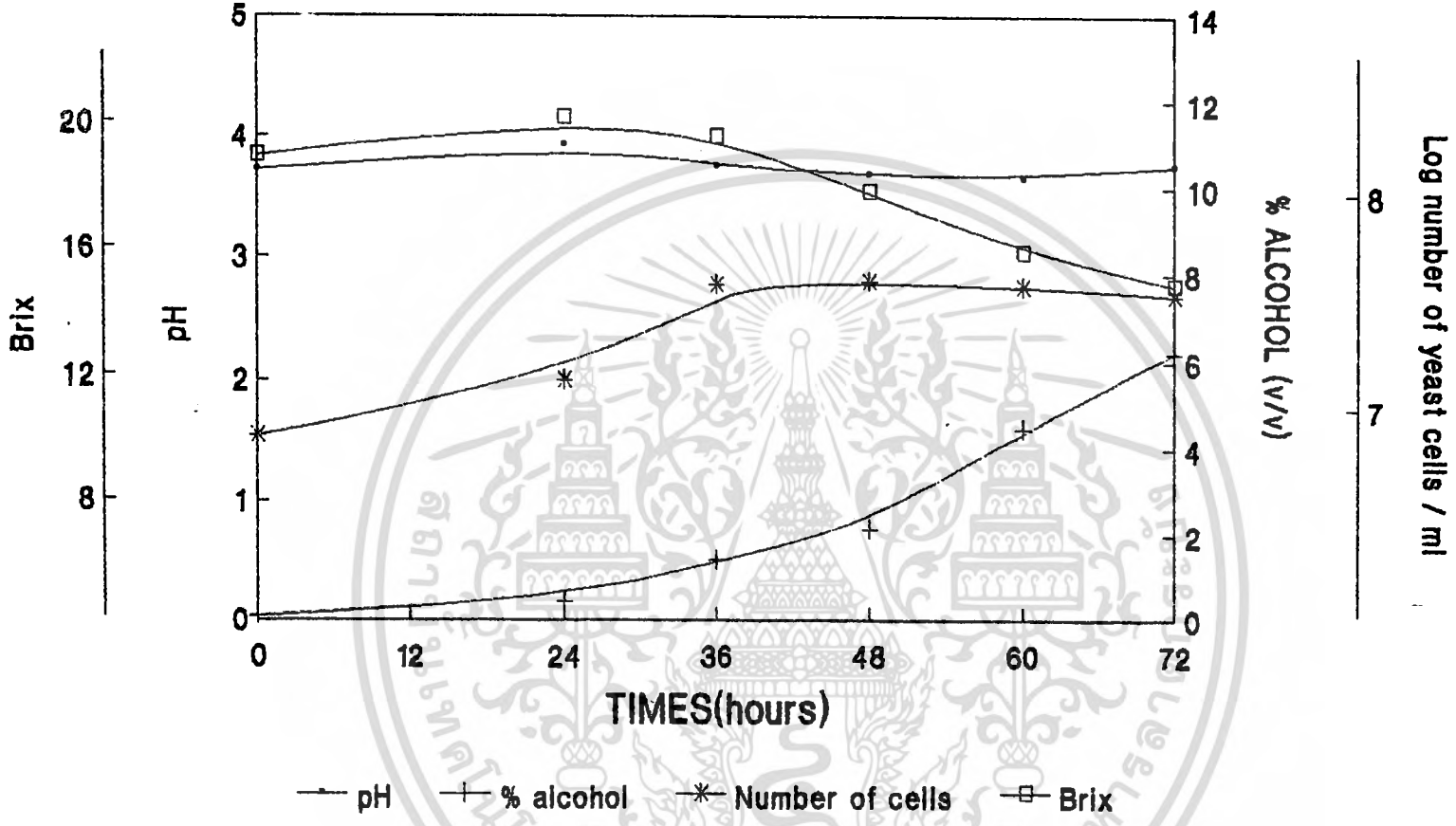
ภาพที่ 12 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %



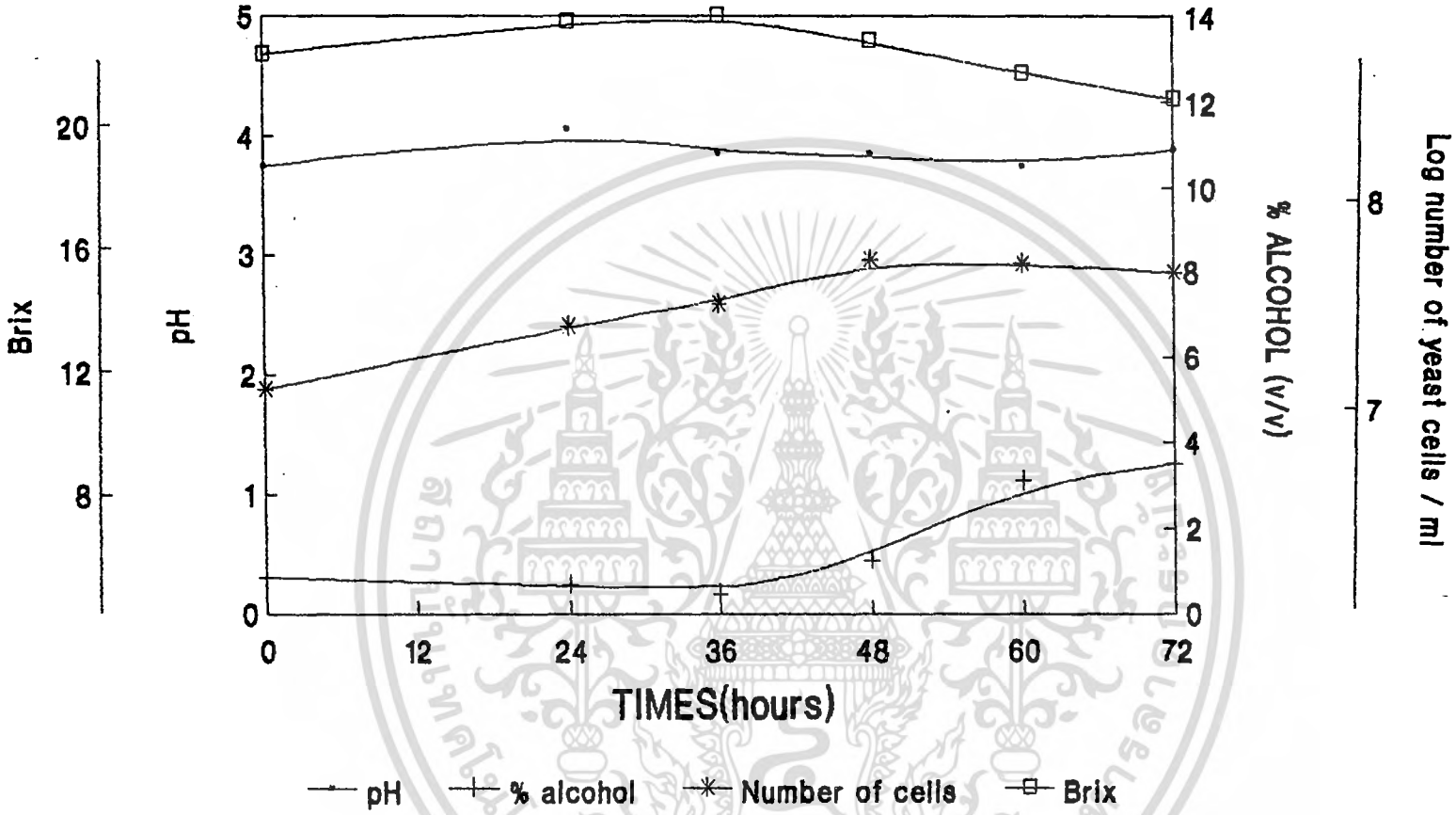
ภาพที่ 13 pH, % alcohol, ปริมาณเซลล์ยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %



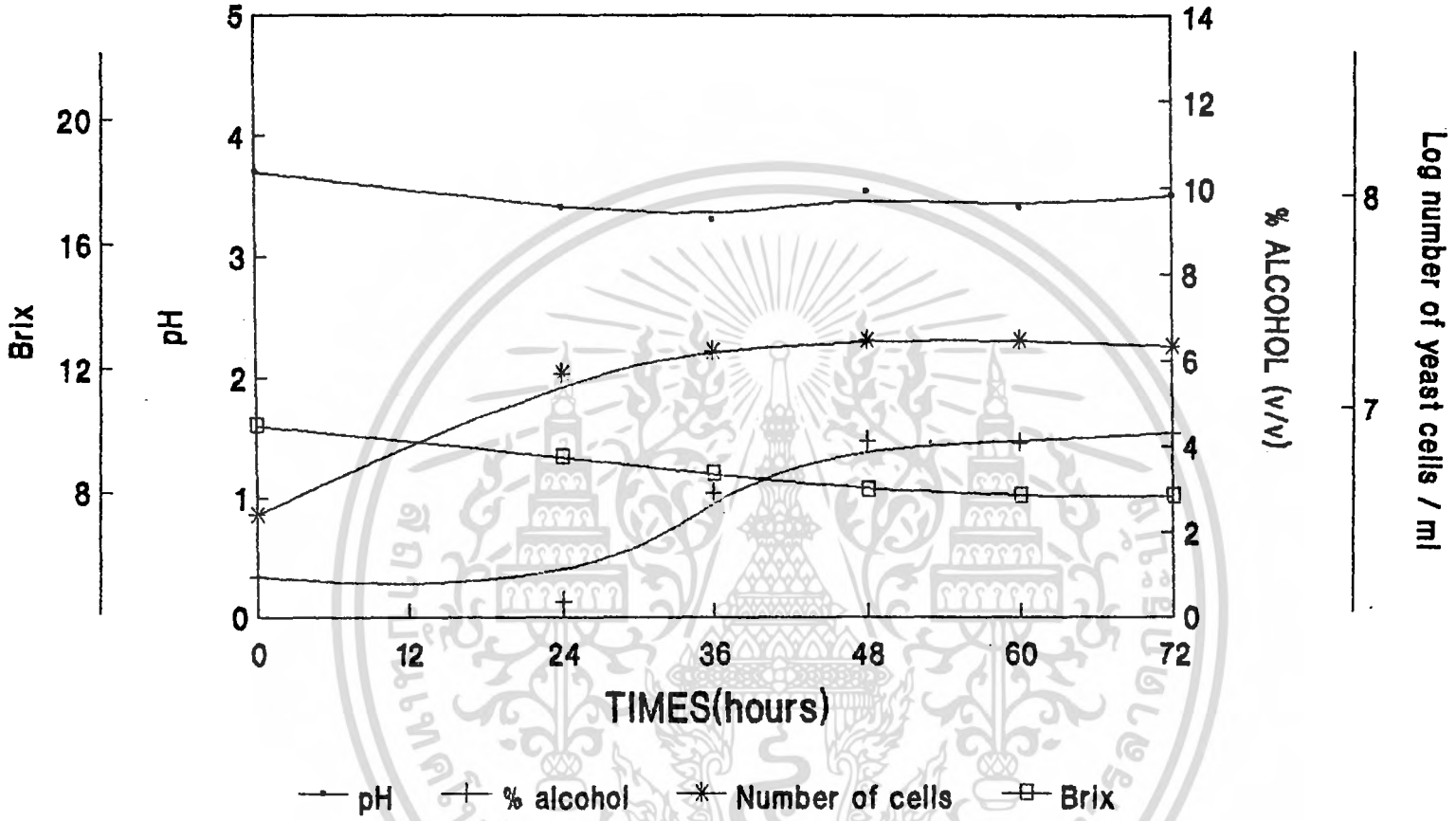
ภาพที่ 14 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %



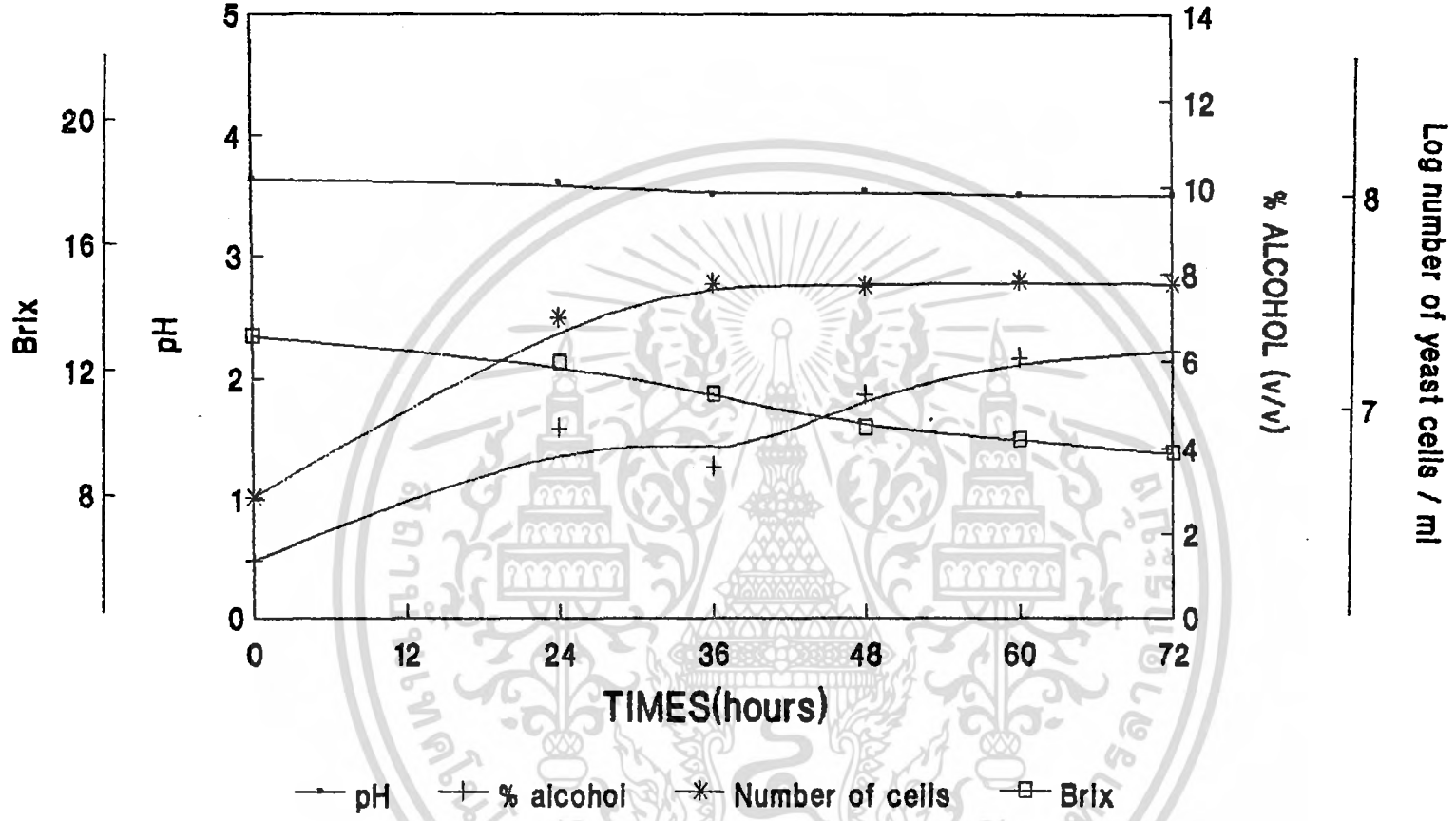
ภาพที่ 15 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %



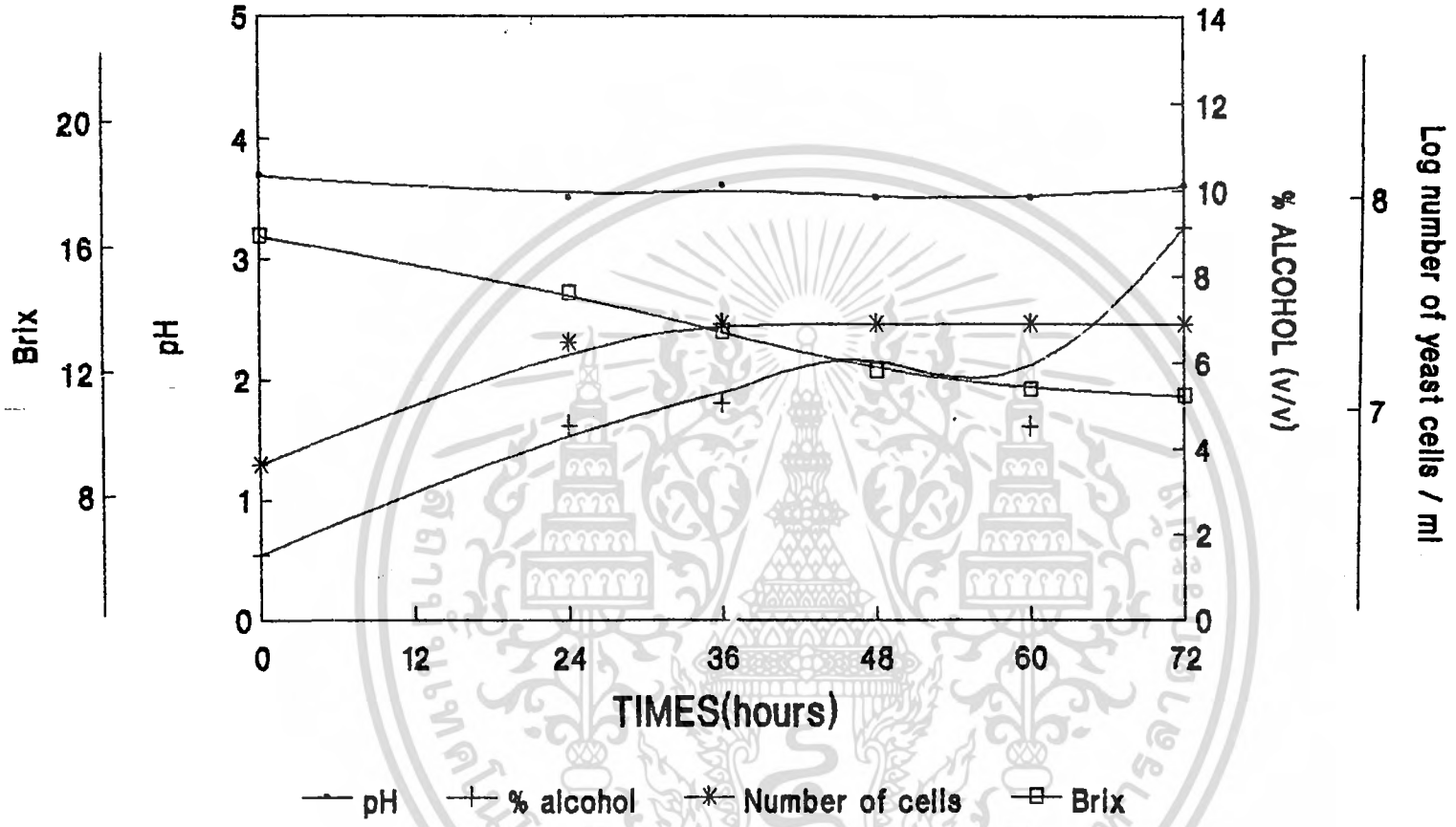
ภาพที่ 16 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %



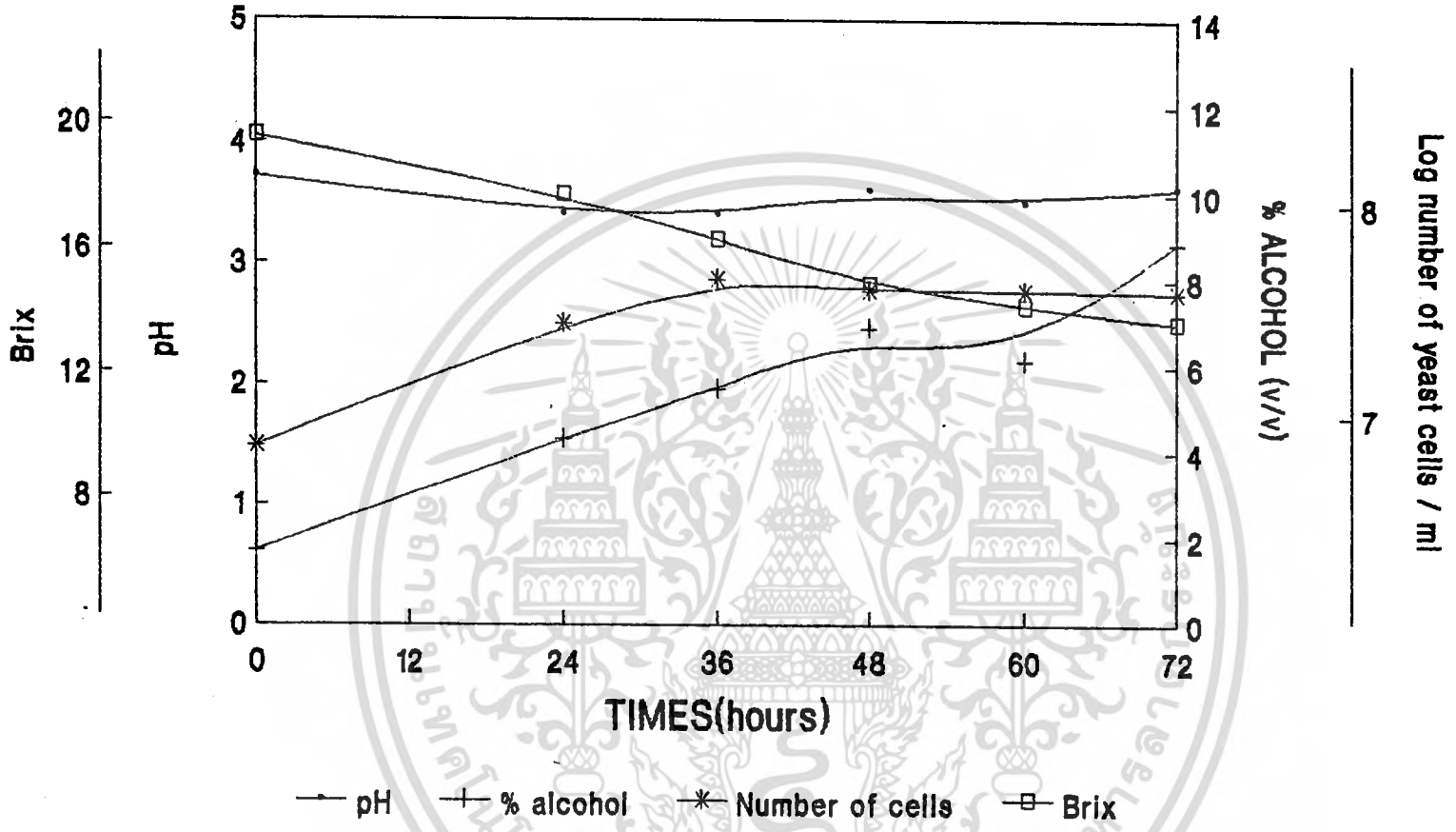
ภาพที่ 17 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 15 %



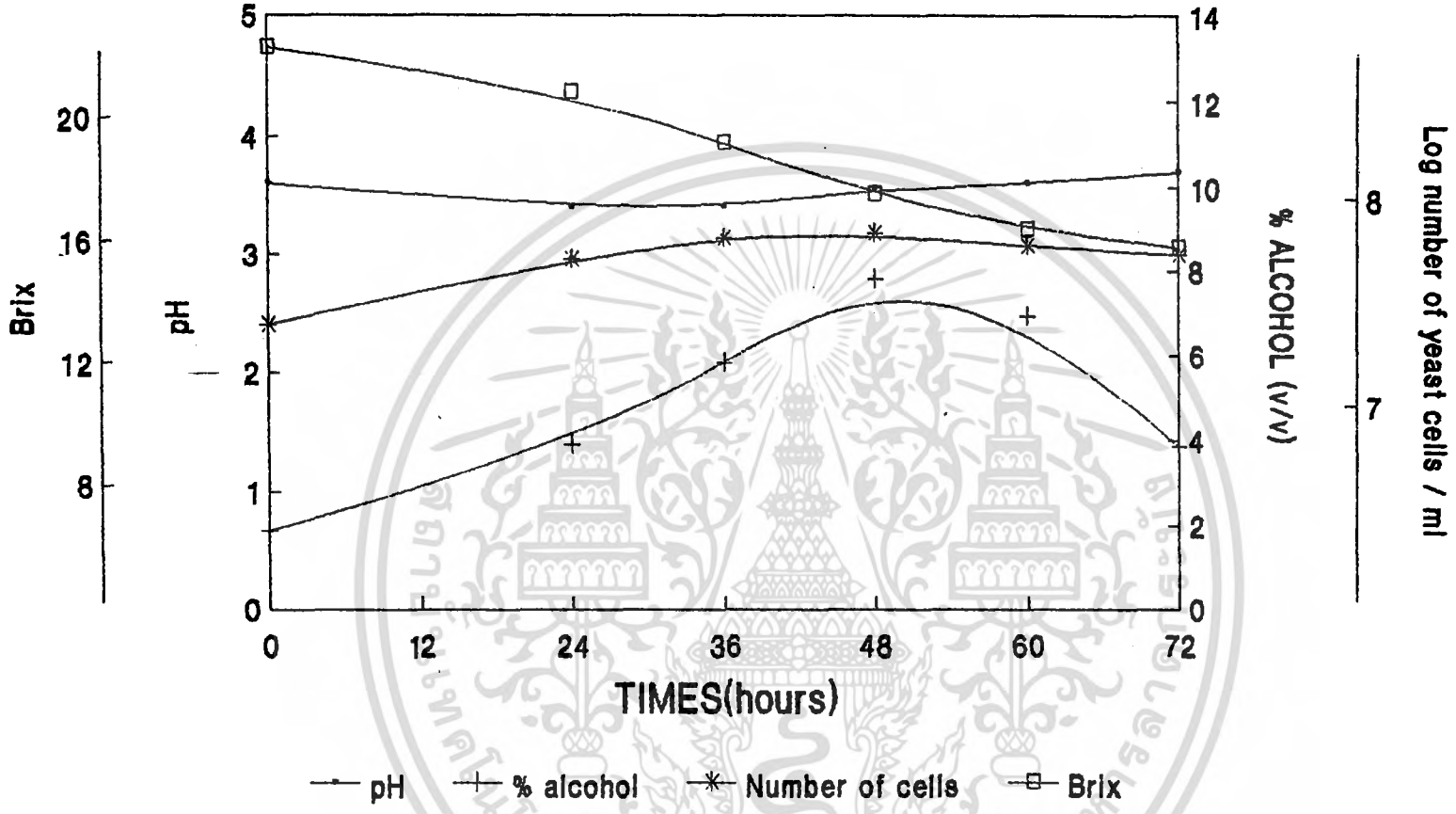
ภาพที่ 18 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 20 %



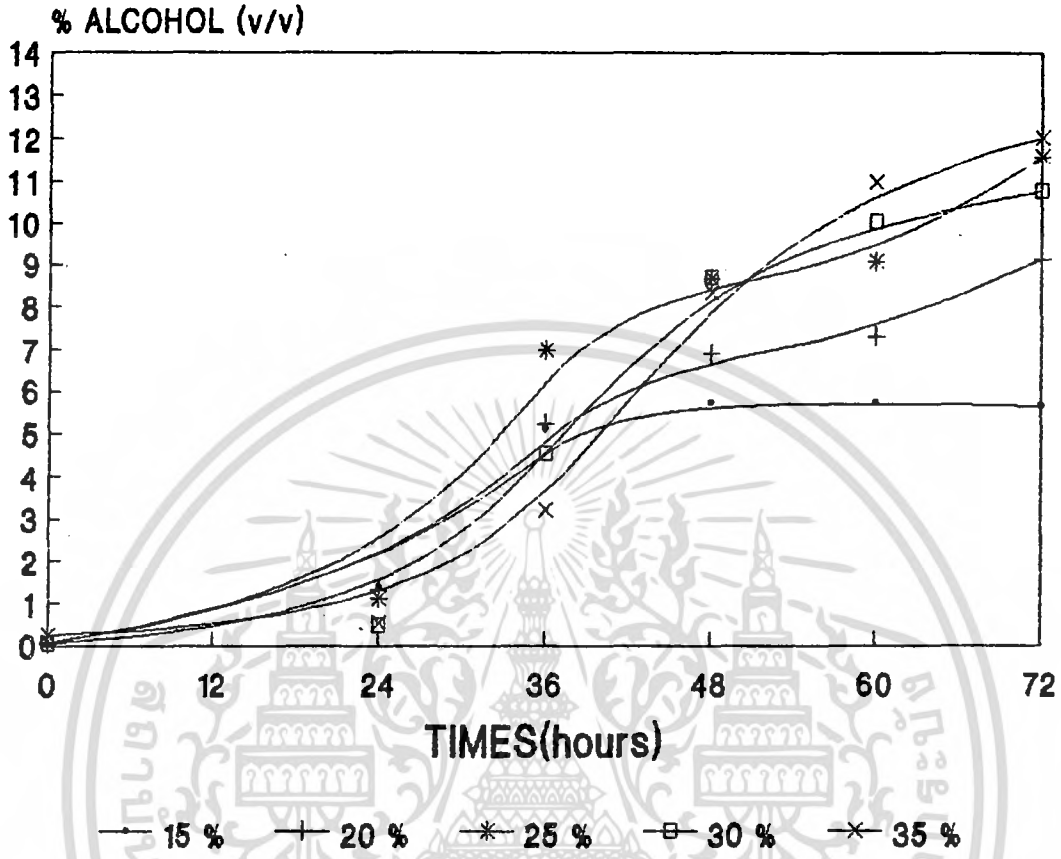
ภาพที่ 19 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 25 %



ภาพที่ 20 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 30 %

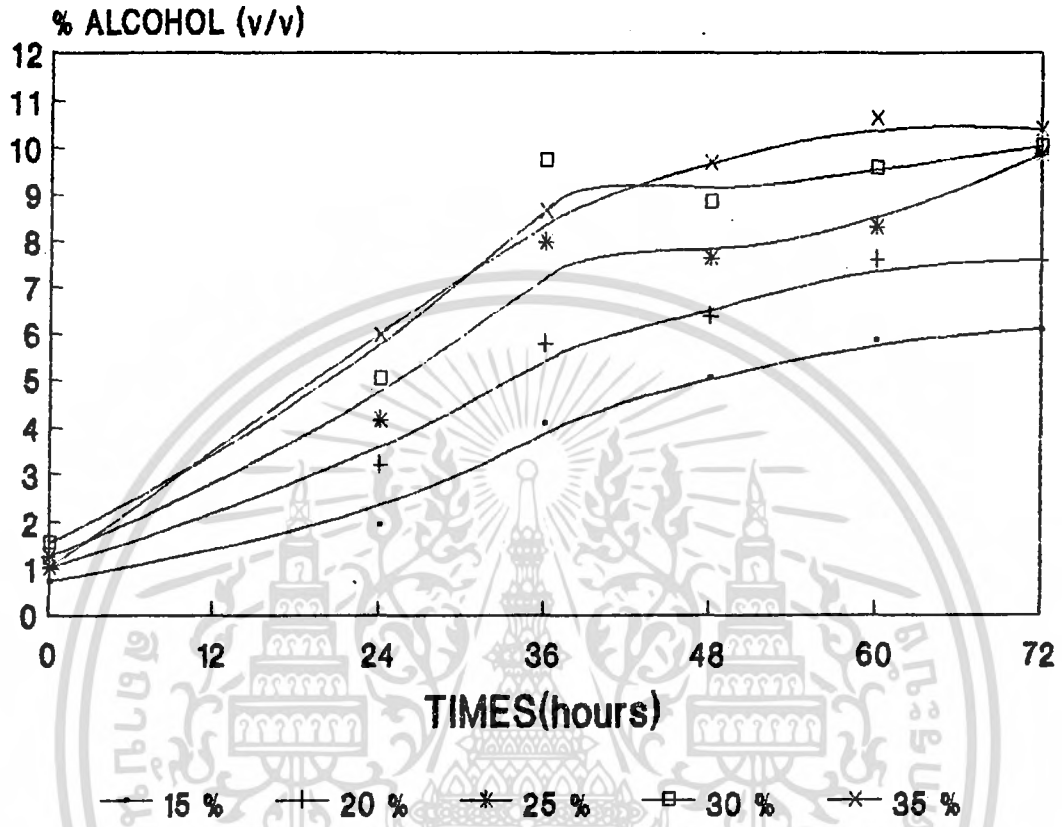


ภาพที่ 21 pH, % alcohol, ปริมาณเซลยีสต์และปริมาณน้ำตาล(°Brix) ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเท่ากับ 35 %



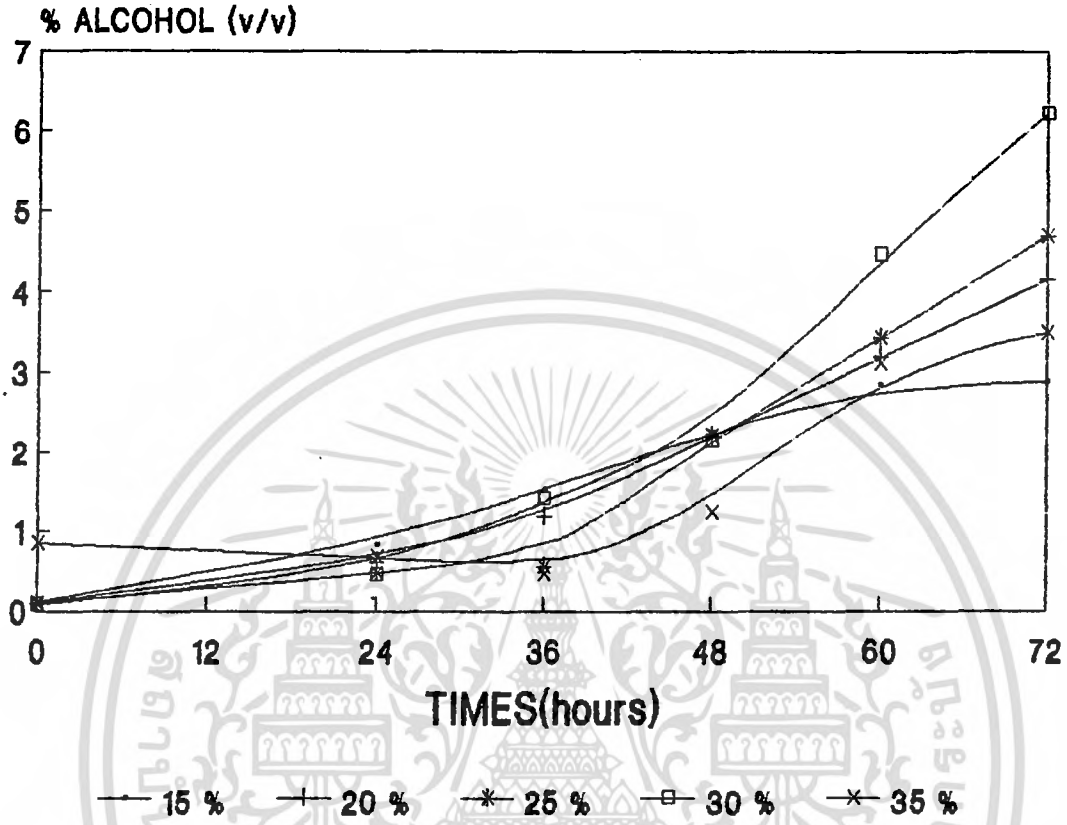
ภาพที่ 22 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



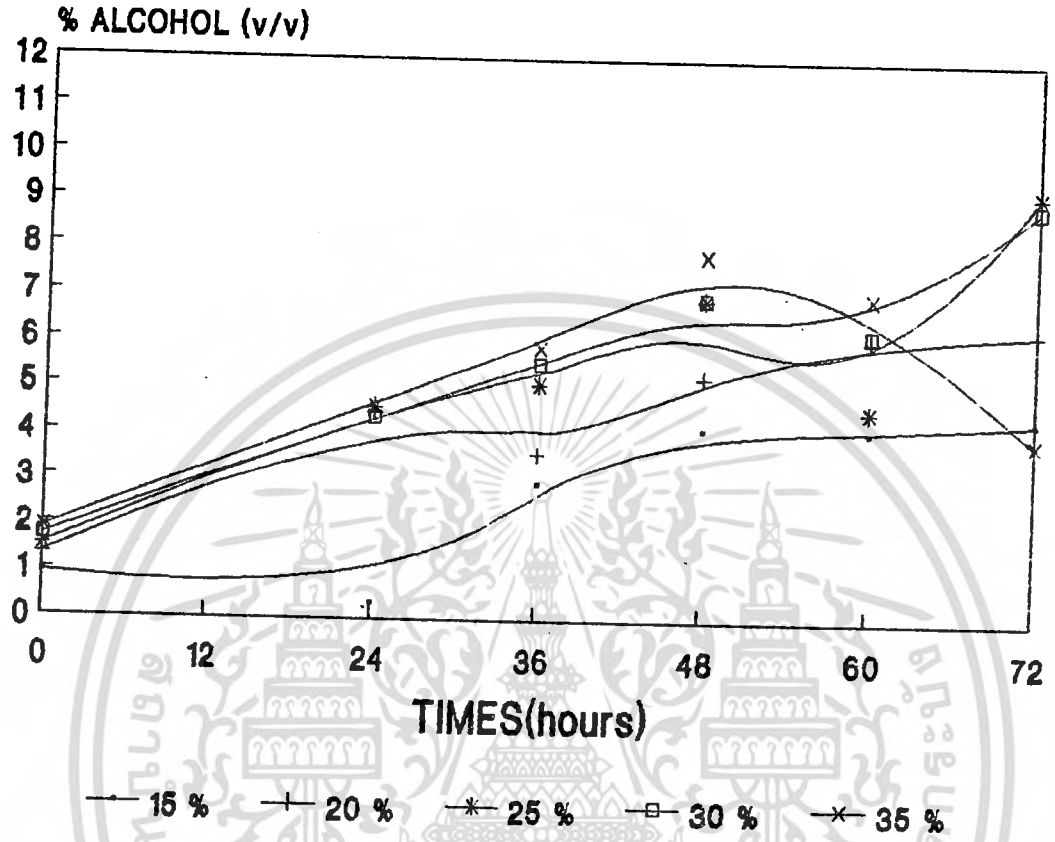
ภาพที่ 23 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 24 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 25 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในเวลาที่ต่างกันของน้ำหมัก เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สรุปและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการทดลอง เมื่อใช้กรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่นโดยเชื้อรา Aspergillus oryzae, Rhizopus oryzae และกรรมวิธีการหมักแบบไทยโดยใช้เชื้อ Aspergillus oryzae และ Rhizopus oryzae ทำการหมักเป็นเวลา 72 ชั่วโมง ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15, 20, 25, 30, และ 35 % เมื่อการหมักสิ้นสุดลง จะได้ปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ

5.64, 9.13, 11.54, 10.75, 12.00 %

6.10, 7.60, 9.86, 10.02, 10.40 %

2.89, 4.15, 4.69, 6.21, 3.50 %

และ 4.31, 6.23, 9.15, 8.87, 3.85 % ตามลำดับ

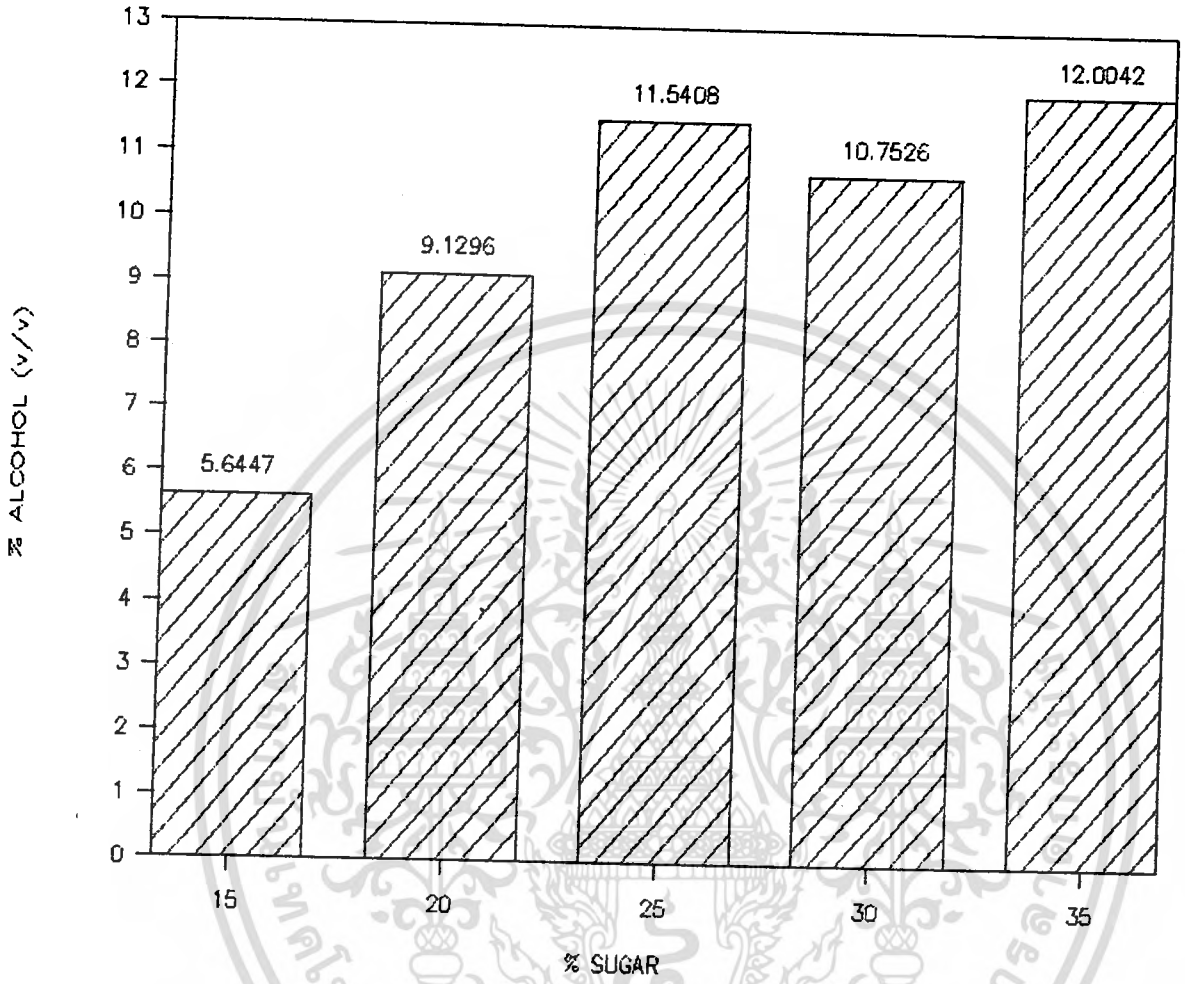
แสดงให้เห็นว่าถ้ามีน้ำตาลเริ่มต้นเพิ่มมากขึ้น จะได้แอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น แต่ถ้าน้ำตาลสูงขึ้นจนถึงจุดหนึ่ง จะกลับมีผลยับยั้งการหมักของยีสต์ทำให้หมักแอลกอฮอล์ได้น้อยลง ทั้งนี้เนื่องจากน้ำตาลที่เข้มข้นสูงมี osmotic pressure สูง ซึ่งจะไปกดดันการเจริญและการทำงานของยีสต์

สำหรับกรรมวิธีการหมักแบบไทย โดยใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae ที่ความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 35 % โดยหลักการแล้วควรจะหมักได้แอลกอฮอล์สูงกว่านี้ ที่เป็นเช่นนี้ เข้าใจว่ามีแบคทีเรียแปลกปลอมเกิดขึ้นในระหว่างกระบวนการหมัก

ถ้าใช้ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นต่ำจะหมักแอลกอฮอล์ได้น้อย สิ้นเปลืองค่าใช้จ่ายในการกลั่นสูง แต่ถ้าปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นสูงเกินไป ก็จะไปมีผลยับยั้งการหมัก ทำให้หมักแอลกอฮอล์ได้น้อยลง นอกจากนี้ ยังมีน้ำตาลเหลือตกค้างมาก ทำให้สูญเสียน้ำตาลและมีปัญหาในการกำจัดน้ำเสียที่มีน้ำตาลสูง ซึ่งปริมาณน้ำตาลที่เหมาะสม ยังขึ้นอยู่กับปัจจัยอื่นๆอีกด้วย เช่น ความสามารถของสายพันธุ์ยีสต์, อุณหภูมิภายในถังหมัก เป็นต้น

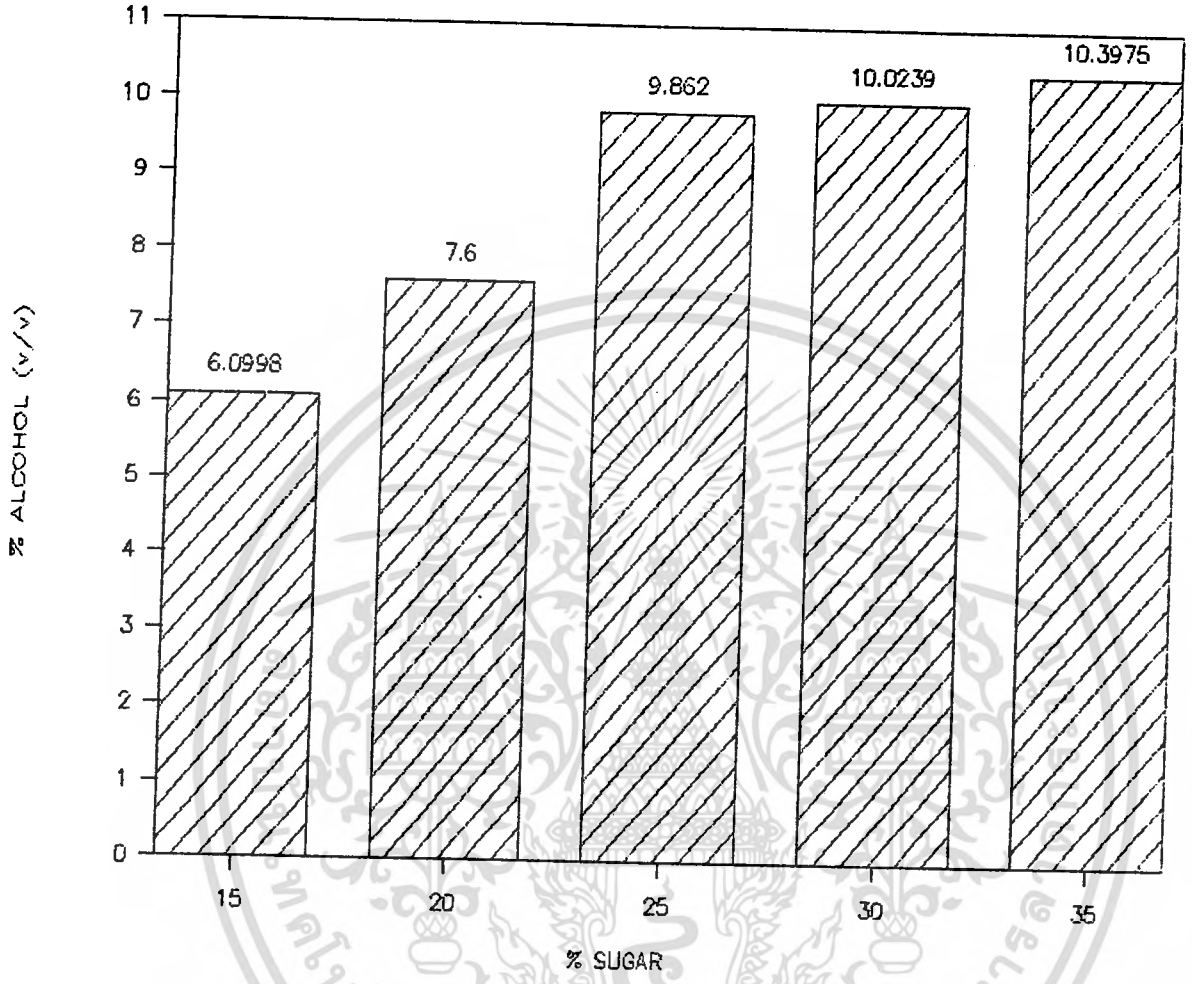
นำปริมาณแอลกอฮอล์ เมื่อการหมักสิ้นสุดลง มาเขียนกราฟจะได้กราฟดังนี้

เอกสารนี้มีลิขสิทธิ์ ใช้เพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



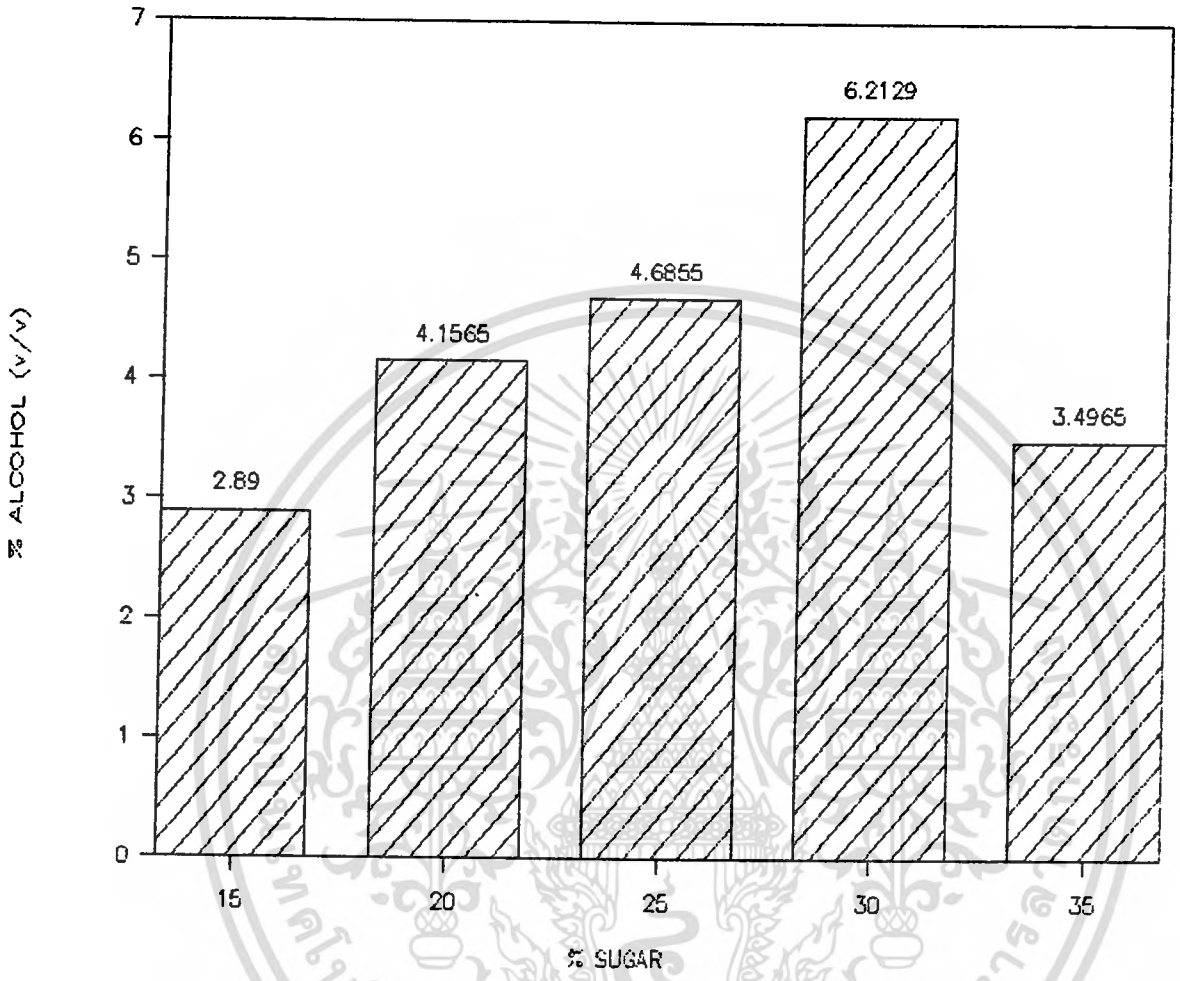
ภาพที่ 26 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



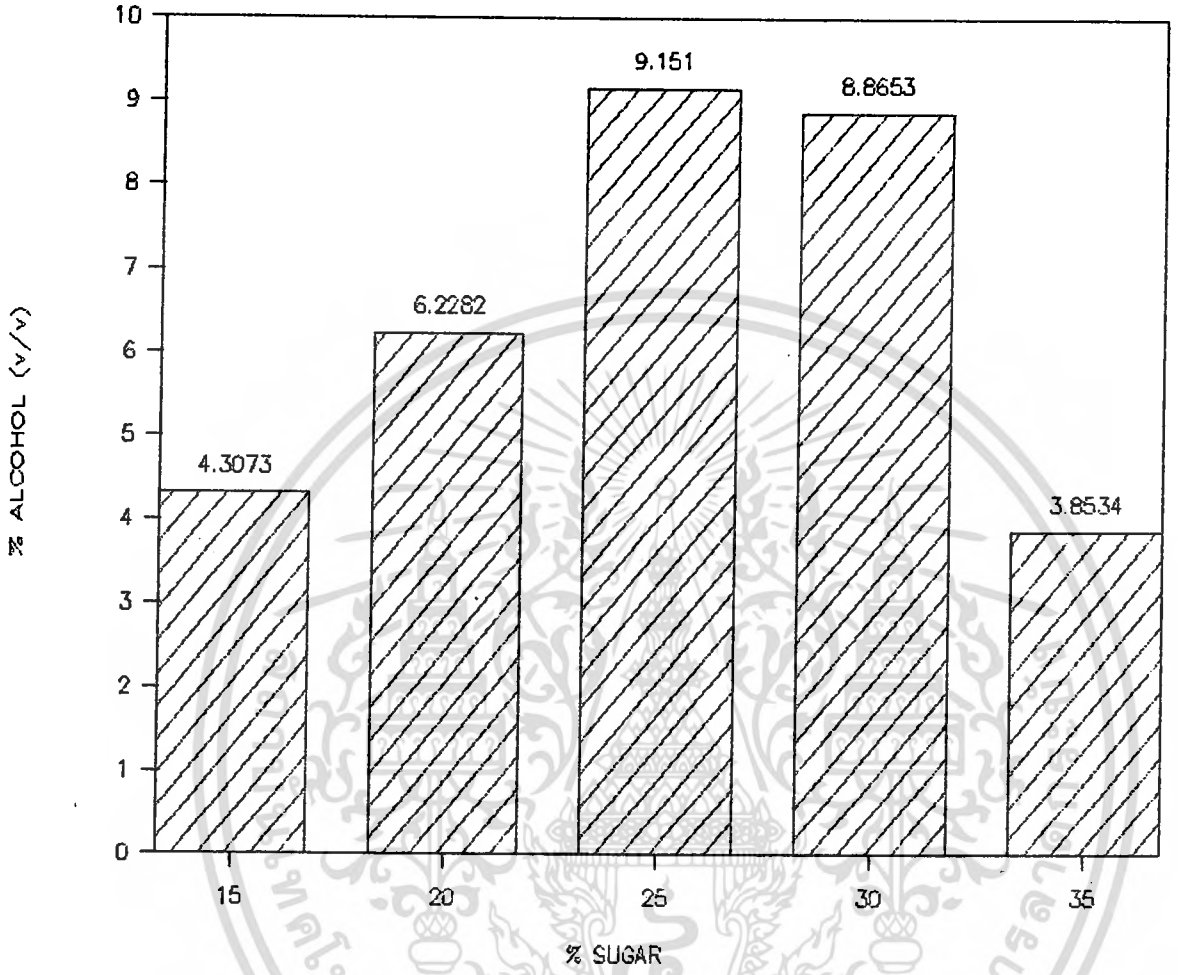
ภาพที่ 27 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 28 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล ในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 29 เปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ในน้ำหมัก ที่เวลา 72 ชั่วโมง เมื่อใช้เชื้อรา *Rhizopus oryzae* เปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลในกรรมวิธีการหมักไทย เมื่อความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นเป็น 15 %, 20 %, 25 %, 30 % และ 35 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากกราฟแสดงปริมาณแอลกอฮอล์ที่หมักได้ สรุปได้ว่า

การผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียว โดยกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่นโดยใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae, Rhizopus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลที่เหมาะสมเป็น 25 % จะให้เอธานอล 11.54 %, 9.86 % ตามลำดับ ส่วนการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียว โดยกรรมวิธีการหมักแบบไทย โดยใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae หรือ Rhizopus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง ความเข้มข้นเริ่มต้นของน้ำตาลที่เหมาะสมเป็น 30, 25 % จะได้เอธานอล 6.21 และ 9.15 % ตามลำดับ

ประสิทธิภาพของการหมักเรียงลำดับจากสูงไปต่ำดังนี้คือ

1. กรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่นโดยเชื้อรา Aspergillus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง
2. กรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่นโดยเชื้อรา Rhizopus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง
3. กรรมวิธีการหมักแบบไทยโดยใช้เชื้อรา Rhizopus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง
4. กรรมวิธีการหมักแบบไทยโดยใช้เชื้อรา Aspergillus oryzae เป็นตัวย่อยแป้ง

ตามลำดับ

ข้อเสนอแนะ

1.จากการทดลอง เมื่อใช้กรรมวิธีการหมักแบบญี่ปุ่น โดยเติม koji ลงไปในข้าวเหนียวนึ่งสุกพร้อมกับเติมน้ำและยีสต์ลงไป หมักทันทีโดยไม่ได้ผ่านการบ่ม ปรากฏว่าน้ำหมักที่ได้จะมีลักษณะหนืดยากต่อการนำไปแยกแอลกอฮอล์ออกมา ดังนั้นจึงเปลี่ยนกรรมวิธีการหมักโดยเติม koji ลงไปในข้าวเหนียวนึ่งสุก นำไปบ่มเป็นเวลา 3 วัน จึงค่อยเติมน้ำและยีสต์ แล้วนำไปหมักต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. เหล้าสาเกนั้น มิใช่ว่าจะสามารถทำจากข้าวได้ทุกชนิด ข้าวที่เหมาะสมสำหรับทำสาเกได้แก่

ก. ข้าวนั้นได้ผ่านการขัดสีอย่างดีแล้ว โดยดูจาก "polishing ratio" ซึ่งเป็นอัตราส่วนระหว่างน้ำหนักของข้าวที่สีแล้วต่อน้ำหนักของข้าวก่อนสี ถ้าหาก polishing ratio น้อย แสดงว่าข้าวถูกสีมาก มีรำข้าวมาก ข้าวที่เหมาะที่จะทำเหล้าสาเกควรมี polishing ratio ประมาณ 50

ข. ข้าวนั้นควรเป็นข้าวอ่อน เพื่อให้เชื้อราที่มแทงเส้นใยเข้าไปในข้าวได้ง่าย

ค. สามารถดูดน้ำได้มากเมื่อแช่น้ำ

จะเห็นว่า ข้าวที่ใช้ทำสาเกนี้ไม่เหมือนกับข้าวที่นำมารับประทาน เพราะถูกสีมากและรำข้าวซึ่งถูกขัดออกนั้น มีโปรตีน ไขมันและสารเก้าประกอบอยู่มาก สารเหล่านี้จะมีผลต่อคุณภาพของเหล้าสาเก เช่น ทำให้สีและกลิ่นเปลี่ยนไป นอกจากนี้อาจจะเกิดสารประเภท fusel oil ซึ่งเป็นแอลกอฮอล์ที่เกิดจากกรดอะมิโน และอาจทำให้เกิดลักษณะ hang over กับผู้ดื่ม และในเปลือกนอกของข้าวยังมีวิตามินที่สามารถสนับสนุนให้เชื้ออื่นปะปนและเจริญเติบโตได้ ดังนั้นถ้าสีข้าวเอารำออกไปมาก จะทำให้ได้สาเกที่ดี ข้าวที่สีเรียบร้อยแล้วจะถูกนำมาล้างเอารำข้าวออกและแช่น้ำประมาณ 1-20 ชั่วโมง ขึ้นอยู่กับอัตราการดูดน้ำของข้าว โดยปกติข้าวจะดูดน้ำประมาณ 23-30 % ในระหว่างการแช่

นอกจากนี้ น้ำที่ใช้ในการทำเหล้าสาเกก็มีบทบาทสำคัญ เนื่องจาก 86 % ของเหล้าประกอบด้วยน้ำ สาเหตุที่น้ำมีความสำคัญเพราะเกลือแร่ต่างๆซึ่งมีอยู่ในน้ำมีผลต่อรสของเหล้า นอกจากนี้ เกลือแร่บางชนิด เช่น potassium, phosphorus และ magnesium จำเป็นสำหรับการเจริญเติบโตของเชื้อราและยีสต์ ส่วน calcium และ chloride มีผลต่อการทำงานของเอนไซม์อะไมเลสที่ย่อยแป้ง

ในประเทศไทย ข้าวที่ควรจะนำมาทดลองเพื่อผลิตเหล้าสาเกคือ ข้าวหอมมะลิ เนื่องจากมีลักษณะคล้ายกับข้าวของญี่ปุ่นที่นำมาผลิตเหล้าสาเกมาก นอกจากนี้ Pichyangkura และคณะ(1981) ได้ทำการทดลองเลี้ยงเชื้อรา Aspergillus oryzae บนข้าวไทยต่างๆ 5 ชนิดที่ความชื้น 37-40 %

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เพื่อผลิตเอนไซม์ที่ใช้ย่อยแป้ง (α-amylase และ glucoamylase) พบว่าข้าวหอมมะลิให้เอนไซม์ทั้ง 2 ชนิดสูงสุด

3.koji ที่ใช้ในกรรมวิธีการหมักแบบญี่ปุ่น ควรจะมีลักษณะเป็นปุยขาว เนื่องจากมีแต่เส้นใย ยังไม่มีสปอร์เกิดขึ้นและจะอยู่ในช่วงสร้างเอนไซม์ ถ้าปล่อยทิ้งไว้นานเกินไปเชื้อจะสร้างสปอร์จำนวนมาก ทำให้เอนไซม์มีปริมาณลดลง ดังนั้นประสิทธิภาพในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาลอาจจะไม่ดีนัก

นอกจากนี้ข้าวที่ใช้ทำ koji ควรจะเลือกใช้ข้าวที่เหมาะสมสำหรับการทำสาเก เนื่องจากจรัญ(2530) พบว่า koji ข้าวเจ้าจะมีกิจกรรมเอนไซม์ต่ำกว่า koji ข้าวญี่ปุ่น และ ข้าวที่ใช้ทำ koji ไม่ควรให้มีความชื้นสูงเกินไป เพราะจะทำให้เชื้อราเกิดการย่อยสลายข้าวจนเละ ทำให้ไม่เหมาะต่อการนำไปใช้ ดังรูป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 30 ลักษณะ Koji ของเชื้อรา Aspergillus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่นึ่งจนสุกมาทำในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

ภาพที่ 31 ลักษณะ Koji ของเชื้อรา Rhizopus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่นึ่งจนสุกมาทำในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

กมลทิพย์ มั่นภักดี. 2533. ปัจจัยสำคัญในกระบวนการผลิตข้าวหุงสุกเร็ว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

ไกรฤกษ์ ธวัชพันธุ์. 2526. การเลี้ยงรา Rhizopus oryzae บนอาหารแข็งเพื่อผลิตกลูโคอะไมเลส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. น. 1-2

จตุรพร พรศิลปทิพย์. 2528. เอนไซม์ย่อยสลายแป้งดิบจากเชื้ออะไมโลไมซิส. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ.

จรัญ เจตนะจิตร. 2530. การหมักเหล้าขาวญี่ปุ่นโดยใช้ข้าวดิบ. ภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. จากเรื่องเต็ม การประชุมทางวิชาการของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ครั้งที่25 สาขาวิทยาศาสตร์ ; 3-6 ก.พ. น. 197-198.

เฉลิม บูรณะนนท์. 2493. "การปฏิบัติเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์สูงสุดจากวิธีการหมักส่า". วิทยาศาสตร์ 4 : 3-17.

ดวงกมล วิลาวรรณ. 2530. การผลิตกลูโคอะไมเลส โดย Rhizopus sp. สายพันธุ์ II ในอาหารเหลว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. กรุงเทพฯ. น. 9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บุญเทียม พันธ์เพ็ง. 2523. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์เพื่อหมักแอลกอฮอล์ จากกากน้ำตาลและน้ำอ้อย. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

ประดิษฐ์ ครุวัฒนา. 2525. "สาโทและสาเก". อาหาร 14 (1).

----------. 2527. การใช้เชื้อราอ่อยแป้งและการหมักแอลกอฮอล์แบบญี่ปุ่นและไทย. ในที่สัมนาเรื่อง "การเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการหมักแอลกอฮอล์" ณ สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. วันที่ 20 เมษายน 2527. น. 14-15.

ประดิษฐ์ ครุวัฒนา, มาลัย บุญรัตนกรกิจ และ ฉกามาส วงศ์ข้าหลวง. 2526. "การหมักแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียวโดยใช้โคจิ". ชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย 2 (3).

พลศึกษา, กรม. 2510. คุณค่าอาหารไทย. โรงพิมพ์คุรุสภา. กรุงเทพฯ.

มนตรี เชาวน์สังเกตุ. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และเชื้อราเพื่อผลิตไวน์ข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

เยาวลักษณ์ สุรพันธพิศิษฐ์. 2524. การศึกษาการผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวฟ่างโดยใช้ลูกแป้งและเชื้อบริสุทธิ์ของราบางสายพันธุ์และ Saccharomyces cerevisiae Sc. 90 วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ. น. 6-7.

วรชิน สถิตนิมานกร. 2492. "การผลิตสุราและแอลกอฮอล์จากข้าว". วิทยาศาสตร์ 3(7): 320-324.

วราวุฒิ ครูส่ง. 2529. เทคโนโลยีชีวภาพ. โอเดียนสโตร์. กรุงเทพฯ. น. 107-124.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

อุทัย ชูแมน. 2506. กสิกรเป็นกำลังอำนาจของชาติในการส่งสินค้าออก. สำนักงานคณะ - กรรมการส่งเสริมสินค้าออก (โรเนียว). กรุงเทพฯ.

Adams, M. 1935. "Amylase : Their Kinds and Properties and Factors Which Influence Their Activity". Food Technology. 7 : 35-38.

Alazard, D. and M. Raimbault. 1981. "Comparative Study of Amylolytic Enzymes Production by Aspergillus niger in Liquid and Solid-State Cultivation". Eur. J. Appl. Microbiol Biotechnol. 12 : 113-117.

Boruff, C.S. and J.M. Van Lanem. 1947. "The Fermentation Industry during W.W. II. Industry Engineering Chemistry. 39 : 934-937.

Gerald, R. 1975. Enzyme in Food Processing. Academic Press. New York.

Kerr, R.W. 1950. Chemistry and Industry of Starch. Academic Press. New York.

Kent, N.L. 1975. Technology of Cereal. Pergamon Press. Oxford.

Mayer, H.K. and G.C. Gibbons. 1951. The Present Status of Starch Chemistry in Advances in Enzymology Vol. 12. Interscience Pub - lishers, Inc. New York. pp. 342-374.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Narahara, H., Y. Koyoma, T. Yoshino, C. Pichyangkura, R. Ueda and H. Taguchi. 1982. "Growth and Enzyme Production in a Solid State Culture of A. niger". J. Ferment Technol. 60 : 311-319.

Nishio, N. ; Tai, K. and Nagai, S. 1979. Hydrolase Production by Aspergillus niger in Solid State Cultivation. Eur, J. Appl. Microbiol. Biotechnol. 8 (1979) : 263-270.

Pazur, J.H. and T. Ando. 1959. "The Action of an Amyloglucooxidase of Aspergillus niger on Starch and Malto-oligosaccharides". J. Biol. Chem. 234 : 1966-1970.

Pichyangkura, S., V. Suratankavikul, S. Nagai and H. Taguchi. 1981. "Production of Liquifying and Saccharifying Amylase by Solid State Cultivation on Thai Rice". Microbial Utilization of Renewable Resources. Vol 2. J.S.P.S. - N.R.C.T. Seminar on Agro-Industry Including Microbial Tcchnology. pp. 415-418. Songkhla, Thailand, Jannary 5-8, 1981.

Pomeranz, Y. 1973. Industrial Uses of Cereal. American Association of Cereal Chemist, Inc. Minnesota.

Prescott, S.C. and C.E. Dunn. 1959. Industrial Microbiology. 3rd ed. Tokyo.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reed, G. 1966. Enzyme in Food Processing. Academic Press. New York.

--------. 1966. Food Science and Technology in Enzymes in Food Processing. (Auson, M.L., Chichester, C.O.; Mark, E.M. and Stewart, G.R. eds.) Academic Press, New York. pp. 221.240.

Rosario, J.E. 1982. Fuel Alcohol from Agricultural Crops and Residues. Chem. Dept. Univ. of Phillipines, Los Ranos Collage. Laguna, Phillipines.

Rose, A.H. and J.S. Harrison. 1971. The Yeast Vol. 2 Physiology and Biochemistry of Yeasts. : Academic Press. New York.

Sumner, J.B. and G.F. Somers. 1974. Chemistry and Methods of Enzyme. Academic Press. New York.

Teixeira, C., A.A. Andearsen and P. Kalachov. 1950. "Ethyl alcohol from Cassava. Industrial and Engineering Chemistry. 42 (9) : 1581-1783.

Underkofler, L.A. and R.J. Hickley. 1954. Alcoholic Fermentation of Molasses. Industrial Fermentation.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Whistler, R.C. and E.F. Paschall. 1967. **Starch : Chemistry and Tech - nology Vol.II.** Academic Press. New York.

Windish, W.W. and N.S. Mhatra. 1965. "Microbial Amylase". **Advance in Applied Microbiology.** 7 : 274-277.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเตรียมสารเคมีที่ต้องใช้ในการหา reducing sugar ตามวิธีของ Samoghi and Nelson

1.Copper reagent

ละลาย $Na_2HPO_4 \cdot 12H_2O$ 71 กรัม และ NaK tartrate 40 กรัม ในน้ำกลั่น 700 มล. เติม 1 N NaOH 100 มล. ลงไปผสมให้เข้ากัน เติม $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ 8 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 80 มล. ลงไปคนให้เข้ากัน ทำให้ร้อน เติม Na_2SO_4 180 กรัม ละลายให้เข้ากัน เติมน้ำกลั่นจนครบ 1 ลิตร ตั้งทิ้งไว้ 1-2 วัน

2.Nelson reagent

ละลายเกลือแอมโมเนียมโมลิบเดท 50 กรัม ด้วยน้ำกลั่น 900 มล. เติมกรดซัลฟุริกเข้มข้นลงไป 21 มล. คนให้เข้ากัน (ทำในตู้ดวัน) เติม $Na_2HAsO_4 \cdot 7H_2O$ 6 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 50 มล. ลงไปคนให้เข้ากัน เก็บไว้ที่อุณหภูมิ 37 °C เป็นเวลา 24 ชั่วโมง ในขวดสีน้ำตาล ถ้ามีตะกอนให้กรองออก

3.NaOH 4 molar

ชั่ง NaOH 160 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 ml. เติมน้ำกลั่นลงไปให้ครบ 1 ลิตร เก็บไว้ในขวดสีน้ำตาล อย่าให้ถูกแสง

หมายเหตุ มวลโมเลกุล NaOH = 40

จำนวนโมล = มวล(เป็นกรัม) / มวลโมเลกุล

4.การเตรียมสารละลาย HCl 25 %

เมื่อฉลากบอก HCl น.น.โมเลกุล 36.46

ความถ่วงจำเพาะ 1.18

เปอร์เซ็นต์ (w/w) 35.4

ต้องการ 25 % HCl 1000 ml.

สารละลาย 100 ml. จะต้องมี HCl 25 กรัม

สารละลาย 1000 ml. จะต้องมี HCl = (25 X 1000)/100 = 250 กรัม

นั่นคือ สารละลาย 1000 ml. จะต้องมี HCl อยู่ 250 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากฉลากข้างขวดบอก เปอร์เซ็นต์ (w/w) 35.4

ถ้าต้องการ HCl 35.4 กรัม จะต้องใช้ HCl เข้มข้น 100 กรัม

ถ้าต้องการ HCl 250 กรัม จะต้องใช้ HCl เข้มข้น = (250 X 100)/35.4

= 706.2 กรัม

จากฉลากข้างขวดบอก ความถ่วงจำเพาะ 1.18 แสดงว่า

HCl เข้มข้นหนัก 1.18 กรัม จะมีปริมาตร 1 ml.

HCl เข้มข้นหนัก 706.2 กรัม จะมีปริมาตร = (706.2 X 1)/1.18

= 598.49 ml.

นั่นคือ จะต้องใช้ HCl เข้มข้น 598.49 ml. มาเจือจางให้มีปริมาตร 1000 ml.

จะได้ HCl 25 %

การนึ่งข้าวเหนียว

1.นำข้าวเหนียวมาล้างเอารำข้าวออกให้สะอาด 1-2 ครั้ง โดยใช้สารส้มช่วยในการล้าง

2.แช่น้ำ 3-4 ชั่วโมง นำไปนึ่งประมาณ 30 นาที ให้สุกพอดี ไม่แฉะมากและเมล็ดข้าวไม่ดิบ

3.นำไปล้างน้ำให้หมดยาง ผึ่งในตะกร้ารองผ้าขาวบางให้สะเด็ดน้ำ พยายามให้ข้าวสะเด็ดน้ำมากที่สุด มีความชื้นน้อยที่สุด เพื่อให้แบคทีเรียที่ทำให้เกิดการเหม็นเปรี้ยว มีโอกาสเจริญได้น้อยที่สุด

การหาปริมาณความชื้น

1. นำ aluminium dish อบที่อุณหภูมิ 110 °C นาน 1 ชั่วโมง
2. นำไปใส่ desicator นาน 10 นาที ชั่งน้ำหนัก dish บันทึกผล (ใช้เครื่องชั่งละเอียด)
3. ชั่งตัวอย่างประมาณ 5 กรัม (ใช้เครื่องชั่งละเอียด บันทึกผล)
4. นำไปอบที่อุณหภูมิ 100 C นาน 5 ชั่วโมง
5. นำไปใส่ desicator นาน 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.ชั่งน้ำหนัก บันทึกผล (ใช้เครื่องชั่งละเอียด)

การคำนวณ

$$\text{เปอร์เซ็นต์ความชื้น} = \frac{(A-B) \times 100}{A}$$

เมื่อ A = น้ำหนักของตัวอย่าง(กรัม) ก่อนนำไปอบ

B = น้ำหนักของตัวอย่าง(กรัม) หลังจากอบแล้ว

การเตรียมกล้าเชื้อยีสต์

1.ชั่ง rice koji 40 กรัม ใส่ flask ขนาด 500 ml. ผสมกับข้าวนึ่ง 200 กรัม

2.นำไปบ่มไว้ที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 3 วัน

3.เติมน้ำกลั่น 200 ml. ปิดจุกด้วยสำลี ตั้งในตู้อบ 55 °C เป็นเวลา 23-24 ชม.

4.เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้เป็น 16 °Brix เติมกรดแลคติก ปรับ pH เป็น 3.6-3.8

5.ฆ่าเชื้อและหยุดปฏิกิริยาเอนไซม์โดยเข้าหม้อนึ่งที่ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 15 นาที ตั้งไว้ให้เย็น

6.เขี่ยเชื้อยีสต์ลงไป ทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง ให้เชื้อยีสต์เจริญและเพิ่มปริมาณเป็นเวลา 24 ชม.

การวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์โดยวิธี Gas Chromatography

ใช้ Gas Chromatography ของ Shimadzu Model GC 7AG กับ Recorder integerator ของ Chromatopac CRIA เมื่อทำการวิเคราะห์

สภาวะที่ใช้ในการวิเคราะห์

คอลัมน์ยาว 2 เมตร ขนาด 1/8 นิ้ว บรรจุด้วย Porapac Q 80-100 mesh (เป็น pack column), Detector เป็น FID (Frame ionization Detector)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Column Temp. 200 °C

Injection Temp. 250 °C

Detector Temp. 250 °C

Flow Nitrogen (carrier gas) 50 ml/min

Injection volumn 1 μl

ปริมาณของผลิตภัณฑ์หาได้จากการเทียบพื้นที่ใต้พีค(peak) ของสารที่ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบ(Extermal standard) ซึ่งทำโดยใช้วิธีสร้างกราฟระหว่างเอธานอลเข้มข้น 2 % และ 10 % (V/V) โดยที่เอธานอลมี retention time เป็น 1.31 นาที

<u>การตรวจวิเคราะห์จำนวนจุลินทรีย์โดยวิธี plate count</u>

1. ชั่งตัวอย่าง 25 กรัม ใส่ในถุงพลาสติก เติมน้ำกลั่นที่ฆ่าเชื้อแล้ว (ที่ความดัน 15 ปอนด์ เป็นเวลา 15 นาที) ลงไป 225 มล. นำไปใส่ในเครื่องตีปนไฟฟ้า ใช้เวลาในการตีปนประมาณ 2 นาที
2. เตรียมตัวอย่างให้มีความเจือจาง 5 ระดับ คือ 10^{-4}, 10^{-5}, 10^{-6}, 10^{-7},และ 10^{-8}
3. ใช้ปิเปตดูดอาหารแต่ละความเจือจาง โดยเริ่มจากตัวอย่างที่มีความเจือจางมากที่สุดใส่ในจานเพาะเชื้อจานละ 1 มล.
4. เทอาหารเลี้ยงเชื้อ PDA ลงในจาน ประมาณจานละ 15-20 มล. เขย่าจานโดยหมุนไปทางขวา 3-4 ครั้ง หมุนไปทางซ้าย 3-4 ครั้ง ตั้งทิ้งไว้จนวุ้นแข็ง

   หมายเหตุ เพื่อป้องกันไม่ให้ตัวอย่างอาหารแห้งติดจานเพาะเชื้อ ซึ่งจะทำให้ยากต่อการกระจายของเชื้อ ไม่ควรใส่ตัวอย่างอาหาร ทิ้งไว้ในจานเกิน 10 นาที ก่อนที่จะเทอาหารเลี้ยงเชื้อ และเพื่อป้องกันการเพิ่มจำนวนของจุลินทรีย์ใน diluent ควรกะระยะเวลาระหว่างการทำให้อาหารเจือจางในครั้งแรกจนถึงการเทอาหารเพาะเชื้อจานสุดท้าย ไม่ให้เกิน 20 นาที
5. นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 30-35 °C ประมาณ 1-2 วัน (ให้สังเกตุดู ถ้าสามารถนับจำนวนจุลินทรีย์ได้ ก็ให้นับได้เลย เพราะเชื้อราจะเจริญเติบโตเร็ว ถ้าปล่อยทิ้งไว้นานจะนับจำนวนลำบาก)

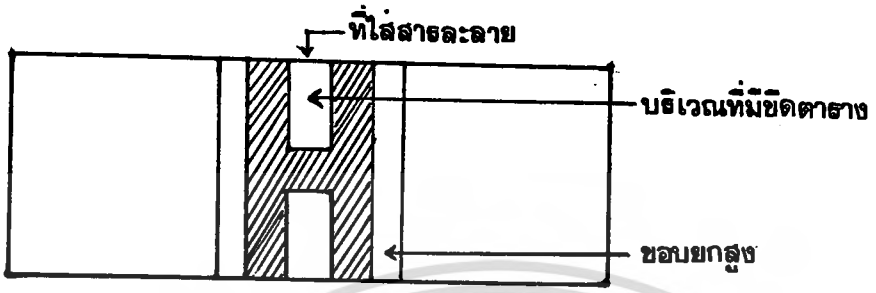
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

6.นับจำนวนโคโลนี โดยใช้ colony counter เลือกเฉพาะความเจือจางที่มีโคโลนีระหว่าง 30-300 โคโลนีต่อจานเพาะเชื้อ หาค่าเฉลี่ยแล้วรายงานจำนวนที่นับได้ต่ออาหาร 1 กรัม โดยคูณค่าเฉลี่ยนั้นด้วยระดับความเจือจางที่ตรวจนับ เช่น เมื่อตรวจนับที่ระดับความเจือจาง 10^{-4} ค่าเฉลี่ยจำนวนโคโลนีที่ตรวจนับได้ = 120 ดังนั้น ตัวอย่างอาหารจะมีจุลินทรีย์ 120 X 10^{-4} เซลต่อกรัม

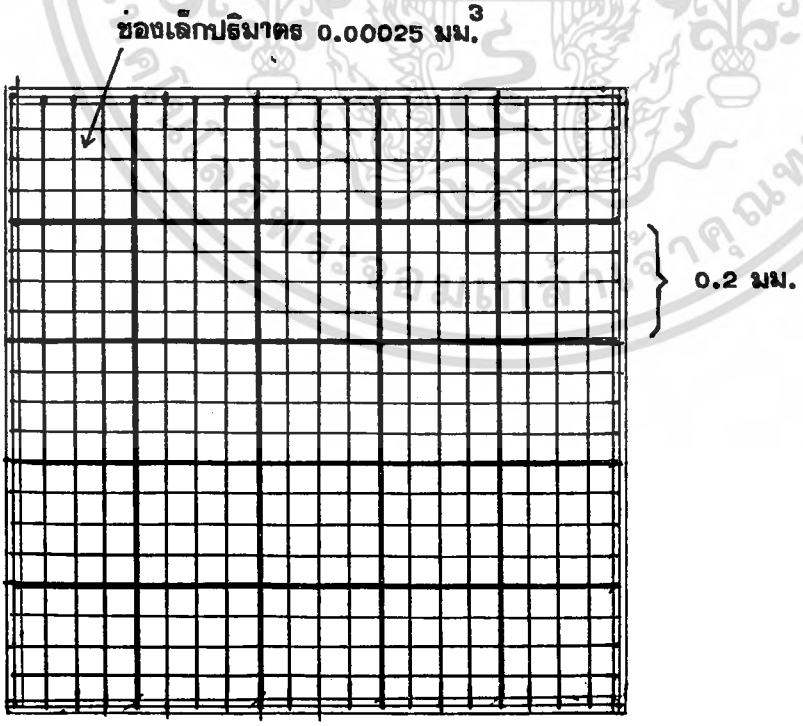
<u>การตรวจวิเคราะห์ปริมาณจุลินทรีย์ด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้ Haemacytometer</u>

Haemacytomeyer เป็นเครื่องมือซึ่งโดยพื้นฐานใช้สำหรับการนับเม็ดเลือด แต่ได้นำมาประยุกต์ใช้ในการนับจำนวนจุลินทรีย์และสปอร์ของเชื้อรา เครื่องมือนี้เป็นสไลด์ซึ่งมีสเกลแบ่งช่องไว้แน่นอนและมีขอบยกสูงจาก scale เมื่อปิดด้วย cover slip ขอบนี้จะรองรับ cover slip ไว้ ทำให้เกิดช่องว่างระหว่าง cover slip กับ บริเวณที่มีสเกล คิดเป็นความลึกได้ 0.1 มิลลิลิตร (หรือ 0.2 มิลลิลิตร แล้วแต่บริษัทผู้ผลิต) สเกลที่กำหนดไว้ประกอบด้วยช่องสี่เหลี่ยมจตุรัสใหญ่ 25 ช่องแต่ละช่องมีขนาด 0.2 X 0.2 ตร.มล. แต่ละช่องใหญ่นี้มีขีดแบ่งเป็นช่องเล็กอีก 16 ช่อง แต่ละช่องมีเนื้อที่ 0.05 X 0.05 ตร.มล. ดังนั้น ของเหลวที่บรรจุอยู่ในแต่ละช่องเล็กจะมีปริมาตร 0.00025 มม.^{3} (0.05 X 0.05 X 0.1)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 1 Heamacytometer สำหรับนับเซล



ภาพที่ 2 ขยายตารางบน Heamacytometer

ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อกำหนดของความถูกต้องแม่นยำ

ตัวอย่างอาหารควรเจือจางในระดับที่สามารถ ตรวจนับจุลินทรีย์ในแต่ละช่องเล็กได้ในระหว่าง 3-5 เซล

วิธีเตรียมสไลด์และการตรวจนับเซล

1. ล้างเครื่องมือให้สะอาด เช็ดให้แห้ง
2. วางสไลด์ลงบนโต๊ะและปิดทับบริเวณสี่เหลี่ยมซึ่งมีช่องแบ่งด้วย cover slip
3. ใช้ปิเปตแบบที่ใช้กับเครื่องมือนี้เป็นปิเปตซึ่งมีสายยางสวมปลาย ดูดตัวอย่างให้เต็มกระเปาะกลาง แล้วใช้ปลายปิเปตด้านแหลม แตะที่ช่องสำหรับใส่ตัวอย่าง(ระหว่าง cover slip กับ สไลด์) เบาๆให้ตัวอย่างสารละลายซึมเข้าไปในบริเวณช่องที่มีขีดตาราง
4. ตรวจนับเซลด้วยกล้องจุลทรรศน์ โดยใช้เลนส์วัตถุกำลังขยาย 40, 60 เท่า ควรตรวจนับจุลินทรีย์ในแต่ละช่องเล็กโดยสุ่มนับไม่น้อยกว่า 10 ช่อง (ในแนวทะแยงมุมหรือแนวตั้งฉาก) จำนวนเซลที่นับได้ในแต่ละช่องเล็กควรอยู่ระหว่าง 3-5 เซล ถ้ามากกว่านี้ควรทำให้เจือจาง
5. คำนวณหาจำนวนเฉลี่ยต่อช่อง
6. คำนวณจุลินทรีย์ต่อตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร จากสูตร

จำนวนจุลินทรีย์ในตัวอย่างอาหาร 1 มิลลิลิตร = $4 \times 10^5 \times$ จำนวนเฉลี่ยของจุลินทรีย์ต่อช่องเล็ก (X ระดับความเจือจางในน้ำยาไอโอดีน)

การวิเคราะห์ปริมาณแป้ง

1. นำตัวอย่าง 1 กรัม ใส่ในขวดก้นกลม ขนาด 250 มล. เติมกรดเกลือเข้มข้น 25 % 10 มล. เติมน้ำกลั่น 90 มล. นำไป Hydrolyze ในอ่างน้ำเดือด $2^1/_2$ ชั่วโมง
2. ปล่อยให้เย็น แล้วปรับ pH ให้เป็นกลาง คือประมาณ 7.0 ด้วย 4 molar NaOH (ใช้ประมาณ 20 มล.)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.วัดปริมาตรสุดท้าย (หรือใช้วิธีเติมน้ำกลั่น เพื่อปรับให้มีปริมาตรที่แน่นอน)

4.นำไปหาน้ำตาล(กลูโคส)

5.ค่าที่ได้คูณด้วย 0.9 จะเป็นปริมาณแป้งที่มีอยู่

การวิเคราะห์หา reducing sugar ตามวิธีของ Samoghi and nelson

1.ใช้ปิเปตดูดตัวอย่างที่มีน้ำตาลกลูโคสประมาณ 1-60 ไมโครกรัม จำนวน 1 มล. ใส่หลอดทดลอง

2.เติมสารละลาย copper ลงไป 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน

3.ต้มในน้ำเดือด 10 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นทันที

4.เติมสารละลาย Nelson 1 มล.

5.เติมน้ำกลั่น 10 มล. ผสมให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ 15-40 นาที

6.นำไปวัด O.D. (OPTICAL DENSITY) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร
นำค่าที่ได้ไปอ่านค่าความเข้มข้นของน้ำตาล จาก standard กลูโคส

การทำ standard curve ของ glucose

1.ชั่งน้ำตาลกลูโคสชนิด AR grade (ใช้เครื่องชั่งละเอียด) มา dilute ในน้ำกลั่น จนกระทั่งได้สารละลายน้ำตาลกลูโคส 1 ไมโครกรัม ในน้ำ 1 มิลลิลิตร

2.ดูดสารละลายน้ำตาลกลูโคสที่เตรียมได้มา 1 มิลลิลิตร ใส่หลอดทดสอบ

3.เติมสารละลาย copper ลงไป 1 มล. เขย่าให้เข้ากัน

4.ต้มในน้ำเดือด 10 นาที หลังจากนั้นทำให้เย็นทันที

5.เติมสารละลาย Nelson 1 มล.

6.เติมน้ำกลั่น 10 มล. ผสมให้เข้ากัน วางทิ้งไว้ 15-40 นาที

7.นำไปวัด O.D. (OPTICAL DENSITY) ที่ความยาวคลื่น 520 นาโนเมตร

8.เตรียมสารละลายน้ำตาลกลูโคส 10, 20, 30, 40, 50, 60 ไมโครกรัม ในน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร แล้วทำการทดลองเช่นเดียวกันตั้งแต่ข้อ 2-7

9.สร้างกราฟระหว่างค่า O.D. ที่วัดได้ กับ ความเข้มข้นของน้ำตาลกลูโคสที่ใช้

ลิขสิทธิ์นี้เป็นของมหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ ใช้สำหรับการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

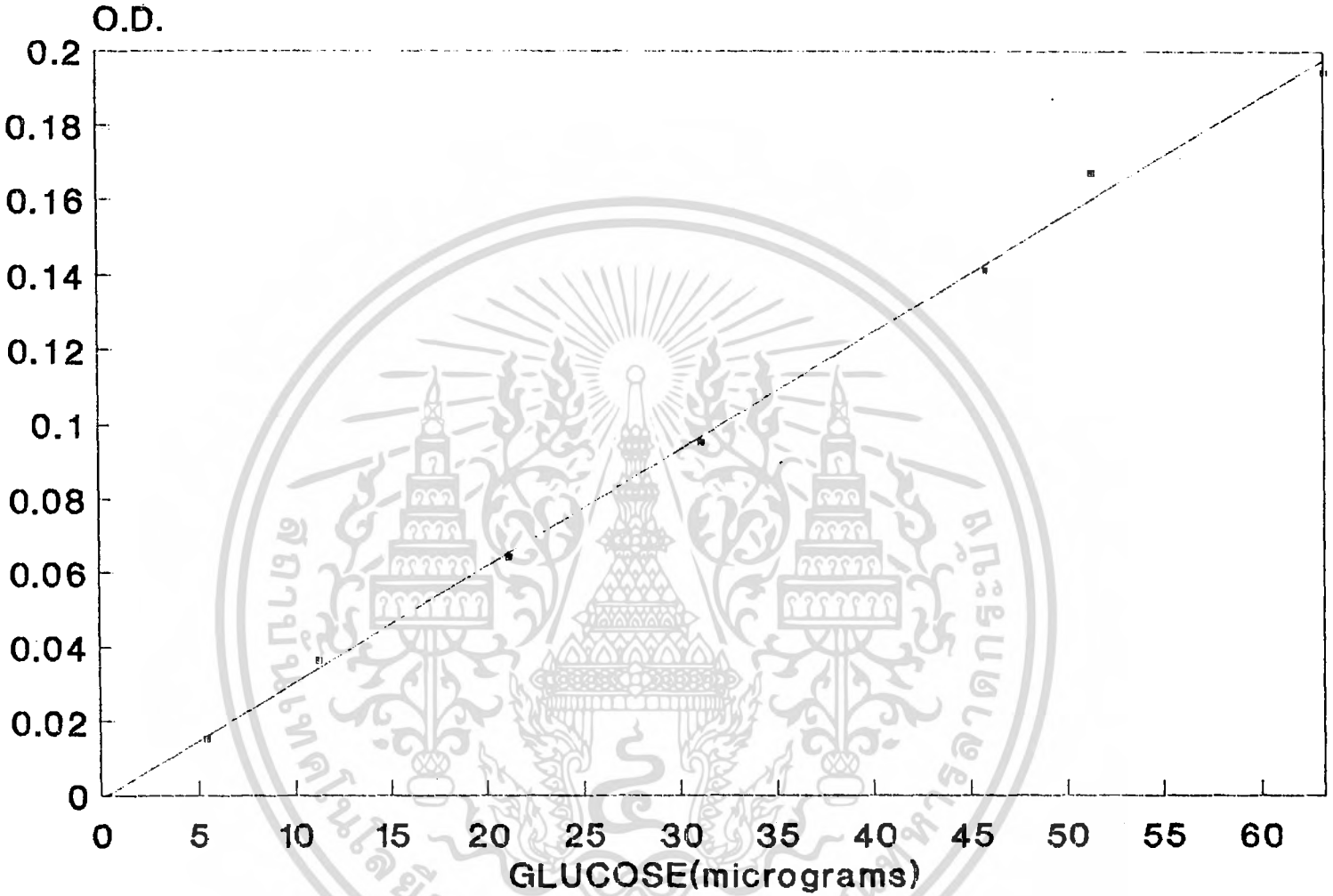
ตารางที่ 1 ผลการทดลองวัดค่า O.D. ของ standard glucose

ปริมาณกลูโคส (μg)	O.D. ที่วัดได้
5.4	0.015
11.2	0.036
21.1	0.064
31.1	0.095
45.7	0.041
51.3	0.167
63.3	0.194

ตารางที่ 2 ผลการทดลองวัดค่า O.D. ของข้าวเหนียวสุกผสม koji ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น และ ข้าวเหนียวสุกผสม mold bran ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

	O.D. ที่วัดได้	
dilution	กรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น	กรรมวิธีการหมักแบบไทย
10^{-3}	0.0352	0.034

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 3 แสดงค่า optical density ของ standard glucose

ตัวอย่างการคำนวน

กรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

น้ำหนักข้าวเหนียวดิบ 600 กรัม เมื่อนำไปนึ่งจนสุกแล้วจะมีน้ำหนัก 925 กรัม

นำข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้ว ผสมกับ Koji ในอัตราส่วนข้าวเหนียวสุก : Koji=4:1 จากนั้นนำข้าวเหนียวสุกผสม Koji ไปหาปริมาณน้ำตาล โดยใช้วิธีของ Samoghi and Nelson

น้ำหนักข้าวเหนียวสุกผสม Koji ที่ชั่ง = 1.3447 กรัม

ใช้ระดับความเจือจาง 10^{-3} ในการวัดค่า O.D จะได้ค่า O.D = 0.0352

นำค่า O.D ที่ได้ไปเทียบกับ Standard curve จะได้ปริมาณกลูโคส = 11.2 ไมโครกรัม

ปริมาตรสุดท้ายที่วัดได้หลังจากไฮโดรไลซ์และปรับพีเอช ให้เป็นกลางแล้ว =74 มิลลิลิตร

ดังนั้น สารละลาย 1 มิลลิลิตร มี กลูโคส = $11.2 \times 10^{3} \times 10^{-6}$ กรัม

สารละลาย 74 มิลลิลิตร มี กลูโคส = $11.2 \times 10^{3} \times 10^{-6} \times 74$ กรัม

= 0.8288 กรัม

นั้นคือ ข้าวเหนียวสุกผสม Koji 1.3447 กรัม จะมีน้ำตาลกลูโคส = 0.8288 กรัม

ในข้าวเหนียวสุกผสม Koji 1.3447 กรัม จะมีข้าวเหนียวสุก = $4 \times 1.3447/5$

= 1.0758 กรัม

ข้าวเหนียวสุก 925 กรัม มาจากข้าวเหนียวดิบ = 600 กรัม

ข้าวเหนียวสุก 1.0758 กรัม มาจากข้าวเหนียวดิบ = $600 \times 1.0758/925$ กรัม

= 0.6978 กรัม

นั้นคือ ข้าวเหนียวดิบ 0.6978 กรัม เมื่อทำให้สุกแล้วผสม Koji จะมีปริมาณน้ำตาล = 0.8288 กรัม

เตรียมน้ำหมักที่มีความเข้มข้นของน่าตาลเริ่มต้น 15 %

น้ำหมัก 100 กรัม จะมีปริมาณน้ำตาล = 15 กรัม

น้ำหมัก 1000 กรัม จะมีปริมาณน้ำตาล = $15 \times 1000/100$

= 150 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาณน้ำตาล 0.8288 กรัม เกิดจากข้าวดิบ = 0.6978 กรัม

ปริมาณน้ำตาล 150.00 กรัม เกิดจากข้าวดิบ = 0.6978 X 150/0.8288

= 126.29 กรัม

นั้นคือ เมื่อนำข้าวเหนียวดิบ 126.29 กรัม มานึ่งให้สุก ผสมกับ Koji ในอัตราส่วน ข้าวเหนียวสุก : Koji = 4:1 แล้วเติมน้ำกลั่นลงไป จนมีปริมาตร 1000 มิลลิลิตร จะได้น้ำหมักที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้น 15 % ดังตัวอย่าง

น้ำหนักข้าวดิบ = 126.29 กรัม

เมื่อนึ่งสุกจะมีน้ำหนัก = 194.70 กรัม

Koji ที่ต้องเติม = 194.70/4 = 48.68 กรัม

ดังนั้น ปริมาณน้ำที่ต้องเติม = 1000-48.68-194.70

= 756.62 มิลลิลิตร

ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นอื่นๆก็คิดได้ในทำนองเดียวกัน

หมายเหตุ สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่แน่นอน ควรจะนำน้ำหมักมาหาปริมาณน้ำตาลโดยใช้วิธีของ Samoghi and Nelson อีกครั้งหนึ่ง

<u>กรรมวิธีการหมักแบบไทย</u>

น.น.ข้าวเหนียวดิบ 600 กรัม เมื่อนำไปนึ่งจนสุกแล้ว จะมี น.น. 925 กรัม นำข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้วผสมกับ mold bran 0.5% แล้วนำไปหาปริมาณน้ำตาลโดยใช้วิธีของ Samoghi and nelson

น.น.ข้าวเหนียวสุกผสม mold bran ที่ชั่ง = 1.044 กรัม

ใช้ระดับความเจือจาง 10^{-3} ในการวัดค่า O.D ซึ่งจะได้ค่า O.D =0.034

นำค่า O.D ที่ได้ไปเทียบกับ Standard curve จะได้ปริมาณกลูโคส = 10.7 ไมโครกรัม

ปริมาตรสุดท้ายที่วัดได้หลังจากไฮโดรไลซ์และปรับพีเอชให้เป็นกลางแล้ว = 59 มิลลิลิตร

ดังนั้น สารละลาย 1 มิลลิลิตร มีกลูโคส = $10.7 \times 10^{3} \times 10^{-6}$ กรัม

สารละลาย 59 มิลลิลิตร มีกลูโคส = $10.7 \times 10^{3} \times 10^{-6} \times 59$

= 0.6313 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นั้นคือ ข้าวเหนียวสุกผสม mold bran 1.044 กรัม จะมีน้ำตาลกลูโคส 0.6313 กรัม
ในข้าวเหนียวสุกผสม mold bran 1.044 กรัม จะมีข้าวเหนียวสุก

$$= \frac{100 \times 1.044}{100.5}$$

= 1.039 กรัม

ข้าวเหนียวสุก 925 กรัม มาจากข้าวเหนียวดิบ = 600 กรัม
ข้าวเหนียวสุก 1.039 กรัม มาจากข้าวเหนียวดิบ = 600 X 1.039/925 กรัม
= 0.6739 กรัม

นั้นคือ ข้าวเหนียวดิบ 0.6739 กรัม เมื่อทำให้สุกแล้วผสม mold bran จะมีปริมาณน้ำตาล = 0.6313 กรัม

เตรียมน้ำหมักที่มีความเข้มข้นของน่าตาลเริ่มต้น 20 %
น้ำหมัก 100 กรัม จะมีปริมาณน้ำตาล = 20 กรัม
น้ำหมัก 1000 กรัม จะมีปริมาณน้ำตาล = 20 X 1000/100
= 200 กรัม

ปริมาณน้ำตาล 0.6313 กรัม เกิดจากข้าวดิบ = 0.6739 กรัม
ปริมาณน้ำตาล 200.00 กรัม เกิดจากข้าวดิบ = 0.6739 X 200/0.6313
= 213.5 กรัม

นั้นคือ เมื่อน่าข้าวเหนียวดิบ 213.5 กรัม มานึ่งให้สุกแล้วน่าไปผสมกับ mold bran 0.5 % และเติมน้ำกลั่นลงไปจนมีน้ำหนัก 1000 กรัม จะได้น้ำหมักที่มีความเข้มข้นเริ่มต้นเท่ากับ 20 % ดังนี้

น.น.ข้าวดิบ = 213.5 กรัม เมื่อนึ่งสุกจะมีน้ำหนัก 329.14 กรัม

mold bran ที่จะต้องเติม = $\frac{213.5 \times 0.5}{100}$ = 1.0675 กรัม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ดังนั้น ปริมาณน้ำที่จะต้องเติม = 1000 - 329.14 - 1.0675 = 669.75 กรัม

ที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นอื่นๆก็คิดได้ในทำนองเดียวกัน

หมายเหตุ สำหรับความเข้มข้นของน้ำตาลเริ่มต้นที่แน่นอน ควรจะนำน้ำหมักมาหาปริมาณน้ำตาล โดยใช้วิธีของ Samoghi and Nelson อีกครั้งหนึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

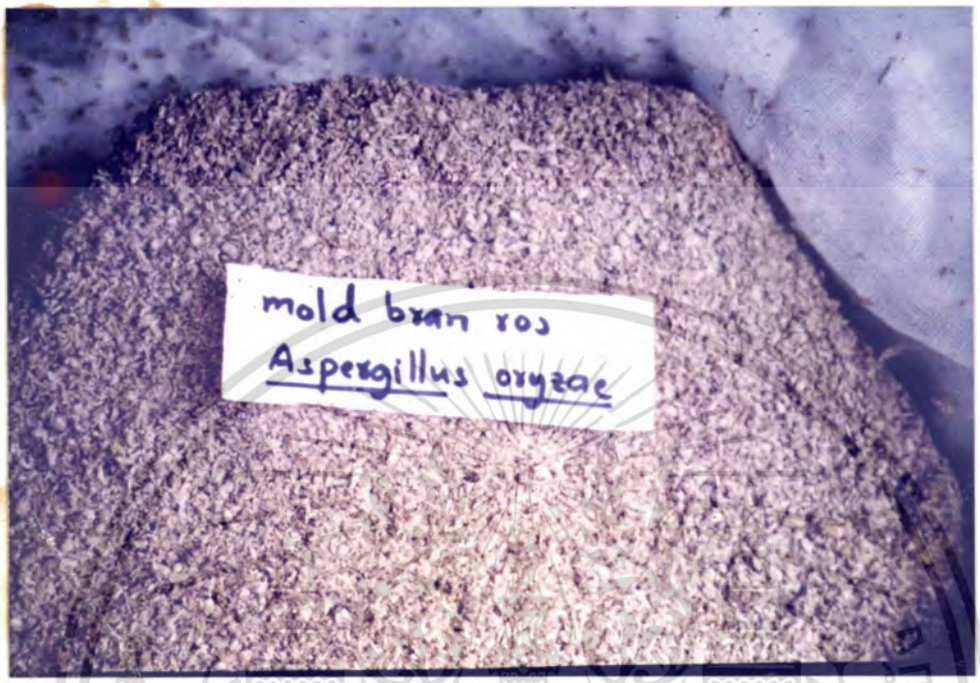
ภาพที่ 4 ลักษณะ koji ของเชื้อรา Aspergillus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่ง 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 5 นาที มาทำ ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

ภาพที่ 5 ลักษณะ koji ของเชื้อรา Rhizopus oryzae เมื่อใช้ข้าวเหนียวที่ผ่านการนึ่ง 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้วเป็นเวลา 5 นาที มาทำ ในกรรมวิธีการหมักที่ประยุกต์จากแบบญี่ปุ่น

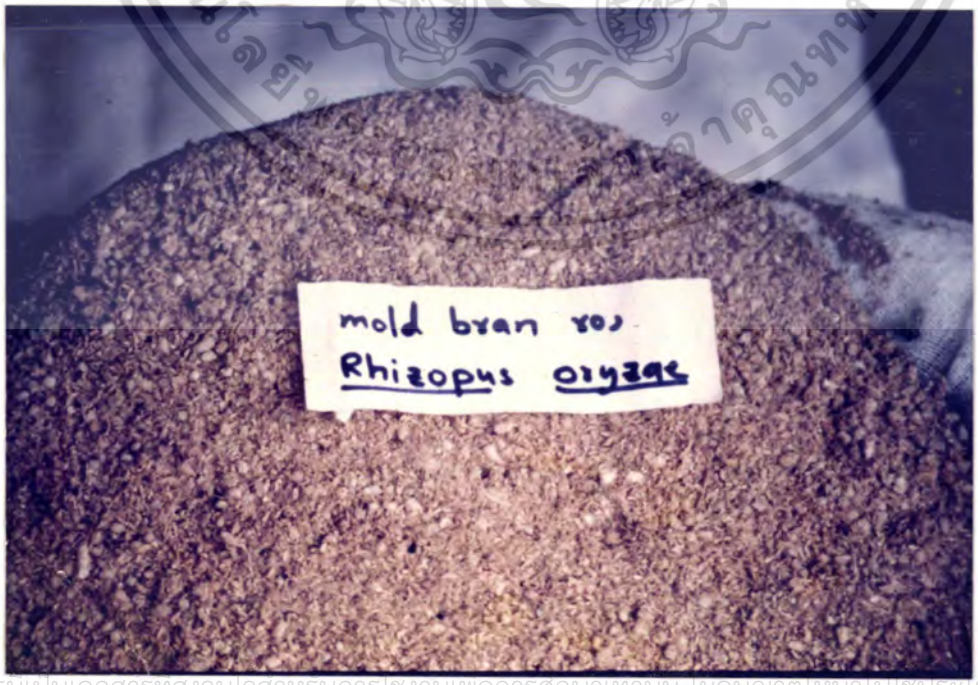
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 6 ลักษณะการเพาะเชื้อรา Rhizopus oryzae และ Aspergillus oryzae ใน flask ตามกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆ ทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 7 ลักษณะ mold bran ของ Aspergillus oryzae ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย



ภาพที่ 8 ลักษณะ mold bran ของ Rhizopus oryzae ในกรรมวิธีการหมักแบบไทย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า การแสวงหากำไร หรือการอื่นใดที่ก่อให้เกิดผลเสียต่อมหาวิทยาลัย