การเปรียบเทียบแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยโคจิจากเชื้อรา *Amylomyces* spp.

Comparison of calcium chloride and magnesium sulfate on efficiency of saccharification by *Amylomyces* spp.

ชื่นชม สายทอง
สิริลักษณ์ จรุงรุ่งเรืองชัย

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
คณะอุตสาหกรรมเกษตร
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
พ.ศ.2559

สำนักหอสมุดกลาง พระจอมเกล้าลาดกระบัง

การเปรียบเทียบแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยโคจิจากเชื้อรา *Amylomyces* spp.

Comparison of calcium chloride and magnesium sulfate on efficiency of saccharification by *Amylomyces* spp.

T148850

ชื่นชม สายทอง

สิริลักษณ์ จรุงรุ่งเรืองชัย

สจพ.
เลขทะเบียน 148850
วัน.เดือน.ปี 30 มิ.ย. 2560

b18247665x
.1

ปัญหาพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม

คณะอุตสาหกรรมเกษตร

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

พ.ศ. 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใบรับรองปัญหาพิเศษ

การเปรียบเทียบแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยโคจิจากเชื้อรา *Amylomyces* spp.

(Comparison of calcium chloride and magnesium sulfate on efficiency of saccharification by *Amylomyces* spp.)

จัดทำโดย

ชื่นชม สายทอง รหัสนักศึกษา 55080091

สิริลักษณ์ จรุงรุ่งเรืองชัย รหัสนักศึกษา 55080131

ได้รับการพิจารณาเห็นชอบจาก

.....

18 / มี.ค. / 56

(รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง)

อาจารย์ที่ปรึกษาปัญหาพิเศษ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อปัญหาพิเศษการ	การเปรียบเทียบแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพ ย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยโคจิจากเชื้อรา *Amylomyces* spp.
ชื่อนักศึกษา	ชื่นชม สายทอง รหัสนักศึกษา 55080091 สิริลักษณ์ จรุงรุ่งเรืองชัย รหัสนักศึกษา 55080131
หลักสูตร	วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรม
พ.ศ.	2559
อาจารย์ที่ปรึกษา	รศ.ดร. วราวุฒิ ครูส่ง

บทคัดย่อ

การศึกษาประจุโลหะและความเข้มข้นของประจุโลหะที่เติมลงในขั้นตอนการเพาะเลี้ยง *Amylomyces* spp. ใน Mold bran และขั้นตอนการย่อยข้าวรวมถึงผลของประจุโลหะในการหมักไวน์ข้าวมีผลช่วยทำให้เอนไซม์ทำงานได้ดีมีประสิทธิภาพมากขึ้น ส่งผลต่อปริมาณการเจริญเติบโตของเชื้อรา ในขั้นตอนการเพาะเลี้ยง *Amylomyces spp.* ใน Mold bran ปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสใน Mold bran ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟต ปริมาณ 0.25g/mold bran 12g โดยส่งผลให้เชื้อราเจริญได้ดีที่สุดและสามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ 795.57 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และกลูโคอะไมเลส 41.61 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง รวมทั้งปริมาณของกลูโคซามีนได้ 18.55 ไมโครกรัมต่อกรัม ในขั้นตอนของการย่อยข้าวพบว่าการย่อยข้าวโดยการเติมประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.35% ในวันที่ 1 ของการหมักในช่วงการปรับความชื้น (200มล./ข้าวนึ่ง 2 กก.) ให้ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสมีปริมาณมากกว่าที่เติมประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์ เมื่อนำมาหมักไวน์ข้าวพบว่าปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีปริมาณมากกว่าปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสเช่นกัน และค่าปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรดมีการลดลงอุณหภูมิและปริมาณแอลกอฮอล์มีการเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการหมักโดยเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

คำสำคัญ: ไวน์ข้าว, การย่อยข้าว, แอลฟาอะไมเลส, กลูโคอะไมเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Spacial Problem Title Comparison of calcium chloride and magnesium sulfate on efficiency of saccharification by *Amylomyces* spp.

Student name Cheunchom Saithong Student ID 55080091
Sirilak Jarungrungruengchai Student ID 55080131

Program Bachelor of Science Program in Fermentation Technology

Year 2015

Advisor Assoc. Prof. Dr. Warawut Krusong

ABSTRACT

Metal ions and their concentration addition into mold bran medium of *Amylomyces* spp. And the effect of metal ions addition during rice saccharification for amylase and glucoamylase activities were investigated. Results showed that mold bran added with 0.25g/mold bran 12g mold bran provided high activities of amylase 795.57 and glucoamylase 41.61 were obtained to the highest growth of *Amylomyces spp.* with high glucosamine 18.55. During rice saccharification, $MgSO_4$ with 0.35% concentration (supplemented after 24h during moisture adjustment) provided highest activities of both enzyme. The high activities of both enzyme also still remained during rice wine making from the previous saccharified rice used.

Keywords: Rice Wine, Saccharification, Alpha amylase, Glucoamylase

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

ข้าพเจ้าขอขอบคุณ รศ.ดร วราวุฒิ ครูส่ง ที่ปรึกษา ที่กรุณาให้คำปรึกษาเสนอแนะแนวทางวิจัย ตลอดจนตรวจแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้จนเสร็จสมบูรณ์ ขอขอบพระคุณคณะกรรมการ ที่กรุณาให้คำปรึกษา แนะนำ และตรวจสอบแก้ไขปัญหาพิเศษฉบับนี้ให้ถูกต้องและสมบูรณ์ยิ่งขึ้น ขอขอบพระคุณคณาจารย์ทุกท่านที่กรุณาอบรมสั่งสอนระหว่างการศึกษา ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ภาควิชาเทคโนโลยีการหมักในอุตสาหกรรมทุกท่านที่กรุณาอำนวยความสะดวกในด้านสถานที่ และเครื่องมือในการทำการวิจัย ขอขอบคุณ เพื่อน พี่ และน้องนิสิตบัณฑิตวิทยาลัย ภาควิชาเทคโนโลยีการมหักในอุตสาหรรมทุกคนที่ช่วยเหลือ ให้คำปรึกษา แนะนำ และกำลังใจตลอดระยะเวลาการศึกษา

ขอขอบคุณสมาชิกในครอบครัวสำหรับกำลังใจและให้ดารสนับสนุนการศึกษามาโดยตลอด

ชื่นชม สายทอง

สิริลักษณ์ จรุงรุ่งเรืองชัย

พฤษภาคม 2559

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	I
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	II
กิตติกรรมประกาศ	III
สารบัญ	IV
สารบัญตาราง	V
สารบัญภาพ	VI
บทที่ 1 บทนำ	1
1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา	1
1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	1
บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	2
2.1 ที่มาและความสำคัญของไวน์ข้าว	3
2.2 โคจิ	3
2.3 ข้าว และการจำแนกชนิดของข้าว	4
2.4 โครงสร้างของเมล็ดข้าว	5
2.5 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว	5
2.6 น้ำที่ใช้ในการผลิตไวน์ข้าว	7
2.7 ลูกแป้ง	8
2.8 รำข้าวใช้ในการผลิตไวน์ข้าว	9
2.9 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์	10
2.10 การผลิตกล้าเชื้อจุลินทรีย์	12
2.11 กระบวนการผลิตไวน์ข้าว	12
2.12 กระบวนการการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์	15
2.13 ประโยชน์ของการใส่ประจุแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตในการหมักไวน์ข้าว	17

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

	หน้า
บทที่ 3 อุปกรณ์และวิธีการทดลอง	19
3.1 วัตถุดิบและสารเคมี	19
3.2 อุปกรณ์	20
3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง	21
บทที่ 4 ผลการทดลองและวิจารณ์	23
4.1 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran	23
4.2 ผลของความเข้มข้นของประจุโลหะต่อการยอยข้าว	26
4.3 ผลของประจุโลหะในการหมักไวน์ข้าวในสภาพที่เหมาะสม	29
บทที่ 5 สรุปผลและข้อเสนอแนะ	31
บรรณานุกรม	33
ภาคผนวก	35
ภาคผนวก ก	36
ภาคผนวก ข	42
ภาคผนวก ค	48
ประวัติผู้เขียน	53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ

หน้า

ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว..... 5
2.2 แผนภูมิการผลิตลูกแป้งแบบแผนภูมิปัญญาท้องถิ่น..... 8
2.3 รำหยาบ..... 10
2.4 รำละเอียด..... 10
2.5 การทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และบีต้าอะเลส..... 11
2.6 แผนภูมิการผลิตสาโทแบบดั้งเดิมของผู้ประกอบการส่วนใหญ่..... 15
4.1 การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส ใน Mold bran ของเชื้อรา *Amylomyces* spp.ที่เติม $CaCl_2$ หรือ $MgSO_4$ เปรียบเทียบกับที่ไม่เติม..... 23
4.2 การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสใน mold bran ของเชื้อรา *Amylomyces* spp.ที่เติม $CaCl_2$ หรือ $MgSO_4$ เปรียบเทียบกับที่ไม่เติม..... 24
4.3 การเปลี่ยนแปลงของกลูโคซามีนใน mold bran ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติม $CaCl_2$ หรือ $MgSO_4$ เปรียบเทียบกับที่ไม่เติม 25
4.4 ผลของการส่องด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราในอาหารรำข้าวเจ้า ;(ก) กำลังขยายที่ 100 เท่า;(ข) กำลังขยายที่ 500 เท่า..... 25
4.5 ผลของความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ต่อเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ในการย่อยข้าวด้วย mold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.35g/12g mold bran)..... 26
4.6 ผลของการส่องด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM)เพื่อศึกษาการย่อยข้าวโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp. ;(ก) การย่อยข้าววันที่ 0 ที่กำลังขยาย 100 เท่า; (ข) การย่อยข้าววันที่ 0 ที่กำลังขยาย 500 เท่า;(ค) การย่อยข้าววันที่ 4 ที่กำลังขยาย 100 เท่า ;(ง) การย่อยข้าววันที่ 0 ที่กำลังขยาย100 เท่า..... 27
4.7 ผลของความเข้มข้นของ $MgSO_4$ ต่อเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ในการย่อยข้าวด้วย mold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.35g/12g mold bran)..... 28
4.8 ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาล , ความเป็นกรด , อุณหภูมิ ในระหว่างการย่อยข้าวด้วยmold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.25g/12g mold bran) ที่เติมประจุโลหะความเข้มข้น :(ก) $CaCl_2$ 0.35% :(ข) $MgSO_4$ 0.35%..... 29

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญภาพ(ต่อ)

หน้า

ภาพที่ 4.9 ผลการหมักไวน์ข้าว :(ก) ผลการหมักไวน์ข้าวของ $MgSO_4$ ต่อเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวด้วย Mold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.25g/12g mold bran):(ข) ปริมาณน้ำตาล ,ความเป็นกรด ,อุณหภูมิ และปริมาณแอลกอฮอล์ในการหมักไวน์ข้าวที่เติม$MgSO_4$ (0.25g/12g mold bran)..... 30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ปัจจุบันอุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ไทยได้มีการพัฒนาและขยายตัวอย่างรวดเร็ว จึงได้ทำการวิจัยนี้ขึ้น เพื่อศึกษาการเปรียบเทียบผลของแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตที่เลี้ยงบนรำข้าวต่อประสิทธิภาพการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยเชื้อราจากโคจิ *Amylomeces* spp.

1.2 วัตถุประสงค์ของการศึกษา

เปรียบเทียบผลของแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลบนโคจิจากรำข้าวโดยเชื้อรา *Amylomeces* spp.

1.2.1 ปัจจัยต่อการย่อยข้าว

1.2.2 เปรียบเทียบผลของแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาล

1.3 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

ได้ผลการทดลองที่ดีที่สุดระหว่างแคลเซียมคลอไรด์ และแมกนีเซียมซัลเฟต ต่อการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลบนโคจิจากรำข้าว โดยเชื้อรา *Amylomeces* spp.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2
ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 ที่มาและความสำคัญของไวน์ข้าว

ไวน์ข้าว หรือ คนไทยเรียกสาโท เป็นสุราแช่ที่มีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรี ในการผลิตสาโททำได้โดยการหมักข้าวนึ่งด้วยลูกแป้งนาน 3-4 วันจากนั้นเติมน้ำลงไปแล้วหมักต่ออีก 7-14 วัน ในอดีตจะลักลอบผลิตเพราะถือเป็นเรื่องผิดกฎหมาย แต่ในปี พ.ศ. 2543 รัฐบาลไทยได้มีนโยบายเปิดเสรีการผลิตและจำหน่ายสุราขึ้น ผู้ประกอบการหลายรายจึงผลิตและจำหน่ายสาโท แต่ก็ต้องประสบปัญหาขาดทุนและปิดกิจการเนื่องจากรสชาติที่ผลิตได้ไม่เป็นที่ยอมรับ คุณภาพไม่สม่ำเสมอ ดังนั้นจึงควรมีการศึกษาและพัฒนาเพื่อปรับปรุงให้สาโทไทยมีคุณภาพและรสชาติเป็นที่ยอมรับของผู้บริโภค

ข้าวเป็นวัตถุดิบหลักในการผลิตสาโท การศึกษาเรื่องข้าวที่ใช้ในการผลิตสาโทนั้นมีน้อยมากแต่ในประเทศญี่ปุ่นได้มีการศึกษาเรื่องข้าว กระบวนการขัดสีข้าว ตลอดจนกระบวนการผลิตเพื่อพัฒนาคุณภาพของสาเก ซึ่งคุณสมบัติของข้าวที่ใช้นั้นควรมีดังนี้คือ เมื่อแช่น้ำ ควรมีอัตราการดูดซึมน้ำมากและเร็ว เมื่อนึ่งให้สุกแล้วข้าวควรมีลักษณะเมล็ดที่อ่อนนุ่มซึ่งเชื้อราเจริญได้ดีสามารถแทงเส้นเข้าไปในเมล็ดข้าวได้ง่าย และเอนไซม์ที่ผลิตจากเชื้อราทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพ (Kodama, 1970) ข้าวที่มีคุณสมบัติ เช่นนี้จึงเหมาะต่อการนำมาผลิตสาเกเมื่อเอนไซม์ที่เกิดจากเชื้อรายย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้อย่างมีประสิทธิภาพแล้วก็จะทำให้ยีสต์ใช้น้ำตาลและเกิดเป็นแอลกอฮอล์ ในขณะเดียวกันก็มีบางส่วนที่ถูกเปลี่ยนไปเป็นผลิตภัณฑ์อื่นๆ เช่น กลีเซอรอล เป็นต้น สารให้กลิ่นรส เช่น สารประกอบเอสเทอร์ ฟูเซลออยล์ กรดอินทรีย์ เป็นต้น นอกจากนั้นโปรตีน ไขมัน และแร่ธาตุ ซึ่งเป็นองค์ประกอบรองที่มีในข้าว ซึ่งองค์ประกอบเหล่านี้มีผลต่อการเกิดกลิ่นรสและคุณภาพ

ระดับการขัดสีของข้าวในการหมักสาเกก็มีการศึกษาด้วยเช่นกัน เนื่องจากการขัดสีข้าวจะทำให้ปริมาณโปรตีนในเมล็ดข้าวลดลง โดยเอนไซม์ที่ผลิตขึ้นจากเชื้อรา โปรตีนจะถูกย่อยให้เป็นกรดอะมิโนและเพปไทด์ ซึ่งกรดอะมิโนบางส่วนจะถูกยีสต์ดูดซึมและเปลี่ยนให้เป็นฟูเซลออยล์ ทำให้สาเกมีรสที่ดีแต่ ถ้ามีในปริมาณมากเกินไปจะทำให้รสชาติของสาเกไม่ดี มีสีเข้ม และเร่งให้เกิดความเสื่อมเสียทางคุณภาพ

ในขั้นตอนการขัดสีข้าวจะลดปริมาณไขมันลงได้มากเนื่องจากไขมันส่วนใหญ่จะอยู่ที่ผิวนอกของข้าว ไขมันจะส่งผลต่อการเกิดกลิ่นหืนของสาเก ในระหว่างการเก็บบ่ม เนื่องจากสามารถเกิดการออกซิเดชันของกรดไขมันซึ่งส่งผลต่อกลิ่นรสของสาเก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประเทศที่ผลิต	ชื่อเรียกไวน์ข้าว
ญี่ปุ่น	Sake,Amasake
ฟิลิปปินส์	Tapuy
อินเดีย	Shonti,Murcha
เกาหลี	Makkari
จีน	Shao-Shin-Chu
มาเลเซีย	Tapay
เวียดนาม	Baside
ไทย	กระแช่ น้ำขาว สาโท

ตารางที่ 2.1 ชื่อไวน์ข้าวและประเทศที่ผลิต
ที่มา : Gladys Piatt, 1978

2.2 โคจิ

โคจิเป็นราเจริญอยู่บนเมล็ดข้าว วัตถุประสงค์เพื่อให้ราสร้างเอนไซม์ต่างๆ ออกมา โดยเฉพาะพวก amylases และ proteases ในการทำโคจิของสาเกนั้น ใช้เชื้อรา *Aspergillus oryzae* ซึ่งในญี่ปุ่นมีบริษัทผลิตสปอร์ของราดังกล่าว เพื่อใช้ในการทำสาเกโดยเฉพาะสปอร์ของราเป็นของผสมจากราหลายสายพันธุ์ เอนไซม์ที่สำคัญของโคจิที่จะใช้ทำสาเกนั้นมีหลายจำพวก เช่น ใช้ย่อยแป้ง ซึ่งประกอบด้วย alpha- amylase กับ amyloglucosidase ส่วนเอนไซม์ย่อยโปรตีนนั้นมีทั้ง acid และ alkaline-protease แต่ตัวที่สำคัญคือ acid-protease ซึ่งทำงานได้ดีที่ pH 3-4 โดยจะตัด peptides chains ได้ amino acids ออกมา ในการเตรียม koji พบว่าถ้าทำที่อุณหภูมิสูง (40 °C) จะได้ amylases ออกมา แต่ถ้าบ่มที่อุณหภูมิต่ำ (30 °C) จะได้ proteases ออกมามาก โคจิต่างชนิดกันนี้ใช้ประโยชน์ต่างกัน เช่น ถ้าใช้เตรียมหัวเชื้อยีสต์ (moto) จะใช้โคจิที่มี amylases อยู่มาก เพื่อยีสต์จะได้เจริญได้เร็วในเวลาอันสั้น แต่คุณสมบัติดังกล่าวไม่จำเป็นสำหรับโคจิที่ใช้ในการทำสาเกที่อุณหภูมิต่ำๆ

วัตถุดิบที่จะใช้ทำโคจิคือ ข้าวนึ่งเรียบร้อยแล้วกับ tane koji ซึ่งเป็นเมล็ดของราที่จะใช้ทำ (ปัจจุบันใช้สปอร์ราที่ผลิต เป็นการค้า) ข้าวที่ใช้ทำโคจิมักจะผ่านการขัดสีประมาณ 70-75%เมื่อนึ่งแล้วข้าวจะแห้งและแข็งด้านนอก แต่ภายในเมล็ดข้าวจะชื้นและนุ่ม เมื่อเพาะราแล้วเจริญบนผิวน้อยเนื่องจากแห้ง ราจะแทงเส้นใยลงในเมล็ดข้าว โคจิแบบนี้เรียกว่า tsukihaze koji (spoted koji) แต่ถ้าเมล็ดข้าวมีผิวหน้าชื้นแต่ภายในแห้ง ราจะเจริญที่ผิวหน้าเท่านั้น โคจิแบบนี้เรียกว่า murihaze koji (painted koji)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.3 ข้าว และการจำแนกชนิดของข้าว

ข้าว" เป็นธัญญาหารหลักของชาวโลก จัดเป็นพืชสายพันธุ์เดียวกับหญ้าซึ่งนับได้ว่าเป็นหญ้าที่มีขนาดใหญ่ที่สุดในโลกและมีความหลากหลายทางชีวภาพ สามารถปลูกขึ้นได้ง่ายมีความทนทานต่อทุกสภาพภูมิประเทศในโลกไม่ว่าจะเป็นถิ่นแห้งแล้งแบบทะเลทราย พื้นที่ราบลุ่มน้ำท่วมถึง หรือแม้กระทั่งบนเทือกเขาที่หนาวเย็น ข้าวก็ยังสามารถงอกงามขึ้นมาได้อย่างทรหดอดทน

สายพันธุ์ของพืชตระกูลข้าวที่มีอยู่บนโลกนี้มีมากถึง 120,000 สายพันธุ์ แต่พันธุ์ที่รู้จักและนำมาปลูกสามารถแบ่งออกได้เป็น 2 ชนิดคือ Oryza Savita ที่นิยมเพาะปลูกในทวีปเอเชีย และ Oryza glaberrina ที่นิยมเพาะปลูกในทวีปแอฟริกา แต่ข้าวที่ปลูกและซื้อขายกันในตลาดโลกเกือบทั้งหมดจะเป็นข้าวจากทวีปเอเชีย แบ่งเป็น 3 กลุ่มตามลักษณะและพื้นที่ปลูกได้ ดังนี้

ข้าวอินดิกา (Indica rice) มีลักษณะเมล็ดยาวรี ต้นสูง เป็นข้าวที่ปลูกในเอเชียเขตมรสุมตั้งแต่จีน เวียดนาม ฟิลิปปินส์ ไทย อินโดนีเซีย อินเดีย และศรีลังกา ข้าวพันธุ์นี้ค้นพบครั้งแรกในอินเดียและต่อมาได้พัฒนาไปปลูกที่ทวีปอเมริกา

ข้าวจาปอนิกา (Japonica rice) เป็นข้าวที่ปลูกในเขตอบอุ่น เช่น จีน ญี่ปุ่น เกาหลี มีลักษณะเมล็ดป้อมกลมรี ต้นเตี้ย

ข้าวจาวานิกา (Javanica rice) ปลูกในอินโดนีเซียและฟิลิปปินส์ มีเมล็ดป้อมใหญ่ แต่ไม่ได้รับความนิยมเพราะให้ผลผลิตต่ำ

การจำแนกชนิดของข้าวตามประเภทของเนื้อในหรือองค์ประกอบทางเคมีในเมล็ดข้าวสาร

1.ข้าวเจ้า สตาร์ชจากข้าวเจ้าประกอบด้วยอะไมโลส ประมาณร้อยละ 9-33 พันธุ์ข้าวเจ้า ได้แก่ ขาวดอกมะลิ 105, ปทุมธานี 60, กข7, เหลืองประทิว 123, ขาวตาแห้ง 17, พัทลุง 60, สุพรรณบุรี 1, สุรินทร์ 1

2. ข้าวเหนียว สตาร์ชจากข้าวเหนียวประกอบด้วยอะไมโลเพกทินเป็นส่วนใหญ่และมี amylose เพียงเล็กน้อย ประมาณร้อยละ 5-7 เท่านั้น พันธุ์ข้าวเหนียว ได้แก่ สันป่าตอง 1, สกลนคร กข 2, กข 6, กข 8

การจำแนกชนิดของข้าวเจ้าตามปริมาณ amylose และเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก

พันธุ์ข้าวเจ้าที่ปลูกในประเทศไทย แบ่งตามปริมาณ amylose ได้ 3กลุ่ม คือ

1. ข้าวที่มีปริมาณ amylose ต่ำ (9-20%) ได้แก่ ข้าวหอมมะลิ 105, กข.15, ปทุมธานี 1 และ กข 21 ลักษณะข้าวสุกจะเหนียวและนุ่ม

2. ข้าวที่มีปริมาณ amylose ปานกลาง (20-25%) ได้แก่ กข. 23, กข. 7, สุพรรณบุรี 2 และ สุพรรณบุรี 60 ลักษณะข้าวสุกจะค่อนข้างเหนียวและนุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. ข้าวที่มีปริมาณ amylose สูง (25-33%) ได้แก่ เหลืองประทิว 123, ชัยนาท 1 และ สุพรรณบุรี 90 ลักษณะข้าวสุกจะร่วนและแข็ง

2.4 โครงสร้างของเมล็ดข้าว

ข้าวมีโครงสร้างต่างๆ ดังนี้ (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

2.4.1 แกลบ (Hull, Husk) เป็นส่วนที่ห่อหุ้มเมล็ดข้าว ประกอบด้วยเปลือกใหญ่ (Lemma) เปลือกเล็ก (Palea) หาง (Awn) ขั้วเมล็ด (Rachilla) และกลีบรองเมล็ด (Sterile lemmas)

2.4.2 เยื่อหุ้มผล (Pericarp) เป็นเนื้อเยื่อชั้นนอก ห่อหุ้มผลอยู่ภายใน มีสารสีหรือรงควัตถุปนอยู่ ทำให้ข้าวกล้องมีสี เช่น สีน้ำตาลอ่อน น้ำตาลแดง เป็นต้น และยังมีโปรตีน เซลลูโลส เฮมิเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบที่สำคัญ

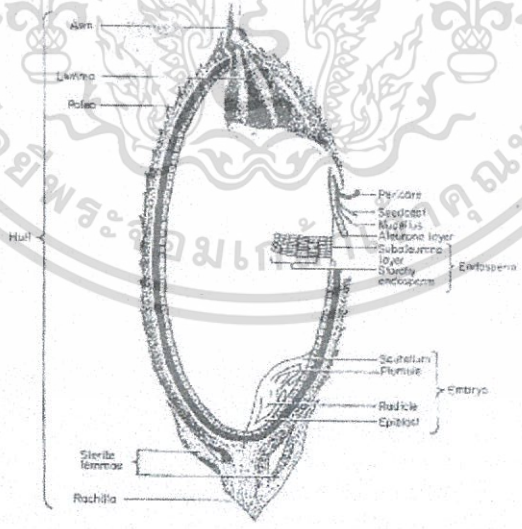
2.4.3 เยื่อหุ้มเมล็ด (Seed Coat) อยู่ถัดจากเยื่อหุ้มผลเข้ามาภายในเซลล์มีไขมันและสารสีหรือรงควัตถุเช่นเดียวกันกับเยื่อหุ้มผล ทำให้ข้าวกล้องมีสี

2.4.4 นิวเซลลัส (Nucellus) เป็นเซลล์ชั้นที่ติดกับเยื่อหุ้มเมล็ด แต่สามารถแยกออกจากเยื่อหุ้มเมล็ดได้ง่าย เนื่องจากทำพันธะไม่แน่นมากนัก

2.4.5 เยื่อชั้นแอลิวโรน (Aleurone layer) จะอยู่ถัดจากเยื่อหุ้มเมล็ด มีความหนาที่แตกต่างไปตามพันธุ์ข้าว ส่วนของเซลล์แอลิวโรนที่ห่อหุ้มคัพภะจะบาง มีกลุ่มไขมันและโปรตีนน้อย

2.4.6 คัพภะ (Embryo) จะอยู่ที่โคนเมล็ดด้านเปลือกใหญ่ เป็นแหล่งสะสมอาหารสำหรับการเจริญเติบโตของต้นอ่อน

2.4.7 เนื้อเมล็ด หรือ เนื้อข้าว (Endosperm) มีมากที่สุดในเมล็ดข้าว ประมาณร้อยละ 80 ของน้ำหนักเมล็ดทั้งหมด มีเม็ดสตาร์ชอัดแน่นรวมเป็นกลุ่มเม็ดสตาร์ช



ภาพที่ 2.1 โครงสร้างของเมล็ดข้าว
ที่มา : Juliano, 1993

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5 องค์ประกอบทางเคมีของข้าว

องค์ประกอบทางเคมีมีผลต่อคุณภาพของข้าวทั้งในข้าวเปลือก ข้าวกล้อง และข้าวสาร โดยคาร์โบไฮเดรตซึ่งมีสตาร์ชเป็นหลัก และสตาร์ชประกอบด้วยอะไมโลส และอะไมโลเพกทินในสัดส่วนต่างๆกันขึ้นอยู่กับชนิดของข้าว ทำให้ข้าวมีลักษณะในการหุงต้มและคุณภาพในการรับประทานต่างกันไป (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

2.5.1 คาร์โบไฮเดรตสตาร์ชเป็นคาร์โบไฮเดรตประเภทพอลิแซ็คคาไรด์ที่พบมากที่สุดในเนื้อเมล็ดข้าวร้อยละ 90 จึงมีผลต่อคุณภาพข้าวมากที่สุด โดยที่โมเลกุลของสตาร์ชจะประกอบด้วยพอลิเมอร์ของกลูโคส 2 ลักษณะคือ อะไมโลส และอะไมโลเพกทิน ซึ่งโมเลกุลทั้งสองจะจัดเรียงตัวกันแน่นจนเป็นเม็ดสตาร์ช (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

2.5.1.1 อะไมโลส ประกอบด้วยกลูโคสจัดเรียงตัวกนเป็นพอลิเมอร์เชิงเส้น (linear chain) ด้วยพันธะแอลฟา-1,4 มีโซ่กิ่ง (branched chain) อยู่ประมาณ3-4 กิ่ง ด้วยพันธะแอลฟา-1,6 มีระดับขั้นของพอลิเมอไรเซชันเฉลี่ย 1,000-1,100 มีความยาวของสายเฉลี่ย 250-320 จำนวนสายเฉลี่ย 3.4- 4.0 และมีโมเลกุลที่เป็นกิ่งกานร้อยละ 31-49โครงสร้างโมเลกุลของอะไมโลส มีหลายรูปแบบ เช่นสายตรง สายพันเป็นเกลียวเดี่ยว หรือ คู่ มีลักษณะเกลียวม้วน หรือเกลียวที่คลายตัวหรือม้วนอย่างไม่เจาะจง (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

2.5.1.2 อะไมโลเพกทิน ประกอบด้วย น้ำตาลกลูโคสที่จัดเรียงตัวเป็นพอลิเมอร์ที่มีโซ่กิ่งเป็นแขนงมาก ประมาณร้อยละ 96 ต่อกันด้วยพันธะแอลฟา -1,4 และอีกร้อยละ 4 ต่อด้วยพันธะแอลฟา-1,6 มีระดับขั้นการพอลิเมอไรเซชันเฉลี่ย 4,700-18,500 ความยาวของสายเฉลี่ย 18-21 มีจำนวนสายเฉลี่ย 220-1,000 โดยความยาวของสายภายนอกเฉลี่ย 12-14 และความยาวของสายภายในเฉลี่ย 5-6 โครงสร้างอะไมโลเพกทิน มีลักษณะกิ่งกานในลักษณะโซ่กิ่งเกลียวคู่จากสายที่ต่อด้วยกลูโคสเริ่มต้นซึ่งมีคาร์บอนตัวที่หนึ่งเป็นหมู่รีดิวซิง ดังนั้นโมเลกุลของอะไมโลเพกทินแต่ละโมเลกุลจะประกอบด้วยสายแกนหนึ่งสายเท่านั้น (C-chain) สำหรับสายที่มาต่อกับสายนี้ จะเป็นสายกิ่งเชื่อม (B-chain) ต่อกบสายอื่นๆ และสายที่มีจุดเชื่อมตำแหน่งเดียว (A-chain) ร่วมอยู่ในโมเลกุลของอะไมโลเพกทินจำนวน 104 -105 สาย (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

2.5.2 โปรตีนในข้าวมีปริมาณต่างกันขึ้นกับพันธุ์ข้าว โดยทั่วไปจะมีปริมาณน้อยกว่าในธัญพืชอื่นๆ โมเลกุลของโปรตีนที่รวมกันเป็นรูปร่างโปรตีนซึ่งมีกลูเทลินเป็นองค์ประกอบหลักอยู่ภายใน ซึ่งหากโปรตีนแทรกอยู่ระหว่างเม็ดสตาร์ช และโปรตีนที่เชื่อมโยงกบเม็ดสตาร์ช อาจมีผลต่อการเกิดเจลาทิไนเซชันของเม็ดสตาร์ช โดยการทำให้การพองตัวของเม็ดสตาร์ชไม่เสียรูปได้ง่าย มีผลต่อความอ่อนหรือแข็งของเจลเมื่อเย็นลง ซึ่งจะส่งผลต่อเนื้อสัมผัสของข้าวหุงสุก (อรอนงค์ นัยวิกุล, 2547)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.5.3 ไขมันพบที่ชั้นในสุดของเยื่อหุ้มเมล็ด และที่ส่วนของคัพภะ ดังนั้นในการขัดสีข้าวกล้องให้เป็นข้าวขาว จึงเป็นสาเหตุสำคัญที่ทำให้เกิดการสูญเสียไขมันไปในรูปของรำข้าวเป็นปริมาณมากกว่าร้อยละ 80 (บุญหงษ์, 2547)

2.5.4 แร่ธาตุส่วนใหญ่จะพบบริเวณผิวนอกเมล็ด โดยปริมาณแร่ธาตุในข้าวจะขึ้นกับปริมาณแร่ธาตุในดินที่มีอยู่ และปริมาณแร่ธาตุที่ได้รับจากปุ๋ย นอกจากนี้ยังขึ้นกับสภาพที่แวดล้อมซึ่งจะมีผลต่อการเจริญเติบโตของข้าวอีกด้วย กลุ่มแร่ธาตุที่มีปริมาณมากได้แก่ ฟอสฟอรัส แมกนีเซียม และโพแทสเซียม (บุญหงส์ จงคิด, 2547)

2.5.5 วิตามินที่สำคัญ เช่น วิตามินเอ วิตามินบี 1วิตามินบี 2 ไนอะซิน ไพริดอกซิน กรดแพนโททีนิก ไบโอติก กรดโฟลิก วิตามินบี 12 และวิตามินอีเป็นต้น ซึ่งส่วนใหญ่จะพบที่บริเวณเยื่อหุ้มเมล็ดชั้นในสุดและที่คัพภะ จึงทำให้ข้าวกล้องมีวิตามินมากกว่าข้าวขาว วิตามินในเมล็ดข้าวอาจเสียได้ง่ายเมื่อเก็บข้าวในรูปของข้าวสารในโรงเก็บที่มีอุณหภูมิสูง ดังนั้นหากเก็บข้าวในรูปข้าวเปลือกในโรงเก็บที่มีอุณหภูมิต่ำ จะทำให้รักษาวิตามินได้มากกว่า (บุญหงส์ จงคิด, 2547)

2.5.6 ใยอาหารสามารถจำแนกใยอาหารออกได้ตามความสามารถในการละลายน้ำ คือ ใยอาหารชนิดไม่ละลายน้ำ เช่น เซลลูโลส และเฮมิเซลลูโลส (type B) ใยอาหารชนิดละลายน้ำ เช่นเฮมิเซลลูโลส (type A) และเพกทิน โดยใยอาหารส่วนใหญ่ทนต่อขบวนการไฮโดรไลซิสโดยเอนไซม์ในลำไส้ของมนุษย์และสามารถผ่านไปถึงลำไส้ใหญ่ในสภาพที่ที่ยังปกติโดยที่บางส่วนอาจถูกไฮโดรไลส์และถูกหมักด้วยแบคทีเรียในลำไส้ใหญ่ (ประสงค์, 2550) โดยเฉพาะเซลลูโลส ที่เป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์เป็นพอลิแซ็คคาไรด์ขนาดใหญ่ ประกอบด้วยน้ำตาล D-glucose จับกันเป็นสายยาว โดยไม่มีกิ่งก้านสาขา ยาวถึง2,000 – 10,000 หน่วยกลูโคส หน่วยกลูโคสที่เหมือนกันหมดแต่ละตัวจะจับกับตัวต่อไปโดยพันธะโคเวเลนท์ประเภทพันธะไกลโคซิดิก C 1 β ถึง C 4 ตลอดทั้งสาย โดยสายเซลลูโลสในพืชวางตัวเป็นชั้นๆ มีพันธะไฮโดรเจน ระหว่างหน่วยกลูโคสต่างๆ ที่อยู่ในชั้นที่ติดกัน และระหว่างหน่วยกลูโคสต่างๆ ในสายเดียวกันด้วย ทำให้เกิดเป็นแผ่เซลลูโลสที่ละลายน้ำได้ยากและย่อยด้วยเอนไซม์ได้ไม่ง่ายนัก (บุญหงส์ จงคิด, 2547)

2.6 น้ำที่ใช้ในการผลิตไวน์ข้าว

น้ำเป็นองค์ประกอบประมาณ 80 เปอร์เซ็นต์ ของผลิตภัณฑ์สุดท้ายน้ำนับว่ามีความสำคัญมากเพราะจะเป็นตัวละลายเอนไซม์ และองค์ประกอ[ต่างๆ จากข้าวและโคจิ นอกจากนี้ ในน้ำยังเป็นแหล่งของแร่ธาตุบางอย่าง เป็นสารอาหารของจุลินทรีย์ และทำหน้าที่เป็นบัฟเฟอร์ น้ำที่ใช้ทั้งในขั้นล้างข้าว แช่ข้าว และน้ำที่ใช้ในการทำสาเกโดยตรงต้องมีคุณภาพ คือ ไม่มีสี, กลิ่น และไม่มีรส ควรเป็นกลางหรือด่างอ่อนๆ สารประกอบพวก Fe++ , NH_4+ , NO_3- ตลอดจนสารอินทรีย์ต้องมีต่ำมาก (trace) ไม่มีจุลินทรีย์ที่เป็นอันตราย ส่วน K, Mg, Ca, Cl- , ตลอดจน PO4 ต้องมีอยู่ในปริมาณพอสมควร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สิ่งที่สำคัญที่สุดในองค์ประกอบของน้ำคือเหล็กพบว่าปริมาณสูงสุดที่ให้มีได้ คือ0.02 ppm ถ้ามีมากกว่านี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์ มีสี เกิดกลิ่นที่ไม่ดี ด้วยเหตุนี้จึงจำเป็นต้องทำการขจัดเหล็กในน้ำ ซึ่งทำได้หลายวิธี เช่น

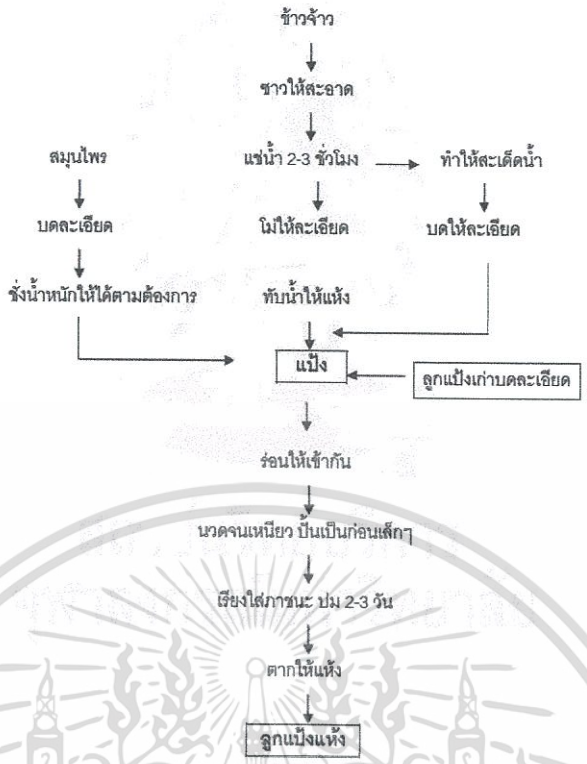
1. การกรอง
2. การ oxidation โดยใช้อากาศ หรือ chloride ซึ่ง Fe++ จะเปลี่ยนเป็น Fe+++
3. ทำ adsorption บน activated carbon หรือ ion-exchange rasins
4. ทำ flocculation โดยใช้ alum หรือ polyaluminium chloride

2.7 ลูกแป้ง

ลูกแป้งเป็นกล้าเชื้อผสมซึ่งประกอบด้วยจุลินทรีย์จำพวก รา แบคทีเรีย และยีสต์ เชื้อราสามารถสร้างเอนไซม์ย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาล จากนั้นเชื้อยีสต์ก็เปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นแอลกอฮอล์ (ปราโมทย์ ธรรมรัตน์, 2533; Kodama, 1970) โดยลูกแป้งสุราจัดเป็นเชื้อสุราอย่างหนึ่ง ตามพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 มาตรา 4 (สามิตตสาร, 2493 อ้างถึงในวรรัตน์ โชติวรรณพร, 2539) ซึ่งให้นิยามว่า เชื้อสุรา หมายถึง แป้งเชื้อสุรา แป้งสุราหมัก หรือแป้งเชื้อใดๆ หมักกับวัตถุหรือของเหลวอย่างอื่นๆ แล้วสามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์สุราได้

ในการผลิตลูกแป้งสุรา เป็นขั้นตอนการผลิตลูกแป้งแบบภูมิปัญญาท้องถิ่น พบว่าตั้งแต่ขั้นตอนการเตรียมแป้ง สมุนไพรที่ใส่ ลูกแป้งหล้าเก่าซึ่งอาจมีการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการในการหมัก การปั้น การนวดแป้ง การตาก การบ่ม เกือบทุกขั้นตอนมีความเสี่ยงต่อการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ภายนอก ดังนั้นในขั้นตอนการผลิตลูกแป้งจะต้องใช้ความระมัดระวังและความชำนาญเป็นพิเศษ เพื่อไม่ให้เกิดการเจริญของเชื้อที่ไม่จำเป็นต่อการหมัก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 2.2 แผนภูมิการผลิตลูกแป้งแบบภูมิปัญญาท้องถิ่น

ที่มา : (นภา โล่ห์ทอง, 2534)

จุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งมีทั้งเชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย (สภาบันวิจับวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย, 2547) ซึ่งกลุ่มของรายย่อยแป้งจะทำหน้าที่ในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาล โดยเอนไซม์กลุ่มอะมีเลส ประกอบด้วย แอลฟาอะมีเลส บีตาอะมีเลส และกลูโคอะมิเลส ย่อยโมเลกุลแป้งให้กลายเป็นน้ำตาลกลูโคส น้ำตาลมอลโทส หรือน้ำตาลเดกซ์ทริน

ปัจจุบันยังไม่มีสูตรและกระบวนการผลิตที่แน่นอน ทำให้คุณภาพของสาโทไม่คงที่ ส่วนการผลิตสาเกนั้นใช้เชื้อบริสุทธิ์ที่ผ่านการคัดเลือกแล้วในการหมัก โดยขั้นแรกจะมีการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลโดยใช้ *Aspergillus oryzae* จากนั้น *Saccharomyces sake* ในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นข้อดีช่วยลดการปนเปื้อน เมื่อเทียบกับการใช้ลูกแป้งในการหมักสาโทของไทย ดังนั้นได้มีนักวิจัยหลายคนที่ได้ศึกษาเกี่ยวกับการแยกเชื้อจุลินทรีย์จากลูกแป้ง โดย มนตรี เชาว์สังเกตุ (2521) ได้ศึกษาการคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และราเพื่อใช้ผลิตไวน์ข้าวจากลูกแป้งทั่วประเทศ พบว่าเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งได้ดี มีปริมาณกรดต่ำ และให้กลิ่นรสที่ดีแก่สาโท ได้แก่ *Rhizipus* MM-52 และ *Amylomyces rouxii* MM-136 ส่วนยีสต์ที่ทนปริมาณแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นสูง และให้กลิ่นรสที่ดี คือ *Saccharomyces cerevisiae* MS-52 เมื่อนำมาหมักและทดสอบด้านประสาทสัมผัสเทียบกับการหมักลูกแป้ง พบว่าไม่มีความแตกต่าง (มนตรี เชาว์สังเกตุ, 2521 และ วรรัตน์ โชติวรรณพร 2539) ก็ได้ศึกษาเรื่องการผลิตไวน์ข้าวเหนียวดำ โดยการหมักโดยเชื้อบริสุทธิ์ ซึ่งได้รวบรวมลูกแป้งจากทั่วประเทศเช่นกัน และคัดแยกเชื้อราและยีสต์ พบว่าได้เชื้อรา LM18 ซึ่ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เป็นลูกแป้งที่มาจากจังหวัดแพร่ ย่อยแป้งได้ดีที่สุด ส่วนเชื้อยีสต์ LY 17 หมักน้ำตาลได้ดีและทนแอลกอฮอล์สูง (วรรัตน์ โชติวรรณพร, 2539) ข้อมูลเบื้องต้นนี้อาจนำไปสู่การพัฒนาการผลิตสาโทโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์

2.8 รำข้าวใช้ในการผลิตไวน์ข้าว

รำข้าว คือ ส่วนที่ได้จากการขัดข้าวกล้องให้เป็นข้าวสาร ซึ่งประกอบด้วยชั้นเยื่อหุ้มเมล็ด และคัพภะเป็นส่วนใหญ่ ได้มาจากกระบวนการสีข้าว โดยทั่วไปจะแบ่งออกเป็น 2 ส่วน คือ รำหยาบ และรำละเอียด รำข้าวมีคุณค่าทางอาหารประกอบด้วย โปรตีน ไขมัน ใยอาหาร เถ้า วิตามิน และเกลือแร่ต่าง ๆ

รำข้าวแยกออกเป็น 2 ชนิด คือ รำหยาบและรำละเอียด

2.8.1 รำหยาบได้จากการขัดผิวเมล็ดข้าวกล้องมีส่วนผสมของแกลบปน ทำให้คุณค่าต่ำกว่ารำละเอียดเพราะมีเยื่อใยสูงและมีแร่ซิลิกาปนในแกลบมาก รำเป็นส่วนผสมของเพอริคาร์บ (pericarp อะลิวโรนเลเยอร์ (aleuron layer) เยอร์ม (germ) และบางส่วนของเอนโดสเปอร์ม(endosperm) ของเมล็ด รำหยาบมีโปรตีนประมาณ 8–10เปอร์เซ็นต์ ไขมันประมาณ 7–8 เปอร์เซ็นต์

2.8.2 รำละเอียดได้จากการขัดขาวและขัดมัน มีโปรตีนประมาณ 12–15 เปอร์เซ็นต์ ไขมัน 12 – 13 เปอร์เซ็นต์

รำมีไขมันสูงจึงไม่ควรเก็บรำไว้นานเกิน 15–20 วัน เพราะจะมีกลิ่นจากการหืน รำข้าวที่ได้จากการสีข้าวเก่ามีความชื้นต่ำทำให้เก็บได้นานกว่ารำข้าวใหม่ที่มีความชื้นสูง เชื้อราขึ้นง่ายและเหม็นหืนเร็ว ส่วนรำข้าวนาปรัง อาจมีสารตกค้างของยาฆ่าแมลงปะปนมาด้วย รำข้าวเป็นอาหารคาร์โบไฮเดรตที่มีกรดอะมิโนค่อนข้างสมดุล มีคุณค่าทางอาหารสูง มีวิตามินบีค่อนข้างมาก รำที่สกัดน้ำมันออกโดยกรรมวิธีต่างๆ เช่น รำอัดน้ำมัน (hydraulic press) หรือรำสกัดน้ำมัน (solvent extract) จะเก็บได้นานกว่า และมีปริมาณของโปรตีนสูงกว่ารำข้าวธรรมดา เมื่อคิดต่อหน่วยน้ำหนัก แต่ปริมาณไขมันต่ำกว่า คุณภาพของรำสกัดน้ำมันขึ้นอยู่กับกรรมวิธีเพราะถ้าร้อนเกินไปทำให้คุณค่าทางอาหารเสื่อม โดยเพราะกรดอะมิโนและวิตามินบีต่างๆ ปัญหาในการใช้พบว่ามักมีหินฝุ่นหรือดินขาวปนมา ทำให้คุณค่าทางอาหารต่ำลง หรืออาจมียากำจัดแมลง สารเคมี หรือมีแกลบปะปน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาพที่ 2.3 รำหยาบ

ภาพที่ 2.4 รำละเอียด

ที่มา : โรงสีนราพิมล Narapimon Rice Mill

2.9 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอนไซม์

การผลิตเอนไซม์มีราหลายชนิดที่สังเคราะห์และขับเอนไซม์ออกจากเซลล์มาอยู่ในอาหาร ในทางอุตสาหกรรมสามารถเลี้ยงเชื้อราให้สร้างเอนไซม์ และทำให้เอนไซม์บริสุทธิ์ได้ เชื้อราที่ใช้ได้แก่ *Amylomyces* spp. เอนไซม์จากเชื้อรา เช่น อะมิเลส ปรับปรุงรสชาติ สี ผลิตไซรับ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ทำให้น้ำผลไม้ใส ใช้ในการย่อยสลายสารต่างๆ

Amylase ใช้ในการเปลี่ยนแปลงขนาดและกำจัดแป้ง เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ เอนไซม์ชนิดนี้แบ่งออกเป็นหลายชนิดเช่น α-amylase จะเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลโมเลกุลเดี่ยวและมอลโทส ส่วน β-amylase จะเปลี่ยนแป้งให้เป็นมอลโทสและเดกทริน

2.9.1 เอนไซม์จากจุลินทรีย์แบ่งตามแหล่งที่เอนไซม์ทำงานได้ดังนี้

2.9.1.1 Extracellular enzyme เอนไซม์ที่สร้างขึ้นภายในเซลล์แล้วถูกขับออกมาทำงานภายนอกเซลล์ เมื่อทำปฏิริยากับสารอาหาร ทำให้สารอาหารมีโมเลกุลเล็กลงจนถูกดูดซึมเข้าสู่เซลล์ได้

2.9.1.2 Intracellular enzyme เอนไซม์ที่สร้างขึ้นและทำงานภายในเซลล์เอนไซม์เป็นสารชีวะโมเลกุลพวกโปรตีนที่สามารถช่วยเร่งปฏิกิริยาในลักษณะค่อนข้างจำเพาะ การทำงานของเอนไซม์มีความจำเพาะเจาะจงต่อสารตั้งต้น ทฤษฎีแม่กุญแจและลูกกุญแจ “โครงสร้างเอนไซม์เปรียบเสมือนแม่กุญแจจึงสวมกันได้พอดีกับสารตั้งต้น ซึ่งเปรียบเสมือนลูกกุญแจ โดยโครงสร้างไม่เปลี่ยนแปลงไปจากเดิม”

จุลินทรีย์เพื่อการผลิตเอนไซม์ในการใช้จุลินทรีย์เพื่อการผลิตเอนไซม์จะต้องมีจุลินทรีย์ซึ่งสามารถให้เอนไซม์ตามต้องการได้ก่อน โดยจุลินทรีย์ที่ใช้มักจะมีการศึกษาคุณสมบัติต่างๆ จนจัดเป็นสายพันธุ์มาตรฐาน โดยทั่วไปมักเป็นพวก mesophile เพราะจะได้เอนไซม์ที่สามารถทำงานที่อุณหภูมิ เพราะจะได้เอนไซม์ที่สามารถทำงานที่อุณหภูมิประมาณ 37 องศาเซลเซียส

2.9.2 เอนไซม์ 2 สกุลใหญ่ ที่มีกลไกการเร่งปฏิกิริยาแอลฟา-อะไมเลส (alpha-amylase) เป็น

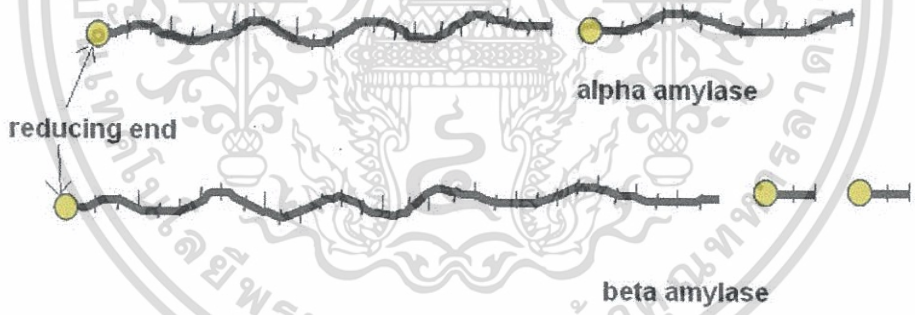
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์พันธะไกลโคไซด์ภายในสายพอลิเมอร์ของโมเลกุลสตาร์ช (starch) และไกลโคเจน (glycogen) ที่ตำแหน่งแอลฟา 1-4 แบบสุ่มทำให้โมเลกุลของสตาร์ช และไกลโคเจนถูกไฮโดรไลซ์ได้น้ำตาล เช่น น้ำตาลมอลโทส (maltose) และกลูโคส (glucose) อย่างรวดเร็ว เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส พบทั่วไปในระบบการย่อยอาหาร (digestive system) ของมนุษย์ และสัตว์เช่น ในน้ำลายและน้ำย่อยจากตับอ่อน

ในอุตสาหกรรมอาหารใช้เอนไซม์นี้ในการไฮโดรไลซ์สตาร์ช (starch hydrolysis) ในขั้นตอนการทำ liquefaction เพื่อลดความหนืดของสารละลายสตาร์ช ภายหลังการเกิดเจลาติไนซ์ (gelatinization) เพื่อผลิต น้ำเชื่อมกลูโคส

บีตา-อะไมเลส (beta-amylase) เป็นเอนไซม์ที่ไฮโดรไลซ์สตาร์ช (starch) ที่ตำแหน่งแอลฟา 1-4 ของพันธะไกลโคไซด์ที่เฉพาะส่วนปลายสายด้านที่เป็นนอนรีดิวส์ (non reducing end) เข้ามาทีละ 2 หน่วย ทำให้ได้น้ำตาลมอลโทส (maltose) เอนไซม์นี้ไม่พบในน้ำย่อยของมนุษย์ แต่พบในราแบคทีเรีย เช่น Bacillus cereus และพบในผลไม้ระหว่างการสุก

ทั้งแอลฟา-อะไมเลส และบีตา-อะไมเลสพบในเมล็ดธัญพืช (cereal grain) เช่น ข้าวสาลี ข้าวบาร์เลย์ ที่มีการเพาะให้เมล็ดธัญพืชงอก (malting) ก่อนนำมาใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตเบียร์ แล้วจึงนำมาเตรียมเป็นเวอร์ต (wort) ระหว่างนี้เอนไซม์อะไมเลสในข้าวมอลต์ จะไฮโดรไลซ์สตาร์ช (starch) หากได้ปริมาณน้ำตาลมาก เมื่อนำไปหมักจะได้แอลกอฮอล์มากด้วย เอนไซม์แอลฟา-อะไมเลส จะทำงานที่อุณหภูมิสูงได้ดีกว่าเอนไซม์บีตา-อะไมเลส หากการไฮโดรไลซ์ได้เดกซ์ทรินสูง จะได้แอลกอฮอล์น้อย ถ้าอุณหภูมิต่ำบีตา-อะไมเลสจะทำงานได้ดี ได้น้ำตาลมอลโทสมากและได้เดกซ์ทรินต่ำ เมื่อนำไปหมักจะได้ แอลกอฮอล์มาก



ภาพที่ 2.5 การทำงานของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และบีต้าอะไมเลส

ที่มา : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1174/amylase

2.10 การผลิตกล้าเชื้อจุลินทรีย์

การเตรียมโคจิ เป็นการเลี้ยงราบริสุทธิ์ที่คัดเลือกคุณสมบัติ และมีความเหมาะสมต่อชนิดข้าวที่ใช้ทำสาโทบนข้าวนึ่งสุก ที่มีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 45-55 (ขึ้นกับชนิดข้าวและ/พันธุ์ข้าวที่ใช้) เพื่อให้เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์ เช่นเดียวกับการผลิตสาเก ทำโดยการถ่ายสปอร์และ/เส้นใย เชื้อราสายพันธุ์ที่ต้องการบน ข้าวนึ่ง ปล่อยให้เชื้อเจริญเติบโตประมาณ 5-6 วัน ที่อุณหภูมิ 34-36 องศาเซลเซียส หลังจากนั้นจะปรากฏเส้นใยจำนวนมากปกคลุมบนเมล็ดข้าว เป็นที่น่าสังเกตว่าจะไม่พบสาร Alflatoxin เลย หลังจากนั้นทำการขยายขนาดโคจิ โดยเตรียมข้าวนึ่งสุกตามปริมาณที่ต้องการแล้วทิ้งให้เย็น ที่อุณหภูมิห้อง ถ่ายสตาร์ทเตอร์ ที่เตรียม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไว้ลงไปบนข้าวนึ่ง คลุกเคล้าให้เข้ากัน บ่มทิ้งไว้ประมาณ 2 วัน ในช่วงเวลานี้ให้คลุกเคล้าเป็นระยะๆ เมื่อสิ้นสุดการบ่มเชื้อ อุณหภูมิจะขึ้นสูงจนถึง 42 องศาเซลเซียส และจะมีเส้นใยสีขาวปกคลุมอยู่เต็ม บางส่วนจะทะลุเข้าไปในเมล็ด โคจิที่ได้นี้มีเอนไซม์ กรดอินทรีย์ วิตามิน และสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์ในขั้นตอนการหมัก โดยการถ่ายเชื้อยีสต์ ที่มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^8 เซลล์/มิลลิลิตร ลงไป ตั้งทิ้งไว้ 3 วันในระหว่างนี้ ให้คนเป็นระยะๆ ยีสต์จะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้น และเป็นระยะเริ่มต้นที่จะมีการหมักเกิดขึ้น โคจิที่เตรียมขึ้นนี้ จะใช้เป็นสตาร์ทเตอร์สำหรับการหมักสาโทในถังหมักใหญ่ต่อไป

2.11 กระบวนการผลิตไวน์ข้าว

ขั้นแรกเตรียมโคจิเป็นการเลี้ยงราบริสุทธิ์ที่คัดเลือกคุณสมบัติและมีความเหมาะสมต่อชนิดข้าวที่ใช้ทำสาโทบนข้าวนึ่งสุกที่มีความชื้นเริ่มต้นร้อยละ 45-55 (ขึ้นกับชนิดข้าวและ/พันธุ์ข้าวที่ใช้) เพื่อให้เป็นแหล่งผลิตเอนไซม์เช่นเดียวกับการผลิตสาเกทำโดยการถ่ายสปอร์และ/เส้นใยเชื้อราสายพันธุ์ที่ต้องการบนข้าวนึ่งปล่อยให้เชื้อเจริญเติบโตประมาณ 5-6 วันที่อุณหภูมิ 34-36 องศาเซลเซียสหลังจากนั้นจะปรากฏเส้นใยจำนวนมากปกคลุมบนเมล็ดข้าวเป็นที่น่าสังเกตว่าจะไม่พบสาร Alflatoxin เลยหลังจากนั้นทำการขยายขนาดโคจิโดยเตรียมข้าวนึ่งสุกตามปริมาณที่ต้องการแล้วทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้องถ่ายสตาร์ชเตอร์ที่เตรียมไว้ลงไปบนข้าวนึ่งคลุกเคล้าให้เข้ากันบ่มทิ้งไว้ประมาณ 2 วันในช่วงเวลานี้ให้คลุกเคล้าเป็นระยะๆเมื่อสิ้นสุดการบ่มเชื้ออุณหภูมิจะขึ้นสูงจนถึง 42 องศาเซลเซียสและจะมีเส้นใยสีขาวปกคลุมอยู่เต็มบางส่วนจะทะลุเข้าไปในเมล็ดโคจิที่ได้นี้มีเอนไซม์กรดอินทรีย์วิตะมินและสารอาหารที่เป็นประโยชน์ต่อการเจริญของยีสต์ในขั้นตอนการหมักโดยการถ่ายเชื้อยีสต์ที่มีปริมาณเซลล์เริ่มต้น 10^8 เซลล์/มิลลิลิตรลงไปตั้งทิ้งไว้ 3 วันในระหว่างนี้ให้คนเป็นระยะๆยีสต์จะเจริญเติบโตเพิ่มจำนวนมากขึ้นและเป็นระยะเริ่มต้นที่จะมีการหมักเกิดขึ้นโคจิที่เตรียมขึ้นนี้จะใช้เป็นสตาร์ชเตอร์สำหรับการหมักสาโทในถังหมักใหญ่ต่อไป

2.11.1 การล้างและการแช่ข้าว

การล้างข้าวเพื่อเป็นการชะล้างเอาส่วนที่เป็นรำข้าวซึ่งติดอยู่บริเวณผิวข้าวที่ขัดแล้วออกไปพร้อมกับเศษสิ่งเจือปนอื่นๆได้แก่แกลบฟางและอาจช่วยลดระดับการปนเปื้อนจากจุลินทรีย์ลงได้บ้าง น้ำที่ใช้ล้างและแช่ข้าวจึงต้องเป็นน้ำสะอาดคุณภาพน้ำบริโภคเช่นเดียวกับน้ำที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการหมักสาโทส่วนการแช่ข้าวมีจุดประสงค์เพื่อให้ข้าวอมน้ำร้อยละ 25-30 โดยน้ำหนักก่อนนำไปนึ่งให้สุกน้ำจะซึมผ่านเข้าไปกระจายอยู่ทั่วบริเวณเอนโดสเปิร์มของเมล็ดข้าวเป็นตัวนำความร้อนไปทำให้เม็ดแป้งเกิดเจลลาติไนส์ระหว่างการนึ่งและยังเป็นการปรับปรุงอนุภาคของแป้งในเมล็ดข้าวให้มีคุณสมบัติที่ดีขึ้นโดยการแช่ข้าวจะใช้เวลา 3-4 ชั่วโมง

2.11.2 การนึ่งข้าว

การนึ่งข้าวมีจุดประสงค์เพื่อทำให้แป้งเกิดเจลาติไนซ์ที่มีการจัดโครงสร้างของแป้งให้อยู่ในรูป alpha form และทำให้โปรตีนเสียสภาพอยู่ในฟอร์มที่ง่ายต่อการเข้าตัดของเอนไซม์ของราการนึ่งข้าว

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จะใช้เวลา 30-60 นาทีหลังจากการนึ่งแล้วการทำให้ข้าวเย็นตัวลงและเพื่อเป็นการปรับความชื้นข้าวสุกจะใช้วิธีพรมน้ำสะอาดจนได้ความชื้นประมาณร้อยละ 45-55 ก่อนนำข้าวสุกไปเติมหัวเชื้อหมัก

2.11.3 ขั้นตอนการหมัก

ขั้นตอนนี้เป็นการหมักในถังใหญ่กระบวนการหมักเริ่มจากเติมข้าวนึ่งสุกและสตาร์ชเตอร์ที่เตรียมไว้ลงในถังหมักทิ้งไว้ 3 วันเพื่อให้ราและยีสต์เจริญเติบโตในระยะนี้นับจำนวนเซลล์ (Total Count ในอาหารกลูโคสคลอแรมอาการ์ -ผู้เขียน)ได้ประมาณ 10^8- 10^{12} cell/g ค่าความเป็นกรดด่างจะลดลงมาอยู่ที่ประมาณ 4.0 พบว่าเป็นระยะที่ได้น้ำต้อยสูงสุดวัดบริกซ์ได้ประมาณ 37-47 °Brix (ขึ้นกับชนิดของข้าว) จากนั้นเติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อและมีคุณภาพน้ำบริโภคเพื่อไปเจือจางความหวานหรือเพื่อปรับค่าบริกซ์ให้มีค่าประมาณ 20-22 °Brix และปล่อยให้กระบวนการหมักดำเนินต่อไปอีก 4 -7 วันหรือเมื่อวัดระดับแอลกอฮอล์ได้ประมาณ 10-12 % ให้ถ่ายเอาเฉพาะส่วนน้ำสาโทออกจากถังหมักไปเก็บในถังพักที่เติมสารเพื่อฆ่าเชื้อและหยุดการทำงานของจุลินทรีย์ในระหว่างการหมักในถังใหญ่นี้มีการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีเกิดขึ้นคือ

(1) Saccharification ของแป้งข้าวเปลี่ยนไปเป็น Glucose และ fermented sugar โดยเอนไซม์โคจิ-อะไมเลสจากรา
(2) ยีสต์เปลี่ยนกลูโคสและ fermented sugar เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์
(3) ยีสต์และโคจิเอนไซม์ผลิตกรดอินทรีย์เช่นกรดซัคซินิกกรดมาลิกฯลฯจากกลูโคส
(4) โคจิเอนไซม์โปรติเอสย่อยสลายโปรตีนเป็นเปปไทด์และกรดอะมิโน
(5) โคจิเอนไซม์ไลเปสเปลี่ยนไขมันเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอล

2.11.4 การทำให้ใส

โดยทั่วไปสาโทพื้นบ้านหรือ "น้ำขาว" จัดเป็น Turbid Wine เนื่องจากกระบวนการผลิตแบบดั้งเดิมไม่ต้องการอายุการเก็บรักษาที่ยาวนานจะผลิตและบริโภคในขณะที่การหมักยังไม่สิ้นสุดลักษณะปรากฏจึงมีความขุ่นขาวมีความหวานและมีรสซ่าปนเนื่องจากยีสต์ยังทำงานอยู่มีการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซจะเป็นการดีมากหากเราจะอนุรักษ์รูปแบบความขุ่นนี้ไว้ได้ตลอดอายุการเก็บเช่นเดียวกับสาเกชนิดหนึ่งของญี่ปุ่นที่เป็น Turbid sakeโดยไม่มีการตกตะกอนของแป้งข้าวที่ก้นขวดจนหนาเป็นแผ่นอย่างที่เห็นในปัจจุบันซึ่งทำได้โดยการใช้ cloudifier เพื่อ stabilize คอลลอยด์ในน้ำสาโทแต่อย่างไรก็ตามการทำให้สาโทใสจะช่วยให้ลักษณะปรากฏของผลิตภัณฑ์เป็นที่ยอมรับมากกว่าเช่นเดียวกับ Rice wine ของต่างประเทศวิธีการทำให้ใสในระดับอุตสาหกรรมจึงเป็นบางส่วนของวิธีที่ใช้ในอุตสาหกรรมไวน์และไวน์ผลไม้ทั่วๆไปปัจจุบันได้พัฒนาวิธีการทำให้สาโทใสแตกต่างกันไปได้แก่

1) การแยกสาโทไว้ในถังพักเติมสารฆ่าเชื้อและทิ้งให้การตกตะกอนเกิดขึ้นเองภายใน 1-7 วัน
2) การใช้เอนไซม์อะไมเลสและโปรติเอส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3) การตกตะกอนที่อุณหภูมิต่ำ

4) การเซนตริฟิวส์เช่นเดียวกับอุตสาหกรรมเบียร์

5) การกรองผ่านเยื่อกรองขนาดรูพรุนปรับระดับเช่นเริ่มต้นจาก 5 ตามด้วย1 และ 0.2 ไมครอน

6) การกรองผ่าน Activated Carbon

แต่ถ้าไม่ต้องการลงทุนในส่วนของเอนไซม์หรืออุปกรณ์เครื่องมือข้างต้นสาโทจะใสเองได้หากรอให้สิ้นสุดการหมักอย่างสมบูรณ์ซึ่งใช้เวลานานจะเกิดการตกตะกอนของแป้งและจุลินทรีย์ที่ก้นถังแต่วิธีนี้อาจได้รับผลกระทบจากสารอินทรีย์วิตะมินและแร่ธาตุต่างๆจากเซลล์ยีสต์ที่แตกสลายที่ส่งผลลบต่อกลิ่นรสของสาโทตลอดจนการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีต่อเนื่องจากกิจกรรมของเอนไซม์ในน้ำสาโท

2.11.5 การฆ่าเชื้อสาโททำได้ 3 วิธีคือ

2.11.5.1 การใช้สารเคมี

การเติมสารเคมีเพื่อ "น็อคเชื้อ" วิธีนี้เป็นที่นิยมมากจากผู้ผลิตสาโทในประเทศไทยเพราะเป็นวิธีที่สะดวกง่ายดายรวดเร็วทันใจและถูกที่สุดสารเคมีที่อนุญาตให้ใส่ได้มี 3 ชนิดโดยปริมาณที่ตกค้างในสาโทบรรจุขวดจำหน่ายจะต้องมีปริมาณสารเหล่านี้ไม่เกินค่ามาตรฐานของ มอก.ไวน์ 2089-2544 ได้แก่ ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ไม่เกิน 300 พีพีเอ็ม กรดซอร์บิกไม่เกิน 200 พีพีเอ็มและกรดเบนโซอิกไม่เกิน 250 พีพีเอ็มซึ่งปัญหาที่พบในปัจจุบันคือผู้ผลิตบางรายใส่ KMSในปริมาณที่มากเกินไปและไม่รู้เทคนิควิธีใส่อย่างถูกต้องเพราะไม่ต้องการถูก reject สินค้าเนื่องจากการระเบิดของขวดก่อให้เกิดอาการแพ้กำมะถันอย่างรุนแรงในผู้บริโภค

2.11.5.2 การใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชั่น

การใช้ความร้อนระดับพาสเจอร์ไรเซชั่นที่อุณหภูมิ 72°C 15 นาทีหรือที่ 65°C นาน 15-30 นาที วิธีนี้นอกจากจะฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ราและยีสต์ในการหมักได้หมดรวมทั้งฆ่าเชื้อจุลินทรีย์ก่อโรค (Pathogenic Microorganisms) และจุลินทรีย์ปนเปื้อนชนิดอื่นที่เป็นอันตรายแล้วยังสามารถหยุดปฏิกริยาจากเอนไซม์ไปจนถึงทำลายเอนไซม์ได้อีกด้วยอย่างไรก็ตามการเลือกใช้อุณหภูมิและเวลาที่พาสเจอร์ไรส์นั้นจะต้องแปรผันตามชนิดและปริมาณของเซลล์จุลินทรีย์ที่อยู่ในน้ำสาโทด้วยเพราะประสิทธิภาพของลูกแป้งในแต่ละรุ่นก็ไม่เท่ากันปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ก็ไม่มากพอที่จะยับยั้งการเจริญของยีสต์ป่าและแอซีติกส์แบคทีเรีย (ไม่ถึง 14.5 %) ยังมีน้ำตาลเหลืออยู่ในน้ำสาโทอีกทั้งการปนเปื้อนซ้ำในแต่ละขั้นตอนก็ไม่สามารถจะควบคุมได้จึงพบอยู่เสมอว่าวิธีนี้ "น็อค"ไม่อยู่มีการหมักต่อในขวดทั้งขุ่นทั้งสร้างก๊าซจำนวนมากจนดันให้ขวดระเบิดสมัยแรกๆแก้ปัญหาโดยเจาะรูระบายก๊าซทำให้อากาศเข้าเชื้อแอซีติกส์แบคทีเรียเจริญได้เปลี่ยนสาโทเป็นน้ำส้มสายชูจุลินทรีย์ปนเปื้อนต่างๆที่ผสมโรงอยู่ก็อาศัยกลูโคสกรดอินทรีย์ในการเจริญเพิ่มจำนวนเป็นเหตุให้ผู้บริโภคสาโทเกิดอาการท้องเสียและเข็ดขยาดไปตามๆกัน

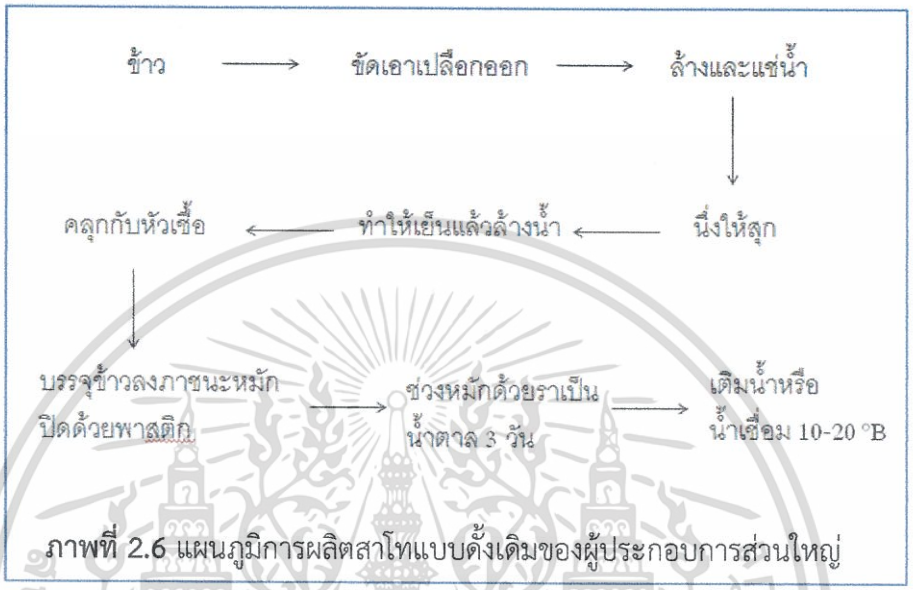
2.11.5.3 การกรองไร้เชื้อ (Sterile filtrate)

การใช้ขนาดของเยื่อกรอง 0.2 ไมครอนเพื่อแยกจับจุลินทรีย์ทุกชนิดวิธีนี้สาโทจะไม่สูญเสียกลิ่นรสเนื่องจากไม่เกี่ยวข้องกับความร้อนผลิตภัณฑ์ไม่มีการเจือปนจากสารเคมีใดๆจึงน่าจะเป็นวิธีที่ดีที่สุด แต่เนื่องจากข้อจำกัดด้านค่าใช้จ่ายของอุปกรณ์เครื่องมือจึงยังไม่เป็นที่นิยมสำหรับผู้ผลิตส่วนใหญ่ในประเทศไทยที่มีทุนน้อย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนลิขสิทธิ์ ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.6 การเก็บบ่ม-การผสมปรุงแต่ง

ผู้ผลิตสาโทส่วนใหญ่ต้องการทำเร็วขายเร็วจึงไม่มีขั้นตอนการเก็บบ่มสาโทเหมือนในอุตสาหกรรมสาเกที่จำเป็นต้องเก็บสาเกไว้ระยะหนึ่ง (3 - 8 เดือน)ที่อุณหภูมิ 13 -18°เพื่อช่วยบ่มรสชาติสาเกให้ดีขึ้นและมีสีเข้มขึ้นสาโทที่ผ่านการบ่มแล้วจะต้องนำมาปรับ/ผสมปรุงแต่ง (Blend) เพื่อให้มีความคงที่ของรสชาติได้แก่ค่าความหวานปริมาณแอลกอฮอล์และค่ากรดทั้งหมดค่าสี/ความใสฯลฯเป็นครั้งสุดท้ายก่อนนำไปบรรจุขวด



ภาพที่ 2.6 แผนภูมิการผลิตสาโทแบบดั้งเดิมของผู้ประกอบการส่วนใหญ่

ที่มา : ดัดแปลงจาก www2.diw.go.th/sura/สาโท/05.doc

2.12 กระบวนการการเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์ (สุมาลี พิชญางกูร. 2528)

โดยใช้ยีสต์*Saccharomyces cerevisiae* ในระยะแรกที่มีอากาศจะยังไม่เกิดกระบวนการหมัก แต่จะมีการแตกหน่าเพิ่มจำนวนเซลล์อย่างรวดเร็วจนมีปริมาณมากพอ ประกอบกับสภาวะความเป็นกรดที่ราสร้างให้ร่วมกับเป็นระยะที่ผู้ผลิตจะเติมน้ำลงไปเป็นสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่ต้องการอากาศในการเจริญจะหยุดกิจกรรม ส่วนยีสต์ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่เจริญได้ทั้งสองสภาวะ ก็จะเปลี่ยนรูปแบบการสร้างพลังงานการหายใจที่ใช้ออกซิเจน มาเป็นกระบวนการหมักหรทอการหายใจแบบไม่ใช้ออกซิเจน ซึ่งเป็นส่วนของขั้นตอนที่สอง ที่เป็นกระบวนการการเปลี่ยนน้ำตาลรีดิวส์ให้เป็นแอลกอฮอล์ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ที่ใช้ในการผลิตไวน์ซึ่งมีคุณสมบัติเหมาะสมในการผลิตสาโทเช่นกัน เพราะเจริญเติบโตอย่างรวดเร็ว ทนต่อความเป็นกรด ความเข้มข้นของน้ำตาล และการปรับระดับแอลกอฮอล์ได้ดี และเมื่อต้องการให้ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ จะต้องปรับให้อยู่ในสภาพไร้อากาศ ปัจจัยที่มีผลต่อการหมักสาโทระยะนี้คือ

1) อัตราส่วนระหว่างข้าวต่อราและยีสต์
2) ช่วง Lag Phase ที่เหมาะสมสำหรับการเจริญเติบโตเพิ่มปริมาณเซลล์ของยีสต์ ณ อุณหภูมิการหมักนั้นๆ
3) องค์ประกอบของสารอาหารปริมาณกรดอินทรีย์
4) ปริมาณออกซิเจน
5) ความสามารถในการทนต่อสภาวะต่างๆของยีสต์เช่นระดับแอลกอฮอล์กรดอินทรีย์รวมทั้งอุณหภูมิ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ที่เพิ่มสูงขึ้นขณะที่เซลล์มีกิจกรรมเป็นต้น

ดังนั้นการเปลี่ยนแปลงทางชีวเคมีที่เกิดขึ้นในถังหมักจึงเรียงลำดับจาก Saccharification ของแป้งเป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ชนิดต่างๆและกลูโคสกรดแลคติกและกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆฯลฯโดยเอนไซม์อะไมเลสจากราตามด้วยยีสต์ที่จะเปลี่ยนน้ำตาลเฟอร์เมนต์และกลูโคสให้เป็นแอลกอฮอล์ก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และความร้อนพร้อมๆกับการผลิตกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆเช่นกรดซัคซินิกกรดมาลิกกรดแลคติกกรดแอซีติกฯลฯ นอกจากนี้ยังพบกิจกรรมของเอนไซม์ชนิดอื่นอาทิโปรติเอสที่ย่อยสลายโปรตีนเป็นเปบไทด์และกรดอะมิโนและไลเปสที่เปลี่ยนไขมันเป็นกรดไขมันและกลีเซอรอลเกิดเป็นกลิ่นรสที่มีความซับซ้อนและยิ่งไปกว่านั้นสารอินทรีย์ที่เกิดขึ้นนี้ยังสามารถทำปฏิกิริยากันเองแล้วได้สารอินทรีย์ชนิดใหม่ๆที่ช่วยเพิ่มความซับซ้อนที่เป็นความหอมเฉพาะตัวในสาโทที่บ่มเป็นเวลานาน ได้แก่ กรดอะมิโนบางตัวเช่นลิวซีนจะถูกยีสต์เปลี่ยนเป็นแอลกอฮอล์ประเภทไอโซเอมิลแอลกอฮอล์ซึ่งจะถูกเปลี่ยนต่อไปโดยอะซิทิลโคเอนไซม์เอเป็นไอโซเอมิลแอซีเทตทำให้สาโทมีกลิ่นที่ดีขึ้นนอกจากนี้กรดลิวซินิกที่เปลี่ยนมาจากกรดอะมิโนลิวซีนยังเป็นสารตั้งต้นของสารเอสเทอร์ชนิดเอทิลลิวซิเนตที่เป็นสารที่ให้กลิ่นหอมเฉพาะของสาเกนอกจากนี้ระดับการสร้างสารให้กลิ่นรส (flavor compound) และสารประกอบหอมระเหย (volatile compounds) ได้แก่อะซิทัลดีไฮด์และไดอะซิทิลหรืออะซิโทนหรืออะซิโทอินยังขึ้นกับเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวข้องกับการสังเคราะห์สารประกอบคาร์บอนิล ได้แก่ เอนไซม์อัลดีไฮด์ดีไฮโดรจีเนสและแอลกอฮอล์ดีไฮโดรจีเนส ที่จะสร้างสารอะซิทัลดีไฮด์และเอทิลแอลกอฮอล์จากกลูโคสจากกรดอะมิโนพวกแอสพาติกทรีโอนีนและเมทไธโอนีนร่วมกับเอนไซม์ทรีโอนีนอัลโดเลส ที่สามารถสังเคราะห์อะซิทัลดีไฮด์จากกรดอะมิโนทรีโอนีนได้ด้วย เช่น กันโดยพบว่าการสร้างไดอะซิทิลจะเพิ่มขึ้นเมื่อค่าความเป็นกรดด่างต่ำกว่า 5.5 ซึ่งเป็นสภาวะที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของราที่ทำหน้าที่สร้างน้ำตาลเฟอร์เมนต์พร้อมๆกับการสร้างกรดต่อไปอีกจนค่าความเป็นกรดด่างประมาณ 4.1-4.5 ซึ่งเหมาะกับการเจริญของยีสต์ซึ่งจะใช้สารอาหารโมเลกุลเล็กและสารตัวกลางต่างๆในการเจริญเพิ่มจำนวนและเมื่อออกซิเจนถูกใช้หมดลงจะชักนำเข้าสู่วิถีการหมักแอลกอฮอล์

2.13 ประโยชน์ของการใส่ประจุแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตในการหมักไวน์ข้าว

2.13.1 แคลเซียมคลอไรด์ ($CaCl_2$) มีลักษณะเป็นผลึกสีขาว ใช้มากในงานอุตสาหกรรมทั่วไป อุตสาหกรรมอาหาร และอุตสาหรรมการเกษตร เป็นสารที่ดูดซับความชื้น และละลายได้ดีในน้ำ เมื่อละลายน้ำจะเกิดกรดไฮโดรคลอริก และเกิดแคลเซียมประจุบวก มักใช้ในรูป $CaCl_2.2H_2O$ หรือ $CaCl_2.6H_2O$ ประโยชน์แคลเซียมคลอไรด์ มีดังนี้

1. สารละลายแคลเซียมคลอไรด์นิยมใช้รักษา และยืดอายุผลผลิตทางการเกษตร เช่น ผัก ผลไม้หลายชนิดโดยการฉีดพ่นสารละลายทั้งก่อน และหลังการเก็บเกี่ยว หรือจุ่มผลผลิตในสารละลายโดยตรง
2. ในอุตสาหกรรมบางชนิด นิยมใช้แคลเซียมคลอไรด์สำหรับดูดซับความชื้นหรือดูดซับน้ำออกจากตัวทำละลาย
3. ในอุตสาหกรรมอาหารผลไม้กระป๋อง นิยมใช้แคลเซียมคลอไรด์เพื่อเพิ่มความกรอบให้แก่ผลไม้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ ไม่ว่าในรูปแบบการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

148850

4. ในอุตสาหกรรมเนื้อสัตว์ นิยมใช้แคลเซียมคลอไรด์เพิ่มความนุ่มของผลิตภัณฑ์เนื้อต่างๆ เช่น เนื้อโค เนื้อไก่ เป็นต้น
5. ในอุตสาหกรรมบางชนิด นิยมใช้แคลเซียมคลอไรด์สำหรับสำหรับยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ในอาหาร
6. ในอุตสาหกรรมอาหารบางชนิด นิยมใช้แคลเซียมคลอไรด์เพื่อเพิ่มรสชาติ และสกัดโปรตีนออกจากเนื้อ เช่น การผลิต ไส้กรอก การผลิตเนื้อหมัก

2.13.2 **แมกนีเซียม** เป็นสารอาหารประเภทเกลือแร่ (Mineral) ชนิดหนึ่ง จัดอยู่ในกลุ่มเกลือแร่ที่มีมากในร่างกาย (Macronutrients หรือ Principal elements) ซึ่งมีความสำคัญอย่างมากต่อร่างกายมนุษย์ โดยเฉพาะในโครงสร้างกระดูกมีธาตุ แมกนีเซียม เป็นองค์ประกอบประมาณ 25 กรัม หรืออาจมากกว่านี้ และเป็นส่วนประกอบสำคัญของเซลล์ต่างๆ กล้ามเนื้อ สมองและเนื้อเยื่อเกี่ยวพันต่างๆ แมกนีเซียม ส่วนใหญ่ในร่างกาย (60-70%) พบในกระดูก ส่วนที่เหลืออีก 30% พบในเนื้อเยื่ออ่อนและของเหลวในร่างกาย แมกนีเซียมมักอยู่ในของเหลวที่อยู่ภายในเซลล์ (Intracellular fluid) เช่นเดียวกับโพแทสเซียม ประมาณร้อยละ 35 ของแมกนีเซียมในเลือดจะรวมอยู่กับโปรตีน แมกนีเซียมเปรียบเสมือนคนงานที่ทำงานแบบไม่รู้จักเหน็ดเหนื่อยเพียงเพื่อจะสังเคราะห์โปรตีนให้ร่างกาย และเป็นโคเอนไซม์ที่สำคัญที่สุดชนิดหนึ่งในร่างกายที่จะทำงานร่วมกับ แคลเซียม อันเป็นประโยชน์ต่อการทำงานในระบบต่างๆ ของร่างกาย แมกนีเซียม ยังช่วยให้การผลิตฮอร์โมนต่างๆเป็นปกติ มีหน้าที่เกี่ยวข้องกับการทำงานของระบบกล้ามเนื้อและเซลล์ต่างๆ มีผลต่อการทำงานของระบบประสาท ระบบย่อยอาหาร ระบบสืบพันธุ์ ระบบเลือด และระบบภูมิคุ้มกันของร่างกาย โดยหน้าที่และประโยชน์ของ แมกนีเซียม มีดังนี้

1. มีส่วนควบคุมการทำงานของระบบประสาทและกล้ามเนื้อเช่นเดียวกับ แคลเซียม โดยจำเป็นสำหรับการส่งสัญญาณทางประสาทและการหดตัวของกล้ามเนื้อ
2. ช่วยกระตุ้นการทำงานของเอนไซม์ที่จำเป็นสำหรับการเผาผลาญสารอาหาร และการสังเคราะห์โปรตีน
3. ช่วยในการควบคุมอุณหภูมิของร่างกาย มีส่วนเกี่ยวข้องกับการต้านทานความหนาว ในที่อากาศเย็น ความต้องการแมกนีเซียมจะสูงขึ้น
4. จำเป็นสำหรับการเติบโตของกระดูกและฟัน
5. สำคัญในการนำมาใช้ให้เป็นประโยชน์ของวิตามิน บี ซี และ อี
6. จำเป็นสำหรับการเผาผลาญแคลเซียม ฟอสฟอรัส โซเดียม และโพแทสเซียม
7. อาจป้องกันโรคทางหลอดเลือดหัวใจ โดยจะไปลดความดันเลือดลง และป้องกันการเกาะของโคเลสเตอรอลในหลอดเลือดแดง ช่วยการทำงานของกล้ามเนื้อหัวใจ
8. ช่วยในการควบคุมสมดุลของกรด-ด่างในร่างกาย
9. อาจทำหน้าที่เป็นตัวยาสงบประสาทตามธรรมชาติ ช่วยบรรเทาอาการปวดไมเกรน และลดความถี่ในการเกิดได้ ลดอาการซึมเศร้า และช่วยให้นอนหลับโดยเป็นตัวที่ช่วยในการสร้างสารเมลาโตนิน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

อุปกรณ์และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบและสารเคมี

3.1.1 วัตถุดิบ

3.1.1.1 รำข้าวเจ้า (รำหยาบ, รำละเอียด)

3.1.1.2 ข้าวเหนียวเขี้ยวงู สายพันธุ์ กข 6

3.2.2 จุลินทรีย์

3.2.2.1 เชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* (M 30)

3.2.2.2 เชื้อรา *Amylomyces* spp.

3.3 สารเคมี

	ผู้ผลิต
3.3.1 3,5-dinitrosalicylic acid (DNS)	Univer, New Zealand
3.3.2 Acetyl acetone	Panreace, Spain
3.3.3 Calcium chloride	Merck, German
3.3.4 Ethanol 95%	อัลติมาร์, Thailand
3.3.5 Ehrlich reagent	Univer, New Zealand
3.3.6 Glacial acetic acid	Acilaabscan, Thailand
3.3.7 Glucosamine	Ajex, Australia
3.3.8 Hydrochlorisc acid	(Hl)Marronchemical, Thailand
3.3.9 Iodine	QReC, New Zealand
3.3.10 Lactic acid	Merck, German
3.3.11 Peptone	
3.3.12 Magnesium sulfate	Univer, New Zealand
3.3.13 Malt	
3.3.14 Sodium hydroxide	Univer, New Zealand
3.3.15 Sodium potassium tartate	Merck, German
3.3.16 Sodium carbonate	Merck, German
3.3.17 Sodium acetate	Merck, German
3.3.18 Sulfuric acid	Merck, German

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.3.19 Starch	Merck, German
3.3.20 Yeast extract	Himedia, India

3.2 อุปกรณ์และเครื่องมือ

	ผู้ผลิต
3.2.1 เครื่องเขย่า	Innova 2100, New Brunswick scientific, USA
3.2.2 เครื่องสเปกโตโฟโตมิเตอร์	Genesys 20, Thermo Science, UK
3.2.3 หม้อนึ่งความดัน	Autoclave
3.2.4 เครื่องชั่งชนิดละเอียด	SI 234 Denver Instrument, Germany
3.2.5 เครื่องชั่งสองตำแหน่ง	Metter toredo, Thailand
3.2.6 บ่มเชื้อ	Heraeus, German
3.2.7 ตู้เขี่ยเชื้อ	Laminar flow Abs 1200, German
3.2.8 ตู้อบเครื่องแก้ว	DRY054, Skadi, UK
3.2.9 ตู้เย็น	มิตซูบิชิ อิเล็คตริก, Thailand
3.2.10 ไมโครเวฟ	MR30A, Hitachi, Thailand
3.2.11 หม้อนึ่งความดันไอ	ES-315, Tomy, Thailand
3.2.12 อ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิ	Memmert, German
3.2.13 โถดูดความชื้น	Dia 300 mm A.I.M, Thailand
3.2.14 Scanning Electron Microscope	Carl Zeiss CO.,LTD , Model EVO MA10

3.2.15 ถ้วยฟอยด์ขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 7 เซนติเมตร

3.2.16 กระบอกตวงแก้ว 100 มิลลิลิตร

3.217 บีกเกอร์ 250 และ 1000 มิลลิลิตร

3.2.18 หลอดทดลอง 16 x 150 มิลลิลิตร

3.2.19 ปิเปต 1, 5 และ 10 มิลลิลิตร

3.2.20 ฟลาสก์ ขนาด 250 และ 2000 มิลลิลิตร

3.2.21 ขวดปรับปริมาตร 100, 250 และ 1000 มิลลิลิตร

3.2.22 หลอดปั่นเหวี่ยงพลาสติก ขนาด 40 มิลลิลิตร

3.2.23 บิวเรต

3.2.24 หม้อต้มน้ำ

3.2.25 อิบูลลิโอมิเตอร์

3.2.26 ผ้าขาวบางขนาด 30 x 50 เซนติเมตร

3.2.27 ชุดเครื่องกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.28 ตะเกียงแอลกอฮอล์

3.2.29 แท่งแก้ว

3.2.30 เครื่องวัดอุณหภูมิ

3.2.31 ตู้อบลมร้อน

3.2.32 ลูกแก้ว

3.2.33 ถาดพลาสติก

3.2.34 ลูบเขี่ยเชื้อ

3.2.35 เข็มเขี่ยเชื้อ

3.3 ขั้นตอนและวิธีการทดลอง

การศึกษาสูตร mold bran จากรำข้าวเจ้าที่เหมาะสมในการเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. เพื่อเป็นกล้าเชื้อโดยนำเชื้อรา *Amylomyces* spp. มาเตรียมให้อยู่ในรูป mold bran ทำการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมกับการเจริญและการผลิตเอนไซม์ ดังต่อไปนี้

3.5.1 การศึกษาการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราในอาหารรำข้าวเจ้า

3.5.1.1 เตรียมกล้าเชื้อราโดยการเพาะในอาหารแข็ง PDA ที่บรรจุในหลอดทดสอบ ขนาด 16 x 150 มิลลิเมตร ปริมาตร 5 มิลลิลิตร

3.5.1.2 บ่มไว้เป็นเวลา 3 วัน

3.5.1.3 ผสมรำหยาบและรำละเอียด ให้เข้ากัน

3.5.1.4 เติมแมกนีเซียมซัลเฟต 0.25% ปริมาตร 2.5 มิลลิลิตร

3.5.1.5 นำไปฆ่าเชื้อ 121 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที (ใช้ฟลอยด์หอกับสำลี)

3.5.1.6 เปิดฟลอยด์ออก ทิ้งไว้ให้เย็น

3.5.1.7 นำไปฆ่าเชื้อที่ 121 องศาเซลเซียส เวลา 60 นาที

3.5.1.8 ทิ้งไว้ให้เย็น ถ่ายเชื้อรา *Amylomyces* spp. จาก slant agar 1 หลอดต่อ 1 ฟลาสก์ และเติมน้ำกรอง 2.5 มิลลิลิตร ลงในฟลาสก์

3.5.1.9 ใช้แท่งแก้วกวนให้น้ำและเชื้อราให้ผสมกัน นำไปบ่มที่ 30-35 องศาเซลเซียส เวลา 3 วัน

3.5.1.10 ทำการเก็บตัวอย่างเชื้อราวันที่ 3 เพื่อนำไปส่องด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราในอาหารรำข้าวเจ้า

3.5.2 ศึกษาการย่อยข้าวโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp. ผสมกับข้าวนึ่ง

3.5.2.1 แช่ข้าวถาดละ 1 กิโลกรัม ทิ้งไว้ 1 คืน

3.5.2.2 ฆ่าเชื้อถาดที่จะนำข้าวลงหมักโดยการใช้น้ำร้อนลวก และฆ่าเชื้อผ้าดิบ 121 องศาเซลเซียส นาน 15 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.5.2.3 นึ่งข้าว

3.5.2.4 นำข้าวที่นึ่งสุกแล้วลงในถาด

3.5.2.5 รอให้เย็น และนำเชื้อ *Amylomyces* spp. คลุกให้ทั่ว

3.5.2.6 เติมน้ำกรองเริ่มแรกโดยการปรับปริมาตร 1200 มิลลิลิตร (ทำการทดลอง 3 ซ้ำ)

3.5.2.7 ปิดถาดด้วยผ้าดิบ

3.5.2.8 พรมน้ำ 3-4 วัน ปริมาณน้ำสเตอไรส์ พรมวันที่3-4 ปริมาณ 200 มิลลิลิตร เช็คผล 3-4 วัน

3.5.2.9 วิเคราะห์ Brix, Temp, pH, ความชื้น, น้ำตาลรีดิวซ์, เอนไซม์แอลฟาอะมิเลส และกลูโคอะมิเลส ก่อนพรมน้ำ

3.5.2.10 ทำการเก็บตัวอย่างการย่อยข้าววันที่ 0 และ 4 เพื่อนำไปส่องด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อศึกษาการย่อยข้าวโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp.

3.5.3 วิธีการนำข้าวลงถังหมัก

3.5.3.1 ชั่งน้ำหนักของข้าว และน้ำต้อยที่มีในแต่ละถาด

3.5.3.2 ทำการฆ่าเชื้อถังที่จะทำการหมัก โดยการลวกด้วยน้ำร้อน นำข้าวและน้ำต้อยลงถังหมัก ขนาด 100 ลิตร

3.5.3.3 ต้มน้ำเชื่อมที่ 10 $^{\circ}$Brix ทิ้งน้ำเชื่อมให้เย็น

3.5.3.4 เทน้ำเชื่อมลงในถัง 100 ลิตร ที่มีข้าวและน้ำต้อย

3.5.3.5 เทหัวเชื้อยีสต์ที่ทำการเขย่าเตรียมไว้แล้ว

3.5.3.7 หมักเป็นเวลา 15 วัน

3.5.3.8 ระหว่างการหมัก ตรวจผลทุกวันที่ 0, 1, 3, 5, 7, 9, 11, 13, 15 วิเคราะห์ pH อุณหภูมิ แอลกอฮอล์Brix และปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะมิเลสและกลูโคอะมิเลส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

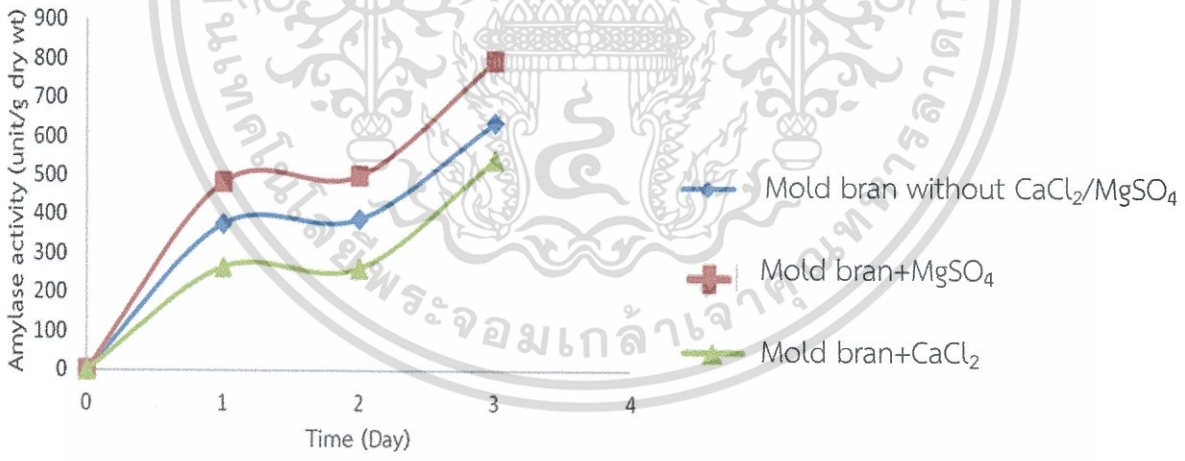
ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 ผลการศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran

เอนไซม์ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran

4.1.1 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส, เอนไซม์กลูโคอะไมเลส และปริมาณกลูโคซามีน

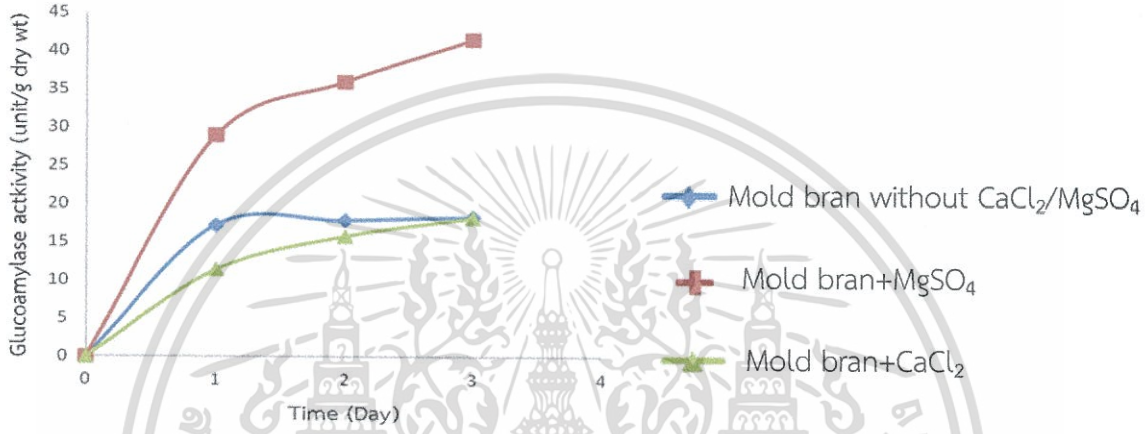
เอนไซม์ที่ย่อยสลายสตาร์ชเป็นน้ำตาลเฟอร์เมนต์ชนิดต่างๆและกลูโคส กรดแลคติก และกรดอินทรีย์ชนิดต่างๆ ฯลฯ ได้แก่แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสจากเชื้อรา การวิเคราะห์การเจริญเติบโตของเชื้อราสามารถวัดได้จากปริมาณการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของเชื้อรา *Amylomyces spp.* ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran นั้นเจริญได้สูงสุดคือ 636.85 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เติมแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25 กรัม เจริญได้สูงสุดคือ 541.11 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสของเชื้อรา *Amylomyces spp.* ใน Mold bran ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.25 กรัมเจริญได้สูงสุดคือ 795.57 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังภาพที่ 4.1



ภาพที่ 4.1 การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสใน mold bran ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติม $CaCl_2$ หรือ $MgSO_4$ เปรียบเทียบกับที่ไม่เติม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

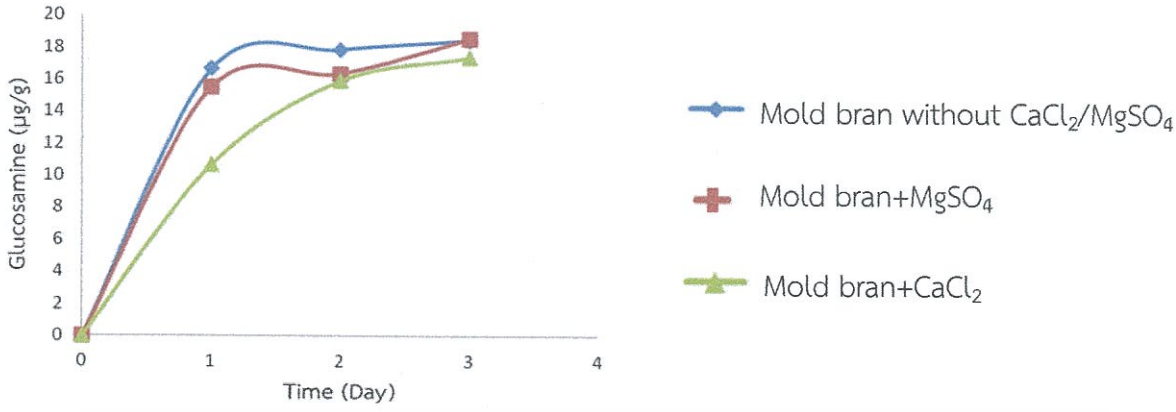
จากผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran เจริญได้สูงสุดคือ18.33 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส ในเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เติมแคลเซียมคลอไรด์ความเข้มข้น 0.25 กรัม เจริญได้สูงสุดคือ 18.20 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลสในเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.25 กรัม เจริญได้สูงสุดคือ 41.61 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังภาพที่ 4.2



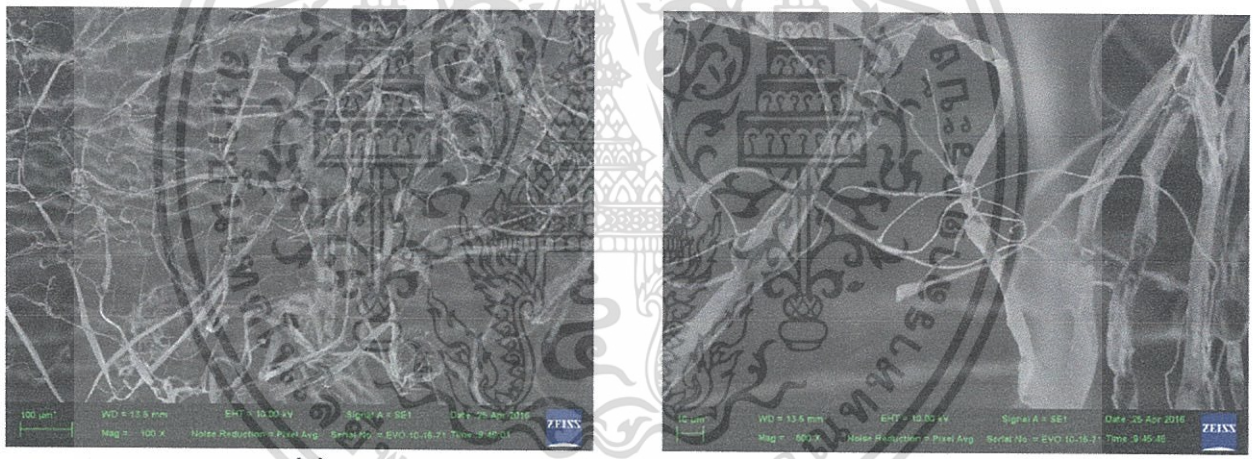
ภาพที่ 4.2 การเปลี่ยนแปลงของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสใน mold bran ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติม $CaCl_2$ หรือ $MgSO_4$ เปรียบเทียบกับที่ไม่เติม

การเจริญเติบโตของเชื้อราสามารถวัดได้จากปริมาณกลูโคซามีนซึ่งเป็นน้ำตาลอะมิโน โครงสร้างของกลูโคซามีนจะเป็นสารประกอบของ D-glucose ซึ่งหมู่ไฮดรอกซิลบนคาร์บอนตำแหน่งที่ 2 จะถูกแทนที่โดยหมู่อะมิโน ในเชื้อราจะพบไคตินเป็นสารประกอบของผนังเซลล์โดยทำหน้าที่เป็นโครงสร้างให้ความแข็งแรงแก่ผนังเซลล์ ด้วยเหตุที่กลูโคซามีนเป็นสารประกอบที่พบในไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์ของเชื้อรา หรือการเติบโตของเชื้อราได้ เพราะเมื่อเชื้อรามีการเติบโตมากขึ้นเส้นใยของเชื้อราก็เพิ่มมากขึ้นปริมาณไคตินซึ่งเป็นส่วนประกอบของผนังเซลล์จะถูกสร้างมากขึ้นตามไปด้วย จึงมีผลทำให้ปริมาณกลูโคซามีนเพิ่มตามการเจริญเติบโตของเชื้อรา จากผลการทดลองพบว่าเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เลี้ยงบนรำข้าวสาลีมีการเจริญเติบโตอย่างต่อเนื่อง เชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran มีปริมาณกลูโคซามีนเท่ากับ 18.47 ไมโครกรัมต่อกรัม และเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เติมแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.25 กรัมมีปริมาณกลูโคซามีนเท่ากับ 17.38 และ 18.55 ไมโครกรัมต่อกรัมตามลำดับ ดังแสดงในภาพที่ 4.3

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาพที่ 4.3 การเปลี่ยนแปลงของกลูโคซามีนใน mold bran ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติม $CaCl_2$ หรือ $MgSO_4$ เปรียบเทียบกับที่ไม่เติม



(ก) (ข)

ภาพที่ 4.4 ผลของการส่องด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อศึกษาลักษณะการเจริญและการสร้างเอนไซม์ของเชื้อราในอาหารรำข้าวเจ้า ;*(ก) กำลังขยายที่ 100 เท่า ;(ข) กำลังขยายที่ 500 เท่า*

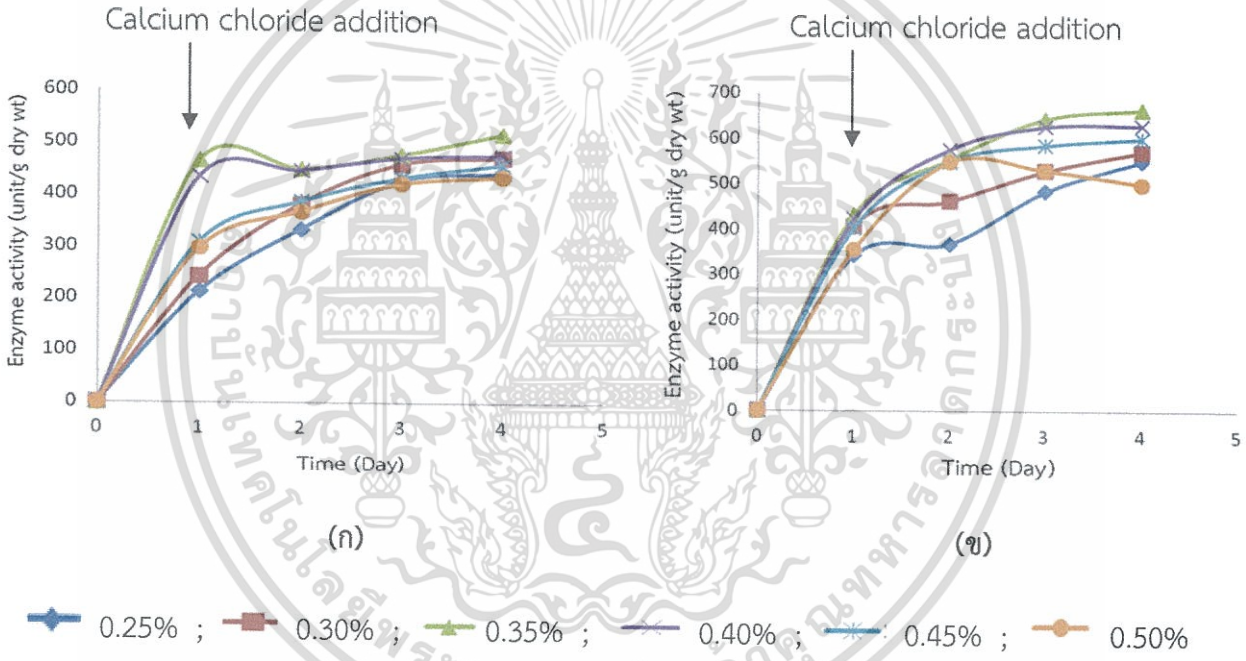
ดังนั้นจากผลการทดลอง ปริมาณของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เจริญมีปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่ำและมีสารอาหารที่ไม่เพียงพอต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา จึงทำให้มีการผลิตเชื้อราได้ต่ำ และปริมาณของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่มีการเติมแคลเซียมคลอไรด์กับแมกนีเซียมซัลเฟตมีผลทำให้ปริมาณของเชื้อรา *Amylomyces* spp. เพิ่มขึ้นโดยปริมาณของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่มีการเติมแมกนีเซียมซัลเฟตสามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสได้สูงที่สุดมีผลทำให้ผลิตเชื้อราได้มากที่สุด รวมทั้งปริมาณกลูโคซามีนของ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตทีมีปริมาณมากที่สุด เป็นผลมาจากเชื้อรามีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด

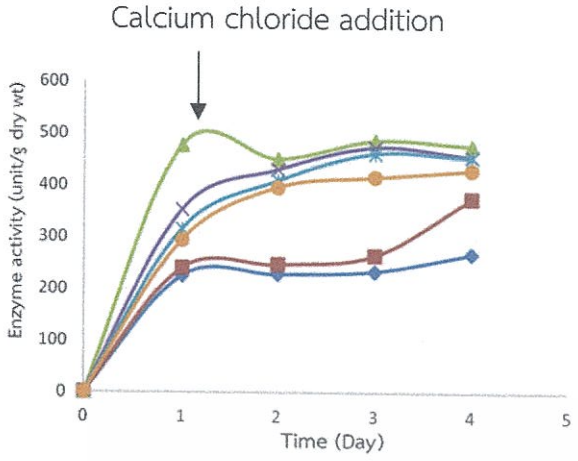
4.2 ผลของความเข้มข้นของประจุโลหะต่อการย่อยข้าว

จากผลการศึกษาการเพาะเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ซึ่งพบว่า การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.25 กรัม มีผลทำให้เกิดการผลิตเชื้อราได้มากที่สุดจึงนำมาศึกษาผลของความเข้มข้นของประจุโลหะต่อการย่อยข้าว โดยการศึกษานี้มีการเติมสารละลายประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.25,0.30,0.35,0.40,0.45 และ 0.50% ในช่วงของการปรับความชื้น ปริมาณ 200 ml/ถาด เป็นระยะเวลา 4 วัน ของการหมักย่อยข้าว

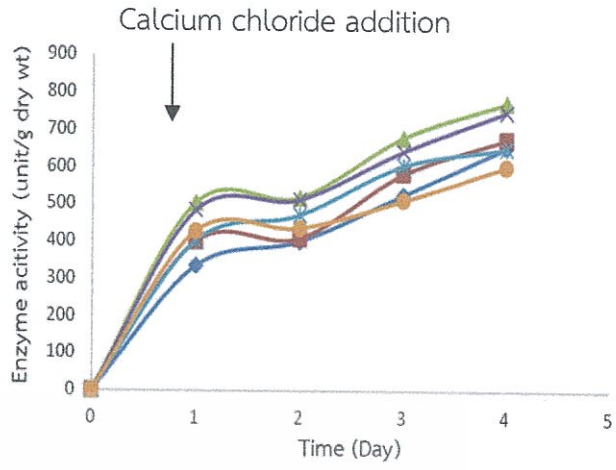


ภาพที่ 4.5 ผลของความเข้มข้นของ $CaCl_2$ ต่อเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวด้วย mold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.35g/12g mold bran)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



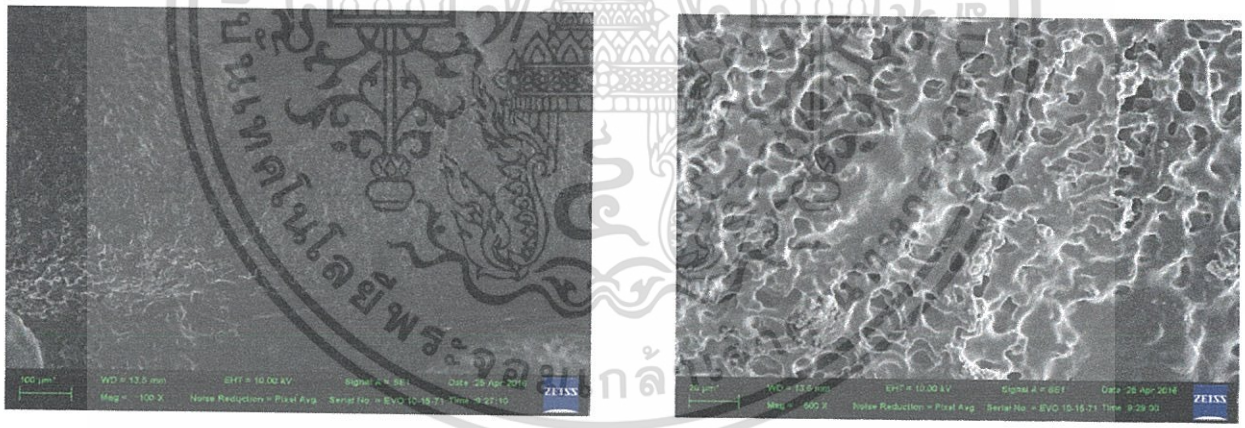
(ก)



(ข)

0.25% ; 0.30% ; 0.35% ; 0.40% ; 0.45% ; 0.50%

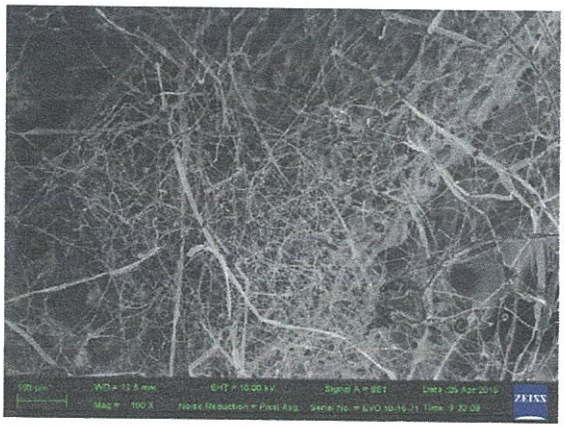
ภาพที่ 4.6 ผลของความเข้มข้นของ $MgSO_4$ ต่อเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวด้วย mold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.35g/12g mold bran)



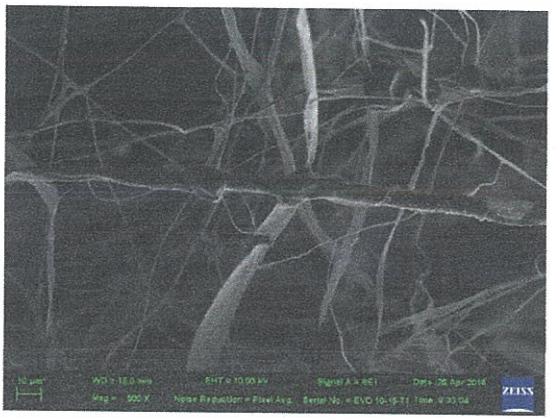
(ก)

(ข)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



(ค)



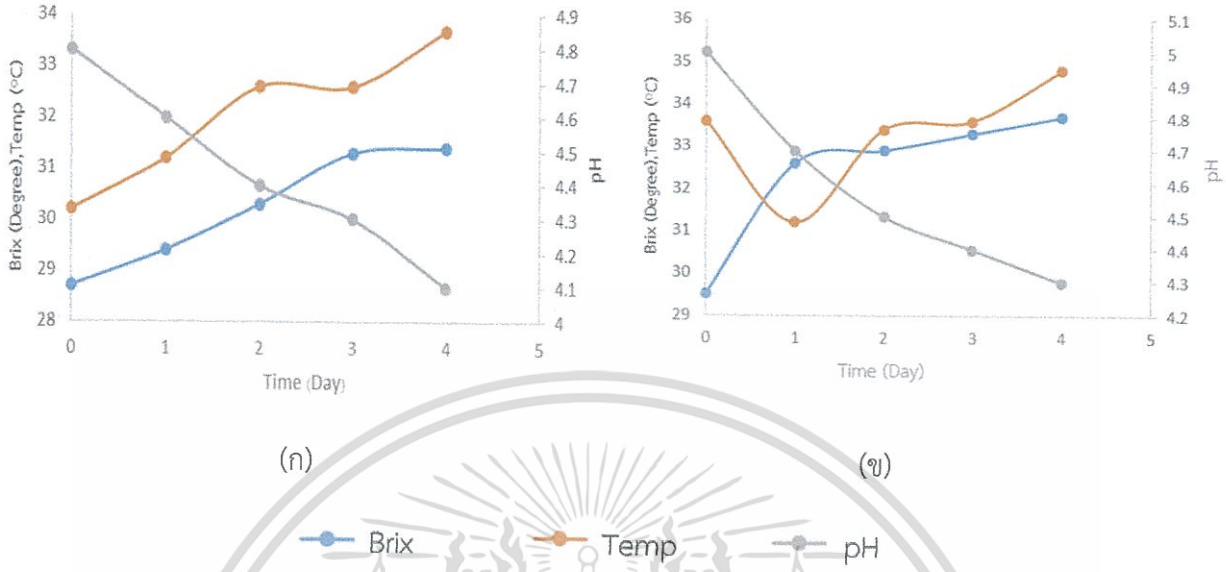
(ง)

ภาพที่ 4.7 ผลของการส่องด้วยกล้อง Scanning Electron Microscope (SEM) เพื่อศึกษาการย่อยข้าวโดยใช้เชื้อรา *Amylomyces* spp. ;(ก) การย่อยข้าววันที่ 0 ที่กำลังขยาย100 เท่า ;(ข) การย่อยข้าววันที่ 0 ที่กำลังขยาย 500 เท่า ;(ค) การย่อยข้าววันที่ 4 ที่กำลังขยาย100 เท่า ;(ง) การย่อยข้าววันที่ 0 ที่กำลังขยาย100 เท่า

สรุปผลของปริมาณแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสของกายย่อยข้าวในสภาพที่มีประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.25,0.30,0.35,0.40,0.45 และ 0.50% พบว่าปริมาณแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสของการย่อยข้าวในสภาพที่มีประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์ที่ความเข้มข้น 0.35 กรัม ทำให้เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา และปริมาณแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสของการย่อยข้าวในสภาพที่มีประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.35 กรัม ทำให้เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.35 กรัม พบว่าประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตมีผลเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสมากกว่า มีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อราดีที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ผลการวิเคราะห์ค่าปริมาณน้ำตาล ,ความเป็นกรด ,อุณหภูมิ ในสภาพที่มีประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟต ดังภาพที่ 4.4



ภาพที่ 4.8 ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาล , ความเป็นกรด , อุณหภูมิ ในระหว่างการย่อยข้าวด้วย mold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.25g/12g mold bran) ที่เติมประจุโลหะความเข้มข้น **:(ก)** $CaCl_2$ 0.35% **:(ข)** $MgSO_4$ 0.35%

จากผลการวิเคราะห์พบว่าในสภาพที่มีประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟต ความเป็นกรดลดลงจาก pH 5.0 เป็น pH 4.3 และอุณหภูมิเพิ่มขึ้นจาก 33.6 เป็น 34.8 ซึ่งมากกว่าในสภาพที่มีประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์ เนื่องจากเชื้อรามีการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาลได้ดี

4.3 ผลของประจุโลหะในการหมักไวน์ข้าวในสภาพที่เหมาะสม

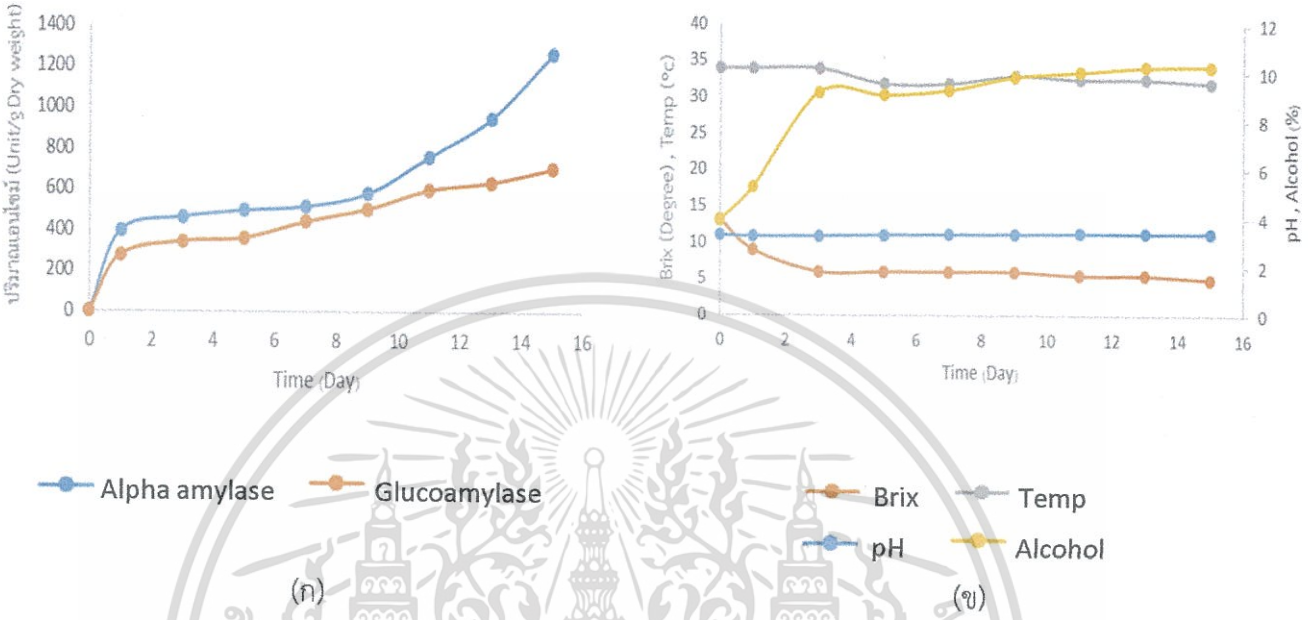
4.3.1 ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส

จากผลการวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ในการหมักไวน์ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติมสารละลายประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตใน Mold bran และมีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลในรูปของน้ำเชื่อม 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักไวน์เป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่าปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เท่ากับ 1263.94 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส เท่ากับ 703.41 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ดังภาพที่ 4.5

4.3.2 ค่าปริมาณน้ำตาล ,ความเป็นกรด ,อุณหภูมิและปริมาณแอลกอฮอล์ ในการหมักไวน์ของเชื้อรา *Amylomyces spp.* ที่เติมสารละลายประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตใน Mold bran และมีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลในรูปของน้ำเชื่อม 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักไวน์เป็นระยะเวลา 15 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากการวิเคราะห์พบว่ามีปริมาณน้ำตาล 5.0 ° Brix ค่าความเป็นกรด 3.40 อุณหภูมิ 32.0 และปริมาณแอลกอฮอล์10.30 เปอร์เซ็นต์ ดังภาพที่ 4.5



ภาพที่ 4.9 ผลการหมักไวน์ข้าว :(ก) ผลการหมักไวน์ข้าวของ $MgSO_4$ ต่อเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสในการย่อยข้าวด้วย Mold bran ที่เติม $MgSO_4$ (0.25g/12g mold bran) :(ข) ปริมาณน้ำตาล ,ความเป็นกรด ,อุณหภูมิ และปริมาณแอลกอฮอล์ในการหมักไวน์ข้าวที่เติม $MgSO_4$ (0.25g/12g mold bran)

จากผลการทดลอง ในการหมักไวน์ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติมสารละลายประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตใน Mold bran และมีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลในรูปของน้ำเชื่อม 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการหมักไวน์เป็นระยะเวลา 15 วัน พบว่าปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีปริมาณมากกว่าปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส และจากผลวิเคราะห์ค่าปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรดมีการลดลง อุณหภูมิและปริมาณแอลกอฮอล์มีการเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการหมักโดยเปลี่ยนน้ำตาลไปเป็นแอลกอฮอล์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผล

จากการศึกษาการเปรียบเทียบแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพการย่อยข้าวเป็นน้ำตาล โดยใช้โคจิจากเชื้อรา *Amylomyces* spp. นั้นมีการศึกษาปัจจัยอยู่ 3 ปัจจัย คือ 1. ปัจจัยการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran 2. ปัจจัยความเข้มข้นของประจุโลหะต่อการย่อยข้าว 3. ปัจจัยผลจองประจุโลหะในการหมักไวน์ข้าวในสภาพที่เหมาะสม ซึ่งจะแสดงให้เห็นว่าปัจจัยต่างๆ นั้นมีผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา *Amylomyces* spp.

จากการวิเคราะห์การเปรียบเทียบแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพการย่อยข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยใช้โคจิจากเชื้อรา *Amylomyces* spp. พบว่า 1. ปัจจัยการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ปริมาณของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสใน Mold bran ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟต สามารถผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสได้ 795.57 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง และกลูโคอะไมเลส 41.61 หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง ซึ่งสูงที่สุดมีผลทำให้ผลิตเชื้อราได้มากที่สุด รวมทั้งปริมาณของกลูโคซามีนได้ 18.55 ไมโครกรัมต่อกรัม ซึ่งมีปริมาณมากที่สุดทำให้เชื้อรามีการเจริญเติบโตได้ดีที่สุด และส่งผลต่อการทำงานของเอนไซม์ทั้งสองชนิด 2. ปัจจัยความเข้มข้นของประจุโลหะต่อการย่อยข้าว ปริมาณแอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ของการย่อยข้าวในสภาพที่มีประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 035 กรัมทำให้เอนไซม์ทำงานได้ดีที่สุดส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อรา และเมื่อเปรียบเทียบกันระหว่างประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟต พบว่าประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตมีผลเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลสมากกว่าประจุโลหะแคลเซียมคลอไรด์ 3. ปัจจัยผลของประจุโลหะในการหมักไวน์ข้าวในสภาพที่เหมาะสม พบว่าปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสมีปริมาณมากกว่าปริมาณเอนไซม์กลูโคอะไมเลส และจากผลวิเคราะห์ค่าปริมาณน้ำตาลและความเป็นกรดมีการลดลง อุณหภูมิและปริมาณแอลกอฮอล์มีการเพิ่มขึ้นเนื่องจากเกิดการหมักโดยเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์

ดังนั้นการเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตความเข้มข้น 0.35 กรัม ใช้ความเข้มข้นของประจุโลหะแมกนีเซียมซัลเฟตที่ความเข้มข้น 0.35 กรัมต่อการย่อยข้าว นำไปหมักไวน์ข้าว จะทำให้เอนไซม์มีการทำงานได้ดี เชื้อรามีการเจริญเติบโตมากที่สุด และเกิดปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

5.2 ข้อเสนอแนะ

ในการศึกษาการเปรียบเทียบแคลเซียมคลอไรด์และแมกนีเซียมซัลเฟตต่อประสิทธิภาพการย่อข้าวให้เป็นน้ำตาล โดยใช้โคจิจากเชื้อรา *Amylomyces* spp. ในทุกๆขั้นตอน ตั้งแต่ขั้นตอนแรกจนถึงขั้นตอนสุดท้ายควรมีความระมัดระวังเรื่องความสะอาด ความปลอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์และสัตว์พาหะทุกชนิดที่ไม่เกี่ยวข้อง เนื่องจากรำข้าวสาลีและเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่ใช้ในการทดลองนั้นมีสารอาหารที่เชื้อจุลินทรีย์และสัตว์พาหะใช้เป็นอาหารได้ ในทุกๆที่ที่จะทำการเพาะเลี้ยงเชื้อราและโคจิและการผสมข้าวกับโคจิควรจะมีการฆ่าเชื้อด้วยแอลกอฮอล์และแสงยูวีเพื่อความปอดภัยจากเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ ในการศึกษาการย่อยข้าวจะต้องมีการทำความสะอาดและมีผ้าขาวบางมาปิดโดยผ่านการฆ่าเชื้อ และถังหมัดมีการฆ่าเชื้อด้วย KMS และน้ำร้อนเพื่อป้องกันการปนเปื้อน การศึกษาการย่อยข้าวจะต้องคำนึงถึงเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่เกี่ยวข้องมาปนเปื้อน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรรณานุกรม

พิมล ควรรณสุ. ผลของพันธุ์ข้าวและระดับการขัดสีข้าวต่อการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีระหว่างการหมัก

ไวน์ข้าวงานวิจัยหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต.

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. โคจิ. [Online]. Available :

http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1199/koji

ผศ.ดร.พิมพ์เพ็ญ พรเฉลิมพงศ์ และ ศาสตราจารย์เกียรติคุณ ดร.นิธิยา รัตนาปนนท์. อะมิเลส. [online]. Available :http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1361

สื่อการสอนอิเล็กทรอนิกส์. บทที่ 4 การทำสาเก. [Online]. Available

ประพาส วีระแพทย์. สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. ลักษณะของข้าวที่สำคัญทางเกษตร จากสารานุกรมไทยเล่มที่ 3 [online]. Available :http://www.arda.or.th/kasetinfo/rice/rice-histories.htm l

สำนักงานพัฒนาการวิจัยการเกษตร. สมาคมผู้ส่งออกข้าว. [Online]. Available : http://www.riceexporters.or.th

อดิศร ก้อนคำ. 2548. รำข้าวคืออะไรใช้ทำอะไรได้บ้าง. [Online]. Available :http://www.kroobannok.com/65633

วิกิพีเดีย สารานุกรมเสรี. กลูโคส. [online]. Available :https://th.wikipedia.org/wiki/กลูโคส

บทที่ 2 ข้อมูลทางวิชาการที่เกี่ยวข้อง. มาตรฐานผลิตภัณฑ์ชุมชนนิยาม สาโท.

ประดิษฐ์ ครุวัณณา. 2535. สาเกและสาโท. อาหาร. 14 (1) : 14-19

ผกามาศ ปรุรินทราภิบาล. 2552. เคมีเอนไซม์ทางอาหาร. [Online]. Available : http://agroindustry.rmutsv.ac.th/upload/papers.

พระราชบัญญัติสุรา. 2493. สามิตตสาร. 6(1) : 1-10.

ทัศนีย์ และ อิสรา. 2556. "ความสัมพันธ์ของการเจริญของเชื้อรา *Amylomyces* spp. โดยใช้ mold bran และกิจกรรมของเอนไซม์ย่อยแป้งในหัวเชื้อรำข้าว ; วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาเทคโนโลยีการหมัก บัณฑิตวิทยาลัย, สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจาคุณทหารลาดกระบัง.

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2538. เคมีทางธัญญาหาร. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะอุตสาหกรรมเกษตร มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ. 148 น.

สุมาลี พิชญากูร. 2528. การพัฒนาเอนไซม์จากราเพื่อย่อยแป้ง. วิทยาศาสตร์ 39 (3) : 69-72.

วรรัตน์ โชติวรรณพร. 2539. การผลิตไวน์ข้างเหนียวดำโดยการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, กรุงเทพฯ.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สุมัลลิกา โมลากุล. 2545. "การพัฒนากรรมวิธีการผลิตไวน์ขาว ; วิทยานิพนธ์วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีชีวภาพ บัณฑิตวิทยาลัย, มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

พิมพ์เพ็ญ และ นิตยา. 2546. ชนิดของเอนไซม์อะไมเลส. [Online]. Available : http://www.foodnetworksolution.com/wiki/word/1174/amylase.

มนตรี เชาว์สังเกตุ. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และราเพื่อหมักไวน์ข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, กรุงเทพฯ

โรงสีนราพิมล ตั้งอยู่ที่ 75 หมู่ 3 ตำบล หนองเพรางาย อำเภอ ไทรน้อย จังหวัด นนทบุรี บนพื้นที่กว่า 4 ไร่ ก่อตั้งเมื่อปี พ.ศ.2504

ลูกจันทร์ ภัครัชพันธ์. 2535. จากข้าวสู่ไวน์. วารสารอุตสาหกรรมเกษตร. 8 (1) : 49-54.

Cannel, E. and M. moo-Young. 1980. Solid state fermentation. Process Biochemistry 15 : 2-7.

Sakuri, Y., T.H. Lee and H. Shiota, 1977. On the convenient method of the glucosamine Estimation in koji. Agric. Biol. Chem., 41 : 619-624

Sakai, H. and G.A. Caldo. 1985. Microbiological and chemical changes in tapuy fermention. J. Ferment. Technol. 63 (1) : 11-16.

Kodama, K. 1970. Sake yeast, pp. 225-282. In A.H. Rose and J.S. Harrison (eds.). The Yeasts. Vol. 3. Academic Press, London.

Fuwa, H. 1954. A new method for microdetermination of amylase activity by the use of Amylase as the substrate, J.Biochem. (Tokyo), 41, 583-0633

Joliano, B.O. 1972. The rice caryopsis and its composition, pp. 16-74. In D.F. Houston (ed.). Rice Chemistry and Technology. The American Association of Cereal Chemists Inc., Minessota.

Yoshizawa, K., T. Ishikawa and K. Noshiro. 1973. Studies on changes of lipids in sake brewing. I Changes of fatty acids by the change of the polishing rate of rice grains. J. Argi. Chem.Soc. Jap. 47 (11) : 713-717.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน (Sakurai et al.1977)

1.1 สารเคมี

1.1.1 อะซิทิลอะซิโตน (acetyl acetone)

1.1.2 พาราไดเมทิลอะมิโนเบนซัลดีไฮด์ (*p*-dimethylaminobenzaldehyde)

1.1.3 โซเดียมคาร์บอเนต (sodium carbonate; Na_2CO_3)

1.1.4 เอธานอล (ethanol)

1.1.5 กรดไฮโดรคลอริก (hydrochloric; HCL)

1.1.6 กรดซัลฟูริก (sulfuric acid; H_2SO_4)

1.1.7 กลูโคซามีน (glucosamine)

1.2 การเตรียมสาร

1.2.1 สารละลายเอะเซทิลอะซิโตน เติม 4 เปอร์เซ็นต์ของอะเซทิลอะซิโตนลงใน 1.25 โมลาร์ Na_2CO_3

1.2.2 สารละลาย Ehrlich reagent เตรียมโดยละลายพารา ไอเมทิลอะมิโนเบนซัลดีไฮด์ 1.3 กรัม ในส่วนผสมของเอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 3. มิลลิลิตร และกรดไฮโดรคลอริกเข้มข้นปริมาตร 30 มิลลิลิตร

1.3 การวิเคราะห์

1.3.1 นำตัวอย่างที่อบแห้งที่ 80 องศาเซลเซียส บดละเอียด ชั่งตัวอย่าง 0.5 กรัม ผสมกับกรดซัลฟูริกเข้มข้น 60 เปอร์เซ็นต์ 2 มิลลิลิตร ตั้งทิ้วไว้ที่อุณหภูมิห้อง นาน 24 ชั่วโมง

1.3.2 นำมาเจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้สารละลายที่มีความเข้มข้น 1 นอร์มอล

1.3.3 นำเข้าหม้อนึ่งออโตเครปที่ 121 องศาเซลเซียส

1.3.4 นำสารละลายที่ได้ทำให้เป็นกลางด้วยสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ 1 นอร์มอล ปรับปริมาตรสุดท้ายให้ได้ 100 มิลลิลิตรด้วยน้ำกลั่น กรองเอาส่วนใสด้วยกระดาษเบอร์ 4

1.3.5 นำสารละลาส่วนใสที่ได้ 1 มิลลิลิตร ผสมกับ อะเซทิลอะซิโตน 1 มิลลิลิตร แล้วนำไปบ่มที่น้ำเดือดนาน 20 นาที

1.3.6 ทำให้เย็น จากนั้นจึงใส่เอทธานอล 95 เปอร์เซ็นต์ 6 มิลลิลิตรและ Ehrlich reagent 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน

1.3.7 บ่มที่อุณหภูมิ 65 องศาเซลเซียส นาน 10 นาที จากนั้นทำให้เย็น

1.3.8 นำสารละลายที่ได้ไปวัดค่าดูดกลืนแสงที่ 530 นาโนเมตร โดยเทียบค่ากลูโคซามีนจากกราฟมาตรฐาน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.4 การเตรียมกราฟมาตรฐานกลูโคซามีน สำหรับการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีน

1.4.1 เตรียมสารละลายกลูโคซามีนความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร โดยชั่งกลูโคซามีน 0.04 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 100 มิลลิลิตร

1.4.2 นำสารละลายกลูโคซามีนความเข้มข้น 40 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร มาเจือจางด้วยน้ำกลั่นปริมาตร 10 มิลลิลิตร ได้สารละลายไซโลสที่มีความเข้มข้น 20 มิลลิกรัมต่อ 100 มิลลิลิตร หรือ 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร

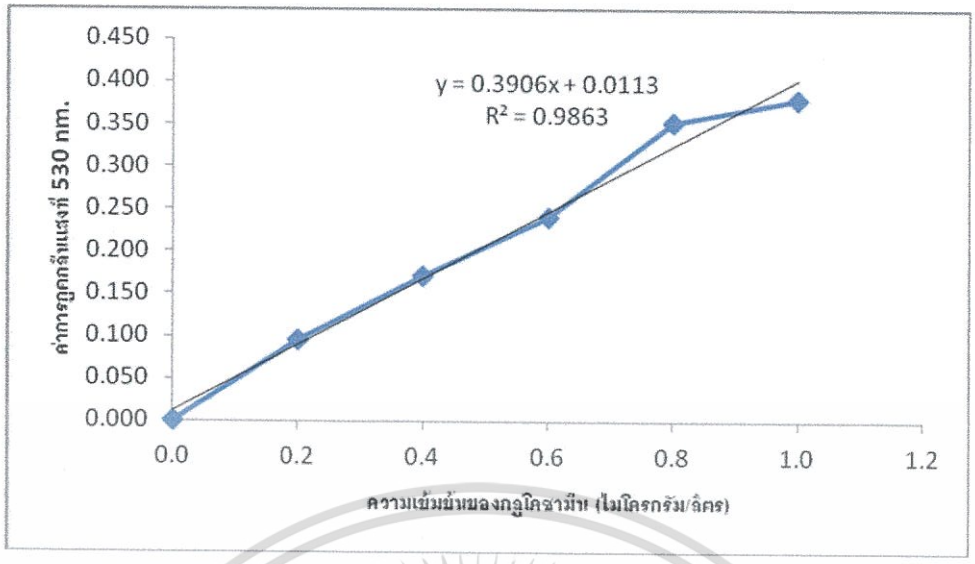
1.4.3 เตรียมสารละลายกลูโคซามีนความเข้มข้นต่างๆ จากสารละลายกลูโคซามีนความเข้มข้น 200 ไมโครกรัมต่อมิลลิลิตร ดังตารางที่ 1 ตารางภาคผนวกที่ ก1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคซามีนที่ความเข้มข้นต่างๆ

ตารางผนวกที่ ก1 การเตรียมสารละลายมาตรฐานกลูโคซามีนที่ความเข้มข้นต่างๆ

หลอดที่	200µ/ml กลูโคซามีน	น้ำกลั่น ml	ความเข้มข้น กลูโคซามีน µ/ml
1	0.0	1.0	0
2	0.1	0.9	20
3	0.2	0.8	40
4	0.3	0.7	60
5	0.4	0.6	80
6	0.5	0.5	100
7	0.6	0.4	120
8	0.7	0.3	140
9	0.8	0.2	160
10	1.0	0.0	200

1.4.4 สารละลายมาตรฐานกลูโคซามีนที่ความเข้มข้นต่างๆ มาทำการวิเคราะห์ปริมาณกลูโคซามีนตามวิธีของ Sakurai et al.(1997)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



ภาคผนวกที่ ก1 กราฟมาตรฐานกลูโคซามีน ที่ค่าการดูดกลืนแสง 530 นาโนเมตร

2. การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ แอลฟาอะไมเลส (Fuwa, 1954)

2.1 สารเคมี

2.1.1 สารละลายน้ำแป้งความเข้มข้น 0.5 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง Soluble starch 0.5 กรัม ละลายในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.0 ต้มจนเดือด ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

2.1.2 สารละลาย อะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 5.0 เตรียมโดยผสมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ กับสารละลายโซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปรับพีเอช ให้เท่ากับ 5

2.1.3 สารละลายไอโอดีน เตรียมโดย สารละลายโปแตสเซียมไอโอไดด์ (KI) 0.5 กรัมในน้ำ 3-5 มิลลิลิตร แล้วเติมไอโอดีนเกร็ด (I_2) 1.269 กรัม ลงไปละลายน้ำทีละน้อยพร้อมกับคนจนไอโอดีนละลายหมด ปรับปริมาตรเป็น 1000 มิลลิลิตร ถ้ามีตะกอนกรองโดยใช้กระดาษกรองเบอร์ 1 เก็บสารละลายไอโอดีนไว้ในขวดสีชาและควรเก็บในที่มืด

2.1.4 สารละลายกรดไฮโดรคลอริกความเข้มข้น 1 นอร์มอล

2.2 วิธีวิเคราะห์

2.2.1 ปิเปตสารละลาย 2 มิลลิลิตร ใส่ลงในหลอดทดสอบ บ่มในอ่างน้ำควบคุมอุณหภูมิที่ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2.2 ปิเปตสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้ได้ปริมาณเอนไซม์ที่เหมาะสมลงไป 1 มิลลิลิตร ผสมให้เข้ากัน บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที

2.2.3 ต้มที่น้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที

2.2.4 ปิเปตสารละลายน้ำแป้ง ปริมาตร 0.2 มิลลิลิตรลงในสารละลายไอโอดีนที่เตรียมใหม่เจือจาง 10 เท่า 5 มิลลิลิตร สีของไอโอดีนเมื่อทำปฏิกิริยากับน้ำแป้งจะเปลี่ยนเป็นสีน้ำเงิน

2.2.5 นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 700 นาโนเมตร โดยค่า Blank ใช้สารละลายตัวอย่างที่ผ่านการต้มเดือดนาน 15 นาที

2.3 การคำนวณปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

$$\text{หน่วยของเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสต่อมิลลิลิตร} = \frac{(B-S) \times dil^{n} \times d}{B \times \text{dry wt.}}$$

(หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)

โดยที่ B = ค่าการดูดกลืนแสงของ Blank ที่ 700 นาโนเมตร

S = ค่าการดูดกลืนแสงของตัวอย่างที่ 700 นาโนเมตร

dil^{n} = ค่าการเจือจางของสารละลายเอนไซม์

d = ปริมาณน้ำที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ (มิลลิลิตร)

dry wt. = น้ำหนักตัวอย่างแห้งที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ (กรัม)

ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลส 1 หน่วย หมายถึง ปริมาณเอนไซม์ที่ย่อยแป้งได้ 1 มิลลิกรัมในเวลา 1 นาที ที่พีเอช 5.0 อุณหภูมิ 50 องศาเซลเซียส

3. การวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์ กลูโคอะไมเลส (Ueda, 1981)

3.1 สารเคมี

3.1.1 สารละลายน้ำแป้งความเข้มข้น 1.0 เปอร์เซ็นต์ เตรียมโดยชั่ง Soluble starch 1.0 กรัม ละลายในสารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 4.5 ต้มจนเดือด ทิ้งให้เย็น ปรับปริมาตรเป็น 100 มิลลิลิตร

3.1.2 3,5 dinitrosalicylic acid (DNS) เตรียมโดยละลาย DNS 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตรเติมสารละลายด่างลงไปทีละน้อย (โซเดียมไฮดรอกไซด์ 32 กรัม ละลายในน้ำ 300 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากัน นำไปอังบนอ่างน้ำร้อนจนละลาย แล้วเติมโพแทสเซียมโซเดียมทาเทรตลงไปทีละน้อยจนครบ 600 กรัม ปรับปริมาตรเป็น 2000 มิลลิลิตร ในขวดปรับปริมาตรเก็บในขวดสีชาที่อุณหภูมิห้อง

เอกสารนี้สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.3 สารละลาย อะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 4.5 เตรียมโดยผสมสารละลายกรดอะซิติกความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ กับสารละลายโซเดียมอะซิเตท ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ ปรับพีเอช ให้เท่ากับ 4.5

3.2 การวิเคราะห์

3.2.1 ปิเปตสารละลายน้ำแป้ง 2.5 มิลลิลิตร สารละลายอะซิเตทบัฟเฟอร์ความเข้มข้น 0.2 โมลาร์ พีเอช 4.5 ปริมาตร 0.5 มิลลิลิตร และน้ำกลั่น 0.5 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบ บ่มที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 5 นาที

3.2.2 เติมสารละลายเอนไซม์ที่เจือจางด้วยน้ำกลั่นให้มีความเข้มข้นที่เหมาะสมลงไป 1 มิลลิลิตร เพื่อหยุดปฏิกิริยาการทำงานของเอนไซม์

3.2.4 นำหลอดทดสอบจากข้อ 3.2.3 ไปต้มในน้ำเดือดเป็นเวลา 5 นาที

3.2.5 นำไปแช่ในน้ำเย็น

3.2.6 เติมน้ำกลั่น 10 มิลลิลิตร ลงในหลอดทดสอบจากข้อ 3.2.4 ผสมให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร โดย Blank ใช้น้ำกลั่นแทนสารละลายเอนไซม์

3.2.7 นำค่าการดูดกลืนแสงที่ได้ไปหาค่าน้ำตาลกลูโคสที่ย่อยได้เทียบกับกราฟมาตรฐานระหว่างค่าการดูดกลืนแสงกับสารละลายน้ำตาลกลูโคสมาตรฐาน

3.3 การคำนวณกิจกรรมของเอนไซม์กลูโคอะไมเลส

3.3.1 กิจกรรมเอนไซม์กลูโคอะไมเลส 1 หน่วย หมายถึง ปริมาณกลูโคสที่เกิดขึ้น 1 มิลลิกรัม ในเวลา 1 นาที ที่พีเอช 4.5 อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

$$\text{หน่วยของเอนไซม์กลูโคอะไมเลสต่อกรัมน้ำหนักแห้ง (หน่วยต่อกรัมน้ำหนักแห้ง)} = \frac{(RS-RS_0) \times b \times c \times d}{RS_s \times e \times ta \times dry\ wt.}$$

โดยที่ RS = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ที่วัดได้เมื่อให้เอนไซม์ย่อยสารละลายน้ำแป้ง 10 นาที ที่อุณหภูมิ 40 องศาเซลเซียส

RS_0 = ค่าการดูดกลืนแสงที่ 540 นาโนเมตร ที่วัดได้เมื่อให้เอนไซม์ย่อยของเอนไซม์ก่อนที่จะเกิดปฏิกิริยาการย่อย

RS_S = ค่าคงที่ที่ได้จากค่าความชันของกราฟมาตรฐานน้ำตาลกลูโคส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

a = ปริมาตรสารละลายเอนไซม์ที่ใช้ในการตรวจสอบกิจกรรมการทำงานของเอนไซม์ในการทดลองใช้ 1 มิลลิลิตร

b = ปริมาตรรวมของสารละลายที่เกิดปฏิกิริยาทั้งหมด เท่ากับ 4.5

c = จำนวนเท่าการเจือจางสารละลายเอนไซม์เริ่มต้น

e = ปริมาตรของสารละลายที่เกิดปฏิกิริยาที่นำมาวิเคราะห์หาปริมาณน้ำตาลเท่ากับ 1 มิลลิลิตร

d = ปริมาณน้ำที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ (มิลลิลิตร)

t = เวลาที่เอนไซม์เกิดปฏิกิริยา ในที่นี้ใช้เวลา 10 นาที

dry wt. = น้ำหนักแห้งตัวอย่างที่ใช้ในการสกัดเอนไซม์ (กรัม)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

ผลการวิเคราะห์

ข.1 การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran

เอนไซม์ของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ใน Mold bran ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เอนไซม์กลูโคอะไมเลสและปริมาณกลูโคซามีนเป็นระยะเวลา 3 วัน

ตารางที่ ข.1 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

	Mold bran				Ca				$MgSO_4$			
วันที่	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	358.72	395.29	375.10	376.37	251.65	241.58	302.69	265.31	539.48	438.51	472.15	483.38
2	370.57	409.85	385.76	388.73	135.02	549.12	102.48	262.21	524.09	466.28	509.24	499.87
3	539.46	692.96	678.14	636.85	551.90	572.56	498.87	541.11	789.25	754.70	842.76	795.57

ตารางที่ ข.2 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

	Mold bran				Ca				$MgSO_4$			
วันที่	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	16.57	17.89	17.21	17.22	10.96	11.77	11.42	11.38	25.32	30.01	31.55	28.96
2	17.89	17.09	18.65	17.88	15.28	15.64	16.40	15.77	35.15	36.11	36.95	36.07
3	18.33	18.65	18.02	18.33	18.34	18.95	17.32	18.20	41.17	42.09	41.58	41.61

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.3 ปริมาณกลูโคซามีน

	Mold bran				Ca				$MgSO_4$			
วันที่	ซ้ำที่1	ซ้ำที่	ซ้ำที่3	เฉลี่ย	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย	ซ้ำที่1	ซ้ำที่2	ซ้ำที่3	เฉลี่ย
0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
1	16.59	17.42	16.09	16.70	10.66	10.15	11.30	10.70	15.83	15.11	15.65	15.53
2	17.28	17.83	18.56	17.89	15.96	15.51	16.27	15.91	16.32	16.36	16.41	16.36
3	18.43	18.20	18.79	18.47	17.44	17.23	17.46	17.38	18.95	18.06	18.63	18.55

2. การวิเคราะห์ประจุโลหะต่อการย่อยข้าว

จากผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ค่า pH , Brix , อุณหภูมิ ในการย่อยข้าวของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตและแคลเซียมคลอไรด์ในกระบวนการย่อยข้าว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เป็นเวลา 4 วัน โดยการเติมแมกนีเซียมซัลเฟตและแคลเซียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.25 , 0.30 , 0.35 , 0.40 , 0.45 , 0.50 กรัม ในวันที่ 1

ตารางที่ ข.4 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

	แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)					
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0	0	0	0	0	0
1	225.34	240.21	478.07	352.85	315.83	294.19
2	228.21	247.13	451.01	430.86	409.55	396.91
3	234.52	265.53	487.09	474.05	462.48	416.24
4	268.36	375.87	477.26	456.23	454.08	430.57

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลเซียมคลอไรด์ (Ca)						
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0	0	0	0	0	0
1	213.36	243.13	464.71	433.14	308.70	296.30
2	332.14	380.83	448.75	444.77	385.51	366.36
3	425.88	458.02	476.17	468.97	430.90	420.09
4	439.63	469.69	516.03	473.63	456.44	432.86

ตารางที่ ข.5 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)						
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0	0	0	0	0	0
1	334.65	400.26	502.80	483.29	401.28	427.93
2	400.01	408.34	516.92	511.75	470.10	436.01
3	525.13	581.18	678.12	642.41	602.87	510.44
4	653.37	675.45	771.98	748.58	649.87	602.09

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

	แคลเซียมคลอไรด์ (Ca)					
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0	0	0	0	0	0
1	342.69	407.97	431.71	423.06	403.46	355.09
2	368.77	462.84	553.14	577.17	549.88	548.94
3	485.26	530.14	643.68	628.14	585.71	530.79
4	552.47	572.96	664.20	630.97	600.69	500.77

ตารางที่ ข.6 ค่า pH , Brix , อุณหภูมิ โดยเชื้อรา *Amylomyces* spp.

	แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)			แคลเซียมคลอไรด์ (Ca)		
วันที่	pH	Brix	Temp	pH	Brix	Temp
0	5	29.5	33.6	4.8	28.7	30.2
1	4.7	32.6	31.2	4.6	29.4	31.2
2	4.5	32.9	33.4	4.4	30.3	32.6
3	4.4	33.3	33.6	4.3	31.3	32.6
4	4.3	33.7	34.8	4.1	31.4	33.7

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3. การวิเคราะห์ประจุโลหะในการหมักไวน์ข้าวใจสภาพที่เหมาะสมโดยเชื้อรา *Amylomyces* spp.

จากผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ค่า pH , Brix , อุณหภูมิและแอลกอฮอล์ ในการย่อยข้าวของเชื้อรา *Amylomyces* spp. ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตในกระบวนการการย่อยข้าว และมีการเพิ่มปริมาณน้ำตาลที่อยู่ในรูปของน้ำเชื่อม 10 เปอร์เซ็นต์ ทำการทดลองระยะเวลา 14 วัน

ตารางที่ ข.7 ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส

วันที่	แอลฟาอะไมเลส	กลูโคอะไมเลส
0	0	0
1	394.30	275.48
3	462.37	342.66
5	514.22	441.11
7	578.84	503.15
9	663.92	529.78
11	759.61	597.13
13	947.55	634.52
15	1263.94	703.41

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ ข.8 ค่า pH , Brix , อุณหภูมิและแอลกอฮอล์โดยเชื้อรา *Amylomyces* spp.

วันที่	pH	Brix (°brix)	Temp (°C)	Alcohol (%)
0	3.30	13.2	34.0	3.92
1	3.26	9.0	34.0	5.30
3	3.28	6.0	34.0	9.20
5	3.32	6.0	31.9	9.09
7	3.34	6.0	31.9	9.30
9	3.36	6.0	33.0	9.85
11	3.38	5.5	32.5	10.05
13	3.38	5.5	32.5	10.26
15	3.40	5.0	32.0	10.30

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์สถิติ

ค.1 การวิเคราะห์การเพาะเลี้ยงเชื้อรา *Amylomyces spp.* ใน Mold bran

เอนไซม์ของเชื้อรา *Amylomyces spp.* ใน Mold bran ทำการทดลอง 3 ซ้ำ วิเคราะห์เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส เอนไซม์กลูโคอะไมเลสและปริมาณกลูโคซามีนเป็นเวลา 3 วัน

ตารางที่ค.1 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

วันที่	Mold bran	Ca	$MgSO_4$
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}
1	376.37 ± 18.32^{a}	483.38 ± 29.63^{b}	265.31 ± 18.92^{b}
2	388.73 ± 19.81^{b}	499.87 ± 17.33^{b}	328.87 ± 1.20^{b}
3	636.85 ± 84.67^{c}	795.57 ± 25.62^{c}	541.11 ± 21.95^{c}

หมายเหตุ ประเมินผลการทดสอบทางสถิติใช้วิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS a,b... ตัวอักษาในแนวตั้งที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีระยะนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\leq0.05$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ค.2 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

วันที่	Mold bran	Ca	$MgSO_4$
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}
1	17.22 ± 0.38^{b}	28.96 ± 1.87^{b}	11.38 ± 0.23^{b}
2	17.87 ± 0.45^{bc}	36.07 ± 0.52^{c}	57.73 ± 0.33^{c}
3	18.33 ± 0.18^{c}	41.61 ± 0.27^{d}	18.20 ± 0.48^{d}

หมายเหตุ ประเมินผลการทดสอบทางสถิติใช้วิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS a,b... ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีระยะนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\leq0.05$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

ตารางที่ค.3 ปริมาณกลูโคซามีน

วันที่	Mold bran	Ca	$MgSO_4$
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}
1	16.70 ± 0.39^{b}	15.53 ± 0.22^{b}	10.70 ± 0.33^{b}
2	17.89 ± 0.37^{c}	16.36 ± 0.26^{c}	15.91 ± 0.22^{c}
3	18.47 ± 0.17^{c}	18.54 ± 0.26^{d}	17.37 ± 0.74^{d}

หมายเหตุ ประเมินผลการทดสอบทางสถิติใช้วิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS a,b... ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีระยะนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\leq0.05$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ค.2 การวิเคราะห์ประจุโลหะต่อการย่อยข้าว

จากผลการทดลองวิเคราะห์ปริมาณเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสและกลูโคอะไมเลส ค่า pH , Brix , อุณหภูมิ ในการย่อยข้าวของเชื้อรา *Amylomyces spp.* ที่เติมแมกนีเซียมซัลเฟตและแคลเซียมคลอไรด์ในกระบวนการย่อยข้าว ทำการทดลอง 3 ซ้ำ เป็นเวลา 4 วัน โดยมีการเติมแมกนีเซียมซัลเฟตและแคลเซียมคลอไรด์ ที่ความเข้มข้น 0.25,0.30,0.35,0.40,0.45 และ 0.50 กรัม ในวันที่ 1

ตารางที่ ค.4 เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส

	แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)					
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
1	223.28 ± 2.13^{b}	240.21 ± 9.58^{b}	478.07 ± 9.37^{b}	352.85 ± 8.51^{b}	315.83 ± 9.07^{b}	294.19 ± 6.19^{b}
2	242.36 ± 5.87^{c}	247.13 ± 5.07^{c}	451.01 ± 17.26^{c}	430.86 ± 4.43^{c}	409.55 ± 5.14^{c}	396.91 ± 3.24^{c}
3	261.16 ± 6.10^{d}	265.53 ± 8.42^{c}	487.09 ± 6.11^{c}	474.05 ± 5.83^{d}	462.48 ± 8.29^{d}	416.24 ± 11.18^{d}
4	208.10 ± 4.30^{e}	375.87 ± 6.15^{d}	477.26 ± 17.45^{d}	456.23 ± 15.96^{cd}	454.08 ± 13.77^{d}	430.57 ± 13.67^{d}

<u>หมายเหตุ</u> ประเมินผลการทดสอบทางสถิติใช้วิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS a,b... ตัวอักษาในแนวตั้งที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีระยะนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\leq0.05$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลเซียมคลอไรด์ (Ca)						
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
1	240.44±4.90^{b}	243.13±5.68^{b}	448.19±1.27^{b}	433.14±3.17^{b}	308.70±5.00^{b}	296.30±4.38^{b}
2	367.78±3.85^{c}	379.71±4.73^{c}	464.71±1.29^{d}	440.52±0.64^{b}	430.90±9.13^{d}	4.20.09±2.11^{d}
3	451.88±6.09^{d}	458.02±5.72^{d}	476.17±5.02^{d}	468.97±9.40^{c}	430.90±9.13^{d}	420.09±2.11^{d}
4	52.03±1.74^{d}	469.69±5.72^{d}	516.03±3.62^{e}	473.63±8.23^{c}	456.44±11.09^{e}	432.86±2.05^{e}

หมายเหตุ ประเมินผลการทดสอบทางสถิติใช้วิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS a,b... ตัวอักษรในแนวตั้งที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีระยะนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

ตารางที่ ค.5 เอนไซม์กลูโคอะไมเลส

แมกนีเซียมซัลเฟต ($MgSO_4$)						
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
1	387.81±6.08^{b}	400.26±1.16^{b}	502.80±3.70^{b}	483.29±4.21^{b}	401.28±3.48^{b}	427.93±70.72^{b}
2	405.29±2.57^{c}	408.34±1.75^{c}	516.92±4.61^{c}	511.75±7.95^{c}	470.10±5.38^{c}	436.01±33.97^{b}
3	569.91±3.17^{d}	581.18±3.05^{d}	678.12±4.05^{d}	642.41±5.41^{d}	602.87±2.18^{d}	510.44±4.03^{bc}
4	662.62±13.32^{e}	675.45±3.08^{e}	771.98±5.34^{e}	748.58±6.69^{e}	649.87±6.72^{e}	602.09±0.63^{c}

หมายเหตุ ประเมินผลการทดสอบทางสถิติใช้วิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS a,b... ตัวอักษาในแนวตั้งที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีระยะนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p \leq 0.05$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

แคลเซียมคลอไรด์ (Ca)						
วันที่	0.25 กรัม	0.30 กรัม	0.35 กรัม	0.40 กรัม	0.45 กรัม	0.50 กรัม
0	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}	0^{a}
1	401.57 ± 7.55^{b}	407.97 ± 4.57^{b}	431.71 ± 4.22^{b}	423.06 ± 2.33^{b}	403.46 ± 2.17^{b}	355.09 ± 1.54^{b}
2	455.73 ± 52.26^{bc}	462.84 ± 55.34^{bc}	553.14 ± 21.44^{c}	577.17 ± 3.37^{c}	549.88 ± 1.26^{c}	548.94 ± 4.09^{c}
3	520.75 ± 35.54^{cd}	530.14 ± 37.09^{cd}	643.68 ± 6.79^{d}	628.14 ± 5.17^{d}	585.71 ± 6.53^{d}	530.79 ± 1.14^{d}
4	563.60 ± 6.78^{d}	572.96 ± 6.41^{d}	664.20 ± 3.80^{d}	630.97 ± 3.95^{d}	600.69 ± 2.45^{e}	500.77 ± 1.47^{e}

หมายเหตุ ประเมินผลการทดสอบทางสถิติใช้วิธี one way ANOVA โดยใช้โปรแกรม SPSS a,b... ตัวอักษาในแนวตั้งที่ต่างกัน มีความแตกต่างกันอย่างมีระยะนัยสำคัญที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ($p\leq0.05$) ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวชื่นชม สายทอง
วัน เดือน ปี เกิด	2 มกราคม 2537
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนสิริรัตนาธร
	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ที่อยู่อาศัย	895/87 ถนนสุขุมวิท101 ซอยปุณณวิถี48
	แขวงบางจาก เขตพระโขนง กทม. 10260

ชื่อ-นามสกุล	นางสาวสิริลักษณ์ จรุงรุ่งเรืองชัย
วัน เดือน ปี เกิด	8 กันยายน 2536
ประวัติการศึกษา	มัธยมศึกษาตอนปลาย โรงเรียนโพธิสารพิทยากร
	มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ที่อยู่อาศัย	541 ม.4 ซ.เพชรเกษม 94 แขวงบางแค เขตบางแค กทม. 10160

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้