การผลิตบรั่นดีจากสับปะรด

BRANDY PRODUCTION FROM PINEAPPLE

เยาวลักษณ์ จันทะสูนย์
รัตพร คำเสมอ
วชิรญาณ์ จันทโชติ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์
สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง
ปีการศึกษา 2558

การผลิตบรั่นดีจากสับปะรด

BRANDY PRODUCTION FROM PINEAPPLE

เยาวลักษณ์ จันทะสูนย์

รัตพร คำเสมอ

วชิรญาณ์ จันทโชติ

โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร

ปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชาชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

ปีการศึกษา 2558

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

BRANDY PRODUCTION FROM PINEAPPLE

YAOWALUK CHUNTHASOON

RUTTAPON KUMSAMOE

WACHIRAYA JANTHACHOT

A SPECIAL PROJECT SUBMITTED IN PARTIAL FULFILLMENT OF

THE REQUIREMENT FOR

THE DEGREE OF BACHELOR OF SCIENCE

(INDUSTRIAL MICROBIOLOGY)

DEPARTMENT OF BIOLOGY, FACULTY OF SCIENCE

KING MONGKUT'S INSTITUTE OF TECHNOLOGY LADKRABANG

ACADEMIC YEAR 2015

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ	การผลิตบรั่นดีจากสับปะรด
	Brandy Production From Pineapple
ชื่อนักศึกษา	นางสาวเยาวลักษณ์ จันทะสูนย์ รหัสนักศึกษา 55051372
	นางสาวรัตพร คำเสมอ รหัสนักศึกษา 55051376
	นางสาววชิรญาณ์ จันทโชติ รหัสนักศึกษา 55051385
ปริญญา	วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)
ภาควิชา	ชีววิทยา
ปีการศึกษา	2558
อาจารย์ที่ปรึกษา	ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ
อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

คณะวิทยาศาสตร์ สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.) อนุมัติให้โครงงานพิเศษนี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม) ประจำปีการศึกษา 2558

คณะกรรมการสอบ	ลายมือชื่อ
ผศ.วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการ	วีนา ชู
รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม	นวลพรรณ ณ ระนอง
ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการและอาจารย์ที่ปรึกษา	มงคล เพ็ญสายใจ

ลิขสิทธิ์ของคณะวิทยาศาสตร์

สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

หัวข้อโครงงานพิเศษ การผลิตบรั่นดีจากสับปะรด

Brandy Production From Pineapple

ชื่อนักศึกษา นางสาวเยาวลักษณ์ จันทะสูนย์ รหัสนักศึกษา 55051372

นางสาวรัตพร คำเสมอ รหัสนักศึกษา 55051376

นางสาววชิรญาณ์ จันทโชติ รหัสนักศึกษา 55051385

ปริญญา วิทยาศาสตรบัณฑิต (จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม)

ภาควิชา ชีววิทยา

คณะ วิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัย สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง (สจล.)

ปีการศึกษา 2558

อาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ

อาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง

บทคัดย่อ

ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่างๆในน้ำสับปะรดพันธุ์ต่างๆ แสดงให้เห็นว่าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 28 ในการหมักน้ำสับปะรดโดยใช้สับปะรด 2 สายพันธุ์ และเชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์ และความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 3 ความเข้มข้น ใช้อัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำคือ 1:1 พบว่าสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำหมัก ให้ผลิตภัณฑ์น้ำหมักสับปะรดที่มีปริมาณเอทานอล 7.49 เปอร์เซ็นต์ในวันที่ 7 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าการใช้สับปะรด ยีสต์ และความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตในทรีทเมนต์อื่นๆ (ทรีทเมนต์ที่ 1-16) เมื่อนำน้ำสับปะรดที่หมักได้จากสับปะรด 2 พันธุ์ เชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์ และไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 3 ความเข้มข้น มาทำการกลั่นเพื่อให้ได้เป็น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรั่นดี พบว่า บรั่นดีที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำหมัก ในอัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำ 1:1 ได้ปริมาณเอทานอลสูงสุด จึงได้รับคัดเลือกมาใช้ศึกษาปริมาณเอทานอลและสารให้กลิ่นรสในบรั่นดีต่อไป จากการศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักน้ำสับปะรดเพื่อผลิตบรั่นดี พบว่าการใช้ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้น 20 เปอร์เซ็นต์ของปริมาณน้ำหมักสับปะรดจะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Title Brandy Production From Pineapple

Students Miss Yaowaluk Chunthasoon Student ID 55051372

Miss Ruttaporn Kumsamoe Student ID 55051376

Miss Wachiraya Janthachot Student ID 55051385

Degree Bachelor of Science (Industrial Microbiology)

Department Biology

Faculty Science

University King Mongkut's Institute of Technology Ladkrabang (KMITL)

Academic Year 2015

Advisor Asst.Prof. Mongkol Phensaijai

Co-advisor Assoc.Prof. Dr. Nuanphan Naranong

Abstract

Studied on the growth of yeast strains in pineapple juice had shown that, *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 and *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 had the highest growth at 28 hours. By using 1:1 the ratio of pineapple juice to water, pineapple wine was fermented by each pineapple, yeast strain and tree concentrations of diammoniumphosphate. The experimental result demonstrated that pineapple "Phuket strain" (*Annas comosus*) *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 and 0.05% diammonium phosphate, had the highest ethanol content approximately 7.49 % v/v at 7 day of fermented procedure more than the used of other treatments, i.e. Treatment 1-16 .When distilled pineapple wine which fermented by each pineapple, yeast strained with three concentrations of

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

diammoniumphosphate in order to produce brandy production. The experimental result showed that treatment, as same as wine with highest ethanol that made brandy, had the highest ethanol content. As a result, 1:1 ratio of pineapple juice to water was applied to investigate the ethanol content and aromatic inhalants of pineapple brandy effectively. Moreover, optimization of amount inoculum experimental result illustrated that 20% inoculum had highest ethanol content.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

กิตติกรรมประกาศ

โครงงานพิเศษเล่มนี้สำเร็จได้ด้วยคำแนะนำและความกรุณาจากอาจารย์ที่ปรึกษา ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ ที่ให้ความช่วยเหลือ ให้คำแนะนำตลอดจนให้ความรู้ และประสบการณ์ที่ดีแก่ข้าพเจ้า และอาจารย์ที่ปรึกษาร่วม รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง ที่ให้คำแนะนำ และเป็นที่ปรึกษาในการค้นคว้าวิจัยนี้ ข้าพเจ้ามีความซาบซึ้งในความกรุณาที่ได้รับจากอาจารย์ ผู้วิจัยขอกราบขอบพระคุณเป็นอย่างสูง

ขอกราบขอบพระคุณ ผศ.วีนา ชูโชติ ประธานกรรมการสอบโครงงานพิเศษ รศ.ดร.นวลพรรณ ณ ระนอง และ ผศ.มงคล เพ็ญสายใจ กรรมการสอบโครงงานพิเศษ ที่เสียสละเวลาอันมีค่าเพื่อเป็นกรรมการในการสอบโครงงานพิเศษ พร้อมทั้งให้คำปรึกษาแนะนำ ตรวจสอบ ตลอดจนชี้แนะในการแก้ไขโครงงานพิเศษให้มีความเรียบร้อยสมบูรณ์ยิ่งขึ้น

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ธุรการ เจ้าหน้าที่ห้องปฏิบัติการภาควิชาชีววิทยาทุกท่านที่ช่วยอำนวยความสะดวกในด้านการติดต่อประสานงาน และอำนวยความสะดวกด้านอุปกรณ์

ขอขอบคุณเพื่อน พี่ และน้องทุกคนที่คอยให้ความช่วยเหลือในทุกเรื่อง ให้ข้อคิดเห็นกำลังใจและมิตรภาพที่ดีตลอดมา

ที่สำคัญขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา และญาติพี่น้อง ที่ให้ความรัก กำลังใจ ให้คำแนะนำสนับสนุนในด้านการศึกษาตลอดเวลา

คุณค่าและประโยชน์อันพึงมีจากโครงงานพิเศษฉบับนี้ ผู้วิจัยขอมอบแด่ผู้มีพระคุณทุกท่าน

เยาวลักษณ์ จันทะสูนย์

รัตพร คำเสมอ

วชิรญาณ์ จันทโชติ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ

หน้า

บทคัดย่อภาษาไทย.....ข

บทคัดย่อภาษาไทย.....ง

กิตติกรรมประกาศ.....ฉ

สารบัญ.....ช

สารบัญตาราง.....ฎ

สารบัญรูป.....ฏ

บทที่ 1 บทนำ.....1

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา.....1

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย.....2

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย.....2

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ.....2

บทที่ 2 ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง.....3

2.1 สับปะรด.....3

2.2 การจัดจำแนกตามหลักวิทยาศาสตร์.....4

2.3 ลักษณะของสับปะรด.....4

2.4 แหล่งปลูกสับปะรดที่สำคัญของไทย.....7

2.5 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม.....7

2.6 ฤดูกาลของสับปะรด.....7

2.7 ประโยชน์ของสับปะรด.....9

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.8 น้ำตาลในผลไม้......10
2.9 นิยามของไวน์......11
2.10 ขั้นตอนการผลิตไวน์......12
2.11 การแบ่งชนิดไวน์......15
2.12 ประโยชน์ของไวน์......17
2.13 มาตรฐานไวน์สมุนไพร......18
2.14 มาตรฐานเหล้ากลั่น......19
2.15 เอทานอล......19
2.16 การผลิตเอทานอล......20
2.17 วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเอทานอล......22
2.18 เชื้อยีสต์ในการผลิตเอทานอล......23
2.19 แหล่งของสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญ......24
2.20 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์......26
2.21 ระยะต่างๆของการเจริญเติบโตของจุลินทรีย์......27
2.22 ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล......28
2.23 วงจรชีวิตของยีสต์......29
2.24 ตัวอย่างเชื้อยีสต์ที่ผลิตเอทานอล Genus *Saccharomyces*......29
2.25 ปัจจัยที่สำคัญต่อการหมักเอทานอล......30

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

2.26 การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์....32

2.27 นิยามบรั่นดี....34

2.28 การกลั่นสุรา....36

2.29 งานวิจัยเกี่ยวข้อง....41

บทที่ 3 การดำเนินงานวิจัย....44

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี....44

3.2 วิธีการวิจัย....45

3.2.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงยีสต์....45

3.2.2 ศึกษาคุณสมบัติของน้ำสับปะรด....45

3.2.3 ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในการหมักน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ต....46

3.2.4 ศึกษาการหมักน้ำสับปะรดโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ*S. cerevisiae* TISTR 5019....47

3.2.5 ศึกษาการผลิตบรั่นดีสับปะรดด้วยการกลั่น....51

3.2.6 วิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆของบรั่นดี....51

3.2.7 ศึกษาสภาวะที่ดีที่สุดในการหมักสับปะรดโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือก....52

บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปราย....53

4.1 ศึกษาองค์ประกอบน้ำสับปะรด....53

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญ(ต่อ)

หน้า

4.2 ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่างๆในสับปะรด..54

4.3 ศึกษาการหมักไวน์สับปะรดโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019......................................56

4.4 ศึกษาการผลิตบรั่นดีสับปะรดโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019......................................57

4.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์สับปะรด..58

4.6 การวิเคราะห์ปัจจัยและองค์ประกอบต่างๆของบรั่นดีสับปะรดโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกว่าให้ปริมาณเอทานอลสูง..64

บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง..69

ข้อเสนอแนะ..72

เอกสารอ้างอิง..73

ภาคผนวก ก..78

ภาคผนวก ข..79

ภาคผนวก ค..82

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญตาราง

ตารางที่ **หน้า**

2.1 เปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญของพันธุ์สับปะรดในประเทศไทย..8

2.2 การผลิตสับปะรดปี 2547-2551..8

2.3 น้ำตาลในผลไม้..10

2.4 แสดงคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนัส *Saccharomyces*...20

4.1 แสดงการเจริญของเชื้อ *S. cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆ...55

4.2 ตารางแสดงปริมาณเอทานอลของไวน์ที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย
และพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019
และปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ 62

4.3 ตารางแสดงปริมาณเอทานอลของบรั่นดีที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย
และพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019
และปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ..63

4.4 ตารางแสดงค่าจำนวนเซลล์ (CFU/ml), ค่าปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์), ค่าปริมาณของแข็ง
ทั้งหมดที่ละลายได้ (องศาบริกซ์) และค่าพีเอช ของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน....................................64

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป

รูปที่ **หน้า**

2.1 สับปะรด....3

2.2 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย....5

2.3 สับปะรดพันธุ์ภูเก็ตหรือพันธุ์สวี....6

2.4 สับปะรดพันธุ์นางแล หรือพันธุ์น้ำผึ้ง....6

2.5 การผลิตเอทานอล....12

2.6 โครงสร้างเคมีของเอทานอล....19

2.7 *Saccharomyces cerevisiae*....23

2.8 แสดงระยะต่างๆของการเจริญเติบโตเพิ่มของเชื้อยีสต์....28

2.9 วงจรการแตกหน่อของยีสต์....29

3.1 แผนภาพแผนการทดลอง....48

4.1 แสดงค่าพีเอชของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและภูเก็ต....53

4.2 แสดงค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ทั้งหมดของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและภูเก็ต....54

4.3 แสดงการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆ 55

4.4 แสดงปริมาณเอทานอลของไวน์....56

4.5 แสดงปริมาณเอทานอลของบรั่นดี....57

4.6 แสดงปริมาณเอทานอลเฉลี่ยของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย
เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ....58

4.7 แสดงปริมาณเอทานอลเฉลี่ยของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย
เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ 59

4.8 แสดงปริมาณเอทานอลเฉลี่ยของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต
เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ....59

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

สารบัญรูป (ต่อ)

รูปที่ **หน้า**

4.9 แสดงปริมาณเอทานอลเฉลี่ยของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ.................................60

4.10 แสดงปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์) ของไวน์ที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ และปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่ำงๆ 62

4.11 แสดงปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์) ของบรั่นดีที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ และปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่ำงๆ 63

4.12 แสดงค่า ค่าปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์) ของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน................................65

4.13 แสดงค่า ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน.........................65

4.14 แสดงค่า ค่าพีเอชของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน...66

4.15 แสดงค่าจำนวนเซลล์ของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน..66

4.16 แสดงค่าปริมาณเอทานอลที่พบในบรั่นดี...67

4.17 แสดงค่าปริมาณเอธิลอะซิเตทที่พบในบรั่นดี...68

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 1

บทนำ

1.1 ความเป็นมาและความสำคัญของปัญหา

ประเทศไทยเป็นประเทศที่ทำการเกษตรกรรมที่มีผลผลิตทางการเกษตรมากมาย โดยเฉพาะการปลูกสับปะรดซึ่งเป็นผลไม้ที่มีคุณค่าทางเศรษฐกิจที่มีฤดูการเก็บเกี่ยวตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนจนถึงเดือนมกราคม และกลางเดือนเมษายนจนถึงเดือนกรกฎาคม ซึ่งให้ผลผลิตออกมาเป็นจำนวนมาก จึงส่งผลทำให้สับปะรดในท้องตลาดมีราคาถูก ตัวอย่างพันธุ์สับปะรด เช่น พันธุ์ปัตตาเวีย, พันธุ์ภูเก็ต, พันธุ์ตราดสีทอง, พันธุ์ภูแล, พันธุ์ห้วยมุ่น และพันธุ์อื่นๆ เป็นต้น

สับปะรด (Pineapple) เป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว จัดอยู่ในวงศ์ (Family) *Bromeliaceae* มีชื่อวิทยาศาสตร์ว่า *"Ananas comosus"* เป็นพืชที่ขึ้นในเขตร้อน และร้อนชื้น สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดี และยังเป็นพืชทางเศรษฐกิจที่สำคัญ ส่วนใหญ่จะเป็นการปลูกเพื่อการบริโภคสด และทำเป็นน้ำผลไม้เพื่อจัดจำหน่ายโดยตรง ส่วนมากจะนำเข้าสู่โรงงานอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง (Canned Pineapple) ซึ่งก่อนจะนำเข้าสู่โรงงานจะต้องทำการคัดแยกสับปะรดก่อน โดยสับปะรดที่ได้คุณภาพตามมาตรฐานจะทำการจัดจำหน่ายภายในประเทศหรือส่งออกจำหน่ายไปยังต่างประเทศ ส่วนสับปะรดที่เหลือจากการคัดแยกเป็นสับปะรดที่มีตำหนิจึงทำให้มีมูลค่าทางการตลาดต่ำ จากการศึกษาคาดว่าน่าจะนำสับปะรดเหล่านี้มาทำการแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์เกี่ยวกับบรั่นดีร่วมกับการใช้ยีสต์ *Saccharomyces ceravisiae* 2 สายพันธุ์ นั่นก็คือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ซึ่งเป็นจุลินทรีย์ที่นิยมใช้มาอย่างยาวนาน ยีสต์นี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์ที่ได้มีกลิ่น และมีรสชาติที่ดี โดยยีสต์จะทำการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกลายเป็นเอทานอลและคาร์บอนไดออกไซด์

ในกระบวนการหมัก ยีสต์ที่นำมาใช้จะต้องมีลักษณะเฉพาะดังนี้ สามารถผลิตเอทานอลได้สูง ทนต่อซัลไฟด์ (Sulphide) ทนต่อเอทานอล ทนต่อน้ำตาลความเข้มข้นสูง ทนต่อความร้อน และให้กรดแอซิติกต่ำ จากนั้นจึงนำไวน์ที่หมักได้ไปเข้าสู่กระบวนการกลั่น (Distillation) เพื่อให้ได้เป็นผลิตภัณฑ์บรั่นดี

จากการศึกษาพบว่าในงานวิจัยที่ผ่านมา ผลิตภัณฑ์บรั่นดีส่วนใหญ่มีการใช้ผลไม้ที่หลากหลายชนิด เช่น องุ่น พลัม แอปเปิ้ล และผลไม้ตระกูลเบอร์รี่ เป็นต้น นอกจากนี้ยังพบว่ามีผลไม้อีกหลายชนิด เช่น สับปะรด ที่สามารถนำมาผลิตบรั่นดีได้อีกด้วย ดังนั้นการนำสับปะรดมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์บรั่นดี จึงเป็นอีกทางเลือกให้กับผู้ที่นิยมบริโภคเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่จะได้ลิ้มลองรสชาติของผลิตภัณฑ์ที่แปลกใหม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 วัตถุประสงค์ของงานวิจัย

1) เพื่อเปรียบเทียบศักยภาพของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ที่ส่งผลต่อการผลิตปริมาณเอทานอลในผลิตภัณฑ์บรั่นดี

2) เพื่อคัดเลือกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตในการนำมาผลิตบรั่นดีที่ให้มีปริมาณเอทานอลสูง

3) เพื่อเปรียบเทียบความเข้มข้นของแหล่งไนโตรเจน (ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต) ที่ความเข้มข้นต่างๆ ที่ส่งผลต่อการเจริญเติบโตของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019

1.3 ขอบเขตของงานวิจัย

ศึกษาความเป็นไปได้ และการคัดเลือกผลิตภัณฑ์บรั่นดีที่หมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ตเป็นวัตถุดิบในการผลิตบรั่นดีร่วมกับการคัดเลือกเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 และเปรียบเทียบการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ที่เติมแหล่งไนโตรเจน คือ ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ที่ความเข้มข้นต่างๆ แล้วนำมาเปรียบเทียบกัน เพื่อหาพันธุ์สับปะรดและยีสต์ที่ดีที่สุด เพื่อให้ได้ผลิตภัณฑ์บรั่นดีที่มีปริมาณเอทานอลสูง

1.4 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1) สามารถรู้ถึงบทบาทของเชื้อยีสต์ที่ใช้ในการทำบรั่นดีสับปะรดจนได้เป็นผลิตภัณฑ์บรั่นดี

2) สามารถคัดเลือกสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ตที่นำมาทำบรั่นดีร่วมกับการคัดเลือกเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ*Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 เพื่อให้ได้ปริมาณเอทานอลที่เหมาะสม

3) สามารถสร้างมูลค่าเพิ่มให้กับสับปะรดได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 2

ทฤษฎีและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

2.1 สับปะรด (Pineapple)

สับปะรดเป็นพืชที่มีถิ่นกำเนิดในประเทศแถบลาตินอเมริกา ซึ่งอยู่ในทวีปอเมริกาใต้ คือแถบประเทศบราซิล อาเจนตินา โคลัมเบีย และประเทศปารากวัย สำหรับประเทศไทยมีการปลูกสับปะรดมาตั้งแต่ปลายคริสต์ศตวรรษที่ 17 มีรายงานว่าพบสับปะรดในประเทศไทย ประเทศพม่า และแคว้นอัสสัม ไม่ทราบแน่ชัดว่าที่มาของการนำสับปะรดเข้ามาในประเทศไทยเป็นครั้งแรก ในช่วง พ.ศ. 2223-2243 ซึ่งอยู่ในสมัยของสมเด็จพระนารายณ์มหาราช จึงอาจสันนิษฐานได้ว่าชาวโปรตุเกสที่มาติดต่อค้าขายกับประเทศไทย เป็นผู้นำสับปะรดเข้ามา สับปะรดในยุคนั้นอาจจะเป็นพันธุ์อินทรชิต หรือพันธุ์ที่อยู่ในกลุ่มสแปนนิช (Spanish) และมีการปลูกกระจัดกระจายกันอยู่ทั่วไปในประเทศไทย เป็นเวลานานจนเรียกเป็นสับปะรดพันธุ์พื้นเมือง

รูปที่ 2.1 สับปะรด

ที่มา :www.fruityloaf.com/store/images/pineapple.jp (สืบค้นวันที่ 23/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.2 การจัดจำแนกตามหลักวิทยาศาสตร์

อาณาจักร : พืช (Plant)

อันดับ : Poales

วงศ์ : Bromeliaceae

วงศ์ย่อย : Bromelioideae

สกุล : *Ananas*

สปีชีส์ : *comosus*

ชื่อสามัญ : Pineapple

ถิ่นกำเนิด : ประเทศบราซิล และประเทศโคลัมเบีย

ชื่อถิ่น : สับปะรด (ภาคกลาง), ขนุนทอง, ยานัด (ภาคใต้), บ่อนัด, มะขะนัด, มะนัด (ภาคเหนือ), บักนัด (ภาคอีสาน), และมาเนื่อ (เขมร)

2.3 ลักษณะของสับปะรด

สับปะรดเป็นพืชใบเลี้ยงเดี่ยว สามารถทนต่อสภาพแวดล้อมต่างๆได้ดี ปลูกได้ในดินแทบทุกแห่งในประเทศไทย เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญ เมื่อเจริญเป็นผลแล้วจะเจริญต่อไป โดยตาที่ลำต้นจะเติบโตเป็นต้นใหม่ได้อีก และสับปะรดสามารถดัดแปลงเป็นไม้ประดับได้อีกด้วย

สับปะรดแบ่งออกตามลักษณะความเป็นอยู่ได้ 3 ประเภทใหญ่ๆ คือ พวกที่มีระบบรากหาอาหารอยู่ในดิน หรือเรียกว่า ไม้ดิน พวกอาศัยอยู่ตามอาคบไม้ หรือลำต้นไม้ใหญ่ ได้แก่ ไม้อากาศต่างๆ ที่ไม่แย่งอาหารจากต้นไม้ที่มันเกาะอาศัยอยู่ พวกนี้ส่วนใหญ่จะเป็นไม้ประดับ และพวกที่เจริญเติบโตบนผาหิน หรือโขดหิน ส่วนสับปะรดที่เราใช้บริโภคจัดเป็นไม้ดินแต่ยังมีลักษณะบางประการของไม้อากาศเอาไว้คือ สามารถกักเก็บน้ำไว้ตามซอกใบได้เล็กน้อย และมีเซลล์พิเศษสำหรับเก็บน้ำเอาไว้ในใบ สามารถทำให้ทนต่อสภาพแห้งแล้งได้ ลักษณะเป็นไม้ล้มลุกอายุหลายปี สูง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ประมาณ 90-100 เซนติเมตร มีลำต้นอยู่ในดิน ใบเดี่ยวเรียงสลับซ้อนกันรอบต้น มีดอกย่อยจำนวนมาก ผลเป็นผลรวม มีรูปทรงกระบอก มีใบเป็นกระจุกที่ปลาย สับปะรดมีหลากหลายพันธุ์ที่ปลูกในประเทศไทย ดังนี้

2.3.1 พันธุ์ปัตตาเวีย (Smooth Cayenne)

เป็นพันธุ์ที่นิยมปลูกกันแพร่หลายที่สุด เนื่องจากเป็นที่ต้องการของตลาดผู้บริโภคสด และโรงงานอุตสาหกรรมสับปะรดกระป๋อง เพราะมีรสชาติหวาน มีชื่อเรียกหลายอย่าง เช่น สับปะรดศรีราชา พันธุ์ตาดำ พันธุ์ตาแดง และพันธุ์กัลกัตตา หรือพันธุ์ปราณบุรี สับประรดพันธุ์นี้มีใบสีเขียวเข้ม ผิวใบด้านบนเป็นมันเงา ขอบใบเรียบกว่าทุกพันธุ์ อาจมีหนามที่ปลายใบ ช่อดอกมีดอกย่อยประมาณ 150 ดอก กลีบดอกสีม่วงอมน้ำเงิน ผลมีขนาดใหญ่ตั้งแต่ 2-6 กิโลกรัม ก้านผลสั้น เปลือกผลมีสีเขียว เมื่อแก่จะเปลี่ยนเป็นสีเหลืองอมส้ม หรือเหลืองอมเขียว หรือยังคงเขียวเข้ม ตาค่อนข้างตื้น แกนใหญ่ มีเนื้อละเอียด ผลที่มีขนาดใหญ่จะมีรูปทรงปลายเรียว โคนใหญ่ แต่ผลขนาดเล็ก และขนาดกลาง ส่วนใหญ่จะมีรูปทรงกระบอก

รูปที่ 2.2 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

ที่มา : https://thanchanok0921.wordpress.com/pineapple (สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

2.3.2 พันธุ์ภูเก็ตหรือพันธุ์สวี (Malacca, Queen)

สับปะรดพันธุ์นี้ปลูกมากในท้องถิ่นที่จังหวัดภูเก็ต ชุมพร และตราด โดยนิยมปลูกแซมสวนยางพาราที่มีอายุน้อย มีชื่อเรียกต่างกันไป เช่น พันธุ์ชุมพร พันธุ์สวี และพันธุ์ตราดสีทอง ลักษณะโดยทั่วไป ใบค่อนข้างแคบและยาวกว่าพันธุ์อื่นๆ มีสีเขียวอ่อน และมีแถบสีแดงตรงกลางใบ ขอบใบเต็มไปด้วยหนามสีแดง ผลมีขนาดเล็กกว่าทุกพันธุ์ ผลย่อยนูน ตาลึก เนื้อสีเหลืองกรอบ รสหวานกว่าพันธุ์ปัตตาเวีย มีกลิ่นหอม รูปทรงของผลค่อนข้างยาว ผิวเปลือกมีสีเขียว เมื่อแก่จะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เปลี่ยนเป็นสีเหลืองส้มทั้งผล ขนาดของผลประมาณ 0.8-1.2 กิโลกรัม ปัจจุบันเป็นที่นิยมบริโภคและส่งออกเป็นจำนวนมาก

รูปที่ 2.3 สับปะรดพันธุ์ภูเก็ตหรือพันธุ์สวี

ที่มา : www.termsuk.com (สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

2.3.3 พันธุ์นางแล หรือพันธุ์น้ำผึ้ง

ลักษณะของสับปะรดพันธุ์นางแล หรือพันธุ์น้ำผึ้ง คล้ายพันธุ์ปัตตาเวียทั้งส่วนของต้น ใบ และส่วนอื่นๆ โดยมีขอบใบที่เรียบ ไม่มีหนาม หรือมีหนามเล็กน้อยที่ปลายใบ ผลมีขนาดเล็ก รูปทรงกลม แต่ขนาดของตาค่อนข้างใหญ่ ลักษณะตาโปนยื่นออกมา ตาไม่ลึก เปลือกค่อนข้างบาง เนื้อมีสีเหลืองน้ำผึ้ง รสหวานอมเปรี้ยว มีกลิ่นหอม ผลมีขนาด 1-1.5 กิโลกรัม เนื่องจากเปลือกบางจึงไม่เหมาะกับการขนส่งไกลๆ เพราะจะช้ำง่าย แหล่งเพาะปลูกที่พบคือ ตำบลนางแล อำเภอเมือง จังหวัดเชียงราย

รูปที่ 2.4 สับปะรดพันธุ์นางแล หรือพันธุ์น้ำผึ้ง

ที่มา : http://tourismawards.tourismthailand.org/th
/information.php?id=352&lst_award_year=8 (สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า
ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.4 แหล่งเพาะปลูกสับปะรดที่สำคัญของไทย อยู่ในบริเวณพื้นที่อยู่ใกล้ทะเลได้แก่

- จังหวัดประจวบคีรีขันธ์
- จังหวัดเพชรบูรณ์
- จังหวัดชลบุรี
- จังหวัดระยอง
- จังหวัดฉะเชิงเทรา
- จังหวัดจันทบุรี
- จังหวัดตราด
- จังหวัดต่างๆ ในภาคใต้ เช่น จังหวัดภูเก็ต พังงา และชุมพร

2.5 สภาพแวดล้อมที่เหมาะสม

สับปะรดต้องการเจริญในสภาพอากาศค่อนข้างร้อน อุณหภูมิที่เหมาะสมจะอยู่ระหว่าง 23.9-29.4 องศาเซลเซียส ปริมาณน้ำฝนที่ต้องการอยู่ในช่วง 1,000-1,500 มิลลิลิตรต่อปี แต่ต้องตกกระจายสม่ำเสมอตลอดปี และมีความชื้นในอากาศสูง สับปะรดชอบดินร่วน ดินร่วนปนทราย ดินปนลูกรัง ดินทรายชายทะเล และชอบที่ลาดเท เช่น ที่ลาดเชิงเขา สภาพความเป็นกรดด่างของดินควรเป็นกรดเล็กน้อย คือตั้งแต่ 4.5-5.5 แต่ไม่ถึง 6.0

2.6 ฤดูกาลของสับปะรด

ช่วงเก็บเกี่ยวตั้งแต่เดือนพฤศจิกายนถึงเดือนมกราคม และกลางเดือนเมษายนถึงเดือนกรกฎาคม สับปะรดจะให้ผลผลิตเป็นจำนวนมากในตลาดจึงทำให้มีราคาถูก ช่วงเก็บเกี่ยวนอกฤดูกาลตั้งแต่เดือนกุมภาพันธ์ถึงต้นเดือนเมษายน และเดือนสิงหาคมถึงเดือนตุลาคม สับปะรดจะให้ผลผลิตน้อยจึงทำให้มีราคาแพ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.1 เปรียบเทียบลักษณะที่สำคัญของพันธุ์สับปะรดในประเทศไทย

ชื่อพันธุ์	ลักษณะที่ดี	ลักษณะที่ไม่ดี
ปัตตาเวีย	มีคุณสมบัติในการบรรจุกระป๋องดี ทนต่อความแห้งแล้ง และการขาดน้ำได้ดีกว่าพันธุ์อื่นๆ ขอบใบเรียบ เนื้อมีสีเหลือง รสหวาน	ไม่ทนต่อโรครากและต้นเน่า ผลมีลักษณะแกน รูปทรงของผลมีขนาดใหญ่
ภูเก็ต	รูปทรงกระบอกสม่ำเสมอ รสชาติดี เนื้อหวานกรอบ มีกลิ่นหอม สีเหลืองจัด ตอบสนองต่อสารเร่งดอกได้ดี มีเปลือกบางมาก รสหวาน เนื้อมีสีเหลืองจัด	ผลมีขนาดเล็ก ตาลึก เนื้อมีช่องว่างเป็นโพรง ใบมีหนามมาก มีหน่อมากเกินไปจนกลายเป็นกอ การบรรจุกระป๋องไม่ค่อยดี
นางแล	ขอบใบมักเรียบ ทนต่อดินเหนียว และทนต่อดินที่มีการระบายน้ำไม่ดี	ผลมีขนาดเล็กทรงกลม ผลย่อยนูน ไม่เหมาะกับการขนส่งทางไกล
อินทรชิต	ทนต่อโรคเน่า เปลือกผลหนา เหมาะกับการขนส่งระยะไกล เนื้อมีสีเหลือง ตอบสนองต่อสารเร่งดอกได้ดี	ไม่ค่อยทนสภาพแล้ง ผลมีขนาดเล็ก ตาลึก ใบหนามาก มีหลายจุก

ตารางที่ 2.2 การผลิตสับปะรดปี 2547-2551

	ปี 2547	ปี 2548	ปี 2549	ปี 2550	ปี 2551
1. เนื้อที่เก็บเกี่ยว (ไร่)	556,275	613,800	629,199	597,467	596,396
2. ผลผลิต (ล้านตัน)	2.10	2.18	2.60	2.30	2.47
3. ผลผลิตต่อไร่ (กิโลกรัม)	3,777	3,557	4,129	3,858	4,159

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.7 ประโยชน์ของสับปะรด

1) ช่วยเสริมสร้างระบบภูมิคุ้มกันในร่างกายให้แข็งแรง
2) ช่วยบำรุงผิวพรรณให้เปล่งปลั่ง สดใส
3) ช่วยในการต่อต้านอนุมูลอิสระในร่างกาย ช่วยชะลอการเกิดริ้วรอย และความแก่ชรา
4) เป็นผลไม้ที่เมื่อรับประทานแล้วจะรู้สึกสบายท้อง ไม่รู้สึกอืดอัด
5) นำมารับประทานเป็นผลไม้ หรือนำมาปรุงเป็นอาหาร เช่น แกงสับปะรด เป็นต้น
6) นำมาใช้แปรรูปเป็นสับปะรดกระป๋อง และทำเป็นสับปะรดกวน
7) การแปรรูปสับปะรดอื่นๆ เช่น ไวน์สับปะรด และแยมสับปะรด เป็นต้น
8) ช่วยลดอัตราความเสี่ยงจากการเกิดโรคมะเร็ง
9) ช่วยบรรเทาและรักษาอาการหวัดได้
10) ช่วยให้เลือดลมไหลเวียนได้ดีมากขึ้น
11) ช่วยให้สุขภาพในช่องปากแข็งแรง ป้องกันไม่ให้เกิดโรคเหงือก
12) ช่วยบรรเทาอาการร้อนกระสับกระส่ายและกระหายน้ำ
13) ช่วยแก้อาการท้องผูก ขับถ่ายไม่สะดวก
14) ช่วยในการย่อยอาหารจำพวกโปรตีน
15) ช่วยลดเสมหะในลำคอได้
16) ช่วยในการขับปัสสาวะ ปัสสาวะไม่ออก
17) ช่วยรักษาโรคนิ่ว
18) ช่วยรักษาโรคไตอักเสบ
19) ช่วยรักษาโรคความดันโลหิตสูง
20) ช่วยรักษาโรคหลอดลมอักเสบ
21) ช่วยบรรเทาอาการของโรคบิด
22) บรรเทาอาการของโรคนิ้วล็อก (Trigger Finger)
23) ช่วยรักษาอาการบวมน้ำ
24) ช่วยรักษาอาการแผลเป็นหนอง
25) ช่วยแก้ปัญหาส้นเท้าแตก
26) ช่วยลดการอักเสบจากบาดแผล
27) เป็นยารักษาโรคผิวหนัง
28) ใบสด สามารถนำมาใช้เป็นยาถ่ายหรือยาฆ่าพยาธิได้
29) ผลดิบ สามารถนำมาใช้ห้ามเลือดได้ ช่วยขับประจำเดือน นำมาใช้เป็นยาแก้กระษัยบำรุงไต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.8 น้ำตาลในผลไม้

ตารางที่ 2.3 น้ำตาลในผลไม้

เลขที่	ชื่อผลไม้	ปริมาณส่วนที่รับประทานได้		ปริมาณน้ำตาล (กรัม)			
		ปริมาณ	น้ำหนัก (กรัม)	ทั้งหมด	ฟรุกโตส	กลูโคส	ซูโครส
1	ขนุน	1 ยวง	40	8.58	1.75	1.73	5.10
2	เงาะโรงเรียน	4 ผล	70	12.51	1.75	1.77	8.99
3	ชมพู่เพชร	1 ผล	100	7.95	4.05	3.90	-
4	แตงโมกินรี	10 ชิ้นคำ	140	11.20	5.46	2.30	3.44
5	ทุเรียนหมอนทอง	1/2 เม็ด	40	8.52	0.38	0.40	7.74
6	มะขามหวาน	1 ฝัก	13	7.57	4.25	3.32	-
7	มะปราง	8 ผล	85	10.47	2.16	1.77	6.54
8	มะปรางหวาน	8 ผล	73	12.28	1.65	0.91	9.72
9	มะม่วงเขียวเสวย	1/4 ผล	60	11.30	1.15	0.62	9.53
10	มะม่วงน้ำดอกไม้	1/4 ผล	80	12.26	3.05	0.39	8.82
11	มะม่วงอกร่อง	1 ผล	100	13.45	5.46	0.49	7.50
12	มะละกอแขกดำ	6 ชิ้นคำ	72	7.08	3.34	3.74	-
13	มังคุด	3 ผล	50	8.69	0.71	0.74	7.24
14	ลองกอง	6 ผล	100	16.02	7.40	7.09	1.53
15	ละมุดมาเลย์	1 ผล	60	9.37	3.33	2.99	3.05
16	ลำไยพันธุ์กะโหลก	8 ผล	60	10.66	2.20	2.53	5.93
17	ลิ้นจี่พันธุ์ค่อม	4 ผล	40	7.34	3.65	3.69	-
18	ส้มบางมด	1 ผล	90	10.21	2.17	1.83	6.20
19	สับปะรดภูเก็ต	6 ชิ้นคำ	70	10.18	2.10	2.01	6.07
20	สับปะรดศรีราชา	6 ชิ้นคำ	70	8.82	2.47	2.31	4.04
21	องุ่นเขียว	8 ผล	50	6.29	2.94	3.35	-

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.9 นิยามของไวน์

ไวน์ หมายถึง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ชนิดหนึ่งที่ได้จากการหมักน้ำองุ่นโดยเชื้อยีสต์ นอกจากนี้ไวน์ยังสามารถทำจากผลไม้ชนิดอื่นๆ ได้อีกด้วย เรียกชื่อตามชนิดผลไม้ที่นำมาหมัก เช่น ไวน์สับปะรด ไวน์ลิ้นจี่ ไวน์มะเม่า ไวน์มะยม เป็นต้น ไวน์นอกจากจะผลิตจากผลไม้แล้ว ยังผลิตได้จากวัตถุดิบอื่นๆ ได้ เช่น ใบไม้ ดอกไม้ น้ำผึ้ง สมุนไพร และเครื่องเทศ ในประเทศที่มีอากาศไม่หนาวมาก มีการผลิตไวน์ในครัวเรือน โดยใช้กานพลู ขิง สาระแหน่ และผักชีฝรั่ง ในไวน์จะประกอบไปด้วย เอทานอล (Ethanol, C_2H_5OH) น้ำตาล คาร์โบไฮเดรต โพลีฟีนอล (polyphenol) อัลดีไฮน์ (aldehyde) คีโตน (ketones) เอ็นไซม์ (enzymes) สารให้สี (pigment) วิตามินและแร่ธาตุต่างๆ ไม่น้อยกว่า 15-20 ชนิด นอกจากนี้ยังมีกรดอินทรีย์มากกว่า 22 ชนิด สารเคมีเหล่านี้จะรวมตัวในน้ำไวน์ และทำให้มีรสชาติที่คนทั่วโลกนิยมชมชอบ (ประดิษฐ์, 2546)

การทำไวน์ในระดับอุตสาหกรรม ผู้ที่ค้นพบรากฐานทางวิชาการของการทำไวน์ ได้แก่ ชาวฝรั่งเศส ชื่อ หลุยส์ ปาสเตอร์ (Louis Pasteur) ในปี ค.ศ. 1852 ซึ่งค้นพบว่าไวน์นั้นเกิดจากยีสต์ โดยยีสต์จะเปลี่ยนน้ำตาลให้กลายเป็นเอทานอล และแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ ภายใต้สภาพไร้อากาศ นอกจากนี้เขายังได้ค้นพบวิธีป้องกันไม่ให้ไวน์เสียรสชาติจนกลายเป็นน้ำส้มสายชู จากการค้นพบดังกล่าวนี้เอง ทำให้คนทั่วไปสามารถผลิตไวน์ที่มีคุณภาพได้ ประเทศต่างๆที่มีผลไม้ก็เริ่มผลิตไวน์ด้วยการใช้ผลไม้เหล่านั้นให้เกิดประโยชน์ และมีรายได้เพิ่มขึ้น ในประเทศสหรัฐอเมริกาได้มีการจ้างคนงานผลิตไวน์ถึง 530,000 คน ก่อให้เกิดรายได้มหาศาลเกือบหมื่นล้านดอลลาร์ (วนิดา, 2540)

ในปัจจุบันฝรั่งเศสมีชื่อเสียงมากในด้านการผลิตไวน์ มีไวน์หลากหลายมากกว่า 140,000 ยี่ห้อ แต่ฝรั่งเศสก็มิใช่ประเทศที่ผลิตไวน์ได้ปริมาณมากที่สุด ส่วนประเทศอิตาลีเป็นประเทศที่ผลิตไวน์ได้มากที่สุด สำหรับการยอมรับนั้นถือว่าไวน์ฝรั่งเศสบางชนิดหรือบางยี่ห้อมีคุณภาพดีที่สุดในโลก ในประเทศฝรั่งเศส คนฝรั่งเศสดื่มไวน์เฉลี่ยคนละ 16 แกลลอนต่อปี สำหรับประเทศไทยยังไม่มีการจัดอันดับ เพราะเพิ่งจะรู้จักการทำไวน์กันเมื่อไม่นานมานี้ มีบริษัทเอกชนบางรายได้ผลิตไวน์มานานหลายสิบปี แต่ปริมาณการผลิตก็ยังน้อย ต่อมาเมื่อมีการแก้ไขกฎหมายโดยอนุญาตให้ประชาชนผลิตไวน์ได้อย่างเสรี แต่ก็ยังมีกติกาอยู่บ้างเพื่อรัฐจะได้ควบคุมการผลิตได้ ซึ่งเป็นเรื่องที่ถูกต้อง มิฉะนั้นการผลิตก็จะไม่มีการควบคุมแต่ก็มีระเบียบบางอย่างที่ไม่เป็นประโยชน์นักในการส่งเสริมการผลิตในประเทศ ซึ่งต้องพิจารณาแก้ไขกันต่อไป อีกทั้งในประเทศไทยก็เป็นเมืองผลไม้ มีผลไม้ออกสู่ตลาดตลอดทั้งปี ผลไม้หลายชนิดสามารถนำมาใช้หมักไวน์ได้ สมุนไพรก็มีหลากหลาย และมีสรรพคุณเป็นยารักษาโรค และสามารถนำมาใช้ผลิตไวน์ได้อีกด้วย ฉะนั้นการทำไวน์ในประเทศไทยจึงเป็นเรื่องน่าสนใจ เพราะมีความหลากหลายของผลไม้และพรรณไม้ จะทำให้ได้ไวน์นานาชนิด (ชัยรัตน์, 2546) การผลิตไวน์เดิม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ใช้ยีสต์ที่ติดมากับวัตถุดิบตามธรรมชาติ แต่ในปัจจุบันนิยมใช้ยีสต์ที่บริสุทธิ์เป็นหัวเชื้อเริ่มต้น โดยทำการเลี้ยงเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* ในอาหารที่มีกลูโคส ภายใต้สภาวะที่ไม่มีอากาศ ยีสต์จะเจริญได้ช้า และไพรูเวทที่ได้จากวิถีไกลโคไลซิส จะถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ดังแสดงในรูปที่ 2.5

Glucose

↓ Glycolysis

Pyruvate

Pyruvate decarboxylase ↓ Mg^{2+}, Thiamine pyrophosphate

Acetaldehyde + CO_2

Alcohol dehydrogenase ↓ $NADH_2$

Ethanol

รูปที่ 2.5 การผลิตเอทานอล

ที่มา: Crueger and Crueger (1990)

2.10 ขั้นตอนในการผลิตไวน์ (สามารถ, 2539)

2.10.1 การเตรียมหัวเชื้อ

นำผลไม้มาคั้นเอาเฉพาะน้ำ และปรับความหวานด้วยน้ำตาลให้ได้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้อยู่ที่ 18 องศาบริกซ์ นำไปต้มให้เดือด เทใส่ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร ให้ได้ปริมาตร 100 มิลลิลิตร ใช้จุกสำลีปิด นำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที หรืออาจจะใช้สารยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ด้วยโปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ใส่ลงในน้ำผลไม้ ปิดปากจุกด้วยจุกสำลี ทิ้งไว้ให้เย็น หลังจากนั้นใส่เชื้อยีสต์ลงในน้ำผลไม้ แล้วนำไปวางบนเครื่องเขย่าที่มีความเร็วรอบ 200 รอบต่อนาที ที่อุณหภูมิห้อง เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.2 การคัดเลือกผลไม้

คุณภาพของผลไม้จะมีผลต่อรสชาติและคุณภาพของไวน์มาก แม้ผลไม้ชนิดเดียวกัน ถ้าต่างพันธุ์กันจะได้ไวน์ที่มีคุณภาพต่างกันด้วย เพราะผลไม้ต่างพันธุ์กันจะมีส่วนประกอบที่แตกต่างกัน การคัดเลือกผลไม้ที่มีคุณภาพดีไม่เน่าเสีย ย่อมได้ไวน์ที่มีคุณภาพดี เพราะผลไม้ที่เน่าเสียแล้วจะมีจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการปะปนอยู่ ผลไม้ที่เน่าจะทำลายกลิ่นรสของไวน์ และยังทำให้ต้องเสียเวลาในการฆ่าเชื้อยาวนานกว่าเดิม ดังนั้นจึงต้องคัดเลือกผลไม้ที่เน่าเสียออกให้หมด

2.10.3 การเตรียมน้ำผลไม้

นำผลไม้ที่มีเปลือกหนามาปอกเปลือกออก ถ้าเป็นผลไม้ที่มีเปลือกบางก็ล้างน้ำ แล้วหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ และคั้นน้ำผลไม้ เติมน้ำให้เหมาะสม หรือไม่เติมน้ำก็ได้ ซึ่งขึ้นอยู่กับวัตถุดิบที่ใช้ เนื่องจากผลไม้ของไทยไม่มีน้ำที่จะคั้นออกมามาก จึงนิยมเติมน้ำลงไปเพื่อสกัดรสชาติออกมาจากผลไม้

2.10.3.1 การเติมน้ำตาล

ปกติผลไม้โดยทั่วๆไปที่มีอยู่ในเมืองไทยนั้น มีความหวานไม่เพียงพอที่จะทำไวน์จึงจำเป็นต้องเติมน้ำตาลลงไปในน้ำผลไม้เพื่อใช้เป็นแหล่งพลังงาน และแหล่งคาร์บอนสำหรับเชื้อยีสต์ ก่อนเติมน้ำตาลจะต้องทราบก่อนว่าน้ำผลไม้นั้นมีความหวานอยู่เท่าใด โดยใช้เครื่องมือวัดความหวานของน้ำตาลหรือวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ ก็คือ รีแฟรคโตมิเตอร์ (Refractometer) ซึ่งจะวัดความหวานของน้ำตาลออกมาเป็นหน่วยองศาบริกซ์ โดยทั่วไปน้ำผลไม้จะมีความหวานตั้งแต่ 8-15 องศาบริกซ์ ถ้ามีการเจือปนน้ำลงไปด้วยก็ยิ่งทำให้ความหวานลดน้อยลงเหลือเพียง 5-10 องศาบริกซ์ ความหวานที่เหมาะสมสำหรับการหมัก คือ 20-22 องศาบริกซ์ จึงต้องเติมน้ำตาลลงไปเพื่อให้ความหวานเพิ่มขึ้นอยู่ในระหว่าง 20-25 องศาบริกซ์ แต่ไม่ควรเกิน 25 องศาบริกซ์ หากมากเกินกว่านี้จะทำให้เกิดการยับยั้งการเจริญของเชื้อยีสต์ได้ ในขณะเดียวกันหากใส่น้อยเกินไปจะทำให้ไวน์จืดชืด และยีสต์จะหยุดการทำงาน ทำให้มีปริมาณเอทานอลเกิดขึ้นน้อย

2.10.3.2 การปรับความเป็นกรดเป็นด่าง

น้ำผลไม้ที่เป็นกรดหรือด่างมากเกินไป จะเป็นอุปสรรคต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ และกรดมีความสำคัญต่อการหมัก ทำให้น้ำหมักมีค่าพีเอช (pH) ต่ำ จึงเป็นผลดีในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อน ทำให้ยีสต์เจริญได้ดี แต่ถ้าพีเอช (pH) ต่ำกว่า 3.0 จะทำให้การหมักลดลง (Amerine *et al*., 1980) สภาพความเป็นกรดด่างที่เหมาะสมที่สุดต่อการเจริญเติบโตของเชื้อยีสต์ คือ อยู่ระหว่าง 3.2-4.5 (ปราโมทย์, 2532) ซึ่งสามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของเชื้อแบคทีเรียได้ โดยปกติจะนิยมปรับค่าความเป็นกรดด่างให้ได้ 4.0 ด้วยกรดซิตริก

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.10.3.3 การเติมธาตุอาหารเสริม

ปกติยีสต์สามารถสังเคราะห์กรดอะมิโนที่จำเป็นขึ้นเองได้จากแอมโมเนียมไอออนหรือแหล่งไนโตรเจนอื่นๆ และมีน้ำตาลเป็นแหล่งคาร์บอน (Amerine *et al.*, 1980) แหล่งไนโตรเจนคือเกลือแอมโมเนียมซัลเฟต (ในปริมาณร้อยละ 0.05-0.10 หรือเท่ากับ 0.5-1.0 กรัมต่อน้ำผลไม้ 1 ลิตร) หรือยูเรีย (ปราโมทย์, 2532) การเติมธาตุอาหารเสริมจะช่วยให้ยีสต์สามารถเจริญเติบโตได้เร็วขึ้นกว่าปกติ และยังมีผลไม้บางชนิดที่มีเพียงสี หรือกลิ่น หรือความเปรี้ยวมาก แต่ไม่ค่อยมีเนื้ออาหาร เช่น กระเจี๊ยบ มะขาม ขิง หรือดอกกุหลาบ จึงมีการใส่ธาตุอาหารเสริมเช่น ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (Reed and Peppler, 1973)

2.10.4 การฆ่าเชื้อในน้ำผลไม้

เมื่อได้น้ำผลไม้ที่ปรับความหวาน ความเป็นกรดด่าง และเติมธาตุอาหารเสริมแล้ว ก่อนจะทำการบรรจุลงภาชนะหมัก จำเป็นต้องทำการฆ่าเชื้อ ทำได้ 2 วิธี คือ

2.10.4.1 การใช้ความร้อน หรือการต้มฆ่าเชื้อ เป็นวิธีที่ง่ายที่สุด ถ้าทำน้อยๆควรฆ่าเชื้อด้วยวิธีนี้ โดยต้มน้ำผลไม้ให้เดือดประมาณ 10-15 นาที แต่ผลไม้บางชนิดอาจจะไม่เหมาะสมกับการใช้ความร้อนสูง และอาจทำให้รสชาติของไวน์ไม่ดีเท่าที่ควร ควรระวังอย่าต้มให้เดือดหรือต้มนานเกินไป เพราะทำให้กลิ่นและรสของผลไม้นั้นเสียไป

2.10.4.2 การฆ่าเชื้อโดยการเติมสารเคมี ในกรณีที่ต้องทำไวน์เป็นจำนวนมากหรือผลไม้บางชนิดไม่นิยมฆ่าเชื้อโดยการใช้ความร้อน แต่จะนิยมใช่สารเคมี สารเคมีที่นิยมใช้กัน คือ โปแตสเซียมเมตาไบซัลไฟต์ (Potassium Metabisulfite) หรือเรียกย่อๆ ว่า เค.เอ็ม.เอส (KMS) ประมาณ 1.5-2.0 กรัมต่อน้ำผลไม้ 10 ลิตร แต่มีข้อควรระวัง คือหลังจากเติมสารนี้แล้ว จะต้องทิ้งน้ำผลไม้ไว้อย่างน้อย 3-10 ชั่วโมง

2.10.5 การหมักไวน์และการใส่หัวเชื้อ

นำน้ำผลไม้ที่ได้ผ่านการเติมน้ำตาล และฆ่าเชื้อแล้วบรรจุลงขวดหมัก เติมหัวเชื้อที่เตรียมได้จากข้อ 2.10.1 ลงไปในปริมาตรร้อยละ 10 ของน้ำผลไม้ที่ใช้ในการหมัก เขย่าให้เข้ากัน ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้อง หมักเป็นเวลา 2-4 สัปดาห์ เมื่อการหมักสิ้นสุดลง ทำการเติมโปแตสเซียม-เมตาไบซัลไฟต์เพื่อยับยั้งการเจริญของหัวเชื้อ แล้วถ่ายตะกอนหรือกากทิ้ง เพื่อทำให้ไวน์ใสแล้วจึงบรรจุลงขวด

การดูแลในระหว่างการหมัก จะต้องปิดภาชนะที่ใช้หมักให้ดี อย่าเปิดจุก เพื่อไม่ให้ไวน์สัมผัสอากาศมากเกินไป ซึ่งอาจทำให้มีเชื้ออื่นๆ เข้าไป ทำให้ไวน์เปรี้ยวหรือกลายเป็นน้ำส้มสายชูได้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ระยะเวลาการหมักขึ้นอยู่กับปริมาณของไวน์ ถ้าหมักในขวดใบเดียวหรือ 2-3 ลิตร อาจใช้เวลา 1-2 สัปดาห์ แต่ถ้ามีปริมาณ 20-30 ลิตร ต้องใช้ระยะเวลาถึง 40-50 วัน โดยปริมาณไวน์มากขึ้น ระยะเวลาการหมักก็จะนานขึ้น ทั้งนี้สังเกตได้จากความใสของน้ำผลไม้ หรือดูจากการหยุดปฏิกิริยาของเชื้อยีสต์ในกระบวนการหมัก หรือทดสอบรสชาติเมื่อครบระยะเวลาที่กำหนดจนได้รสชาติที่ต้องการ

2.11 การแบ่งชนิดของไวน์ (สามารถ, 2539)

ไวน์สามารถจะแบ่งออกอย่างกว้างๆเป็น 2 พวก คือ

2.11.1 ไวน์ธรรมดา (Natural Wine) เป็นไวน์ที่มีเอทานอลประมาณ 9-14 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร ไวน์ชนิดนี้ได้จากการหมักองุ่นจนสมบูรณ์ ซึ่งหมายถึงน้ำตาลที่มีอยู่ในผลองุ่นถูกเปลี่ยนไปเป็นเอทานอล ถ้าหากไม่มีการเติมน้ำตาลจากภายนอกลงไป ไวน์ชนิดนี้สามารถเก็บไว้ได้นาน โดยไม่เสื่อมเสีย เนื่องจากไม่มีน้ำตาลและแร่ธาตุอาหารสำหรับจุลินทรีย์

ไวน์ธรรมดาสามารถ แบ่งออกได้เป็น 2 ชนิด คือ

2.11.1.1 ไวน์ที่มีรสซ่า (Sparkling Wine) เนื่องจากไวน์นี้มีการเติมแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์เจือปนหรือเรียกว่า สปาร์กลิ้งไวน์ เป็นไวน์ที่มีฟอง มีดีกรีปานกลางคือ มีปริมาณเอทานอลในระบบยุโรประหว่าง 15-18 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร หรือระบบอเมริกัน 30-36 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร สปาร์กลิ้งไวน์ส่วนใหญ่จะมีตั้งแต่ไม่หวานเลย หวานนิดหน่อย และหวานมาก เป็นไวน์ที่ไม่เหมาะสำหรับดื่มพร้อมกับอาหาร แต่นิยมดื่มเฉพาะงานฉลองบางโอกาส ไวน์ประเภทนี้ปกติคนทั่วไปจะไม่เรียกว่าไวน์ แต่มีชื่อเรียกว่า แชมเปญ เหล้าชาร์มัง เหล้าคาร์บอเนต เบอร์กันดี และเหล้าสปาร์กลิ้ง เป็นต้น

2.11.1.2 ไวน์ที่ไม่มีแก๊สคาร์บอนไดออกไซด์ (Still Wine or Table Wine) จัดเป็นไวน์ยอดนิยม ซึ่งไวน์ในท้องตลาดส่วนใหญ่ก็เป็นไวน์ชนิดนี้ เหมาะสำหรับดื่มพร้อมกับอาหาร สามารถแบ่งออกได้ตามความหวานของไวน์ ไวน์ประเภทนี้ นักดื่มมักนิยมเรียกสั้นๆว่าเหล้าไวน์ มีปริมาณเอทานอลระหว่าง 7-15 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร สำหรับสีของไวน์เหล่านี้ จะมีอยู่ 3 สี คือ สีขาว (White Wine) สีแดง (Red Wine) และสีชมพู (Ping or Rose Wine)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.11.2 ไวน์อย่างแรง (Dessert or Appetizer Wine) ไวน์ชนิดนี้มีเอทานอลสูงกว่าปกติ คือ สูงถึง 15-20 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร สาเหตุของการเพิ่มปริมาณเอทานอล เนื่องจากมีการเติมเอทานอลกลั่นลงไป เพื่อเป็นการระงับการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ซึ่งอาจปะปนมาได้ ทั้งนี้เพราะไวน์ชนิดนี้เป็นไวน์ไม่หวาน จึงมีการเพิ่มน้ำตาลลงไป หรืออาจจะหมักไม่ให้น้ำตาลหมดภายในทีเดียว ถ้าหากปริมาณเอทานอลไม่สูงจะทำให้ไวน์เสียได้ง่าย ไวน์ชนิดนี้แบ่งออกตามกลิ่น รส เช่น ไวน์หวาน (Sweet Wine) ไวน์เชอร์รี่ (Sherry Wine) และไวน์ที่ผสมเครื่องเทศ (Flavor Wine)

ในบางครั้งอาจจะมีการแบ่งไวน์โดยอาศัยลักษณะต่างๆ เช่น สี ปริมาณน้ำตาล โอกาสที่จะใช้ดื่ม และลักษณะของวัตถุดิบ (วนิดา, 2540)

1) **การแบ่งไวน์ตามลักษณะสี** แบ่งออกได้เป็น 3 ชนิด คือ

1.1) **ไวน์แดง** ไวน์ชนิดนี้ทำจากการหมักขององุ่นแดงหรือผลไม้ที่มีสีแดง เป็นไวน์ที่มีรสไม่หวาน และมีเอทานอลประมาณ 9-14 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร

1.2) **ไวน์ขาว** ไวน์ที่มาจากน้ำองุ่นสีขาวหรือสีเหลืองอ่อนๆ เป็นไวน์ที่มีรสชาติและปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับไวน์แดง

1.3) **ไวน์สีชมพูหรือโรเซ่ไวน์** เป็นไวน์ที่ได้จากกระบวนการผลิต เช่นเดียวกับไวน์แดง แต่สีอ่อนกว่า จะแตกต่างกันตรงที่สีเท่านั้น เพราะมาจากการนำไวน์ขาวกับไวน์แดงมาผสมกัน ส่วนรสชาติที่ได้อาจจะแตกต่างกันกับไวน์ขาวและไวน์แดงไปบ้าง สำหรับปริมาณเอทานอลจะใกล้เคียงกัน

2) **การแบ่งไวน์ตามปริมาณความหวาน**

2.1) **ไวน์ไม่หวาน** เป็นไวน์ที่ไม่มีความหวานเลย ปริมาณน้ำตาลในไวน์ชนิดนี้มีน้อยกว่า 1 เปอร์เซ็นต์ บุคคลที่ชอบไวน์ชนิดนี้มักจะเป็นผู้ที่ผ่านการดื่มไวน์มาพอสมควร พวกที่หัดดื่มไวน์ใหม่ๆหรือสุภาพสตรีมักจะนิยมดื่มไวน์หวานมากกว่า

2.2) **ไวน์หวาน** ไวน์ชนิดนี้มีน้ำตาลประมาณ 14 กรัมเปอร์เซ็นต์ รสหวานซึ่งได้จากการเติมน้ำตาลหรือน้ำเชื่อมลงในไวน์ที่ทำเสร็จแล้ว

3) **การแบ่งไวน์ตามโอกาสที่ดื่ม** แบ่งได้ดังนี้

3.1) **ไวน์สำหรับกระตุ้นน้ำย่อย (Aperitif Wine or Fortified Wine)** เป็นไวน์หวาน แต่มีปริมาณเอทานอลสูง คือ มีปริมาณเอทานอลอยู่ระหว่าง 18-22 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร ปริมาณเอทานอลสูงได้มาจากการเติมเอทานอลลงไปในรูปของ วิสกี้

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรั่นดี วอดก้า นิยมใช้ดื่มก่อนรับประทานอาหารเพื่อเรียกน้ำย่อย ตัวอย่างของไวน์ชนิดนี้ได้แก่ ไวน์เชอร์รี่ (Sherry Wine)

3.2) **ไวน์ธรรมดา (Table Wine)** ไวน์ชนิดนี้ส่วนมากไม่หวาน มีปริมาณเอทานอลประมาณ 9-14 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร นิยมดื่มขณะรับประทานอาหาร ซึ่งในโอกาสเช่นนี้ ไวน์ไม่หวานจะเหมาะสมที่สุดเพราะถ้าเป็นไวน์หวาน รสหวานจะไปกลบรสอื่นๆของอาหารหมด ไวน์ประเภทนี้ ได้แก่ ไวน์แดง ไวน์ขาว และไวน์สีชมพู ไวน์ขาวประเภทไม่หวานนี้เหมาะสำหรับดื่มพร้อมกับอาหาร ได้แก่ เนื้อสัตว์ประเภทต่างๆที่ออกทางสีขาว เช่น เนื้อไก่ เนื้อปลา เนื้อปู เป็นต้น สำหรับไวน์แดง ซึ่งทุกชนิดจะไม่ออกรสหวานเลย อาหารที่คู่กับไวน์แดง ได้แก่ เนื้อสัตว์ที่ออกสีแดง เช่น เนื้อเก้ง เนื้อกวาง เนื้อแกะ เนื้อวัว เป็นต้น

3.3) **ไวน์ดื่มหลังอาหาร** ได้แก่ พอท (Port), ครีมเชอร์รี่ (Cream sherry), โทเก (Tokay) และมาลากา (Malaga)

3.4) **เหล้ากลั่น** เช่น บรั่นดี ซึ่งเป็นเหล้าที่กลั่นมาจากไวน์หรือเหล้าเคียร์ (Kirsch) กลั่นมาจากลูกเชอร์รี่ สำหรับการกลั่นเหล้าเองเป็นการทำผิดกฎหมายและควรระวัง เพราะอาจจะได้เหล้าที่มีเมทิลแอลกอฮอล์ปะปนมา เมื่อดื่มมากๆอาจทำให้ตาบอดหรือตายได้

4) การแบ่งไวน์ตามชนิดของวัตถุดิบ

การแบ่งเช่นนี้ทำให้ได้ไวน์หลายชนิด ซึ่งเรียกตามวัตถุดิบที่ใช้ เช่น ไวน์ผลไม้ ได้แก่ ไวน์องุ่น ไวน์สับปะรด ไวน์มะยม ไวน์กระเจี๊ยบ และไวน์ดอกไม้ ได้แก่ ไวน์กุหลาบ

2.12 ประโยชน์ของไวน์

2.12.1 ทำให้อยากรับประทานอาหาร ดื่มก่อนอาหารเป็นการเรียกน้ำย่อย

2.12.2 ใช้ดื่มควบคู่กับอาหารเช่น ดื่มไวน์แดงดื่มคู่กับอาหารจำพวกเนื้อวัว หรือเนื้อหมู ไวน์ขาวดื่มคู่กับกับอาหารจำพวกเนื้อปลา หรือเติมลงไปในอาหารช่วยเสริมกลิ่นรสอาหาร หรือหมักกับวัตถุดิบ

2.12.3 ประโยชน์ทางการแพทย์ต้องอยู่ในความดูแลของแพทย์ ปกติแพทย์จะให้คนไข้ดื่มไวน์วันละประมาณ 2-3 แก้วมาตรฐาน เพื่อรักษาหรือบรรเทาอาการของโรคบางอย่าง เช่น ช่วยขับถ่าย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปัสสาวะ ช่วยระงับความตื่นเต้น ช่วยรักษาโรคความดันโลหิตต่ำ ช่วยทำให้หลอดเลือดหัวใจไม่ตีบตัน เป็นต้น

2.13 มาตรฐานไวน์สมุนไพร

ไวน์สมุนไพร หมายถึง สุราชนิดหนึ่ง ซึ่งทำจากการนำวัตถุดิบจำพวกสมุนไพรมาผ่านกรรมวิธีการผลิตไวน์สมุนไพร มีปริมาณเอทานอลไม่เกิน 15 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร หากมีการผสมสุรากลั่นต้องมีปริมารเอทานอลไม่เกิน 15 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร แบ่งได้ดังนี้

2.13.1 คุณลักษณะทางเคมี

2.13.1.1 ปริมาณเอทานอลต้องไม่เกิน 15 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ที่ฉลากได้ไม่เกิน (±) 1 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร

2.13.1.2 เมทิลแอลกอฮอล์ต้องไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.3 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ทั้งหมดต้องไม่เกิน 300 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.4 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก (คำนวณเป็นกรดซอร์บิก) ต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.5 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก (คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก) ต้องไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.6 ทองแดงต้องไม่เกิน 5 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.7 เหล็กต้องไม่เกิน 15 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.8 ตะกั่วต้องไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.9 สารหนูต้องไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.13.1.10 เฟอร์โรไซยาไนด์ต้องไม่พบ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.14 มาตรฐานเหล้ากลั่น

2.14.1 คุณลักษณะทางเคมี

2.14.1.1 ปริมาณเอทานอลต้องเกิน 15 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร แต่ไม่เกิน 40 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร และมีเกณฑ์ความคลาดเคลื่อนจากที่ระบุไว้ที่ฉลากได้ไม่เกิน ± 1 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร

2.14.1.2 ฟูเซลออยล์ต้องไม่เกิน 5500 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.14.1.3 เฟอร์ฟิวรัลต้องไม่เกิน 50 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.14.1.4 เอสเทอร์ (คิดเป็นเอทิลแอซีเตต) ต้องไม่เกิน 1200 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.14.1.5 แอลดีไฮด์ (คิดเป็นอะซีทัลดีไฮด์) ต้องไม่เกิน 160 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.14.1.6 เมทิลแอลกอฮอล์ต้องไม่เกิน 420 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.14..1.7 เอทิลคาร์บาเมตต้องไม่เกิน 400 ไมโครกรัมต่อลิตร

2.14.1.8 กรดซอร์บิกหรือเกลือของกรดซอร์บิก (คำนวณเป็นกรดซอร์บิก) ต้องไม่เกิน 200 มิลลิกรัมต่อลิตร

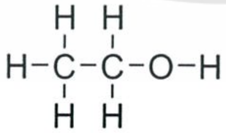
2.14.1.9 กรดเบนโซอิกหรือเกลือของกรดเบนโซอิก (คำนวณเป็นกรดเบนโซอิก) ต้องไม่เกิน 250 มิลลิกรัมต่อลิตร

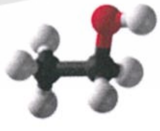
2.14.1.10 สารหนูต้องไม่เกิน 0.1 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.14.1.11 ตะกั่วต้องไม่เกิน 0.2 มิลลิกรัมต่อลิตร

3.14.1.12 ซัลเฟอร์ไดออกไซด์ต้องไม่เกิน 350 มิลลิกรัมต่อลิตร

2.15 เอทานอล





รูปที่ 2.6 โครงสร้างเคมีของเอทานอล

ที่มา : www.tpa.or.th (สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอทานอลเป็นสารใสไม่มีสี ติดไฟได้ เป็นสารเคมีอินทรีย์ที่หมักได้จากพืช กลุ่มแป้ง หรือน้ำตาล เอทานอลมีผสมอยู่ในสุราหรือเครื่องดื่มที่ผสมแอลกอฮอล์ทุกชนิดที่ใช้บริโภค เอทานอลจึงมีลักษณะโครงสร้างทางเคมีคล้ายกับสารเคมีอนินทรีย์อีกชนิดหนึ่ง คือ เมทานอลหรือเมทิลแอลกอฮอล์ แต่เมทานอลสกัดได้จากกระบวนการกลั่นวัสดุปิโตรเคมี ส่วนใหญ่จะใช้ในอุตสาหกรรมที่ผลิตผลิตภัณฑ์ที่ไม่สามารถบริโภคหรือใช้โดยตรงกับมนุษย์และสัตว์ได้ เอทานอลในทางเคมีเป็นกลุ่มสารประกอบอินทรีย์ มีสูตรทางเคมี คือ C_6H_5OH ซึ่งมีสูตรโครงสร้างตามรูปที่ 2.6 ซึ่งประกอบด้วยคาร์บอน ไฮโดรเจน และออกซิเจน เป็นไฮดรอกซิลดิริเวทีฟของไฮโดรคาร์บอน เกิดจากการแทนที่ไฮโดรเจนอะตอมด้วย Hydroxyl Group (OH)

เอทานอลบริสุทธ์ (Anhydrous) มีจุดเดือดที่ 78.5 องศาเซลเซียส คุณสมบัติของเอทานอลจะใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในแก๊สโซลีนได้ ทำให้มีการใช้เอทานอลผสมแก๊สโซลีนอย่างแพร่หลายแทนสารที่ผสมที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันคือสาร MTBE (Methyl Tertiary Butyl Ether) ซึ่งมีการค้นพบว่าเป็นสารที่มีอันตรายต่อสิ่งแวดล้อมเมื่อมีการรั่วออกสู่แหล่งน้ำสาธารณะ และเคยมีกรณีปนเปื้อนในน้ำดื่มในสหรัฐอเมริกา และหากมีการห้ามใช้สาร MTBE ผสมในเชื้อเพลิงจะทำให้มีความต้องการใช้เอทานอลเพิ่มขึ้น

เอทานอลถูกนำไปใช้ประโยชน์ได้หลายอย่าง เช่น ใช้เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ ได้แก่ เหล้า ไวน์ และเบียร์ ใช้ในอุตสาหกรรมยา ใช้เป็นวัตถุดิบในการสังเคราะห์สารเคมีและชีวเคมี ใช้เป็นสารเพิ่มค่าออกเทนในน้ำมันเบนซินที่เรียกว่า แก๊สโซฮอล์ ใช้เป็นอาหาร เช่น น้ำส้มสายชู เจลาติน เป็นต้น ใช้ในด้านเครื่องมือแพทย์ เช่น ใช้เช็ดแผล ใช้ในอุตสาหกรรมเครื่องสำอางค์ ใช้เป็นตัวรีเอเจนต์ในห้องปฏิบัติการ และอื่นๆ เป็นต้น

2.16 การผลิตเอทานอล

แหล่งพลังงานที่ใช้กันอยู่ในปัจจุบันได้มาจากเชื้อเพลิงปิโตรเลียม คือ น้ำมันเบนซิน และน้ำมันดีเซล และยังมีแนวโน้มลดลงตามลำดับ ในทางกลับกันราคาน้ำมันในยุคนี้ยังเพิ่มขึ้นอย่างต่อเนื่อง ดังนั้นหลายประเทศจึงพยายามหาพลังงานอื่นๆมาทดแทนในรูปแบบต่างๆ เช่น พลังงานลม พลังงานน้ำ พลังงานแสงอาทิตย์ และพลังงานชีวมวล เป็นต้น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอทานอลเป็นแหล่งพลังงานใหม่ที่กำลังได้รับความสนใจในขณะนี้ พบว่าร้อยละ 90 ได้มาจากกระบวนการหมัก ที่เหลือได้จากการสังเคราะห์ขึ้นมา ในกระบวนการผลิตเอทานอล กระบวนการหมักถือว่าเป็นขั้นตอนที่สำคัญ เนื่องจากเป็นขั้นตอนที่จุลินทรีย์จะเป็นตัวไปเปลี่ยนวัตถุดิบให้กลายมาเป็นเอทานอล

$$C_6H_{12}O_6 \longrightarrow 2CH_3CH_2OH + 2CO_2$$

วัตถุดิบ (น้ำตาล) เอทานอล คาร์บอนไดออกไซด์

กระบวนการหมักเอทานอล สามารถทำได้ทั้งในระบบต่อเนื่อง (Continuous) และระบบแบบกะ (Batch) แต่กระบวนการหมักส่วนใหญ่ยังคงนิยมใช้แบบกะ เนื่องจากต้นทุนไม่สูงมาก และง่ายต่อการควบคุมดูแลรักษา อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักประมาณ 30–35 องศาเซลซียส การที่ใช้อุณหภูมิสูงเนื่องมาจากต้องการเฉพาะเอทานอล จึงไม่จำเป็นต้องคำนึงถึงสารที่ให้กลิ่นรส ซึ่งจะเกิดได้น้อย และระเหยได้ง่ายที่อุณหภูมิสูง ใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นลง อีกทั้งยังช่วยลดต้นทุนในการผลิตได้อีกด้วย (Hacking *et al*., 1984)

ในขั้นเตรียมวัตถุดิบก่อนกระบวนการหมัก ถ้าใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบก็จะนำมาทำการเจือจางด้วยน้ำเพื่อปรับความเข้มข้นของน้ำตาลให้มีความเหมาะสม จึงสามารถนำเข้าสู่กระบวนการหมักได้ แต่ถ้าใช้วัตถุดิบเป็นแป้งจะต้องย่อยให้กลายเป็นน้ำตาลก่อนโดยการใช้กรดหรือเอนไซม์โดยทั่วไปแล้วนิยมใช้เอนไซม์เนื่องจากสะดวก ปฏิกิริยาที่เกิดกับวัตถุดิบไม่รุนแรง และผลิตภัณฑ์เอทานอลที่ได้มีความบริสุทธิ์สูงกว่า

ขั้นตอนต่อไปเป็นการเตรียมหัวเชื้อยีสต์ และเริ่มทำการหมัก โดยสภาวะที่ใช้ในการหมักจะเกิดได้ภายใต้สภาวะที่ไม่มีออกซิเจนหรือมีออกซิเจนเล็กน้อย และใช้เวลาในการหมัก 1-3 วัน จนได้น้ำหมักที่มีเอทานอลผสมอยู่ ในทางปฏิบัติแล้วยีสต์สามารถใช้น้ำตาลเพื่อแลกเปลี่ยนเอทานอลได้ประมาณร้อยละ 95 ส่วนน้ำตาลที่เหลือยีสต์จะใช้สำหรับการเจริญของเซลล์หรือเปลี่ยนไปเป็นผลพลอยได้ชนิดอื่นๆ เช่น ฟูเซลออยล์ (Fusel Oil) กรดแลกติก กลีเซอรีน และอะซิทัลดีไฮด์ เป็นต้น

น้ำหมักที่ได้จะนำมาผ่านการกลั่นลำดับส่วน ออกมาเป็นเอทานอลบริสุทธิ์ร้อยละ 95.6 แต่โดยปกติจะเรียกเอทานอลร้อยละ 95 ซึ่งยังไม่สามารถใช้ผสมลงในน้ำมันเบนซินได้เพราะจะเกิดการแยกชั้นของน้ำกับน้ำมัน จึงต้องมีการใช้เทคโนโลยีในการแยกน้ำออกจากเอทานอลเรียกว่า เอทานอล

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไร้น้ำ (Anhydrous Ethanol หรือ Absolute Ethanol) ซึ่งมีความบริสุทธิ์ถึงร้อยละ 99.5 โดยปริมาตร อัตราส่วนร้อยละ 10 ใส่ลงในถังผสมแล้วเติมสารป้องกันการกัดกร่อน (Corrosion Inhibitor) ลงไป จากนั้นเติมน้ำมันเบนซิน 91 หรือน้ำมันเบนซิน 95 ลงไปอัตราส่วนร้อยละ 90 เดินเครื่องสูบหมุนเวียน เพื่อให้น้ำมันและส่วนผสมเข้ากันใช้เวลาประมาณ 30–60 นาที จะได้แก๊สโซฮอล์ (ทนงศักดิ์, 2548)

2.17 วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักเอทานอล สามารถแบ่งออกได้เป็น

2.17.1 น้ำตาล จากวัตถุดิบพวกอ้อย หัวบีท กากน้ำตาล และของเสียจากโรงงานอาหารบางประเภท

2.17.2 แป้ง จากวัตถุดิบพวกข้าวโพด มันสำปะหลัง และอื่นๆ

2.17.3 เซลลูโลส จากวัตถุดิบพวกเศษไม้ และของเหลือทิ้งจากการเกษตร เช่น ชานอ้อย ฟางข้าว ซังข้าวโพด เป็นต้น

2.17.4 ของเสียจากโรงงานอุตสาหกรรม เช่น น้ำหางนม น้ำแช่เยื่อกระดาษ น้ำแช่ข้าวโพด และน้ำทิ้งจากโรงงานผลไม้ เป็นต้น

ในบรรดาวัตถุดิบทั้งหลาย น้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่เหมาะสมที่สุด โดยเฉพาะกากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบที่ใช้ผลิตเอทานอลในระดับอุตสาหกรรม ส่วนวัตถุดิบประเภทแป้ง เนื่องจากโครงสร้างทางเคมีของแป้งประกอบด้วยอะไมโลส และอะไมโลเพคติน โดยมีส่วนประกอบหลักเป็นกลูโคส ดังนั้นจึงต้องใช้เอนไซม์แอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลสในการย่อยแป้งให้ได้เป็นน้ำตาล แล้วจึงนำไปใช้หมักเอทานอล นอกจากนี้ยังใช้กรดในการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้เช่นกัน แต่เป็นขั้นตอนที่ไม่เหมาะสมเพราะอาจเกิดการกัดกร่อนภาชนะจากกรด เป็นต้น

วัตถุดิบประเภทเซลลูโลสจะต้องผ่านขั้นตอนการแปรสภาพ โดยอาจใช้การย่อยด้วยเอนไซม์ เช่น เซลลูเลส หรือด้วยกรด อย่างไรก็ตามขั้นตอนทั้งสองก็มีข้อดีและข้อเสียแตกต่างกัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

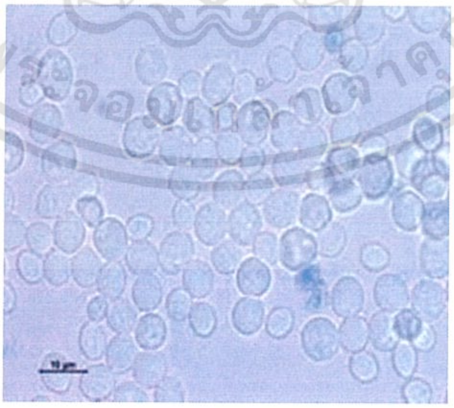
2.18 เชื้อยีสต์ในการผลิตเอทานอล

2.18.1 การเพาะเลี้ยงยีสต์

เซลล์จุลินทรีย์สามารถเพิ่มจำนวนจากการเพาะเลี้ยงในสารอาหารที่ธรรมดา โดยภายในเซลล์จุลินทรีย์มีวิถีสำหรับเมแทบอลิซึมสารอาหารเป็นจำนวนมาก รวมทั้งมีเอนไซม์ที่เร่งปฏิกิริยาในวิถีเหล่านี้ทำให้เกิดเซลล์เกิดเมแทบอลิซึมอย่างสมดุล โดยไม่มีผลผลิตใดของวิถีที่มากหรือน้อยเกินไปจากที่เซลล์ต้องการ ความเข้าใจเกี่ยวกับความต้องการสารอาหารและการควบคุมการขนส่งสารอาหารมีความสำคัญสำหรับการเพาะเลี้ยงยีสต์ ไม่เพียงเฉพาะในห้องปฏิบัติการแต่ยังช่วยในการหาสภาวะที่เหมาะสม (Optimization) ของกระบวนการหมักในอุตสาหกรรมด้วย

2.18.2 *Saccharomyces cerevisiae*

เซลล์มีรูปร่างกลม (Spheroidal) รูปไข่ (Ellipsoidal) ทรงกระบอก (Cylindrical) หรือทรงยาว (Elongate) (รูปที่ 2.7) สามารถสร้างเส้นใยเทียม (ชูรัฐ, 2550) มีการสืบพันธุ์ด้วยการแตกหน่อแบบ Multilateral Budding และสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้าง แอสโคสปอร์ (Ascospore) (นงลักษณ์, 2548) มีการสร้าง Pseudomycelium เป็นเส้นใยซึ่งมีลักษณะคล้ายเส้นใยของเชื้อราและเซลล์แต่ละเซลล์ที่ประกอบขึ้นมาเป็นเส้นใยไม่ได้เกิดขึ้นมาจากการแตกหน่อ แต่ไม่มีการสร้าง True Mycelium อาจมีการเจริญที่ผิวอาหารเหลว แอสโคสปอร์ มีรูปร่างกลม (Spheroidal) หรือทรงแบนอย่างไข่ (Ellipsoidal) ตามปกติจะมี 4 สปอร์ต่อ 1 แอสคัส (Accus) สามารถหมักน้ำตาลได้อย่างดี ยกเว้นน้ำตาลแล็กโทส ไม่สามารถใช้พาราฟิน (Paraffin) และไนเตรต (Nitrate) ได้



รูปที่ 2.7 *Saccharomyces cerevisiae*

ที่มา : www.lartc.rmutl.ac.th (สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Saccharomyces cerevisiae ยีสต์ในวงศ์ (Family) นี้มีหลายชนิดที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรม (Priest and Campbell, 1996) ยีสต์สายพันธุ์นี้ถูกใช้เป็นยีสต์ขนมปัง (Baker Yeast) หรือใช้ในการผลิตเบียร์ ไวน์ เอนไซม์อินเวอร์เตส (Invertase) กลีเซอรอล และเอทานอล เป็นต้น ยีสต์สายพันธุ์นี้ยังแบ่งออกเป็น 2 ชนิด ตามลักษณะการหมักคือ Bottom Yeast ซึ่งจะยังคงอยู่ใต้ผิวหน้าของน้ำหมักในระหว่างการหมัก และเมื่อการหมักสิ้นสุดจะตกตะกอนอยู่ที่ก้นถังหมัก ส่วน Top Yeast นั้นจะเจริญเป็นฟองที่ลอยเป็นฝ้าอยู่ที่ผิว (Frothy Scum) ของน้ำหมักในระหว่างการหมัก แต่เมื่อการหมักลดลงก็จะตกลงก้นถังเช่นเดียวกัน

ในกระบวนการหมักยีสต์ ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จะเปลี่ยนกลูโคสให้เป็นเอทานอล และคาร์บอนไดออกไซด์ โดยผ่านกระบวนการตามวิถีไกลโคไลซิสจนได้ไพรูเวท จากนั้นไพรูเวทจะถูกเปลี่ยนให้เป็นอะซิทัลดีไฮด์ (Acetaldehyde) โดยเอนไซม์ไพรูเวทดีคาร์บอกซีเลต (Pyruvate Decarboxylase) และให้คาร์บอนไดออกไซด์ออกมา ปฏิกิริยานี้มี Mg^{2+} และไทอามีนไพโรฟอสเฟต (Thiamine Pyrophosphate) เป็นโคเอนไซม์ จากนั้นอะซิทัลดีไฮด์จะถูกรีดิวซ์โดย NADH ให้กลายเป็นเอทานอล ดังนั้นปฏิกิริยารวมของการผลิตเอทานอลจึงเป็นดังนี้

$$\text{Glucose} + 2\text{ADP} + 2\text{P}_i \longrightarrow 2\ \text{Ethanol} + 2\text{CO}_2 + 2\text{ATP} + 2\text{H}_2\text{O}$$

2.19 แหล่งของสารอาหารที่จำเป็นสำหรับการเจริญ

2.19.1 คาร์บอน

แหล่งคาร์บอนมีความจำเป็นต่อการเจริญของยีสต์มาเป็นอันดับหนึ่ง เพราะเซลล์ยีสต์จะมีคาร์บอน 50 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วนใหญ่จะใช้น้ำตาลกลูโคสในการเมแทบอลิซึม ยีสต์เมื่อมีการเจริญทำให้ได้ปริมาณความเข้มข้นของกลูโคสสูง ยีสต์จะมีการหายใจน้อยลง กลูโคสจะถูกหมักเป็นเอทานอล ในระยะ Exponential Phase ช่วงการเจริญที่สอง ยีสต์จะใช้เอทานอลสำหรับการเจริญโดยเมแทบอลิซึมแบบใช้ออกซิเจน และได้คาร์บอนไดออกไซด์เป็นผลผลิตสุดท้าย

2.19.2 ไฮโดรเจน

ไฮโดรเจนไอออน มีความสำคัญเกี่ยวข้องกับพีเอชทั้งภายนอกและภายในเซลล์ ยีสต์ปกติเจริญได้ดีเมื่ออาหารเลี้ยงเชื้อมีพีเอชอยู่ในช่วง 4-6 และยีสต์ส่วนใหญ่เจริญได้ไม่ดีในพีเอชที่เป็นเบส ในการผลิตเอทานอลจะทำให้ค่าพีเอชของอาหารมีการเปลี่ยนแปลง

2.19.3 ออกซิเจน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ยีสต์บางชนิดสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีออกซิเจนเรียกว่า Obligate Aerobic Yeast และบางชนิดสามารถเจริญได้ในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจนเรียกว่า Facultative Anaerobic Yeast ไม่มียีสต์ชนิดใดที่สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน (Obligate Anaerobic) โดยที่ยีสต์ในกลุ่ม Facultative Anaerobic Yeast จะมีลักษณะสำคัญ 3 อย่าง คือ สามารถเจริญได้ในสภาวะที่ไม่มีออกซิเจน ชอบเจริญในที่มีออกซิเจนมากกว่าเพราะได้รับพลังงานในรูป ATP มากกว่า และในสภาวะที่มีออกซิเจนจะมีอัตราการใช้กลูโคส (Glucose Consumption) ต่ำกว่าในที่ที่ไม่มีออกซิเจน

2.19.4 ไนโตรเจน

ยีสต์มีไนโตรเจนภายในเซลล์ประมาณ 10 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง สารหลายชนิดสามารถใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนได้ โดยแหล่งไนโตรเจนที่มีโมเลกุลขนาดเล็กและใช้ได้ง่ายก็คือแอมโมเนียมซัลเฟต มักถูกใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนในอาหารเลี้ยงยีสต์ เพราะนอกจากให้ไนโตรเจนแล้วยังให้ซัลเฟอร์ด้วย พวก *Saccharomyces* ไม่ใช้ไนเตรต ถ้ามีแหล่งไนโตรเจนมากกว่าหนึ่งชนิดไนโตรเจนเหล่านั้นจะถูกใช้ในอัตราที่ต่างกัน ยีสต์จะเลือกใช้แหล่งไนโตรเจนที่ดีที่สุดก่อน ซึ่งเข้าใจได้ว่าเกิดขึ้นโดยวิธีการกดดันและการแบ่งส่วนเมแทบอไลต์ (Metabolite Compartmentation)

2.19.5 ซัลเฟอร์

ยีสต์มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในเซลล์ 0.3 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง โดย 60 เปอร์เซ็นต์ของซัลเฟอร์ในเซลล์อยู่ที่กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในโปรตีน อีก 5 เปอร์เซ็นต์เป็นอนินทรีย์ซัลเฟตอิสระ ส่วนที่เหลืออยู่ในรูปของซัลเฟตที่เกาะกัน หรือกรดอะมิโนอิสระ นอกจากนั้นยังพบอยู่ในวิตามินบางชนิด เช่น ไบโอติน และสารที่มีซัลเฟอร์อื่นๆ ยีสต์ต้องการซัลเฟอร์เพื่อใช้ในการสังเคราะห์กรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เป็นองค์ประกอบในอันดับแรก

ยีสต์บางชนิด เช่น *S. cerevisiae* ใช้ธาตุซัลเฟอร์เป็นแหล่งซัลเฟอร์ได้ โดยธาตุซัลเฟอร์ถูกรีดิวซ์นอกเยื่อหุ้มเซลล์กลายเป็นไทออลไอออน (Thiol Ion) แล้วจึงผ่านเข้าไปในเซลล์ เมไทโอนีนเป็นกรดอะมิโนที่มีซัลเฟอร์เพียงชนิดเดียวที่ใช้เป็นแหล่งซัลเฟอร์ได้ โดยเมไทโอนีนมีผลให้ยีสต์มีการเจริญดีกว่าซัลเฟต (สาวิตรี, 2549)

2.19.6 ฟอสฟอรัส

เป็นองค์ประกอบของน้ำตาลฟอสเฟต (Sugar Phosphate) กรดนิวคลีอิก และนิวคลีโอไซด์ได้ฟอสเฟตหรือนิวคลีโอไทด์ไตรฟอสเฟต และยังพบในอนินทรีย์ฟอสเฟตในรูปของพอลิเมอร์สายตรง พอลิเมอร์ฟอสเฟตมีความสำคัญในการควบคุมเมแทบอลิซึมของเซลล์ให้มีฟอสเฟตเหมาะสม และให้พลังงาน ฟอสฟอรัสทำให้มีประจุลบในไซโทพลาสซึมของยีสต์ จากการที่มีอนินทรีย์ฟอสเฟต และกลุ่ม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสเฟตในเซลล์ยีสต์มีอยู่ประมาณ 3-5 เปอร์เซ็นต์ของน้ำหนักเซลล์แห้ง ส่วนใหญ่มักจะอยู่ในรูปของออร์โทฟอสเฟต (Orthophosphate)

2.19.7 เกลือแร่

เกลือแร่ที่ยีสต์ต้องการจะประกอบด้วยโพแทสเซียม แมกนีเซียม และธาตุที่ต้องการในปริมาณที่ต่ำหลายชนิด โพแทสเซียมเป็นโคแฟกเตอร์สำหรับเอนไซม์หลายชนิดที่เกี่ยวกับออกซิเดทีฟฟอสโฟรีเลชัน (Oxidative Phosphorylation) การสังเคราะห์โปรตีน และเมแทบอลิซึมของคาร์โบไฮเดรต สำหรับแมกนีเซียมที่มีความเกี่ยวข้องกับโครงสร้างและเมแทบอลิซึม เช่น การทำงานของเอนไซม์สำหรับการเคลื่อนย้ายฟอสเฟต (Transphosphorylation) ต้องอาศัยแมกนีเซียมไอออน

2.19.8 Growth Factor

มีบทบาทในการเร่งหรือเป็นส่วนโครงสร้างสารที่เป็น growth factor สำหรับยีสต์คือ วิตามินพิวรีน ไพริมิดีน นิวคลีโอไทด์ นิวคลีโอไซด์ (Nucleoside) กรดอะมิโน กรดไขมัน และสารอื่นๆ เป็นต้น

2.20 ปัจจัยที่มีผลต่อการเจริญของยีสต์ (สาวิตรี, 2549)

2.20.1 อุณหภูมิ

อุณหภูมิที่เหมาะสมสำหรับการเจริญอยู่ระหว่าง 20-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดที่ *S. cerevisiae* ยังสามารถเจริญได้ ประมาณ 35-47 องศาเซลเซียส ส่วนอุณหภูมิต่ำสุดที่สามารถเจริญได้อยู่ระหว่าง 0-5 องศาเซลเซียส นอกจากอุณหภูมิที่มีผลต่อการเจริญแล้ว ยังมีผลต่อการสร้างแอสโคสปอร์ของยีสต์อีกด้วย อุณหภูมิที่เหมาะสมต่อการสร้างแอสโคสปอร์อยู่ที่ 25-30 องศาเซลเซียส อุณหภูมิสูงสุดประมาณ 35 องศาเซลเซียส และอุณหภูมิต่ำสุด 11-12 องศาเซลเซียส

2.20.2 พีเอช

S. cerevisiae เจริญได้ดีในช่วงพีเอชต่ำสุดที่ 1.5 ส่วนพีเอชสูงสุดคือ 8.0 นอกจากพีเอชจะมีผลต่อการเจริญของเชื้อยีสต์แล้ว ยังมีผลต่อการสร้างแอสโคสปอร์อีกด้วย

2.20.3 คาร์บอนไดออกไซด์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

S. cerevisiae ต้องการคาร์บอนไดออกไซด์ความเข้มข้นต่ำสำหรับกระบวนการบางอย่างในเซลล์ เช่น การสร้างสารประกอบ 4 คาร์บอน มีผู้รายงานว่าการใช้คาร์บอนไดออกไซด์เพียง 2.5 เปอร์เซ็นต์ของอากาศทั้งหมด สามารถเพิ่มความเข้มข้นของเซลล์ยีสต์เมื่อเปรียบเทียบกับการใช้อากาศ 100 เปอร์เซ็นต์ แต่ความเข้มข้นของคาร์บอนไดออกไซด์ที่เหมาะสมที่สุดสำหรับการเจริญของยีสต์คือ 5 เปอร์เซ็นต์ของอากาศทั้งหมด (สาวิตรี, 2549)

2.21 ระยะต่างๆของการเจริญเติบโตของเชื้อจุลินทรีย์ (Growth Curve)

เมื่อเราเลี้ยงเชื้อจำนวนหนึ่งในอาหารเลี้ยงเชื้อเหลวที่เหมาะสมกับชนิดของเชื้อนั้น เชื้อนั้นจะมีการเจริญเติบโตเป็นขั้นตอนดังรูปที่ 2.8

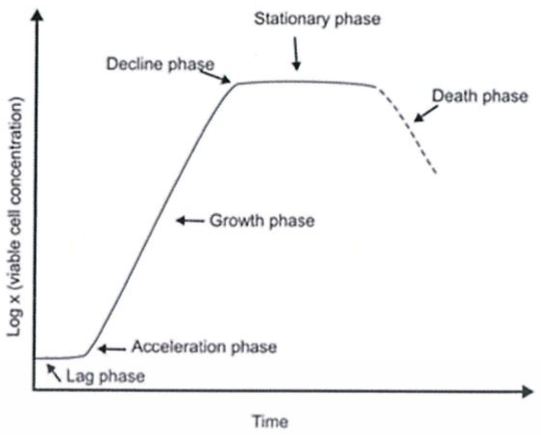
2.21.1 Lag Phase เป็นช่วงที่เชื้อเริ่มมีการปรับตัวให้เข้ากับสภาพแวดล้อม

2.21.2 Exponential Phase (Logarithmic Phase) เป็นช่วงที่เชื้อมีการแบ่งเซลล์ และเพิ่มจำนวนขึ้นอย่างรวดเร็ว มีการแบ่งตัวเพิ่มจากหนึ่งเป็นสอง

2.21.3 Stationary Phase เป็นช่วงที่มีจำนวนจุลินทรีย์สูงสุด และคงที่เนื่องจากเกิดสภาวะสมดุลระหว่างการเพิ่มจำนวนและการตาย เพราะเริ่มมีสารพิษต่างๆเกิดขึ้น และในขณะเดียวกันอาหารก็เริ่มลดน้อยลง จนกระทั่วถึงสภาวะขาดแคลนในที่สุด

2.21.4 Death Phase เป็นช่วงที่เซลล์ของเชื้อเริ่มตายเพราะขาดแคลนอาหาร และได้รับสารพิษต่างๆที่ปล่อยออกมาจากเซลล์ของเชื้อเอง ระยะเวลาของระยะนี้แตกต่างกันตามชนิดของจุลินทรีย์ ซึ่งมีตั้งแต่ 3-5 วัน

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 2.8 แสดงระยะต่างๆของการเจริญเติบโตเพิ่มของเชื้อยีสต์

ที่มา : www.cs.montana.edu (สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

2.22 ลักษณะทั่วไปของจุลินทรีย์ที่ใช้ในการผลิตเอทานอล

(ที่มา : http://www.agro.cmu.ac.th/e_books/602431/Elearning/pdf/4.pdf)
(สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

2.22.1 สามารถผลิตเอทานอลความเข้มข้นสูง มีอัตราการหมักได้เอทานอลสูง และทนต่อเอทานอลที่เกิดขึ้น เนื่องจากถ้าเชื้อจุลินทรีย์มีความไวต่อเอทานอลจะทำให้ได้ความเข้มข้นสุดท้ายมีปริมาณต่ำ

2.22.3 ทนทานต่อสภาวะกรดหรือพีเอชต่ำ และสามารถทนต่อแรงดันออสโมซิสที่เปลี่ยนแปลงไปได้

2.22.4 มีความสามารถในการตกตะกอน เพื่อแยกเซลล์ออกจากน้ำหมักได้ง่าย

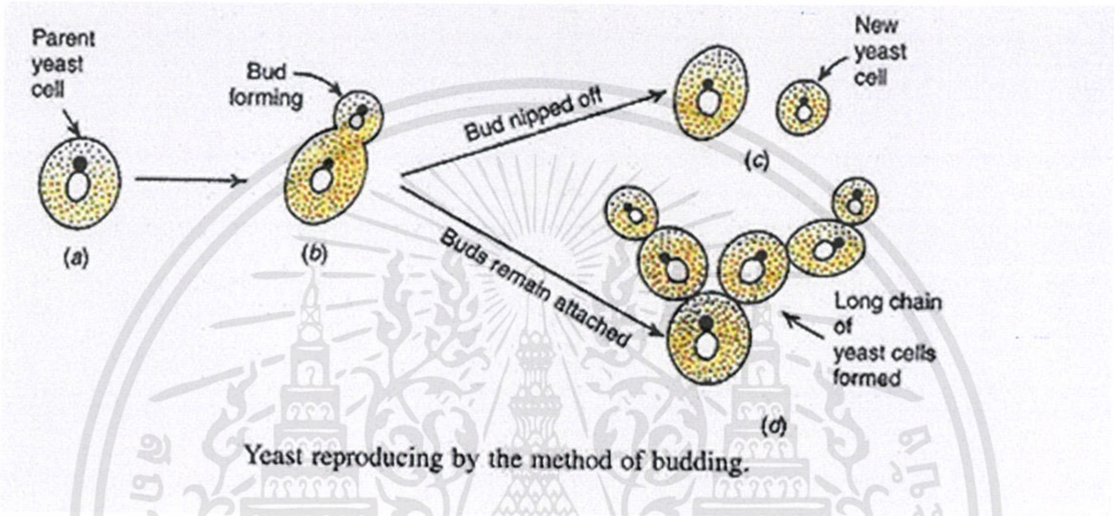
2.22.5 มีความคงตัวทางพันธุกรรม ไม่เปลี่ยนแปลงและกลายพันธุ์ได้ง่าย

ยีสต์เป็นจุลินทรีย์ที่มีความสำคัญทางอุตสาหกรรมการหมักในปัจจุบัน เช่น อุตสาหกรรมเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ (Alcoholic Beverages) ได้แก่ เบียร์ และสุราต่างๆ อุตสาหกรรมการทำขนมปัง (Baker's Yeast) อุตสาหกรรมอาหารคนและอาหารสัตว์ (Food and Feeds Yeast) และอุตสาหกรรมแอลกอฮอล์เชื้อเพลิง (Fuel Alcohol)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.23 วงจรชีวิตของยีสต์

ยีสต์จีนัส *Saccharomyces* มีรูปร่างเป็นเซลล์เดียว (Unicellular) มีขนาดเส้นผ่านศูนย์กลาง 6-8 ไมครอน เจริญได้ดีในสภาวะที่มีและไม่มีออกซิเจน การสืบพันธุ์แบบอาศัยเพศโดยการสร้างแอสโคสปอร์ (Ascospore) และการสืบพันธุ์แบบไม่อาศัยเพศโดยการแตกหน่อ (Budding)



รูปที่ 2.9 วงจรการแตกหน่อของยีสต์

ที่มา : www.learn.cbse.in (สืบค้นข้อมูล : 24/05/2559)

2.24 ตัวอย่างเชื้อยีสต์ที่ผลิตเอทานอล Genus *Saccharomyces*

ได้แก่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae, Saccharomyces uvarum, Saccharomyces bataiae, Saccharomyces carlsbergensis, Saccharomyces globosus* โดยเชื้อยีสต์เหล่านี้สามารถใช้แหล่งคาร์บอนได้แตกต่างกัน (ที่มา : http://www.vcharkarn.com/vcafe/125301) (สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 2.4 แสดงคาร์บอนที่ใช้ผลิตเอทานอลของยีสต์จีนัส *Saccharomyces*

แหล่งคาร์บอน	สายพันธุ์ของยีสต์
กลูโคส	ผลิตได้บางสายพันธุ์
กาแลคโตส	ผลิตได้บางสายพันธุ์
ซูโครส	ผลิตได้บางสายพันธุ์
มอลโตส	ผลิตได้บางสายพันธุ์
แลคโตส	ไม่มีสายพันธุ์ที่ผลิตได้

2.25 ปัจจัยที่สำคัญต่อการหมักเอทานอล (เทพนิมิต และนคโรจน์, 2542)

(ที่มา : http://ebookbrowse.com/ethanol-home-page-proposal-pdf-d24753569)
(สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

2.25.1 ความเข้มข้นของน้ำตาล

กรณีอาหารเลี้ยงเชื้อมีความเข้มข้นของน้ำตาลสูงเกินขีดจำกัด คือ ประมาณร้อยละ 22 โดยน้ำหนักต่อปริมาตร จะเกิดการรบกวนของสารตั้งต้นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ ทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปได้ยาก การหมักจะเป็นไปอย่างช้าและไม่สมบูรณ์ ทำให้เกิดกรดแลคติกหรือกรดน้ำส้ม และสารอินทรีย์ต่างๆขึ้นได้ ซึ่งส่วนมากจะเกิดในสภาวะที่มีออกซิเจน แต่บางทีสามารถเกิดในสภาวะที่มีคาร์บอนไดออกไซด์ได้ โดยปกติแล้วในกระบวนการหมักจะใช้ความเข้มข้นของน้ำตาลร้อยละ 18 โดยปริมาตร เพื่อให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปได้โดยปกติ และให้เอทานอลในปริมาณสูงเหมาะแก่การนำไปกลั่น คือ ปริมาณร้อยละ 10 โดยปริมาตรต่อปริมาตร

2.25.2 ความเข้มข้นของเอทานอล

ในขณะที่มีเอทานอลในปริมาณมากนั้นจะส่งผลให้การหมักเกิดช้าลง และเมื่อความเข้มข้นของเอทานอลสูงขึ้นเกินขีดจำกัด หรือมีความเข้มข้นของเอทานอลสูงกว่าร้อยละ 15 โดยปริมาตรต่อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ปริมาตร ซึ่งขีดจำกัดอาจจะสูงหรือต่ำกว่านี้ขึ้นกับชนิดของยีสต์ แต่เท่าที่พบจะสูงไม่เกินร้อยละ 18 โดยปริมาตรต่อปริมาตร ถ้าเกินกว่านี้สามารถขัดขวางและหยุดการทำงานของยีสต์ได้

2.25.3 คาร์บอนไดออกไซด์และความดัน

คาร์บอนไดออกไซด์ที่ได้จากปฏิกิริยาในการใช้น้ำตาลของยีสต์ จะมีผลต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ด้วย ถ้าไม่มีการระบายคาร์บอนไดออกไซด์ออกจากระบบหมัก จะมีผลต่อการเพิ่มความดันของคาร์บอนไดออกไซด์ ซึ่งถ้าความดันสูงถึง 7.5 บรรยากาศ จะทำให้อัตราเร็วของการหมักลดลง จนกระทั่งความดันสูงถึง 8.0 บรรยากาศ อัตราความเร็วของการหมักจะช้ามากหรือเกือบไม่เกิดเลย

2.25.4 ออกซิเจน

ออกซิเจนจะถูกใช้ในการเจริญเติบโตและการแตกหน่อในกระบวนการหายใจของยีสต์ เพื่อทำให้เกิดพลังงานในการดำเนินชีวิต ซึ่งการเจริญเติบโตและการแบ่งตัวของยีสต์ในที่ที่มีออกซิเจนจะไม่ให้ผลิตภัณฑ์เอทานอลออกมา แต่จะมีเพียงคาร์บอนไดออกไซด์ และน้ำเกิดขึ้นเท่านั้น

2.25.5 กรดน้ำส้ม หรือกรดอะซิติก

กรดน้ำส้ม หรือกรดอะซิติกจะมีผลต่อการยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ โดยความเข้มข้นของกรดที่มากกว่าร้อยละ 0.1 จะมีผลต่อการเจริญเติบโต ถ้ามีกรดโพรพิโอนิก และกรดบิวทีริกเกิดขึ้นด้วย ก็จะมีผลเช่นเดียวกับกรดน้ำส้ม

2.25.6 ความเข้มข้นของไฮโดรเจนอิออน

ยีสต์จะสามารถเจริญเติบโตได้ดีระหว่างพีเอช 3-5 จึงมีผลทำให้อัตราการเจริญของยีสต์ และอัตราการหมักเพิ่มมากขึ้น ความเป็นกรดจะกีดขวางการเจริญของแบคทีเรียและราบางชนิด ซึ่งมีความเป็นกรดในช่วงดังกล่าว จะสามารถป้องกันการเจริญของแบคทีเรียและราบางชนิดได้

2.25.7 สารเร่งการเจริญเติบโต

นอกจากน้ำตาลแล้ว ยีสต์ยังต้องการสารประกอบอื่นๆ เพื่อช่วยในการเจริญเติบโต สารเหล่านี้ ได้แก่ วิตามินบีรวม เช่น ไบโอติน ไรโบฟลาวิน เป็นต้น นอกจากนี้ ไทอามีนฟอสเฟต ยังเป็นโคแฟคเตอร์ที่ใช้ในการเปลี่ยนกรดไพรูวิกให้กลายเป็นเอทานอลอีกด้วย

2.25.8 โลหะ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ในพวกธัญพืชต่างๆ เช่น ข้าวจะมีพวกธาตุต่างๆ ได้แก่ แคลเซียม ทองแดง เหล็ก แมกนีเซียม ซึ่งเป็นธาตุที่จำเป็นต่อการเจริญเติบโตของยีสต์ และในกระบวนการหมักเอทานอลจากกลูโคส ถ้าปริมาณของโลหะมากเกินไป จะกลายเป็นสารยับยั้งการเจริญเติบโตของยีสต์ สารประกอบพวกซัลเฟอร์จะทำให้ยีสต์แก่เร็ว ส่วนพวกเหล็ก อะลูมิเนียม และสังกะสี ไม่ค่อยมีผลมากนักต่อปฏิกิริยาการหมัก แต่ถ้าเป็นสารพวกแคดเมียม ทองแดง และปรอท จะเป็นสารที่ทำให้การเจริญเติบโตของยีสต์เป็นไปได้อย่างช้า

2.25.9 อุณหภูมิ

อุณหภูมิมีผลโดยตรงต่อการทำงานของยีสต์ และมีผลทางอ้อมต่อปริมาณเอทานอล และสารประกอบอะโรมาติกต่างๆ อุณหภูมิส่วนใหญ่ที่ใช้ในการหมักจะอยู่ประมาณ 10-30 องศาเซลเซียส ถ้าอุณหภูมิเพิ่มขึ้นในช่วงเวลานี้จะทำให้อัตราการเจริญเติบโตของยีสต์เพิ่มขึ้นเป็น 2 เท่า ถ้าอุณหภูมิสูงมากๆจะทำให้เอนไซม์ในยีสต์เกิดสภาพว่องไวต่อปฏิกิริยาลดลง ในช่วงอุณหภูมิระหว่าง 55-56 องศาเซลเซียส จะทำให้ยีสต์ตายได้ ทั้งนี้ขึ้นกับชนิดของยีสต์ที่นำมาใช้ในการหมัก

2.26 การเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์

2.26.1 สาเหตุของการเสื่อมเสียของผลิตภัณฑ์แอลกอฮอล์

2.26.1.1 จุลินทรีย์ Facultative Anaerobe เช่น Wild Yeast ซึ่งสามารถเจริญได้ในไวน์และสร้างกรดระเหย ทำให้เกิดกลิ่นและรสชาติที่ไม่ต้องการ และทำให้ไวน์ขุ่น ยีสต์ส่วนใหญ่ปนเปื้อนมาจากผลไม้ในขั้นตอนการเตรียมน้ำหมัก แต่สามารถป้องกันได้โดยการใช้ซัลเฟอร์ไดออกไซด์หรือทำการพาสเจอร์ไรซ์ก่อนทำการหมัก

2.26.1.2 แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก (Lactic Acid Bacteria) เป็นสาเหตุให้เกิดการเสื่อมเสียได้หลายแบบ เช่น ทำให้ไวน์เกิดรสขม เกิดเมือกเหนียว ปริมาณน้ำตาลในไวน์ลดลง และพีเอชลดลง เป็นต้น

Humphreys and Stewart (1978) รายงานว่าจุลินทรีย์ที่เป็นสาเหตุสำคัญในการทำให้ไวน์เสีย คือ *Lactobacillus* sp., *Leuconostoc* sp. และ *Acetobacter* sp. โดย *Lactobacillus* sp. ทำให้เกิดการเสื่อมเสียได้มากที่สุด เนื่องจากพีเอช และปริมาณออกซิเจนในไวน์อยู่ในช่วงที่เหมาะสม

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ต่อการเจริญของเชื้อตลอดจน *Lactobacillus* sp. มีความสามารถในการทนต่อเอทานอลได้สูงกว่า ส่วน *Pediococcus* sp. เป็นจุลินทรีย์อีกกลุ่มหนึ่งที่ทำให้ไวน์เสียเช่นกัน แต่ไม่สำคัญเท่ากลุ่มแรก

นอกจากนี้ ยีสต์และราก็เป็นสาเหตุในการทำให้ไวน์เกิดการเสียได้ เช่น *Candida mycoderma* โดยจุลินทรีย์ชนิดนี้จะเจริญอยู่บนผิวหน้าของไวน์ มีลักษณะเป็นแผ่นฟิล์มบางๆ (Jay, 1970)

ราจำพวก *Mucor Penicillium* และ *Aspergillus* ซึ่งเป็นสาเหตุของการเสื่อมเสียในไวน์ มักปนเปื้อนมาจากอุปกรณ์หรือวัตถุดิบในการผลิตไวน์ ดังนั้นการป้องกันจึงควรทำความสะอาดอุปกรณ์ตลอดจนวัตถุดิบก่อนทำการผลิตไวน์ (Frazier and Westhoff, 1988)

2.26.2 ปัจจัยที่มีผลต่อการเสื่อมเสียโดยจุลินทรีย์ (Frazier and Westhoff, 1988)

2.26.2.1 ความเป็นกรดหรือพีเอช รา ยีสต์ และแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติก ไม่สามารถเจริญได้ที่พีเอชปกติของไวน์ แต่แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกสามารถทนได้ถึงพีเอช 3.3-3.5 พีเอชต่ำสุดที่จุลินทรีย์สามารถเจริญได้ดีขึ้นอยู่กับชนิดของจุลินทรีย์ องค์ประกอบของไวน์ และปริมาณเอทานอลในไวน์ โดยปกติแล้วไวน์ที่มีพีเอชต่ำจะมีการเสื่อมเสียน้อยกว่าไวน์ที่มีพีเอชสูง

2.26.2.2 ปริมาณน้ำตาล จุลินทรีย์สามารถใช้น้ำตาลในไวน์เป็นแหล่งคาร์บอนในการเจริญเติบโตและสร้างผลิตภัณฑ์ ดังนั้นไวน์ที่มีปริมาณน้ำตาลสูงจึงเสื่อมเสียได้ง่ายกว่าไวน์ที่มีปริมาณน้ำตาลต่ำ ปริมาณน้ำตาลร้อยละ 0.5-1 ก็เพียงพอต่อการเจริญของจุลินทรีย์ และทำให้ไวน์เสียได้

2.26.2.3 ความเข้มข้นของปริมาณเอทานอล จุลินทรีย์แต่ละชนิดมีความทนต่อเอทานอลไม่เท่ากัน ปริมาณเอทานอลร้อยละ 14-15 (โดยปริมาตร) สามารถยับยั้งแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติกได้ แต่ *Leuconostoc* sp. ทนเอทานอลได้ประมาณร้อยละ 18 (ยกเว้น *Lactobacillus trichodes* ซึ่งเจริญใน Fortified Wines สามารถทนต่อเอทานอลได้สูงกว่าร้อยละ 20 อย่างไรก็ตามไวน์ที่มีปริมาณเอทานอลสูงขึ้นโอกาสเสื่อมเสียจะน้อยลง

2.26.2.4 ความเข้มข้นของวิตามินและสารที่มีผลต่อการเจริญเติบโต เชื้อ *Acetobacter* sp. สามารถสร้างวิตามินได้ด้วยตัวเอง แต่บางชนิดต้องการวิตามินที่มีอยู่แล้วในแหล่งอาหาร เช่น แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติก เป็นต้น แหล่งวิตามินในไวน์ได้จากยีสต์ที่ใช้หมักไวน์ โดยเมื่อยีสต์เกิดการย่อยตัวเอง (Autolysis) ก็จะปล่อยวิตามินออกมา ถ้ามีสารเหล่านี้อยู่มาก แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกก็มีโอกาสเจริญได้มาก ทำให้เกิดการเสื่อมเสีย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.26.2.5 ความเข้มข้นของแทนนิน แทนนินซึ่งใช้ร่วมกับเจลาตินในการทำให้ไวน์ใส สามารถยับยั้งการเจริญเติบโตของแบคทีเรียได้ แต่ในทางปฏิบัติ ปริมาณที่ใส่เข้าไปมีไม่มากพอที่จะใช้เป็นตัวยับยั้งได้

2.26.2.6 ปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์ ไวน์ที่มีปริมาณซัลเฟอร์ไดออกไซด์มาก จุลินทรีย์จะถูกยับยั้งได้มาก ความเข้มข้นของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ 75-200 ppm ก็เพียงพอในการยับยั้งจุลินทรีย์ได้ แต่ทั้งนี้ขึ้นอยู่กับชนิดของกลุ่มจุลินทรีย์ พีเอช และปริมาณน้ำตาลด้วย (ปทุมพร, 2526) สำหรับฤทธิ์ของซัลเฟอร์ไดออกไซด์ที่มีผลต่อจุลินทรีย์ขึ้นอยู่กับพีเอชของไวน์ก่อนหมัก ควรอยู่ระหว่างพีเอช 3-4 ในช่วงพีเอชดังกล่าว จะแตกตัวให้ Bisulfite Ion $(HSO_3)^-$ มาก มี SO_3^{2-} และ SO_2 เกิดน้อย ทั้งรูป Bisulfite Ion $(HSO_3)^-$ มาก มี SO_3^{2-} และ SO_2 เรียกว่า “ Free So_2 ” หรือซัลเฟอร์ไดออกไซด์อิสระ ซึ่งมีประสิทธิภาพในการฆ่าเชื้อสูง นอกจากนี้ในต่างประเทศยังมีการใช้ Diethyl Pyrocarbonate (DEPC) ในการฆ่าเชื้อยีสต์ และป้องกันการหมักใหม่ หรือใช้กรดซอร์บิก (Sorbic Acid) ในการฆ่าเชื้อราในการหมักไวน์ (Carla, 1993)

2.26.2.7 อุณหภูมิการเก็บรักษา การเสื่อมเสียเกิดขึ้นรวดเร็วที่สุดที่อุณหภูมิ 20-35 องศาเซลเซียส และเมื่ออุณหภูมิการเก็บรักษาสูงหรือต่ำกว่านี้ การเสื่อมเสียจะช้าลงตามลำดับ

2.26.2.8 อากาศ ถ้าไม่มีอากาศ จุลินทรีย์พวกที่ต้องการอากาศในการเจริญ เช่น รา ยีสต์ และแบคทีเรียที่สร้างกรดอะซิติกไม่สามารถเจริญได้ แต่แบคทีเรียที่สร้างกรดแลคติกสามารถเจริญได้ดีในที่ที่ไม่มีอากาศ

2.27 นิยามของบรั่นดี

บรั่นดี (Brandy) ย่อมาจาก บรั่นดีไวน์ (Brandywine) จากภาษาดัตช์ว่า Brandewijn บรั่นดีเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่ได้จากการกลั่นของการหมักน้ำผลไม้ต่างๆหรือไวน์ต่างๆ เช่น องุ่น แอปเปิ้ล แต่เมื่อผลิตจากผลไม้อื่นก็จะเรียกชื่อตามผลไม้นั้นๆ แต่ถ้าผลิตจากองุ่นก็จะเรียกบรั่นดี

กรรมวิธีการผลิตโดยการหมักน้ำองุ่นแล้วนำมาต้มกลั่น แล้วนำไปบ่มต่อในถังไม้โอ๊ค ซึ่งจะทำให้ปริมาณเอทานอลที่มีอยู่เดิมลดลง และเมื่อยิ่งบ่มไว้นานปริมาณเอทานอลก็จะลดต่ำลงไปเรื่อยๆ บรั่นดีบางตัวเมื่อบ่มเกิน 50 ปีขึ้นไปจะมีปริมาณเอทานอลลดลงต่ำกว่า 40 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร และเมื่อบรรจุขวดก็จะมีปริมาณเอทานอลเหลือเพียง 36 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร อันจะทำให้บรั่นดีนั้นมีความพิเศษเฉพาะและมีความสุขุม นุ่มนวลจากการเก็บบ่มอันยาวนานนั่นเอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บรั่นดีหลายๆตัวไม่ได้มีการหมักบ่มในถังไม้โอ๊ค อันเนื่องมาจากลักษณะเฉพาะตัว เช่น สีใส รวมถึงบรั่นดีบางชนิดที่ไม่ได้ผลิตจากองุ่นที่ต้องการคงไว้ซึ่งรสชาติ กลิ่น อะโรมาของตัวเอง ในบางประเทศ เช่น ประเทศฝรั่งเศสในแคว้นคอนญัก (Cognac) อมายัค (Armagnac) และคาลวาดอส (Calvados) เป็นที่มีความชำนาญและเชี่ยวชาญในการผลิตบรั่นดีมีชื่อเสียงไปทั่วโลก ซึ่งบรั่นดีสามารถผลิตที่ไหนในโลกตราบใดที่ใช้องุ่นเป็นวัตถุดิบเช่น ที่ Douro Valley ในประเทศโปรตุเกส Jerez De La Frontera ในประเทศสเปน

คอนญัก (Cognac) ซึ่งเป็นบรั่นดีที่มีชื่อเสียง และเป็นที่นิยมไปทั่วโลก คอนญักหรือบรั่นดีต้องผลิตจากองุ่นที่ปลูกในแคว้นคอนญัก ประเทศฝรั่งเศส ซึ่งรวมถึงกระบวนการผลิตก็จะต้องผลิตในคอนญักเช่นเดียวกัน คอนญักโดยส่วนหลักผลิตจากองุ่นพันธุ์แซง เอมีลียง (Saint-Émilion) คอนญักจะบ่มทั้งในถังไม้โอ๊คเก่าและใหม่ โดยจะเปลี่ยนถ่ายจากถังใหม่สู่ถังเก่าเพื่อหมักบ่มต่อ ซึ่งจะได้กลิ่นและรสอันขึ้นอยู่กับชนิดของไม้ของถังที่นำมาใช้บ่ม ระยะเวลาบ่มในขั้นตอนนี้ก็จะทำให้ได้คอนญักชนิดต่างๆดังนี้ ชนิดธรรมดาที่มีชื่อเรียกว่า VS (Very Superior) เป็นคอนญักสามดาว และเป็นคอนญักในระดับธรรมดา มีอายุการบ่มไม่มากประมาณ 3-5 ปี ชนิดดีที่มีชื่อเรียกว่า VSOP (Very Special Old Pale) จะมีสีที่เข้มกว่า ซึ่งอาจจะมีการเพิ่มสัญลักษณ์ตัวอักษรเพิ่มเข้าไปอีก เช่น F (Fine) X (Extra) คอนญักนี้จะมีอายุการหมักบ่มจากที่ประมาณ 7-10 ปี ซึ่งจะมีรสชาติที่สุขุมนุ่มนวล กลิ่นหอมมากกว่าระดับสามดาวชนิดพิเศษที่ผ่านการหมักบ่มอันยาวนาน มีน้อยและราคาแพง ซึ่งจะมีชื่อเรียกที่แตกต่างกันออกไป ตัวอย่างเช่น Napoleon ของ Courvoisier หรือ Cordon Bleu ของ Martell หรือ Bras d’Or ของ Hennessy เป็นต้น คอนญักชนิดนี้จะผ่านการบ่มอันยาวนานถึง 15-25 ปีเลยทีเดียว และจากการบ่มอันยาวนานนี้จะทำให้คอนญักชนิดนี้มีทั้งกลิ่นและรสรวมถึงมีแทนนิน (Tannin) สูงที่ได้ไม้โอ๊ค คอนญักชนิดนี้ยังมีชื่ออื่นๆ อีกเช่น XO (Extra Old) Extra Vielle Grand Reserve เป็นต้น

อมายัค (Armagnac) เป็นบรั่นดีอีกชนิดหนึ่งที่มีชื่อเสียงเป็นที่ชื่นชอบไปทั่วโลก ผลิตจากองุ่นและผลิตอยู่ในแคว้นอมายัค ประเทศฝรั่งเศสเช่นเดียวกับคอนญัก มีสถานที่ผลิตสำคัญๆอยู่สามที่คือ Haut Armagnac Tènarèze และ Bas Armagnac โดยใช้พันธุ์คล้ายกันกับคอนญักดือ Folle Blanche และ Baco 22A ซึ่งปลูกกันมากใน Saint-Émilion อมายัคจะบ่มในถังไม้โอ๊คดำ ซึ่งแตกต่างจากเครื่องดื่มที่ได้จากการกลั่นตัวอื่น แม้กระทั่งคอนญักเองก็จะบ่มจากถังไม้โอ๊คขาว อมายัคจะมีการบ่มที่ยาวนานกว่าคอนญัก และสิ่งที่ไม่เหมือนคอนญักอีกอย่างคือ อมายัคจะมีการระบุปี (Vintage) อมายัคเองก็มีการแบ่งชนิดออกเป็น 3 ชนิดตามอายุการบ่มเช่นกัน อมายัคที่มีอายุบ่มน้อยที่สุดคือประมาณ 3 ปี และในระดับ VSOP จะบ่มนานประมาณ 5-10 ปี และในระดับที่มีอายุการบ่ม 15-25 ปี จะเรียกว่า Hors d’Age หรือ Vieille Réserve นอกจากนี้ยังมีบรั่นดีอื่นๆ อีกด้วยเช่น Apple

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

brandy ที่ผลิตจาก แอปเปิ้ล รวมถึง Calvados จากประเทศฝรั่งเศสซึ่งมีหลายชนิด เช่น Calvados du Pays d'Auge และ Eau-de-vie de Cidre

ฟรุตอูเดอวี (Fruit Eaux-de-Vie) ก็เป็นบรั่นดีที่ผลิตจากผลไม้ต่างๆ ซึ่งไม่ได้มีการบ่มในถังไม้โอ๊ค เพราะฉะนั้นบรั่นดีชนิดนี้จึงมีสีใส และมีกลิ่นรสเป็นลักษณะเฉพาะของแต่ละตัว ฟรุตอูเดอวีจะผลิตกันมากในแถบยุโรปและอเมริกาเหนือ กรรมวิธีการผลิตทั่วไปก็จะมี 2 แบบ แบบแรกจากการหมักผลไม้ให้เกิดเป็นไวน์แล้วจึงนำไปกลั่น คล้ายกับกรรมวิธีของคอนญัก โดยหลักจะใช้เชอร์รี่ (Cherry) พลัม (Plum) และแพร์ (Pear) และอีกกรรมวิธีซึ่งจะใช้ผลไม้ที่มีเปลือกอ่อน เช่น ราสเบอร์รี่ (Raspberries) โดยจะนำผลไม้ไปแช่ในเหล้าที่มีเอทานอลสูง แล้วจึงนำไปกลั่น ฟรุตอูเดอวีที่มีชื่อเสียงเป็นที่นิยม จะได้จากผลไม้ต่างดังนี้

เชอร์รี่ (Cherry) Kirsch, Kirschwasser

แพร์ (Pear) Poire Williams, Williams Birnenbrand

ราสเบอร์รี่ (Raspberry) Framboise, Himbeergeist

ลูกพลัมเหลือง (Yellow Plum) Mirabelle, Mirabellewasser

ลูกพลัมม่วง (Violet Plum) Quetsch, Zwetschgenwasser, Slivowitz

ที่มา : http://www.chaopraya.biz/index.php?lay=show&ac=article&Id=538698405
(สืบค้นวันที่ 24/05/2559)

2.28 การกลั่นสุรา

2.28.1 ทฤษฎีการกลั่น

การกลั่น คือการแยกสารตั้งแต่ 2 ชนิดที่อยู่ในของผสมออกจากกัน โดยอาศัยหลักความแตกต่างของจุดเดือด และหลักการแลกเปลี่ยนมวลสารระหว่าง 2 สถานะ คือสถานะของเหลวกับสถานะไอ สำหรับการกลั่นสุราของผสมนั้นก็คือ น้ำส่าที่มีน้ำผสมอยู่กับเอทานอล และสารอื่นๆ เช่น เมทิลแอลกอฮอล์ และฟูเซลออยล์ น้ำบริสุทธิ์มีจุดเดือดที่ 100 องศาเซลเซียส เอทานอลมีจุดเดือดที่ 78.3 องศาเซลเซียส แต่น้ำผสมกับเอทานอล จะมีจุดเดือดต่ำกว่าน้ำ แต่สูงกว่าเอทานอล ถ้ามีน้ำส่าที่มีเอทานอล 10 เปอร์เซ็นต์ จะมีจุดเดือดที่ 93 องศาเซลเซียส แต่ไอที่ระเหยที่อุณหภูมิเดียวกันนี้จะมีความเข้มข้นของเอทานอลที่ 55 เปอร์เซ็นต์ และเมื่อนำไอส่วนนี้มาควบแน่นก็จะได้ของเหลวที่มีเอทา

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

นอล 55 เปอร์เซ็นต์ เช่นกัน เมื่อนำเอทานอล 55 เปอร์เซ็นต์ นี้มากลั่นอีกครั้ง มันจะเดือดที่อุณหภูมิ 82.5 องศาเซลเซียส และจะได้ไอที่มีเอทานอลเพิ่มขึ้นเป็น 82 เปอร์เซ็นต์ จึงเป็นสาเหตุที่โรงเหล้าทำการกลั่นหลายครั้งเพื่อให้ได้เอทานอลความเข้มข้นสูงๆ แล้วจึงนำมาเจือน้ำให้ได้ปริมาณเอทานอลตามต้องการ ทั้งนี้เพื่อขจัดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ออกไป แต่การทำให้เอทานอลเข้มข้นสูงๆ สามารถใช้หอกลั่นแทนการกลั่นหลายๆ ครั้งได้ โดยเมื่อไอของสุราระเหยขึ้นไปแล้ว ก็จะไปควบแน่น และแบ่งของเหลวให้ไหลกลับลงมาในหอกลั่น เพื่อให้ไหลสวนทางกับไอที่ระเหยขึ้นมา ไอที่ระเหยขึ้นมาก็จะแลกเปลี่ยนความร้อนกับของเหลวที่ไหลลงมา และทำให้น้ำควบแน่นไปอยู่กับของเหลว และเอทานอลจะระเหยจากของเหลวไปอยู่ในส่วนไอ ทำให้ได้ผลเหมือนกับมีการกลั่นและควบแน่นหลายๆครั้งอยู่ในหอกลั่น โดยไม่ต้องนำไปกลั่นใหม่

2.28.2 หลักการกลั่นสุราให้มีคุณภาพ

การแบ่งส่วนน้ำสุรา

เนื่องจากเป็นการแยกสารตามความสามารถในการระเหย ดังนั้นสารที่ระเหยง่ายก็จะออกมาจากหอกลั่นก่อนสารที่ระเหยยากกว่า เอทานอลก็จะออกมาทีหลัง จึงสามารถแยกสารพิษที่ไม่ต้องการออกได้ง่ายๆ โดยแบ่งน้ำสุราเป็นส่วนหัว ส่วนกลาง และส่วนหาง ส่วนหัวคือเมทิลแอลกอฮอล์เป็นสารพิษที่ทำให้ตาบอด และถ้าบริโภคในปริมาณมากทำให้เสียชีวิตได้ แต่ในสุราที่กลั่นจากกากน้ำตาล และข้าวจะมีน้อยมากจนแทบไม่ต้องตัดส่วนหัวออกมาก ส่วนเมทิลแอลกอฮอล์อาจจะมีมากได้ในสุราที่กลั่นจากผลไม้ที่ยืดหยุ่น เช่น สตรอเบอร์รี่ องุ่น ส่วนกลางจะเป็นเอทานอลที่ต้องการ และเมื่ออุณหภูมิหม้อกลั่นสูงขึ้นเรื่อยๆ ในหม้อต้มแบบพื้นบ้าน ส่วนหางจะเริ่มออกมา จนอุณหภูมิใกล้ 100 องศาเซลเซียส โดยผู้ผลิตต้องฝึกดมกลิ่น และแยกส่วนนี้ออกไป ซึ่งจะประกอบไปด้วยส่วนผสมของฟูเซลออยล์ที่ทำให้ปวดหัว และมีกลิ่นฉุน โดยเฉพาะถ้าหมักน้ำส่าที่อุณหภูมิสูงจะมีสารพวกนี้มาก

ปัจจัยที่ทำให้เกิดสารฟูเซลออยล์ได้แก่

- สายพันธุ์ของยีสต์
- อุณหภูมิ (อุณหภูมิสูงจะผลิตได้มาก)
- การกวน และอากาศ (ไม่ควรกวนน้ำหมักหลังจากการหมักเริ่มต้นแล้วเพราะจะทำให้มีการแลกเปลี่ยนอากาศ ซึ่งไม่เหมาะสมต่อการหมัก เพื่อให้ได้แอลกอฮอล์)
- องค์ประกอบของน้ำหมัก (ควรมีสารอาหารที่สมบูรณ์)

เครื่องกลั่นสุราชุมชนที่มีจำหน่ายอยู่นั้นมีข้อจำกัดหลายอย่าง โดยเฉพาะการใช้ฟืนหรือเตาแก๊สเป็นแหล่งให้ความร้อน ซึ่งทำให้ควบคุมอุณหภูมิการกลั่นได้ยาก หากใช้ความร้อนมากเกินไปจะทำให้น้ำส่าไหม้ และเกิดกลิ่นเหม็นไหม้ ทำให้สารพิษในส่วนหางปนออกมากับน้ำสุรา ดังนั้นจึง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ไม่ควรเร่งความร้อนเพื่อให้ได้เอทานอลออกมาอย่างรวดเร็ว เทอร์โมมิเตอร์ที่ใช้วัดอุณหภูมิในหม้อกลั่น ควรจะวัดอุณหภูมิของส่วนไอ เพื่อให้ผู้กลั่นสามารถปรับความร้อนได้อย่างเหมาะสม เมื่อเริ่มต้นต้มน้ำส่าจนอุณหภูมิสูงขึ้นถึง 78–85 องศาเซลเซียส ก็เริ่มเก็บน้ำสุราได้ และพยายามคงอุณหภูมินี้ไว้ให้ได้นานๆ เมื่ออุณหภูมิเริ่มสูงเกิน 90 องศาเซลเซียส ให้คอยดมกลิ่นหาง โดยแบ่งสุราออกเป็นส่วนๆ เมื่อเริ่มได้กลิ่นส่วนหาง ให้นำส่วนนั้นไปรวมกับน้ำส่าชุดต่อไปเพื่อกลั่นใหม่

การกลั่นหลายครั้ง

หากจะผลิตสุราพื้นบ้านธรรมดา การแยกส่วนหัวและส่วนหาง ก็จะช่วยให้สุราไม่มีกลิ่นเหม็นและปลอดภัย แต่สำหรับสุราบางชนิด การแยกส่วนหัวและส่วนหางออกอาจจะยังไม่ปลอดภัยเพียงพอ เพราะอาจไม่ต้องการกลิ่นของวัตถุดิบเลย เช่น วอดก้า และรัมแบบเบา หรือการทำสุราสำหรับจะนำไปปรุงแต่งรสชาติต่างๆ ในประเทศไทยเราอาจจะผลิตวอดก้าหรือรัมไม่ได้ เพราะกฎหมายให้เรียกว่าสุราขาว แต่อาจผลิตสุราในรูปแบบนั้นได้ โดยเรียกชื่อเป็นอย่างอื่น เพื่อย้ายจากตลาดล่าง การกลั่นสุราให้ไม่มีกลิ่นวัตถุดิบ ทำได้โดยกลั่น 2 ครั้งขึ้นไป หรือใช้เครื่องกลั่นแบบมีระบบรีฟลักซ์ และอาจนำสุรามากรองผ่านผงถ่านเพื่อดูดซับกลิ่น

2.28.3 ชนิดของเครื่องกลั่น

เครื่องกลั่นแบบหม้อต้ม

เป็นแบบที่ใช้กันทั่วไป และในอุตสาหกรรมการกลั่นสุราของต่างประเทศ ก็ยังใช้เครื่องกลั่นแบบนี้ เพียงแต่มีการออกแบบและใช้วัสดุแตกต่างกัน และมีขนาดใหญ่กว่าที่ใช้ในการผลิตสุราชุมชน หลักการก็ง่ายๆ คือ มีหม้อต้ม ใช้ความร้อนจากไอน้ำ จากไฟฟ้า หรือจากก๊าซหุงต้ม ทำให้น้ำส่าร้อนขึ้น และเกิดไอระเหยขึ้นไป ส่งผ่านคอห่านไปยังคอนเดนเซอร์ (Condensor) ควบแน่นให้เป็นของเหลว การใช้ทองแดงเป็นวัสดุเป็นภูมิปัญญาที่มีมาแต่โบราณ และปัจจุบันโรงกลั่นสุราทั้งวิสกี้และบรั่นดีของต่างประเทศ ส่วนใหญ่ยังใช้หม้อทองแดงกันอยู่ ข้อดีของทองแดงได้แก่

- ทองแดงช่วยสลายสารประกอบซัลเฟอร์ และเอสเทอร์ที่เกิดในระหว่างการหมัก ซึ่งทำให้เกิดกลิ่นที่ไม่พึงประสงค์ในสุรากลั่น
- ทองแดงนำความร้อนได้ดีมาก ทำให้ช่วยป้องกันน้ำส่าไหม้
- ทองแดงช่วยป้องกันการเกิดสารเอทิลคาร์บาเมต ซึ่งเป็นสารพิษที่เกิดจากไซยาไนด์ (ไซยาไนด์พบในผลไม้ที่มีเมล็ดแข็ง)
- ทองแดงช่วยทำให้กลิ่นของสุราดีขึ้น

ในมาตรฐานสุราของกรมสรรพสามิตมีการวิเคราะห์ทองแดง แต่ถึงแม้ทองแดงจะสามารถละลายได้เล็กน้อย (สุราที่กลั่นได้อาจมีสีเขียวอ่อนๆ) แต่ก็ยังมีทองแดงต่ำกว่ามาตรฐานน้ำดื่ม และการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ล้างหม้อกลั่นให้สะอาดทุกครั้ง จะช่วยชะทองแดงที่ละลายออกมาได้ หากเราใช้เครื่องกลั่นที่ทำจากสแตนเลส เราก็อาจใช้ทองแดงเป็นส่วนประกอบของเครื่อง โดยเฉพาะส่วนที่สัมผัสกับไอ เช่นข้อต่อบริเวณคอห่าน หรือบรรจุลวดทองแดงไว้ในท่อ เป็นต้น

เครื่องกลั่นแบบหอกลั่น

หากไอระเหยมีโอกาสสัมผัสกับของเหลวอย่างเพียงพอ เอทานอลในส่วนของเหลวก็จะถ่ายเทไปสู่ส่วนไอได้เต็มที่ แต่ในหม้อต้มกลั่นแบบพื้นบ้าน ไอมีโอกาสสัมผัสกับของเหลวน้อย ทำให้ต้องกลั่นหลายครั้งจึงจะได้เอทานอลที่เข้มข้น ดังนั้นหากเราแบ่งส่วนของไอที่ควบแน่นจนกลายเป็นของเหลวแล้ว ปล่อยให้ไหลกลับเข้าสู่หม้อกลั่นโดยไหลสวนทางกับไอที่ระเหยขึ้นมา จะทำให้มีโอกาสสัมผัสกันมากขึ้น เหมือนกับเกิดการกลั่นและควบแน่นกลับไปกลับมาหลายครั้ง ทำให้ไอที่ขึ้นมาสุดท้ายมีความบริสุทธิ์มากขึ้น ทำให้เราสามารถตัดส่วนหัวส่วนหางได้อย่างแม่นยำมากขึ้น ของเหลวที่ควบแน่นจากไอแล้วปล่อยให้ไหลกลับเข้ามานี้ เราเรียกว่า “รีฟลักซ์” ในหอกลั่นเอทานอลที่ต้องการความบริสุทธิ์สูงๆ จะมีการวางถาดที่มีรูพรุนไว้เป็นชั้นๆ เพื่อให้ไอที่เคลื่อนที่ขึ้นมาบนหอกลั่น ไหลผ่านของเหลวที่ไหลลงมาขังอยู่ในถาด ทำให้ทั้งสองส่วนได้สัมผัสกันอย่างดี ยิ่งมีจำนวนถาดมากเท่าใด ยิ่งทำให้แอลกอฮอล์ที่ได้บริสุทธิ์มากขึ้น

2.28.4. การผสม บ่ม และปรุงแต่งสุรา

เทคนิคการผสม บ่ม และปรุงแต่งสุรานั้น เป็นศิลปะที่ผู้ผลิตต้องเรียนรู้หาประสบการณ์ด้วยตนเอง แต่เป็นขั้นตอนในการผลิตสุราที่สำคัญมาก สุราที่กลั่นได้หากไม่มีการผสมหรือบ่มก็จะไม่มีคุณค่ามากไปกว่าแอลกอฮอล์เช็ดแผลเลย

2.28.4.1 การผสมสุรา

สุราที่กลั่นจากหม้อต้มธรรมดา จะมีดีกรีแอลกอฮอล์เปลี่ยนไปเรื่อยๆ ในระหว่างการกลั่น คือส่วนที่ออกมาช่วงแรกจะมีดีกรีที่สูงกว่าส่วนที่ออกมาทีหลัง ดังนั้นจึงต้องนำสุราที่แบ่งเป็นส่วนๆไว้ มาผสมกันเพื่อให้ได้ดีกรีตามต้องการ (แต่ห้ามเกิน 40 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร) หรืออาจจะนำสุราดีกรีสูงๆมาเจือจางด้วยน้ำเพื่อให้ได้ความเข้มข้นเหลือ 35–40 ดีกรีต่อร้อยละโดยปริมาตร แต่บางครั้งเมื่อเติมน้ำลงไปกลับทำให้สุราขุ่น ทั้งนี้เนื่องจากน้ำที่ใช้มีแร่ธาตุต่างๆอยู่ ซึ่งจะทำปฏิกิริยากับเอทานอล เกิดเป็นตะกอนขึ้น จึงควรใช้น้ำกลั่นที่มีคุณภาพสูงเพื่อไม่ให้เกิดตะกอนดังกล่าว นอกจากนั้นอาจมีการผสมสุราที่กลั่นหลายครั้งจนไม่มีกลิ่นของวัตถุดิบกับสุราที่กลั่นเพียงครั้งเดียว เพื่อให้มีกลิ่นของวัตถุดิบที่ต้องการ หรือผสมระหว่างสุราที่บ่มกับสุราที่ไม่บ่ม เป็นต้น

2.28.4.2 การบ่มสุรา

สุราบริสุทธิ์ที่กลั่นได้ กับสุราที่นำไปผสมน้ำจะมีรสชาติต่างกัน แม้จะมีเอทานอลเท่ากัน ทั้งนี้เป็นเพราะสุราที่ผสมน้ำ ส่วนที่เป็นเอทานอลยังไม่เข้ากับน้ำอย่างสมบูรณ์ ดังนั้นสุราที่ผสมแล้วจึงควร

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บ่มทิ้งไว้สักระยะหนึ่ง เพื่อให้เกิดความกลมกล่อม ไม่จำเป็นต้องบ่มในไม้โอ๊ค อาจจะเก็บไว้สัก 6 เดือน แล้วลองทดสอบรสชาติเปรียบเทียบกับสุราที่มีการผสม

สุราที่มีคุณภาพสูงของนานาชาติ จะต้องบ่มไว้ในไม้โอ๊คทั้งสิ้น ทั้งวิสกี้ บรั่นดี รัม และเทกิล่า แต่การบ่มในไม้โอ๊คจะทำให้สุรามีสีเข้มขึ้น ซึ่งปัจจุบันกฎหมายไทยยังไม่อนุญาตให้ชุมชนผลิตได้ หากสามารถบ่มในไม้โอ๊คได้ จะทำให้สุรามีรสชาติที่ดีขึ้นมาก

2.28.4.3 การปรุงแต่ง

สุรายาดองของไทย เป็นภูมิปัญญาแต่โบราณที่ยังได้รับความนิยมอยู่จนบัดนี้ แต่ยังถือว่ายาดองเป็นเหล้าเถื่อน เพราะกฎหมายห้ามนำสุรามาปรุงแต่ง ต้องจำหน่ายเป็นสุราขาวเท่านั้น การดองยาดื่มเองในบ้านเรือนไม่ผิดกฎหมาย แต่ห้ามจำหน่ายจ่ายแจก อีกวิธีหนึ่งอาจจะหมักยาสมุนไพรในระหว่างการหมักน้ำส่าหรือใส่ลงในหม้อกลั่น เพื่อให้กลิ่นระเหยไปพร้อมกับไอ ได้กลิ่นสมุนไพรอยู่ในน้ำสุราที่กลั่นได้ การปรุงแต่งอีกรูปแบบคือการเติมกลิ่นลงไป แต่กฎหมายก็ยังไม่อนุญาตให้ทำกลิ่นวิสกี้ กลิ่นรัม กลิ่นยิน ที่มีจำหน่ายทางการค้าในต่างประเทศ สำหรับนักดื่มสุราที่นิยมกลั่นสุราดื่มเอง โดยกลั่นสุราให้บริสุทธิ์ ไม่มีกลิ่นวัตถุดิบ แล้วจึงเติมกลิ่นที่ต้องการลงไป

ที่มา : https://surathai.wordpress.com/2011/05/15/thaidistill/ (สืบค้นวันที่ 27/06/2559)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2.29 งานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

Ayogu (1998) ได้ทำการทดลองแยกเชื้อยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* จาก Nigerian Plam Wine และนำเชื้อที่แยกได้มาหมักไวน์โดยใช้น้ำสับปะรด หมักที่อุณหภูมิห้อง (28±1 องศาเซลเซียส) พบว่าไวน์ที่ได้มีปริมาณเอทานอล 10.2 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีปริมาณเอทานอลใกล้เคียงกับไวน์ที่ใช้ยีสต์ผลิตไวน์ตามท้องตลาดทั่วไป

พรทิภา (2531) ได้ทดลองไวน์ส้มจากส้มเขียวหวาน โดยใช้เชื้อ *S .cerevisiae* AG 1 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสม พบว่า อัตราส่วนการหมักน้ำส้มต่อน้ำคือ 50:50 ปรับให้มีน้ำตาลเริ่มต้น 25 องศาบริกซ์ ปริมาณแอมโมเนียมซัลเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ได้ปริมาณเอทานอล 7.8 เปอร์เซ็นต์ จะได้ไวน์ที่มีรสชาติดี

ปัณฑิตา และอุสุมาวะดี (2543) ได้ทำการทดลองผลิตไวน์เสาวรสในสภาวะที่เหมาะสม โดยศึกษาปัจจัยต่างๆที่มีผลต่อไวน์ พบว่า อัตราส่วนที่เหมาะสมคือ น้ำเสาวรสผสมต่อน้ำ อัตราส่วน 25:75 ความเข้มข้นของน้ำตาล 25 องศาบริกซ์ ปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นร้อยละ 10 จะมีเอทานอล 13.64 เปอร์เซ็นต์ ทำให้ผู้บริโภคยอมรับมากที่สุด

ประดิษฐ์ (2546) ศึกษาการผลิตไวน์จากขิง ใช้ส่วนเหง้าขิงอ่อน นำมาล้างและหั่นเป็นชิ้นเล็กๆ เติมน้ำเปล่าในอัตราส่วนขิง 6 กิโลกรัม ต่อน้ำเปล่า 24 ลิตร (4 เท่า) เติมน้ำตาลทรายโดยปรับให้ได้ความหวาน 22 องศาบริกซ์ ปรับพีเอช 4.0 ด้วยกรดซิตริก ต้มให้เดือดนาน 15 นาที และเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) 0.05 เปอร์เซ็นต์ จากนั้นกรอกน้ำขิงในขณะร้อน ใส่ขวดหมัก ปิดจุกด้วยจุกสำลีที่ฆ่าเชื้อแล้ว ทิ้งให้เย็น เติมกล้าเชื้อที่เตรียมไว้แล้วร้อยละ 10 ของปริมาณน้ำขิงในขวดหมักนาน 18 วัน ที่อุณหภูมิห้อง หลังจาก 18 วัน กำจัดตะกอนฆ่าเชื้อในไวน์โดยเติมโปแตสเซียมเมตาไบท์ซัลไฟท์ 80 มิลลิกรัมต่อลิตร และบรรจุขวด พบว่าไวน์มีคุณภาพเป็นที่ยอมรับ การยอมรับจะมากขึ้นหากไวน์มีความหวานเล็กน้อย

สมบูรณ์ (2526) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากข้าวฟ่างหวาน โดยใช้เชื้อยีสต์ 506 สายพันธุ์ที่ได้รวบรวมจากแหล่งต่างๆ พบว่า *Saccharomyces cerevisiae* AO 97 จากโรงงานน้ำตาลไทย จำกัด เป็นเชื้อที่เหมาะสมที่สุดในการหมักเอทานอลจากนำข้าวฟ่างหวาน สภาวะที่เหมาะสมต่อการหมักเอทานอลของเชื้อ พบว่าไม่มีความจำเป็นต้องเติมธาตุอาหารลงในน้ำข้าวฟ่างหวานที่ใช้ในการหมักเลยเพราะมีเพียงพอสำหรับการเจริญของยีสต์ อัตรากล้าเชื้อที่เหมาะสมคือ 3 เปอร์เซ็นต์ และพีเอชเริ่มต้นที่เหมาะสมในการหมักที่พีเอช 4.5

พวงพร (2528) ได้ศึกษาการเปรียบเทียบสายพันธุ์ยีสต์ในการหมักเอทานอลจากแป้งที่ถูกย่อยสลายด้วยกรด โดยการนำยีสต์ 10 สายพันธุ์ มาทดลองหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยใช้กรดย่อยสลายแป้งในมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาล และเติมธาตุอาหารต่างๆ ให้มีส่วนประกอบซึ่งเหมาะสมที่สุด แล้วทำการหมักในขวดหมักอยู่กับที่อุณหภูมิ 30 37 และ 40 องศาเซลเซียส ปรากฏ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *Saccharomyces pe'ka* มีประสิทธิภาพการหมักดีที่สุดให้ปริมาณเอทานอล 10.86 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เอทานอลยีสต์ 91.4 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำตาลเหลืออยู่หลังจากการหมักสิ้นสุด 5 องศาบริกซ์ และ 1.1 เปอร์เซ็นต์

Srisamatthakarn (2011) ทำการวิจัยเพื่อพัฒนาคุณภาพของไวน์เสาวรส โดยการใช้แหล่งอาหารเสริมจุลินทรีย์ DAP Optiwhite (Inactive Yeast With High Glutathione) Fermaid E (DAP Thiamine Ammonium Sulfate และผนังเซลล์ยีสต์) Vitamon Combi (DAP และ Thiamine) Vitamon Ultra (DAP Thiamine และผนังเซลล์ยีสต์) และใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* var. bayanus จำนวน 5 สายพันธุ์ ใช้เชื้อยีสต์ในกลุ่มของ *S. cerevisiae* จำนวน 7 สายพันธุ์ และ*Saccharomyces spp.* จำนวน 2 สายพันธุ์ ผลการศึกษาพบว่า *S. cerevisiae var. bayanus* QA 23 และ LittoLevure เป็นยีสต์ที่มีความเหมาะสมในการหมักน้ำเสาวรส เนื่องจากไวน์เสาวรสที่ได้มีคุณลักษณะของกลิ่นหอม (Aroma) น่าพึงพอใจกว่ายีสต์สายพันธุ์อื่น เมื่อกำหนดสภาวะการหมักให้มีการเติม DAP 0.5 กรัมต่อลิตร ลงในน้ำหมักเริ่มต้น การทดลองเติมแหล่งอาหารเสริมจุลินทรีย์ต่างๆ ลงในน้ำเสาวรส แล้วทำการหมักไวน์เสารสด้วย *S. cerevisiae var. bayanus* QA 23 *S. cerevisiae Sauvignon* และ X 5 พบว่า Vitamon Comb Vitamon Ultra และ Fermaid E มีความเหมาะสมในการใช้เป็นแหล่งอาหารเสริมให้กับยีสต์ โดยทำให้ไวน์ที่ผลิตได้มีปริมาณสารประกอบระเหยได้ที่เป็นยอมรับในปริมาณที่สูง

Panjai *et al.*, (2009) ทำการหมักน้ำสับปะรดด้วยยีสต์ *Torulaspora delbrueckii* และ *S. cerevisiae* ผลการศึกษาพบว่า การใช้ *S. cerevisiae* อย่างเดียว และการหมักด้วยเชื้อผสมของ *S. cerevisiae* และ*T. delbrueckii* สามารถทำให้เกิดการหมักอย่างสมบูรณ์ในขณะที่การใช้ *T. delbrueckii* อย่างเดียวในการหมักมีประสิทธิภาพการหมักร้อยละ 78 เมื่อทำการหมักนาน 14 วัน

ศิริพร (2540) นำผลหม่อนมาทำการผลิตเป็นไวน์ผลไม้ โดยทำการศึกษาปริมาณ DAP (Diammonium Phosphate) (0-0.09 เปอร์เซ็นต์) ที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำหมักจากผลหม่อน พบว่า ปริมาณ DAP ที่เหมาะสมคือ 0.03 เปอร์เซ็นต์โดยน้ำหนักต่อปริมาตร

รัชดาภรณ์ (2550) ได้ทำการศึกษาการผลิตเอทานอลจากหยวกกล้วยโดยใช้ยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* ด้วยวิธีการหมักแบบกะ ทำการทดลองโดยการนำหยวกกล้วยซึ่งมีเซลลูโลสเป็นองค์ประกอบหลักมาย่อยด้วยกรดเกลือเข้มข้น ที่ค่าพีเอช 4.5-5 เพื่อให้เซลลูโลสเปลี่ยนเป็นแป้งก่อนซึ่งใช้เวลาประมาณ 15-30 นาที หลังจากนั้นนำแป้งที่ได้มาหมักด้วยยีสต์ *Saccharomyces cerevisiae* และปรับความหวานที่ระดับความเข้มข้นของน้ำตาล 20 องศาบริกซ์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ทำการหมักเป็นเวลา 5-7 วัน ใช้พีเอชในการหมัก 4.5-5 หลังจากนั้นนำเอทานอลที่ผลิตได้กลั่นด้วยเครื่อง Rotary Evaporator ได้ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย 676.76 มิลลิลิตร และเมื่อนำไปกลั่นลำดับส่วนได้ผลผลิตเอทานอลบริสุทธิ์ 80.66 เปอร์เซ็นต์

พวงพร (2528) การเปรียบเทียบสายพันธุ์ยีสต์ในการหมักเอทานอลจากแป้งที่ถูกย่อยสลายด้วยกรด การนำยีสต์ 10 สายพันธุ์ มาทดลองหมักเอทานอลจากมันสำปะหลังโดยใช้กรดย่อยสลายแป้งในมันสำปะหลังให้เป็นน้ำตาล และเติมธาตุอาหารต่างๆ ให้มีส่วนประกอบซึ่งเหมาะสมที่สุดแล้วทำการหมักในขวดหมักอยู่กับที่อุณหภูมิ 30 37 และ 40 องศาเซลเซียส ปรากฏว่าที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส *Sacharomyces pe'ka* มีประสิทธิภาพการหมักดีที่สุด ให้ปริมาณเอทานอล 10.86 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร เอทานอลยีสต์ 91.4 เปอร์เซ็นต์ มีน้ำตาลเหลืออยู่หลังจาการหมักสิ้นสุด 5 องศาบริกซ์ และ 1.0 เปอร์เซ็นต์

มนชิดา และวิลาสินี (2542) ที่ศึกษาปริมาณสารอาหารที่ส่งผลต่อเชื้อ ถ้าปริมาณสารอาหารมีอยู่จำกัด จะส่งผลให้ผลิตเอทานอลได้จำกัดตามไปด้วย นอกจากนี้ถ้าใช้ปริมาณกล้าเชื้อน้อยกว่าร้อยละ 5 จะทำให้เวลาในการหมักไวน์นานขึ้นและเกิดเอทานอลช้า เนื่องจากในระหว่างที่เชื้อเจริญ เชื้อจะผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอทานอลออกมา ดังนั้น ถ้าหากเชื้อมีอัตราการเจริญต่ำ ก็จะมีผลให้ผลิตเอทานอล์ได้ต่ำหรือช้าตามไปด้วย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 3

การดำเนินการวิจัย

3.1 อุปกรณ์และสารเคมี

3.1.1 จุลินทรีย์ที่ใช้ในการทดลอง

- *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013
- *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019

3.1.2 วัตถุดิบที่ใช้ในการทดลอง

- สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย
- สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต

3.1.3 อุปกรณ์

- หม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave)
- เครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Shaker Incubator)
- ตู้ปลอดเชื้อ
- เครื่องชั่งทศนิยม 3 ตำแหน่ง
- เครื่องวัดความเป็นกรด–ด่าง (pH Meter)
- กล้องจุลทรรศน์
- ปิเปตขนาด 1, 5, 10 มิลลิลิตร
- เครื่องกลั่นแบบ Pot Still
- อุปกรณ์วัดจำนวนเซลล์ (Heamacytometer)
- เครื่องวัดปริมาณของแข็ง (Refractometer)
- เครื่องแก๊สโครมาโตกราฟฟี (Gas Chromatography)
- หม้อต้ม-เตาแก๊ส
- ฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร

3.1.4 อาหารเลี้ยงเชื้อ

- อาหาร YM (ภาคผนวก ก)

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.1.5 สารเคมี

- ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต
- แคลเซียมคาร์บอเนต
- สารมาตรฐานเอทานอล
- สารมาตรฐานเอ็นโพรพานอล
- สารมาตรฐานบิวทานอล
- สารมาตรฐานเอทิลอะซิเตต
- น้ำตาลทราย

3.2 วิธีการวิจัย

3.2.1 การศึกษาการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์

ทำการเพาะเลี้ยงเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 โดยทำการเคาะเชื้อจากหลอดแอมพูล (Ampule) ที่ได้จากการสั่งซื้อเชื้อ นำมาถ่ายใส่ในเพลตอาหาร YM (Yeast Malt Agar) (ภาคผนวก ก) ในตู้ปลอดเชื้อด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Technique) จากนั้นนำไปบ่มเลี้ยงที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส บ่มทิ้งไว้เป็นเวลา 2-3 วัน และทำการถ่ายเชื้อลงในอาหาร YM (Yeast Malt Agar) ใหม่อีกครั้ง

3.2.2 ศึกษาคุณสมบัติของน้ำสับปะรด

3.2.2.1 นำตัวอย่างน้ำสับปะรดทั้ง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ต มาวัดพีเอช (pH) ด้วยเครื่อง pH Meter เพื่อศึกษาความเป็นกรด-ด่างของน้ำสับปะรดว่ามีระดับพีเอชอยู่ที่เท่าใด เพื่อที่จะได้นำไปปรับพีเอชให้เหมาะสมและถูกต้องต่อไปในการทดลอง

3.2.2.2 นำตัวอย่างน้ำสับปะรดทั้ง 2 พันธุ์ มาวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้หรือวัดปริมาณน้ำตาล (หน่วยเป็นองศาบริกซ์) โดยใช้เครื่องวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (Refractometer) โดยดูระดับความหวานของน้ำสับปะรดก่อนจะทำการปรับค่าความหวานด้วยน้ำตาลทรายให้เหมาะสมต่อการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.3 ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ในการหมักน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต

เชื้อที่นำมาใช้ในการทดลองมี 2 สายพันธุ์ ดังนี้

- *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013
- *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019

3.2.3.1 การเตรียมหัวเชื้อเริ่มต้นเพื่อใช้ในการศึกษาการเจริญ

นำสับปะรดทั้ง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ต มาปอกเปลือก และนำมาคั้นเอาเฉพาะน้ำสับปะรดมาทำการวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และปรับให้มีค่าเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทราย และทำการปรับพีเอชให้เป็น 4.0 ด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต เนื่องจากน้ำสับปะรดมีความเป็นกรดมากกว่าหรือมีค่าพีเอชน้อยกว่า 4.0 จึงต้องใช้แคลเซียมคาร์บอเนตซึ่งมีคุณสมบัติเป็นด่างมาปรับให้มีความเป็นกรดน้อยลง เมื่อน้ำสับปะรดมีคุณสมบัติตามความเหมาะสมของการทดลองแล้ว นำน้ำสับปะรดมาตวงวัดปริมาตรให้ได้ 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร พันธุ์ละ 2 ฟลาสก์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นรอให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว (Heat Shock) แล้วนำมาเติมเชื้อยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ ที่เลี้ยงไว้จากข้อ 3.2.1 เขี่ยเชื้อมาจำนวน 2 ลูป ใส่ลงไปในฟลาสก์ที่มีน้ำสับปะรดที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดยทำในตู้ปลอดเชื้อด้วยเทคนิคการทำให้ปลอดเชื้อ (Aseptic Technique) แล้วนำไปบ่มในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที (rpm) อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 36 ชั่วโมง จากนั้นนำมาใช้เพื่อเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการทดลองต่อไป

3.2.3.2 ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ในหัวเชื้อ (Starter)

ในระหว่างการหมักหัวเชื้อในข้อที่ 3.2.3.1 เราจะทำการเก็บตัวอย่างน้ำหมักหัวเชื้อออกมานับจำนวนเซลล์ (Heamacytometer) ทุกๆ 4 ชั่วโมง ในระยะเวลาทั้งหมด 36 ชั่วโมง นั่นคือ จะทำการเก็บตัวอย่างในระหว่างการบ่มเลี้ยงทั้งหมด 9 ครั้ง เพื่อดูการ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เจริญเติบโตของยีสต์ในน้ำหมักหัวเชื้อที่ระยะเวลาต่างๆ และดูแนวโน้มของการเจริญ และเลือกช่วงที่ดีที่สุดของการเจริญเพื่อใช้ในการหมักน้ำสับปะรดในระยะของการหมักก่อนนำไปกลั่น

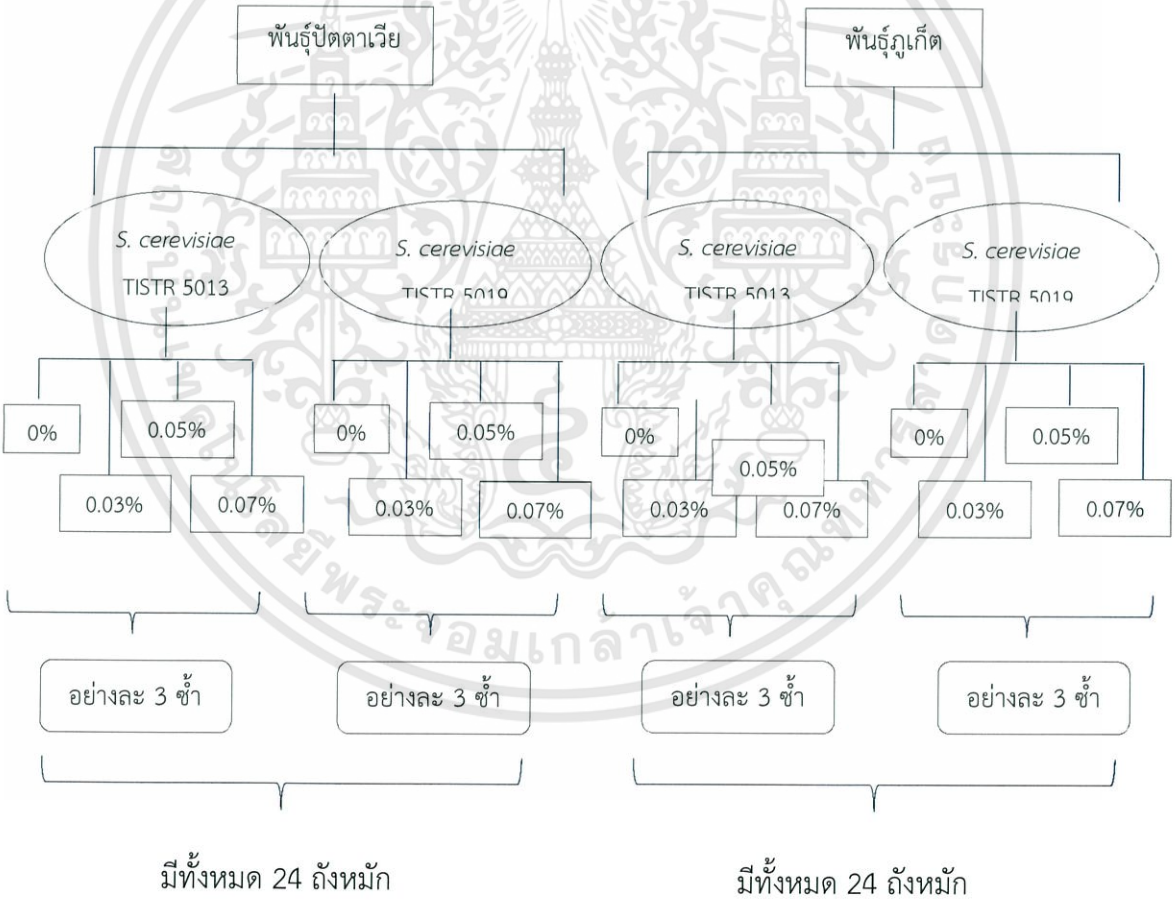
3.2.4 ศึกษาการหมักน้ำสับปะรดโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019

3.2.4.1 การเตรียมหัวเชื้อ (Starter)

นำสับปะรดทั้ง 2 พันธุ์ คือ พันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ต มาปอกเปลือก และนำมาคั้นเอาเฉพาะน้ำสับปะรดมาทำการวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และปรับให้มีค่าเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทราย และทำการวัดพีเอชของน้ำสับปะรด แล้วทำการปรับพีเอชให้เท่ากับ 4.0 ด้วยแคลเซียมคาร์บอเนต เมื่อน้ำสับปะรดมีคุณสมบัติตามความเหมาะสมของการทดลองแล้ว นำน้ำสับปะรดที่ได้มาตวงวัดปริมาตรให้ได้ 200 มิลลิลิตร ใส่ลงในฟลาสก์ขนาด 250 มิลลิลิตร พันธุ์ละ 24 ฟลาสก์ ทั้งหมดเป็น 48 ฟลาสก์ จากนั้นนำไปฆ่าเชื้อด้วยหม้อนึ่งฆ่าเชื้อความดันไอ (Autoclave) ที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ที่ความดันไอน้ำ 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นรอให้เย็นแล้วนำมาเติมเชื้อยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์ คือสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และสายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ที่เลี้ยงไว้ในข้อที่ 3.2.1 เขี่ยเชื้อมาจำนวน 2 ลูป ใส่ลงในฟลาสก์ที่มีน้ำสับปะรดที่ฆ่าเชื้อแล้ว โดยทำภายในตู้ปลอดเชื้อด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ (Aseptic Technique) โดยสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียจะใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 จำนวน 12 ฟลาสก์ และใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 จำนวน 12 ฟลาสก์ รวมเป็น 24 ฟลาสก์ ต่อสับปะรด 1 พันธุ์ เช่นเดียวกันกับสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต คือใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 จำนวน 12 ฟลาสก์ และใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 จำนวน 12 ฟลาสก์ รวมเป็น 24 ฟลาสก์ เช่นกัน จากนั้นนำไปบ่มในเครื่องเขย่าควบคุมอุณหภูมิ (Incubator Shaker) ที่ความเร็วรอบ 150 รอบต่อนาที (rpm) อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 24 ชั่วโมง จากนั้นจะได้เป็นหัวเชื้อที่พร้อมต่อการใช้งาน ซึ่งเป็นหัวเชื้อเริ่มต้นในการทดลองต่อไป

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.4.2 กระบวนการหมักน้ำสับปะรดโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และสับปะรดภูเก็ต และเชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ในกระบวนการหมักนี้จะแบ่งชุดการทดลองออกเป็น 2 ชุดใหญ่ๆ คือ ชุดการทดลองของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และชุดการทดลองของสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต โดยแต่ละชุดการทดลองจะประกอบไปด้วยเชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์ คือ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 และความเข้มข้นของไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (Diammonium Phosphate) ที่ความเข้มข้นต่างๆ คือ 0 เปอร์เซ็นต์ (Control ไม่ใส่ ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต), 0.03 เปอร์เซ็นต์, 0.05 เปอร์เซ็นต์ และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ อย่างละ 3 ซ้ำ โดยจะแบ่งแต่ละถังหมักตามแผนภาพดังนี้



รูปที่ 3.1 แสดงแผนภาพการทดลอง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

จากชุดการทดลองดังกล่าวจะเห็นว่ามีถังหมักทั้งหมด 48 ถัง แต่ละถังจะใช้น้ำหมักถังละ 2 ลิตร โดยน้ำหมักที่ใช้นั้นจะใช้น้ำสับปะรดต่อน้ำเปล่าในอัตราส่วน 1 : 1 ซึ่งเมื่อคำนวณแล้วจะต้องใช้น้ำสับปะรดพันธุ์ละ 24 ลิตร และน้ำเปล่า 24 ลิตร

วิธีเตรียมน้ำหมักแบ่งออกเป็น 2 ชุดการทดลอง ดังนี้

<u>ชุดที่ 1</u> เป็นชุดการทดลองของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย

- เตรียมน้ำสับปะรดของพันธุ์ปัตตาเวียมาทั้งหมด 24 ลิตร ผสมกับน้ำเปล่าในอัตราส่วน 1 : 1 คือ 24 ลิตร รวมเป็นปริมาตรทั้งหมด 48 ลิตร
- นำน้ำสับปะรดที่ได้มาวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ และปรับให้เป็น 22 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทราย และทำการปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 4.0 เพราะเป็นค่าที่เหมาะสมที่จะใช้ในการหมัก
- นำน้ำสับปะรดที่ได้ไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อ
- นำน้ำสับปะรดมาทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว แล้วทำการตวงน้ำสับปะรดลงในถังหมักที่ฆ่าเชื้อแล้ว ถังละ 2 ลิตร จนครบ 24 ถัง
- ทำการแบ่งถังหมักออกมา 12 ถัง เพื่อใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และอีก 12 ถัง ใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019
- จากนั้นทำการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟตลงไปในแต่ละถังตามในรูปที่ 3.1 ที่ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ (Control), 0.03 เปอร์เซ็นต์, 0.05 เปอร์เซ็นต์ และ0.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างละ 3 ซ้ำ
- เมื่อเสร็จขั้นตอนการเตรียมน้ำหมัก จะนำแต่ละถังไปใส่หัวเชื้อ (Starter) เพื่อทำการหมักต่อไป

<u>ชุดที่ 2</u> เป็นชุดการทดลองของสับปะรดพันธ์ภูเก็ต

- เตรียมน้ำสับปะรดของพันธุ์ภูเก็ตมาทั้งหมด 24 ลิตร ผสมกับน้ำเปล่าในอัตราส่วน 1 : 1 คือ 24 ลิตร รวมเป็นปริมาตรทั้งหมด 48 ลิตร
- นำน้ำสับปะรดที่ได้มาวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และปรับให้เป็น 22 องศาบริกซ์ ด้วยน้ำตาลทราย และทำการปรับค่าพีเอชให้เท่ากับ 4.0 เพราะเป็นค่าที่เหมาสมที่จะใช้ในการหมัก
- นำน้ำสับปะรดที่ได้ไปต้มให้เดือดเป็นเวลา 10 นาที เพื่อเป็นการฆ่าเชื้อ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- นำน้ำสับปะรดมาทำให้เย็นลงอย่างรวดเร็ว แล้วทำการตวงน้ำสับปะรดลงในถังหมักที่ฆ่าเชื้อแล้ว ถังละ 2 ลิตร จนครบ 24 ถัง
- ทำการแบ่งถังหมักออกมา 12 ถัง เพื่อใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และอีก 12 ถัง ใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019
- จากนั้นทำการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต ลงไปในแต่ละถังตามในรูปที่ 3.1 ที่ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ (Control), 0.03 เปอร์เซ็นต์, 0.05 เปอร์เซ็นต์ และ0.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ อย่างละ 3 ซ้ำ
- เมื่อเสร็จขั้นตอนการเตรียมน้ำหมัก จะนำแต่ละถังไปใส่หัวเชื้อ (Starter) เพื่อทำการหมักต่อไป

เมื่อจบขั้นตอนการเตรียมน้ำหมักเราจะนำแต่ละถังมาเตรียมพร้อมต่อการหมักโดยการเติมหัวเชื้อ ด้วยเทคนิคปลอดเชื้อ ซึ่งก่อนที่จะใส่หัวเชื้อลงไปนั้น จะมีการนับจำนวนเซลล์เริ่มต้นของหัวเชื้อก่อน โดยจะทำการนับจำนวนเซลล์ และนำมาทำการคำนวณ เพื่อปรับปริมาณเซลล์ของเชื้อให้มีความเท่ากันทุกฟลาสก์ก่อนจะนำไปใส่ในถังหมัก ซึ่งเป็นการควบคุมปริมาณหัวเชื้อเริ่มต้นก่อนการหมัก เพื่อให้ง่ายต่อการศึกษาการเพิ่มหรือลดของจำนวนเซลล์หลังจากหมักแล้ว

และเมื่อทำการควบคุมจำนวนหัวเชื้อให้เท่ากันแล้วจึงทำการเทหัวเชื้อลงไปในถังหมัก โดยจะใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ลงไปในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียจำนวน 12 ถัง และพันธุ์ภูเก็ตจำนวน 12 ถัง และใส่เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ลงไปในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียจำนวน 12 ถัง และพันธุ์ภูเก็ตจำนวน 12 ถัง เช่นกัน โดยการเติมเชื้อจะดูที่ความเข้มข้นต่างๆของไดแอมโมเนียมฟอสเฟตด้วยคือ ที่ความเข้มข้น 0 เปอร์เซ็นต์ (Control), 0.03 เปอร์เซ็นต์, 0.05 เปอร์เซ็นต์ และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ อย่างละ 3 ซ้ำ (ดูตามในรูปที่ 3.1)

จากนั้นเมื่อใส่หัวเชื้อแล้ว จะนำแต่ละถังหมักไปบ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน โดยการหมักจะใช้การหมักแบบไม่ใช้ออกซิเจน (Anaerobic Fermentation) ซึ่งเป็นกระบวนการหมักสำหรับการหมักเอทานอล เมื่อหมักครบ 7 วันแล้ว จะนำน้ำหมักสับปะรดที่ได้ไปวิเคราะห์คุณสมบัติหลังหมักด้วยการวัดปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้หลังหมัก วัดพีเอชหลังหมัก นับจำนวนเซลล์หลังหมัก และนำตัวอย่างน้ำหมักทั้ง

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

48 ตัวอย่างไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลหลังหมักด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography) เพื่อดูแนวโน้มในการผลิตเอทานอลในระยะของการหมักน้ำสับปะรด

3.2.5 ศึกษาการผลิตบรั่นดีสับปะรดด้วยการกลั่น

นำน้ำหมักสับปะรดที่ได้จากข้อ 3.2.4.2 ทั้งหมด 48 ตัวอย่าง มาทำการกลั่นด้วยเครื่องกลั่นแบบ Pot Still เพื่อให้ได้เอทานอลออกมา เงื่อนไขในการกลั่นจะใช้อุณหภูมิ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เอทานอลจะระเหยออกมา จากนั้นนำเอทานอลที่ได้ไปบรรจุลงขวดเพื่อนำไปวิเคราะห์หาองค์ประกอบต่างๆในน้ำบรั่นดีด้วยเครื่อง GC (Gas Chromatography) โดยวิธีของ NREL (National Renewable Energy Laboratory) (David, 1994) ใช้แผนการทดลองแบบสุ่มตลอด (Completely Randomized Design, CRD) ทรีทเม้นต์ละ 3 ซ้ำ จากการศึกษานี้สามารถคัดเลือกสายพันธุ์ของยีสต์ และพันธุ์สับปะรดในการผลิตบรั่นดีที่ให้ปริมาณเอทานอลสูงได้ และนำไปศึกษาในขั้นต่อไป

3.2.6 วิเคราะห์องค์ประกอบต่างๆของบรั่นดีสับปะรด

นำบรั่นดีที่ได้จากข้อ 3.2.5 ทั้งหมด 48 ตัวอย่าง มาทำการวิเคราะห์สารองค์ประกอบต่างๆทั้งหมด 4 ชนิด คือ เอทานอล เอ็นโพรพานอล เอทิลอะซิเตต และบิวทานอล โดยการเปรียบเทียบกับสารมาตรฐานของสารเหล่านั้นด้วยการวิเคราะห์โดยเครื่อง GC (Gas Chromatography) โดยวิธีของ NREL (David, 1994) เพื่อดูปริมาณสารองค์ประกอบทั้ง 4 ชนิด ว่ามีในผลิตภัณฑ์บรั่นดีนี้หรือไม่ โดยการวิเคราะห์ในขั้นแรก จะทำการคัดเลือกหาตัวอย่างบรั่นดีที่มีปริมาณเอทานอลสูงที่สุดก่อน โดยเทียบกับสารมาตรฐานเอทานอล เมื่อคัดเลือกตัวอย่างที่ดีที่สุดได้แล้ว จึงนำมาวิเคราะห์หาสารองค์ประกอบอื่นๆที่เหลืออีก 3 ตัว คือ เอ็นโพรพานอล เอทิลอะซิเตต และบิวทานอล โดยเทียบกับสารมาตรฐานของสาร 3 ตัวนั้น ในการวิเคราะห์ขั้นต่อไปเพื่อดูว่ามีหรือไม่มีสารตัวใดบ้าง และนำมาสรุปผล ถ้าหากมีสารนั้นๆอยู่ในตัวอย่างจะนำไปศึกษาต่อว่าปริมาณความเข้มข้นของไดแอมโมเนียมฟอสเฟตมีผลต่อการผลิตสารนั้นๆหรือไม่

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

3.2.7 ศึกษาสภาวะที่ดีที่สุดในการหมักสับปะรดโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือก

หลังจากทำการคัดเลือกตัวอย่างที่ดีที่สุดจากข้อ 3.2.6 แล้วจะนำตัวอย่างในสภาวะเงื่อนไขนั้นๆมาทำการหมักซ้ำอีกครั้งเพื่อศึกษาการเจริญที่เพิ่มขึ้นในแต่ละวัน โดยจะทำการหมักทั้งหมดเป็นเวลา 7 วัน ซึ่งเป็นระยะเวลาที่เหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ และในแต่ละวันจะนำตัวอย่างแบ่งออกมาทำการวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (องศาบริกซ์) เพื่อดูปริมาณการใช้น้ำตาลของเชื้อยีสต์ในการเจริญ และทำการวัดพีเอชเพื่อดูการเปลี่ยนแปลงพีเอช โดยเทียบกับค่าพีเอชเริ่มต้นว่าเพิ่มขึ้นหรือลดลง และทำการนับจำนวนเซลล์ว่าในแต่ละวันมีอัตราการเจริญเป็นไปในแนวทางใด และนำตัวอย่างน้ำหมักไปตรวจสอบปริมาณเอทานอลที่ผลิตได้ในแต่ละวันเพื่อดูแนวโน้มของการผลิตเอทานอล หลังจากการหมักครบ 7 วัน นำน้ำหมักที่ได้ไปทำการกลั่นเพื่อให้ได้บรั่นดีออกมา และนำบรั่นดีที่ได้ไปวิเคราะห์ตามหัวข้อที่ 3.2.6 และนำผลที่ได้มาเปรียบเทียบกันว่ามีความสอดคล้องกันกับชุดการทดลองก่อนหน้านี้หรือไม่เพื่อเป็นการยืนยันการทดลองว่าการคัดเลือกนี้ถูกต้อง

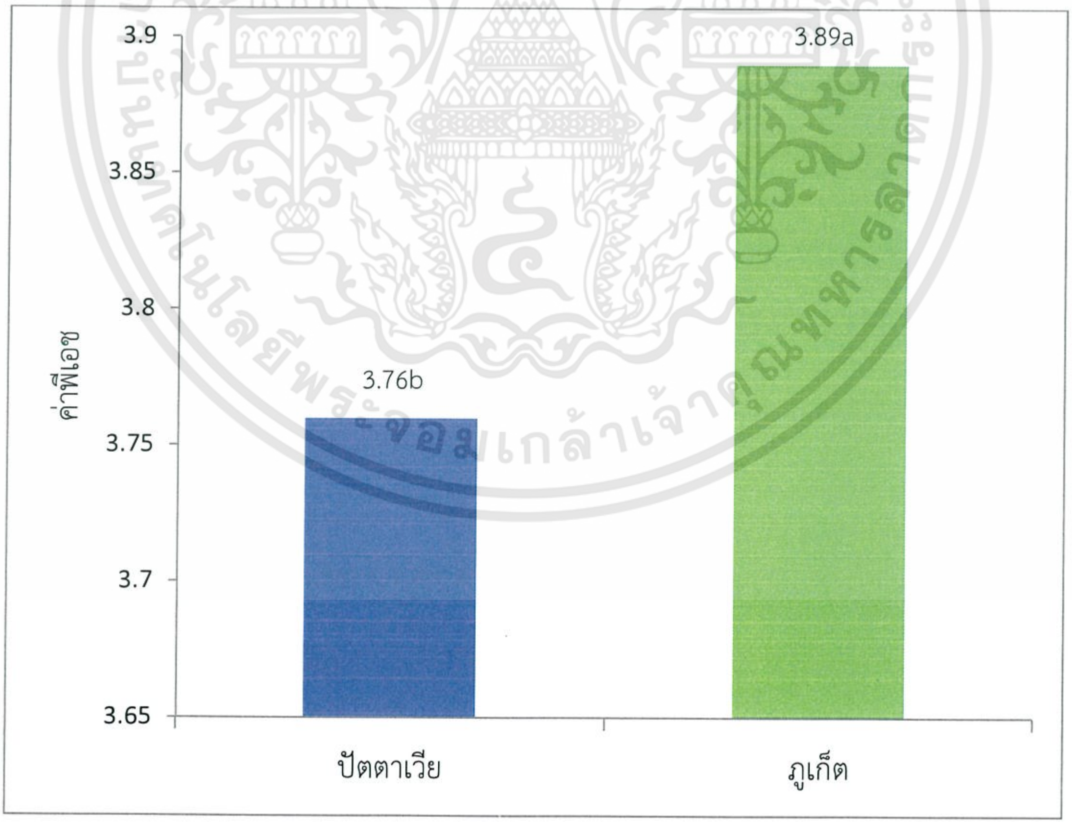
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 4

ผลการทดลองและอภิปราย

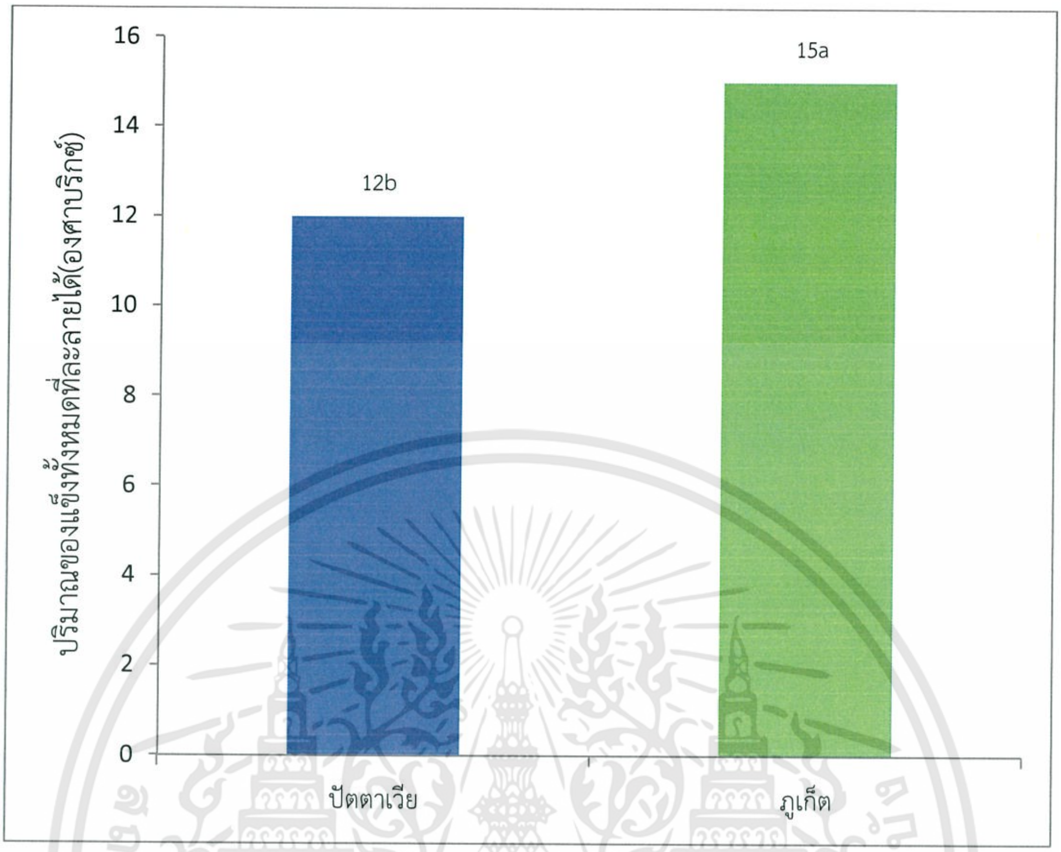
4.1 ศึกษาองค์ประกอบน้ำสับปะรด

นำน้ำสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ตมาวิเคราะห์ค่าต่างๆ พบว่าค่าพีเอชเริ่มต้นเฉลี่ยของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ตมีค่าเท่ากับ 3.76 และ 3.89 ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 4.1 และค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เริ่มต้นเฉลี่ยของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และพันธุ์ภูเก็ตมีค่าเท่ากับ 12 และ 15 องศาบริกซ์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของนิอร (2554) และการศึกษาของ Panjai *et al.,* (2009) ที่ศึกษาว่าน้ำสับปะรดมีปริมาณน้ำตาลอยู่ในปริมาณค่อนข้างสูง ซึ่งผลการตรวจวิเคราะห์ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ในสับปะรดพบว่า มีค่าอยู่ระหว่าง 9-20 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับการศึกษาของ มนตรี (2532) ที่กล่าวว่าสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีรสชาติหวานกว่าสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย



รูปที่ 4.1 แสดงค่าพีเอชของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.2 แสดงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต

4.2 ศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ในสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต

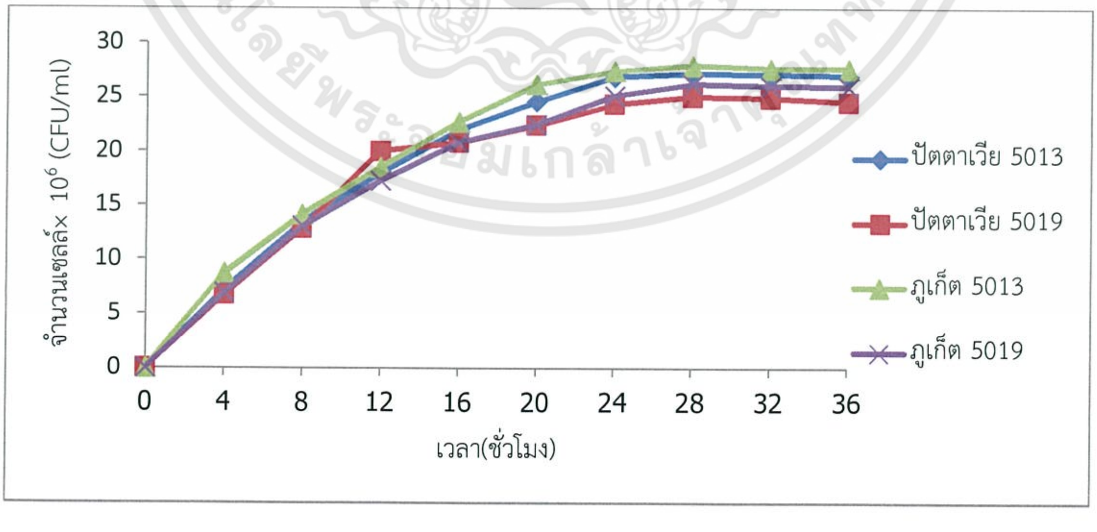
จากการใช้ยีสต์ทั้ง 2 สายพันธุ์มาหมักไวน์สับปะรด พบว่ายีสต์ทุกสายพันธุ์มีการเจริญเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในระยะแรกของการหมัก และค่อยๆเจริญน้อยลงจนคงที่ โดยจะมีการเจริญแตกต่างกัน พบว่าเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 มีการเจริญสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 28 โดยวัดจำนวนเซลล์ได้ 27.91×10^{6} CFU/ml (สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต) และ 27.17×10^{6} CFU/ml (สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย) ส่วนเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 มีการเจริญสูงสุดในชั่วโมงที่ 28 โดยวัดจำนวนเซลล์ได้ 26.21×10^{6} CFU/ml (สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต) และ 25.01×10^{6} CFU/ml (สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย) แสดงดังตารางที่ 4.1 และรูปที่ 4.3 ซึ่งสอดคล้องกับการทดลองของ Rose and Harrison (1970) ที่ศึกษาว่าสับปะรดประกอบด้วยแร่ธาตุต่างๆ ที่จำเป็นต่อเซลล์ยีสต์ เช่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ฟอสฟอรัส แคลเซียม เหล็กแมงกานีส และแมกนีเซียม เป็นต้น ซึ่งมีส่วนช่วยเร่งกระบวนการหมักให้เร็วขึ้น และสอดคล้องกับการศึกษาของปราโมทย์ (2532) ที่ศึกษาความเป็นกรด-ด่าง (pH) เริ่มต้นอยู่ในช่วง 4-4.5 และเริ่มมีแนวโน้มลดลงอยู่ในช่วง 3-4 ตลอดระยะการหมัก ซึ่งมีความเหมาะสมต่อการเจริญของเชื้อ *S .cerevisiae*

ตารางที่ 4.1 แสดงการเจริญของเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* สายพันธุ์ต่างๆ

เวลา (ชั่วโมง)	จำนวนเซลล์×10^6 (CFU/ml)			
	ปัตตาเวีย		ภูเก็ต	
	S.cerevisiae TISTR 5013	*S.cerevisiae* TISTR 5019	*S.cerevisiae* TISTR 5013	*S.cerevisiae* TISTR 5019
0	0	0	0	0
4	7.21	6.72	8.73	6.89
8	13.45	12.86	14.17	13.06
12	17.96	19.98	18.49	17.23
16	21.97	20.76	22.69	20.81
20	24.57	22.37	26.18	22.46
24	26.85	24.32	27.4	25.13
28	27.17	25.01	27.91	26.21
32	27.11	24.89	27.63	26.02
36	26.98	24.53	27.61	25.97



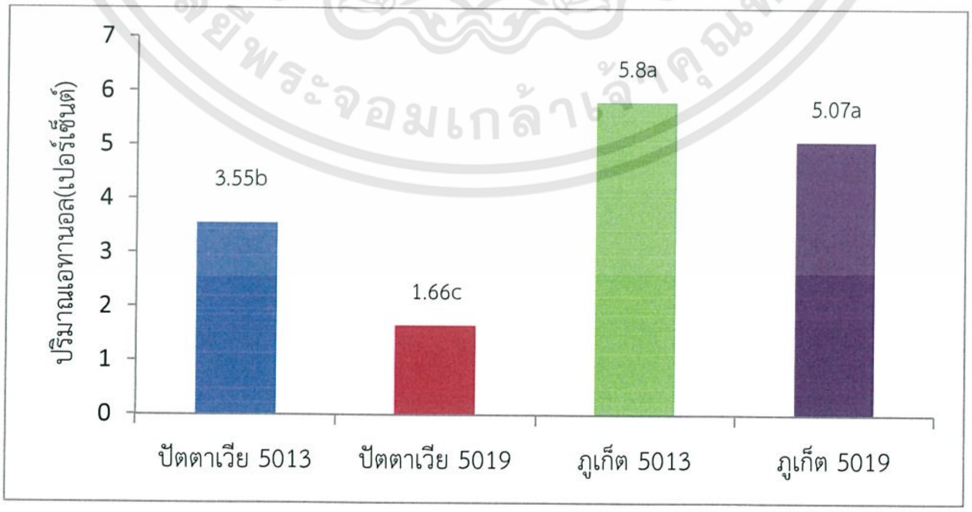
รูปที่ 4.3 แสดงการเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.3 ศึกษาการหมักไวน์สับปะรดโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ*S. cerevisiae* TISTR 5019

ปริมาณเอทานอล

จากการทดลองการหมักไวน์สับปะรดโดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต ใช้อัตราส่วนน้ำสับปะรดต่อน้ำ เท่ากับ 1:1 พบว่า ไวน์ที่มีปริมาณเอทานอลสูง เมื่อหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ในน้ำสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีปริมาเอทานอลเท่ากับ 5.38 เปอร์เซ็นต์ และ 5.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 3.55 เปอร์เซ็นต์ และ 1.66 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แสดงดังรูปที่ 4.4 ซึ่งการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของพรทิภา (2531) ที่ศึกษาการผลิตไวน์ส้ม โดยแปรอัตราส่วนของน้ำส้มต่อน้ำเป็น 100:0, 75:25, 50:50 และ 25:75 จากการทดลองพบว่าอัตราส่วนที่เหมาะสมต่อการหมักไวน์ส้ม คือ 50:50 จะได้ไวน์ที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุด และการทดลองของมนชิดา และวิลาสินี (2542) ที่ศึกษาปริมาณสารอาหารที่ส่งผลต่อเชื้อ ถ้าปริมาณสารอาหารมีอยู่จำกัด จะส่งผลให้ผลิตเอทานอลได้จำกัดตามไปด้วย นอกจากนี้ถ้าใช้ปริมาณกล้าเชื้อน้อยกว่า 5 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้เวลาในการหมักไวน์นานขึ้นและเกิดเอทานอลช้า เนื่องจากในระหว่างที่เชื้อเจริญ เชื้อจะผลิตผลิตภัณฑ์ที่เป็นเอทานอลออกมา ดังนั้นถ้าหากเชื้อมีอัตราการเจริญต่ำ ก็จะมีผลให้ผลิตเอทานอลได้ต่ำหรือช้าตามไปด้วย

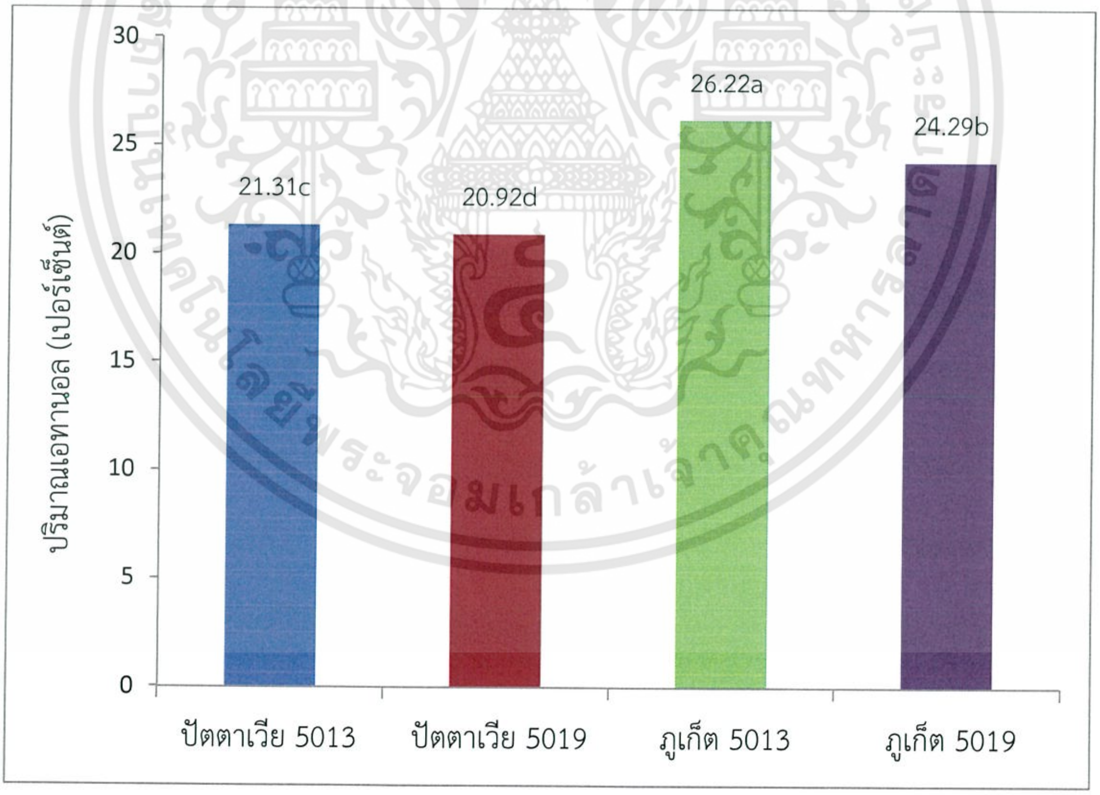


รูปที่ 4.4 แสดงปริมาณเอทานอลของไวน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.4 ศึกษาการผลิตบรั่นดีสับปะรดโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย และสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019

จากการทดลองการหมักไวน์สับปะรดโดยใช้เชื้อยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต แล้วนำมากลั่นเพื่อให้ได้เป็นบรั่นดี พบว่า บรั่นดีที่มีปริมาณเอทานอลสูง เมื่อหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ในน้ำสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 26.22 เปอร์เซ็นต์ ส่วนการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ในน้ำสับปะรดพันธุ์ภูเก็ตมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 24.29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 21.31 เปอร์เซ็นต์ และการหมักโดยใช้เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียมีปริมาณเอทานอลเท่ากับ 20.92 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในรูปที่ 4.5



รูปที่ 4.5 แสดงปริมาณเอทานอลของบรั่นดี

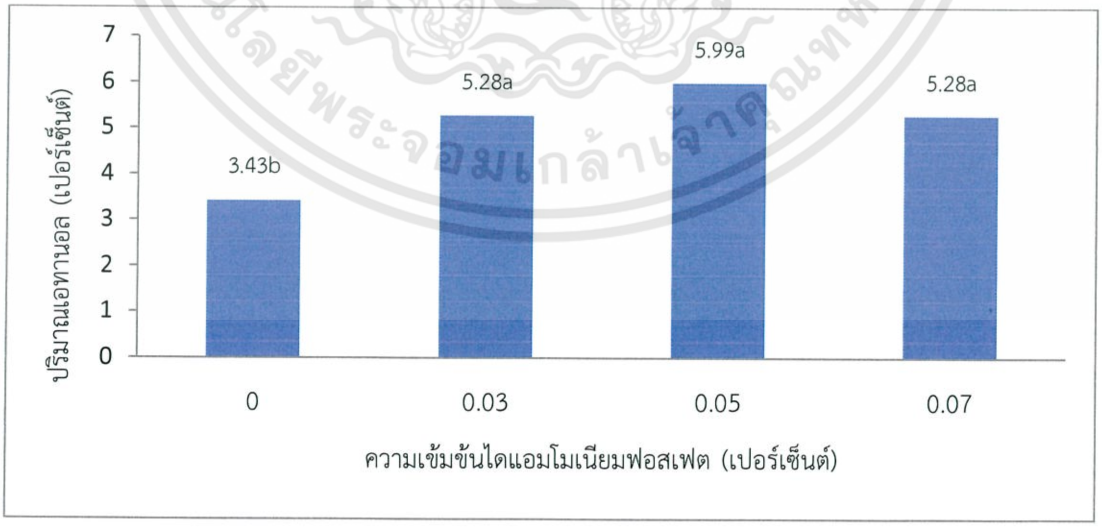
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.5 ศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์สับปะรด

ศึกษาปริมาณของแหล่งไนโตรเจน

จากการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต (DAP) เป็นแหล่งไนโตรเจน โดยปริมาณที่เติมลงไปเท่ากับ 0.03 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ในการหมักไวน์สับปะรดโดยใช้เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019 และสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต พบว่าการเติมแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ จะให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเมื่อเทียบการใช้แอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ ไวน์สับปะรดที่ไม่ได้เติมแหล่งไนโตรเจน ซึ่งเป็นชุดควบคุม ดังแสดงในรูปที่ 4.6–4.9 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของสมบูรณ์ (2535) โดยศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักไวน์น้ำผึ้ง โดยใช้น้ำผึ้งจากสาบเสือเป็นวัตถุดิบใช้ยีสต์ 3 สายพันธุ์ สารอาหารที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนคือ แอมโมเนียมฟอสเฟต และแอมโมเนียมซัลเฟต 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ โดยให้การทดลองที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจนเป็นชุดควบคุม

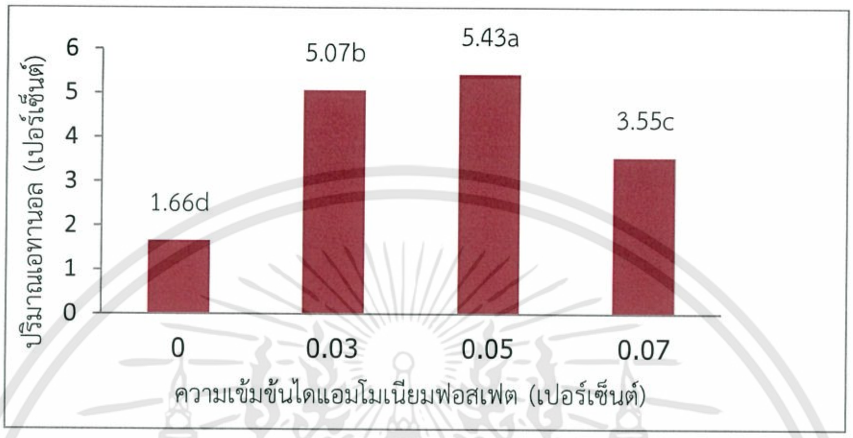
การหมักไวน์โดยใช้สับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *S.cerevisiae* TISTR 5013 พบว่าการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5.99 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการเติมแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอทานอลเท่ากับ 5.28 เปอร์เซ็นต์ และ 5.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 3.43 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูปที่ 4.6



รูปที่ 4.6 แสดงปริมาณเอทานอลของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ

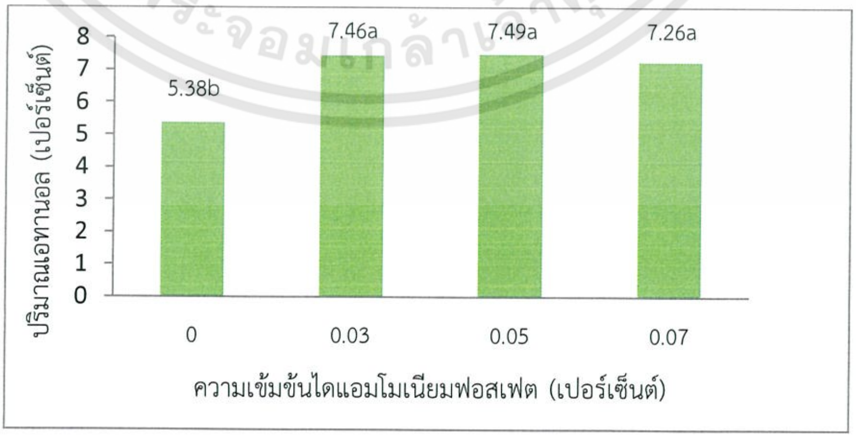
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักไวน์โดยใช้สับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 พบว่าการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 5.43 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ 0.07 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม (Control) ที่มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 5.07 3.55 และ 1.66 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 แสดงปริมาณเอทานอลของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ

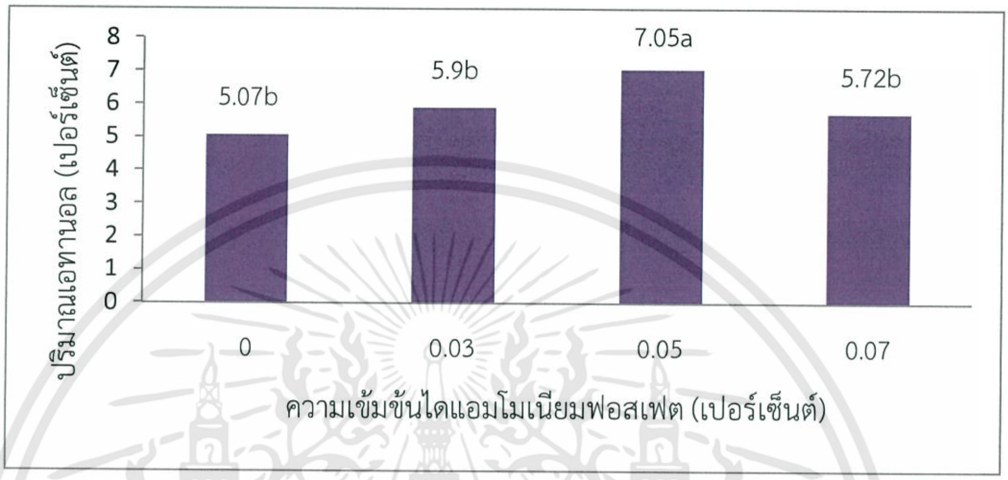
การหมักไวน์โดยใช้สับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 พบว่าการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 7.49 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ ที่มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 7.46 และ 7.26 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับชุดควบคุมที่ไม่มีการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 5.38 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในรูป 4.8



รูปที่ 4.8 แสดงปริมาณเอทานอลของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การหมักไวน์โดยใช้สับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 พบว่าการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยสูงสุดเท่ากับ 7.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการเติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ 0.07 เปอร์เซ็นต์ และชุดควบคุม มีค่าเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 5.9 5.72 และ 5.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.9



รูปที่ 4.9 แสดงปริมาณเอทานอลของไวน์สับปะรด หมักโดยสับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5019 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตต่างๆ

จากความแตกต่างของปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟต พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่ผลิตขึ้นทั้งในไวน์สับปะรดและในบรั่นดีสับปะรด โดยไวน์สับปะรดที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุดมีค่าเท่ากับ 7.49 เปอร์เซ็นต์ หมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ (น้ำหนักต่อปริมาตร) ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับไวน์ที่หมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.03 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 5.28 6.04 และ 5.28 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ และไวน์ที่หมักจากสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ไม่เติมไดแอมโมเนียมฟอสเฟต มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 1.66 เปอร์เซ็นต์ และไวน์ที่หมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.03 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 7.46 เปอร์เซ็นต์ และไวน์ที่หมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้น 0.03 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ย

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ร้อยละ 5.97 5.91 และ 5.73 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับดังแสดงตารางที่ 4.2 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของศิริพร (2540) ศึกษาปัจจัยที่มีผลในการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีระหว่างการบ่มไวน์หม่อน โดยใช้เชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์ ใช้แอมโมเนียมฟอสเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยใช้ 0.00, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ พบว่าปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟตที่เหมาะสมคือ 0.03 เปอร์เซ็นต์ และสอดคล้องกับการศึกษาของยุทธพล (2542) ได้ทำการหาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตไวน์น้ำตาลโตนดโดยการศึกษาผลของการใช้ไดแอมโมเนียมฟอสเฟต พบว่าปริมาณที่เหมาะสมคือ 0.05 เปอร์เซ็นต์

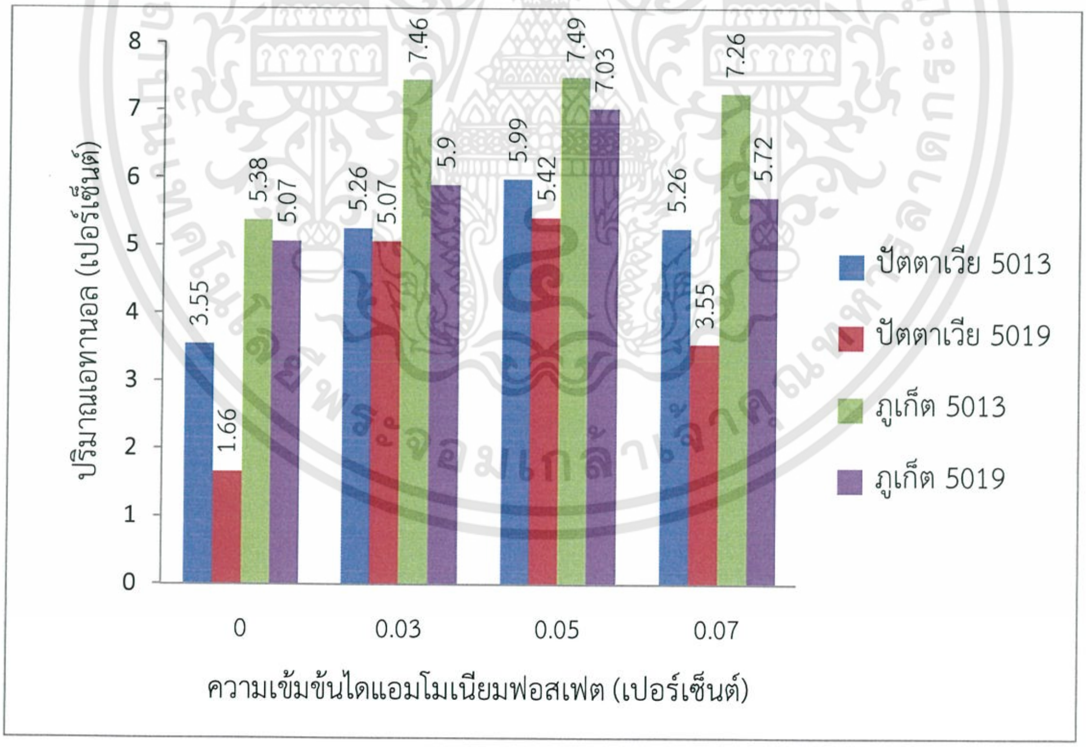
ส่วนบรั่นดีสับปะรดที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุดมีค่าเท่ากับ 30.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งกลั่นจากไวน์ที่หมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟต เท่ากับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับบรั่นดีที่กลั่นได้จากไวน์ที่ทำการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.03 เปอร์เซ็นต์ และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 25.77 และ 25.77 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งยังไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับบรั่นดีที่กลั่นได้จากไวน์ที่ทำการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 29.74 เปอร์เซ็นต์ ดังแสดงในตารางที่ 4.3

จากการความแตกต่างของปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟต พบว่ามีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่ผลิตขึ้นทั้งในไวน์สับปะรดและในบรั่นดีสับปะรด ปริมาณเอทานอลเฉลี่ยของไวน์สับปะรดแต่ละชนิดแปรผันตรงกับปริมาณเอทานอลเฉลี่ยของบรั่นดีที่กลั่นจากไวน์สับปะรดชนิดต่างๆ แสดงดังรูปที่ 4.10 และ 4.11

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.2 แสดงปริมาณเอทานอล (ร้อยละ) ของไวน์ที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต และยีสต์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ*S. cerevisiae* TISTR 5019 ที่ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

พันธุ์	ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (เปอร์เซ็นต์)			
	Control	0.05	0.07	0.03
สับปะรดปัตตาเวีย *S.cerevisiae* 5013	3.43al	6.04ceknp	5.28bdejkmnp	5.28bdejkmnp
สับประรดปัตตาเวีย *S.cerevisiae* 5019	1.66bcdejkmnp	5.43fgho	3.43fgho	5.07fgho
สับปะรดภูเก็ต *S.cerevisiae* 5013	5.39a	7.49bcdejkmnp	7.26l	7.46bdejkmp
สับปะรดภูเก็ต *S.cerevisiae* 5019	5.07bdejkmp	7.05fgho	5.73bcdejkmnp	5.91bcdeknp

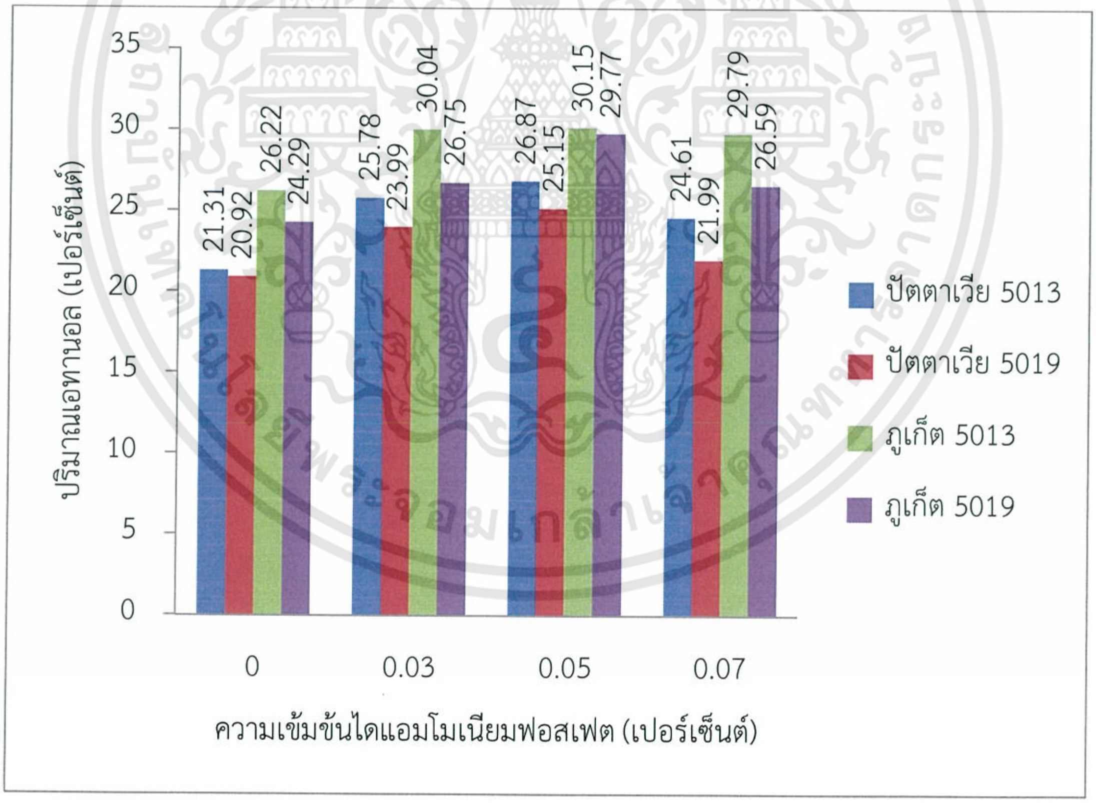


รูปที่ 4.10 แสดงปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์) ของไวน์ที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ และปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ตารางที่ 4.3 แสดงปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์) ของบรั่นดีที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ และปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

พันธุ์	ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต (เปอร์เซ็นต์)			
	control	0.05	0.07	0.03
สับปะรดปัตตาเวีย *S.cerevisiae* 5013	24.29abdil	26.24bcejmnp	21.06adil	21.06bcejmnp
สับปะรดปัตตาเวีย *S.cerevisiae* 5019	29.94adil	30.19bcejmnp	26.83adil	26.83bcejmnp
สับปะรดภูเก็ต *S.cerevisiae* 5013	26.77cejmnp	30.3fgho	25.77fgho	25.77fgho
สับปะรดภูเก็ต *S.cerevisiae* 5019	26.33bcjmnp	29.74fgho	21.53bcejmnp	21.53bcejmnp



รูปที่ 4.11 แสดงปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์) ของบรั่นดีที่ได้จากการหมักโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ต่างๆ และปริมาณไดแอมโมเนียมฟอสเฟตที่ความเข้มข้นต่างๆ

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6 การวิเคราะห์ปัจจัยและองค์ประกอบต่างๆของบรั่นดีสับปะรดโดยใช้สับปะรดและยีสต์สายพันธุ์ที่ได้รับการคัดเลือกว่าให้ปริมาณเอทานอลสูง

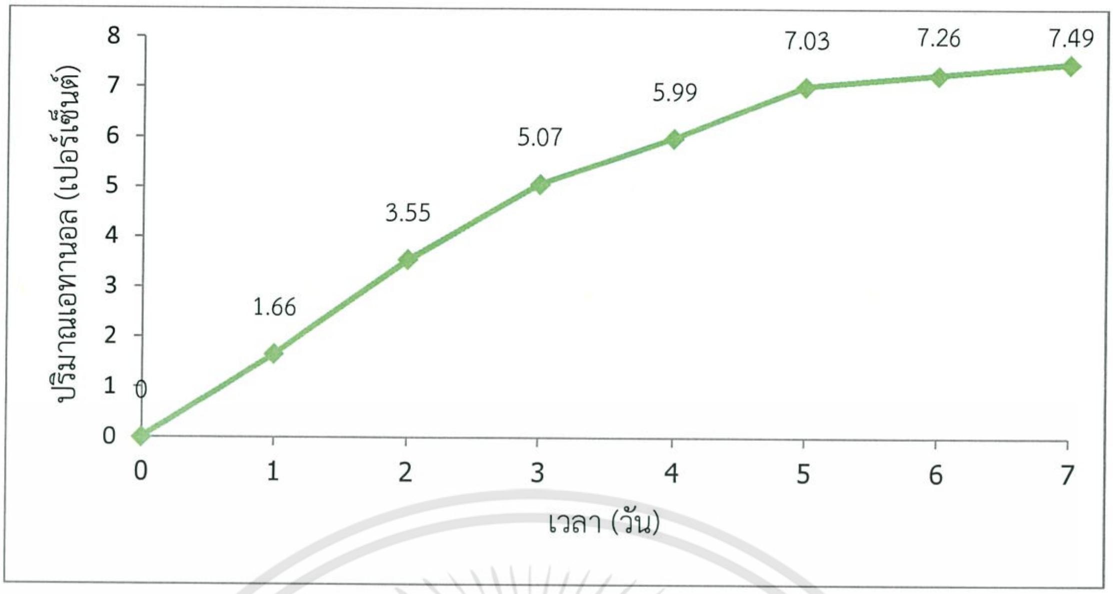
4.6.1 การศึกษาการเปลี่ยนแปลงปัจจัยต่างๆของไวน์สับปะรด

จากการคัดเลือกสภาวะที่เหมาะสมในการหมักไวน์เพื่อให้มีปริมาณเอทานอลสูง พบว่าการหมักไวน์โดยใช้สับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ให้ปริมาณเอทานอลสูงสุดเท่ากับ 7.49 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 ของการหมัก ซึ่งมีแนวโน้มเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อเทียบกับการหมักในแต่ละวัน ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.12 ซึ่งสอดคล้องกับการศึกษาของคณิต (2550) ที่ศึกษาวิจัยและพัฒนาการผลิตบรั่นดีผลไม้ 3 ชนิดที่ประกอบด้วย บรั่นดีกล้วยหอม บรั่นดีมะม่วง และบรั่นดีมะขาม พบว่ามีปริมาณเอทานอลที่วัดได้เมื่อทำการหมักครบ 14 วัน มีค่าจะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็น 12.80 เปอร์เซ็นต์โดยปริมาตร ปริมาณกรดรวมนั้นจะมีค่าเพิ่มขึ้นจาก 4.75 กรัมต่อลิตร เป็น 6.43 กรัมต่อลิตร ค่าความเป็นกรดด่างจะลดลงจากเริ่มต้นจนเหลือ 3.85 ปริมาณน้ำตาลนั้นจะลดลงจากเริ่มต้น 23.00 องศาบริกซ์ จนมีค่าเป็น 6.50 องศาบริกซ์ จำนวนเชื้อยีสต์ในน้ำหมักมีค่า 2.30 x 10^6 เซลล์ต่อมิลลิลิตร

ตารางที่ 4.4 แสดงค่าจำนวนเซลล์ (CFU/ml), ค่าปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์), ค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (องศาบริกซ์) และค่าพีเอชของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน

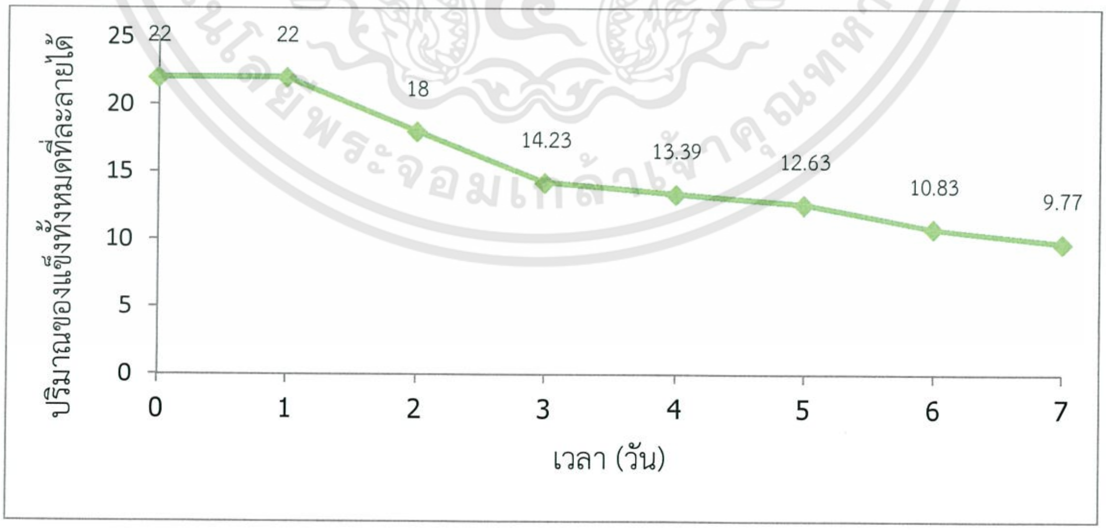
วันที่	จำนวนเซลล์×10^6 (CFU/ml)	ปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์)	ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ (องศาบริกซ์)	พีเอช
0	27.55	0.00	22.00	4.00
1	28.54	1.66	22.00	4.00
2	29.16	3.55	18.00	3.96
3	30.18	5.07	14.23	3.89
4	39.42	5.99	13.39	3.87
5	45.63	7.03	12.63	3.79
6	43.58	7.26	10.83	3.78
7	43.24	7.49	9.77	3.72

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้



รูปที่ 4.12 แสดงค่าปริมาณเอทานอล (เปอร์เซ็นต์) ของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน

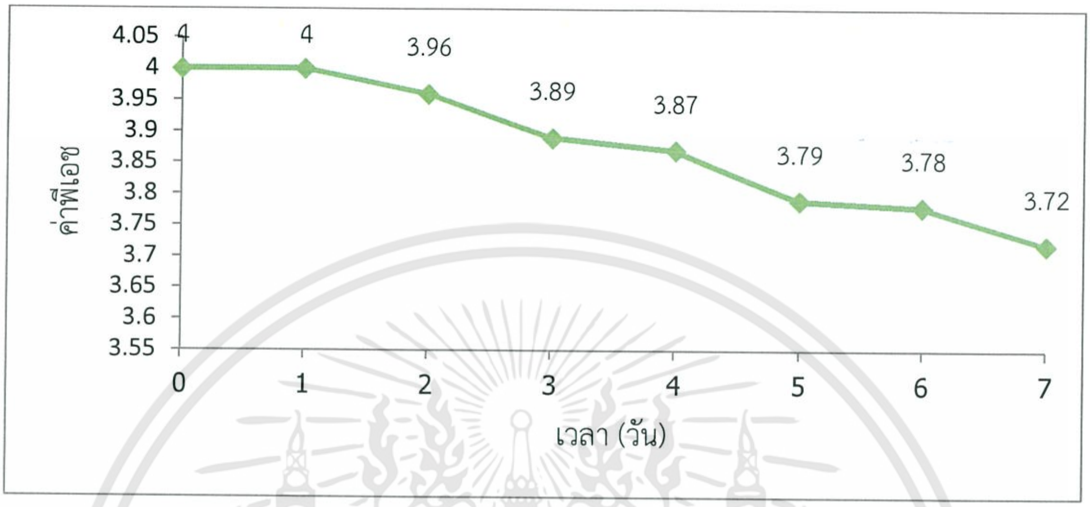
การเปลี่ยนแปลงปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของไวน์สับปะรด พบว่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้จะลดปริมาณลงเรื่อยๆ ตามระยะเวลาในการหมัก และมีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่ผลิตขึ้น โดยใช้ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เริ่มต้นเท่ากับ 22 องศาบริกซ์ พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป ปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ลดลงเรื่อยๆจนมีค่าเท่ากับ 9.77 องศาบริกซ์ในวันที่ 7 ของการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.13



รูปที่ 4.13 แสดงค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้ของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน

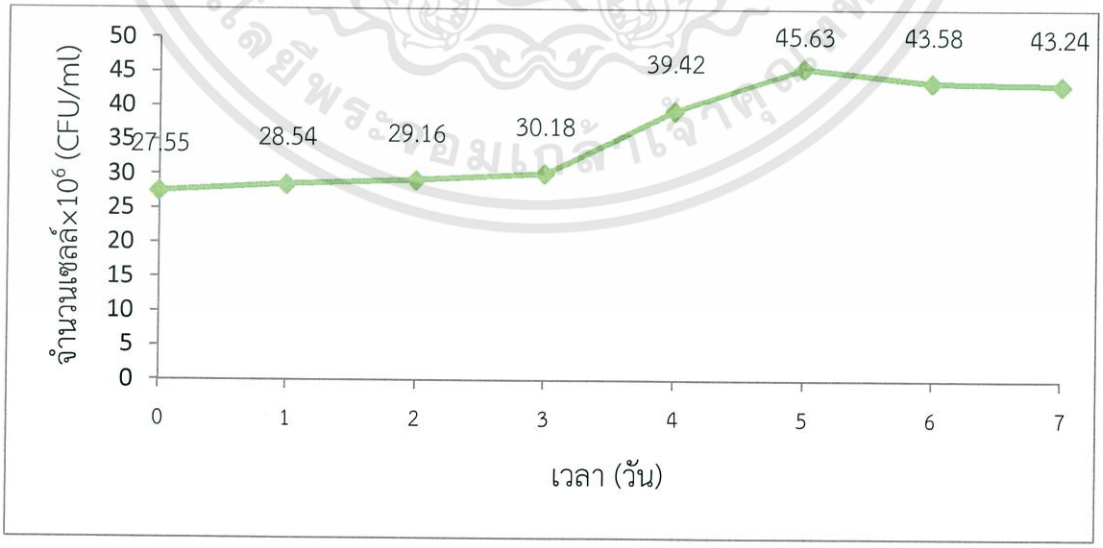
เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

การเปลี่ยนแปลงพีเอชของไวน์สับปะรด พบว่าพีเอชจะลดลงเรื่อยๆตามระยะเวลาในการหมัก และมีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่ผลิตขึ้น โดยใช้พีเอชเริ่มต้นเท่ากับ 4 พบว่าเมื่อเวลาผ่านไปพีเอชจะลดลงเรื่อยๆจนมีค่าเท่ากับ 3.72 ในวันที่ 7 ของการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.14



รูปที่ 4.14 แสดงค่าพีเอชของไวน์สับปะรดในแต่ละวัน

การเปลี่ยนแปลงจำนวนเซลล์ (CFU/ml) ในไวน์สับปะรด พบว่าจำนวนเซลล์จะเพิ่มปริมาณขึ้นเรื่อยๆ จนคงที่ตามระยะเวลาในการหมัก และมีความสัมพันธ์กับปริมาณเอทานอลที่ผลิตขึ้น โดยใช้จำนวนเซลล์เริ่มต้นเท่ากับ 27.55×10^6 CFU/ml พบว่าเมื่อเวลาผ่านไป จำนวนเซลล์จะเพิ่มขึ้นเรื่อยๆจนมีค่าเท่ากับ 43.26×10^6 CFU/ml ในวันที่ 7 ของการหมัก ดังแสดงในตารางที่ 4.4 และรูปที่ 4.15

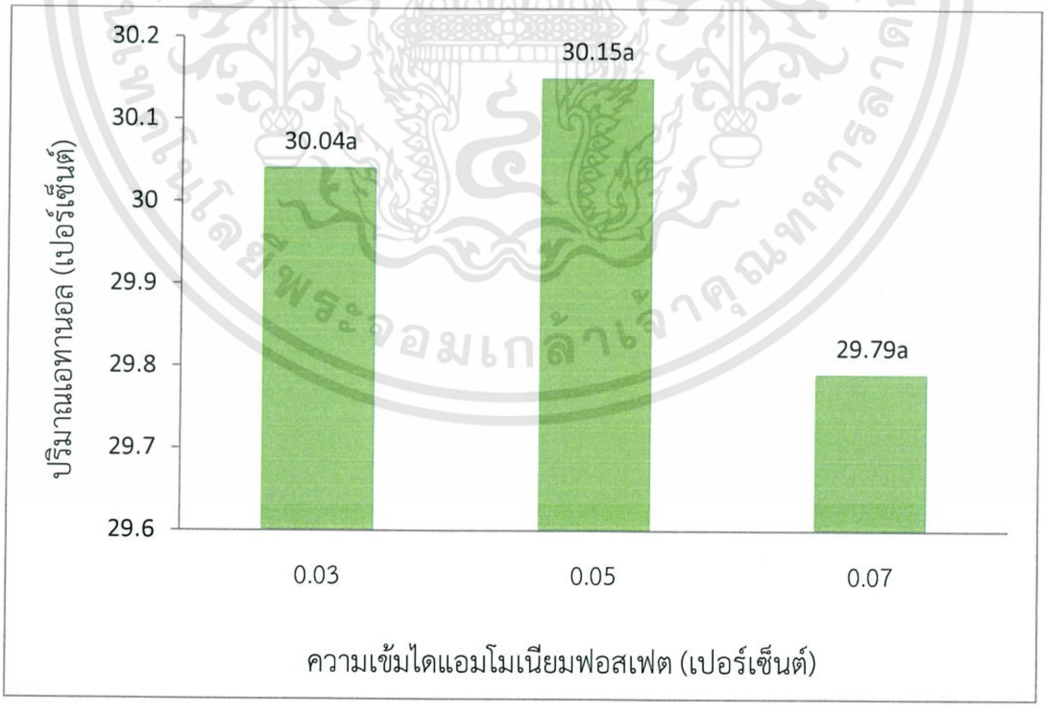


รูปที่ 4.15 แสดงจำนวนเซลล์ของเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

4.6.2 ศึกษาองค์ประกอบต่างๆของบรั่นดีสับปะรด

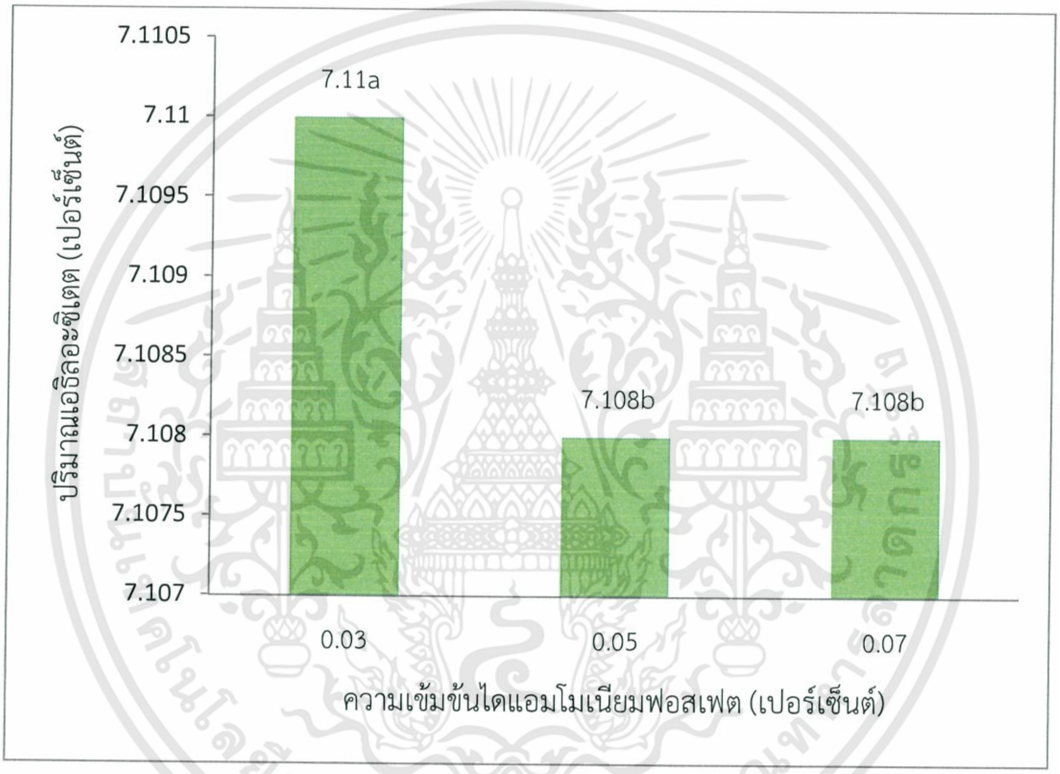
จากการวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลของไวน์และบรั่นดีสับปะรด จะพบว่าปริมาณเอทานอลของไวน์และบรั่นดีมีแนวโน้มเป็นไปในทิศทางเดียวกัน โดยปริมาณเอทานอลสูงสุดของไวน์ และบรั่นดีมีค่าเท่ากับ 7.49 และ 30.15 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ หมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.05 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อเทียบกับการหมักโดยใช้สับปะรดสายพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 30.04 และ 29.79 เปอร์เซ็นต์ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.16 ซึ่งการทดลองดังกล่าวสอดคล้องกับการศึกษาของสมบูรณ์ (2535) โดยศึกษาปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักไวน์น้ำผึ้ง โดยใช้น้ำผึ้งจากสาบเสือเป็นวัตถุดิบ ใช้เชื้อยีสต์ 3 สายพันธุ์ สารอาหารที่ใช้เป็นแหล่งไนโตรเจนคือ แอมโมนียมซัลเฟต และแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ โดยให้การทดลองที่ไม่เติมแหล่งไนโตรเจน และการศึกษาของศิริพร (2540) ศึกษาปัจจัยที่มีผลในการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีระหว่างการบ่มไวน์หม่อน โดยใช้เชื้อยีสต์ 2 สายพันธุ์ ใช้แอมโมเนียมฟอสเฟตเป็นแหล่งไนโตรเจน โดยใช้ 0.00, 0.01, 0.03, 0.05, 0.07 และ 0.09 เปอร์เซ็นต์ พบว่าปริมาณแอมโมเนียมฟอสเฟตที่เหมาะสมคือ 0.03 เปอร์เซ็นต์



รูปที่ 4.16 แสดงค่าปริมาณเอทานอลในบรั่นดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เมื่อนำบรั่นดีสับปะรดที่มีปริมาณเอทานอลสูงมาวิเคราะห์หาสารองค์ประกอบต่างๆ พบว่า มีปริมาณสารองค์ประกอบ ได้แก่ เอทิลอะซิเตต เท่ากับ 7.11 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับบรั่นดีที่หมักได้จากสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมเท่ากับ 0.03 และ 0.05 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ มีค่าปริมาณเอทิลอะซิเตต เท่ากับ 7.108 และ 7.1081 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ดังแสดงในรูปที่ 4.17 ซึ่งมีปริมาณน้อยกว่าที่กำหนดไว้ในมาตรฐาน มอก. (สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม, 2544 : 2088-2544)



รูปที่ 4.17 แสดงค่าปริมาณเอทิลอะซิเตตที่ของบรั่นดี

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและวิจารณ์ผลการทดลอง

จากการศึกษาองค์ประกอบของน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต พบว่าค่าพีเอชเริ่มต้นของน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต มีค่าเท่ากับ 3.76 และ 3.89 ตามลำดับซึ่งมีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ส่วนค่าปริมาณของแข็งทั้งหมดที่ละลายได้เริ่มต้นของสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต มีค่าเท่ากับ 12 และ 15 องศาบริกซ์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการศึกษาการเจริญของเชื้อยีสต์สายพันธุ์ต่างๆในน้ำสับปะรดพบว่า ในน้ำสับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 มีการเจริญสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 28 โดยวัดจำนวนเซลล์ได้ 27.17×10^{6} และ 25.01×10^{6} CFU/ml ตามลำดับ และในน้ำสับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 และเชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 มีการเจริญสูงสุดที่ชั่วโมงที่ 28 โดยวัดจำนวนเซลล์ได้ 27.91×10^{6} และ 26.21×10^{6} CFU/ml ตามลำดับ จากการหมักไวน์สับปะรดโดยใช้เชื้อยีสต์สายพันธุ์ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต ใช้อัตราส่วนน้ำต่อน้ำสับปะรดเท่ากับ 1:1 เตรียมหัวเชื้อยีสต์แต่ละสายพันธุ์ตามระยะเวลาที่ได้ศึกษาในขั้นต้น (เลือกใช้ระยะเวลา 24 ชั่วโมง เพราะเป็นช่วงการเจริญเติบโตของเชื้อในระยะ log phase) หมักไวน์สับปะรดที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 7 วัน พบว่าการใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ทำให้ไวน์สับปะรดที่ได้มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ย 5.38 เปอร์เซ็นต์ ในวันที่ 7 ของการหมัก ซึ่งสูงกว่าการใช้สับปะรดและเชื้อยีสต์สายพันธุ์อื่นๆ และไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการหมักไวน์โดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 5.07 เปอร์เซ็นต์ ภายหลังการหมักนำไวน์สับปะรดที่ได้จากการใช้สับปะรด 2 พันธุ์ เชื้อ 2 สายพันธุ์ มาทำการกลั่นให้เป็นบรั่นดี และนำไปวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลเฉลี่ย พบว่าบรั่นดีที่ได้จากไวน์ที่ทำการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ยมากที่สุดเท่ากับ 26.22 เปอร์เซ็นต์ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ รองลงมาคือ บรั่นดีที่ได้จากไวน์ที่ทำการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces*

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

cerevisiae TISTR 5019 มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 24.29 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ

จากการศึกษาปริมาณแหล่งไนโตรเจนที่เหมาะสมในการหมักไวน์สับปะรด พบว่าการใช้ไดแอมโมเนียมฟอสเฟตความเข้มข้น 0.05 เปอร์เซ็นต์ จะทำให้ไวน์และบรั่นดีที่ได้มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ยสูงสุด โดยไวน์ที่ทำการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 7.49 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญเมื่อเทียบกับการหมักไวน์โดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 7.46 เปอร์เซ็นต์ จึงเลือกบรั่นดีที่ทำจากไวน์ที่มีปริมาณเอทานอลสูงสุดมาใช้ในการศึกษาต่อไป

จากการศึกษาสารองค์ประกอบต่างๆในบรั่นดี พบว่าในบรั่นดีที่ได้จากไวน์ที่ทำการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.05 เปอร์เซ็นต์ มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ย 30.15 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติเมื่อเทียบกับการหมักโดยใช้สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟตเท่ากับ 0.03 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์ มีค่าปริมาณเอทานอลเฉลี่ยเท่ากับ 30.04 และ 29.79 เปอร์เซ็นต์ ตามลำดับ ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของ Roberto *et al.* (2013) พบว่าปริมาณเอทานอลที่ได้จากการกลั่นไวน์ครั้งแรกมีค่าเท่ากับ 20-22 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) แล้วเมื่อทำการกลั่นครั้งที่สองจะมีค่าปริมาณเอทานอล เท่ากับ 60 เปอร์เซ็นต์ (ปริมาตรต่อปริมาตร) และนำมาวิเคราะห์ปริมาณเอทิลอะซิเตต มีค่าเท่ากับ 7.108 เปอร์เซ็นต์ ซึ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ เมื่อนำมาเปรียบเทียบกับงานวิจัยของ Roberto *et al.* (2013) พบว่าปริมาณเอทิลอะซิเตตในงานวิจัยมีค่าเท่ากับ 90.95 กรัมต่อเฮคโตลิตร ซึ่งไม่สอดคล้องกับปริมาณเอทิลอะซิเตตที่ได้จากการทดลอง สาเหตุน่าจะมาจากวัตถุดิบที่นำมาใช้ในการหมัก ปริมาณน้ำหมัก และเชื้อแตกต่างกัน นอกจากนี้ จากการทดลองไม่พบสารบิวทานอล เมื่อนำไปเทียบกับงานวิจัยของ Zong *et al.* (2016), Xiaoning *et al.* (2016), Lipousky *et al.* (2016), Wen *et al.* (2016) และ Tahereh *et al.* (2016) พบว่าตรวจพบสารบิวทานอล ซึ่งไม่สอดคล้องกับการทดลอง สาเหตุน่าจะเป็นผลมากจากการใช้เชื้อต่างสายพันธุ์กัน โดยงานวิจัยใช้เชื้อ *Clostridium* sp. แต่ในการทดลองใช้เชื้อ *S. cerevisiae* และอุณหภูมิส่งผลต่อการตรวจพบบิวทานอล เนื่องจากอุณหภูมิที่เราใช้กลั่นบรั่นดีอยู่ที่ 80 องศาเซลเซียส ซึ่งเป็นอุณหภูมิที่เป็นจุดเดือด

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ของเอทานอล ถ้าอุณหภูมิสูงกว่านี้จะทำให้มีน้ำเจือปนในบรั่นดีที่กลั่น แต่จุดเดือดของบิวทานอลอยู่ที่ 117.7 องศาเซลเซียส

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ข้อเสนอแนะ

1. ควรศึกษาสายพันธุ์ของยีสต์หลายสายพันธุ์ร่วมกันในการหมักเพื่อพัฒนาบรั่นดีสับปะรด
2. ควรศึกษาวิธีการเก็บรักษาสารให้กลิ่นรสในขณะการกลั่นบรั่นดี เพื่อเป็นการพัฒนากลิ่นรสของบรั่นดี
3. ควรศึกษาอุณหภูมิของสารองค์ประกอบต่างๆของบรั่นดีก่อนทำการกลั่น

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

เอกสารอ้างอิง

คณิต วิชิตพันธุ์. 2550. พัฒนาการผลิตบรั่นดีผลไม้ 3 ชนิด. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะเทคโนโลยีมหาวิทยาลัยขอนแก่น. ขอนแก่น.

ชัยรัตน์ โมไนยพงศ์. 2546. ไวน์. หนังสือสำหรับผู้ผลิตไวน์มือใหม่. กรุงเทพฯ.

ชูรัฐ แปลกสงวนศรี. 2550. จุลินทรีย์อาหารเบื้องต้น. วิทยาลัยเกษตรกรรมลพบุรี

ทนงศักดิ์ วงษ์ลา. 2548. น้ำมันแก๊สโซฮอล์ พลังงานเพื่ออนาคต. วารสารนโยบายพลังงาน. ฉบับที่ 69, 32-37 หน้า.

เทพนิมิต มะลิพวง และนคโรจน์ อินทรีย์สังวร. 2542. การศึกษาสภาวะที่เหมาะสมในการผลิตเอนไซม์แอลฟาอะไมเลสโดยเชื้อ *Bacillus subtilis* TISTR 25 โดยใช้วัสดุเหลือทิ้งจากขนุน. โครงงานพิเศษวิทยาศาสตร์บัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีชีวภาพ. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. กรุงเทพฯ.

นงลักษณ์ สุวรรณพินิจ. 2548 .จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ: สำนักพิมพ์แห่งชาติจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

นิอร โฉมศรี. 2554. การพัฒนาผลิตภัณฑ์จากสับปะรดเพื่อใช้ประโยชน์ในเชิงพาณิชย์. รายงานวิจัยฉบับสมบูรณ์. สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. ลำปาง.

สมบูรณ์. สถาบันวิจัยเทคโนโลยีเกษตร มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีราชมงคลล้านนา. ลำปาง.

ปทุมพร ฉิมอเนก. 2526. การใช้สารสกัดกันบูดในไวน์. วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

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

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2532. หลักการเตรียมผลไม้หมักไวน์ให้มีรสอร่อย. 19: 33-48 หน้า.

ปัณฑิตา ถาดสระน้อย และอุสุมาวะดี พิทักษ์. 2543. การผลิตไวน์เสาวรส. ภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร. สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 66 หน้า.

พรทิภา ฤกษ์รัตนวราพร. 2531. ไวน์ส้ม. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาเกษตรกรรม คณะเทคโนโลยีการเกษตร สถาบันเทคโนโลยีพระจอมเกล้าเจ้าคุณทหารลาดกระบัง. 44 หน้า.

พวงพร โชติไกร. 2528 .การเปรียบเทียบสายพันธุ์ยีสต์ในการหมักแอลกอฮอล์จากแป้งที่ถูกย่อยสลายด้วยกรด. อาหาร. ปีที่ 15 ฉบับที่ 3.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

มนตรี กล้าขาย. 2532. การผลิตสับปะรด ในตำบลพนานิคม อำเภอบ้านค่ายจังหวัดระยอง. วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์. กรุงเทพฯ.

มนชิดา มั่นคง และวิลาสินี ศรีไพบูลย์. 2542. การผลิตไวน์ว่านหางจระเข้. ปัญหาพิเศษ. ภาควิชาจุลชีววิทยา. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยเทคโนโลยีพระจอมเกล้าธนบุรี. 72 หน้า.

สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. 2544. มาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม : สุรากลั่น (มอก.2088-2544) สำนักงานมาตรฐานผลิตภัณฑ์อุตสาหกรรม. กรุงเทพฯ.

ยุทธพล วิรยะพันธุ์. 2542. สภาวะที่เหมาะสมต่อการผลิตไวน์น้ำตาลโตนด. ปัญหาพิเศษ. คณะอุตสาหกรมเกษตร มหาวิทยาลัยสงขลานครินทร์.

รัชดาภรณ์ เบญจวัฒนานนท์ . 2550. โครงการวิจัยการศึกษาการผลิตเอทานอลจากหยวกกล้วยโดยยีสต์ด้วยวิธีการหมักแบบกะ. มหาวิทยาลัยราชภัฏเลย.

วนิดา โอศิริพันธุ์. 2540. เอกสารประกอบการสอนวิชาอุตสาหกรรมการหมัก. คณะเทคโนโลยีชีวภาพ มหาวิทยาลัยรังสิต. กรุงเทพฯ.

ศิริพร แก้วแดง. 2540. ปัจจัยที่มีผลในการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีระหว่างการหมักไวน์หม่อน. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีทางอาหาร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 136 หน้า.

สมบูรณ์ เตธัญญวรากูล. 2535. ปัจจัยที่มีอิทธิพลต่อการหมักในการผลิตไวน์น้ำผึ้ง. วิทยานิพนธ์มหาบัณฑิต สาขาเทคโนโลยีอาหาร. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย. 100 หน้า.

สมบูรณ์ ผู้พัฒน์. 2526. การผลิตแอลกอฮอล์จากข้าวฟ่างหวาน. รายงานค้นคว้าวิจัยประจำปี. 2526. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

สามารถ พรหมศิริ. 2539. ความรู้เกี่ยวกับการทำไวน์. โครงการหนังสือเกษตรชุมชน. กรุงเทพฯ.

สาวิตรี ลิ่มทอง. 2549. ยีสต์ : ความหลากหลายทางชีวภาพ. กรุงเทพฯ : สำนักพิมพ์มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

Amerine, M.A., Kunkee, R.E., Ough,C.S.,Singleton,V.L. and Webb, A.D. 1980. The Technology of Wine Making. 4thed. The AV1 Publishing Company. Westport, Connecticut.

Amerine, M.A. and Ough,C.S.,Singleton, V.L. and Webb,A.D. 1980. Methods for Analysis of Musts and Wines, John Wiley&Sons, Inc. New York.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Ayogu, T.E. 1998. Evaluation of the performance of yeast isolate from Nigerian plan wine in wine production from pineapple fruits. Bioresource Technology. 69:189-190.

Carla S. Thomas and Douglas Gubler. 1993. The effect of elemental sulfur, yeast strain and fermentation medium on hydrogen sulfide production during fermentation. Journal of Biotechnology. 44:211-216.

Crueger, W. and A. Crueger. 1990. Biotechnology : A Textbook of Industrial Microbiology. 2nd ed. Sunderland : Sinauer Associates.

David, T.W., 1994. Determination of Ethanol Concentration in Biomass to Ethanol Fermentation Supermatants by Gas Chromatography, NREL, LAP_011.

Frazier, W.C. and Westhoff, D.C. 1988. Food Microbiology. 4th ed. McGraw-Hill Book Company. Singapore.

Hacking, A.J.., Taylor, I.W.F. and Hanas, C.M. 1984. Selection of yeast Able to Produce Ethanol from Glucose at 40° c. Applied Microbiology and Biotechnology.19 : 361-363.

Humphreys, T.W. and Stewart, G.G. 1978 Alcoholic beverages. In Food and Beverage Mycology,Beuchat.L.R.(ed. The AVI publishing Company. Westport, Connecticut.

Jay, M.Y. 1970.Modern Food Microbiology. D Van Nostrand Company. New York.

Lipovsky, J., Patakova. P, Paulova. L, Pokorny. T, Rychtera. M, and Melzoch. K. 2016. Butanol production by *Clostridium pasteurianum* NRRL B-598 in continuous culture compared to batch and fed-batch systems. Czech Republic. Journal of Fuel Processing Technology 144 : 139–144.

Panjai, L., K. Ongthip and N. Chomsri. 2009. Complex fruit wine produced from dual culture fermentation of pineapple juice with *Torulaspora delbrueckii* and *Saccharomyces cerevisiae*. Asian Journal of Food and Agro-Industry 2 (2) : 135-139.

Priest, F.G. and Campbell, I., 1996. Brewing Micrology. Second edition. Chapmam&Hall. London.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

Reed, G. and Peppler, H.J. 1973.Yeast Technology. The AVI Publishing Company. Westport, Connecticut.

Rose, A.H. and Harrison, J.S. 1970. Yeast technology. The Yeast Vol.3. London. Academic Press. 840 p.

Roberto, R.M., Rosa, P.B., Ana, G.H., Marcos, B.A., Belén, S.B., 2013. Production of spirits from dry apple pomace and selected yeasts. Spain. Journal of food and bioproducts processing 91 : 629-631.

Srisamatthakarn, P. 2011. Improvement of varietal aroma in grape and tropical fruit wines by optimal choice of yeasts and nutrient supplements. Ph.D. Thesis. Just us-Liebig-University Giessen, Germany. 295 p.

Tahereh, S., Erin, J., and Lars, R., 2016. Optimization of fermentation condition favoring butanol production from glycerol by Clostridium pasteurianum DSM 525. Canada and Germany. Journal of Bioresource Technology 208 : 73-80.

Wen, H.C., Chen, Y.C., and Sumate, C., 2016. Activation of immobilized *Clostridium saccharoperbutylacetonicum* N1-4 for butanol production under different oscillatory frequencies and chemical buffers. Taiwan and Thailand. Journal of International Biodeterioration & Biodegradation110 : 129-135.

Xiao, N.S., Dong, L., Jun, L., Yanyan, W., Jiahui, X., Zhengjiao, Y., Ting, G., Huanqing, N., and Hanjie, Y., 2016. Enhanced production of butanol and acetoin by heterologous expression of an acetolactate decarboxylase in *Clostridium acetobutylicum*. China. Journal of Bioresource Technology 216 : 601-606.

Zong, W.P., Wei, L., Hui, Z., Zheng, W.L., Jing, J.L., Liang, W.D., Cheng, J.D., and Jia, F.X., 2016. Butanol production employing fed-batch fermentation by Clostridium acetobutylicum GX01 using alkali-pretreated sugarcane bagassehydrolysed by enzymes from Thermoascus aurantiacus QS 7-2-4. Journal of Bioresource Technology 212 : 82-91.

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

[Online].Available : http://www.agro.cmu.ac.th/e_books/602431 ./Elearning/pdf/4.pdf. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : http://www.chaopraya.biz/index.php?lay=show&ac =article&Id=538698405. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : www.cs.montana.edu. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : http://ebookbrowse.com/ethanol-home-page-proposal-pdf_d24753569. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : www.fruityloaf.com/store/images/pineapple.jp. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 23 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : www.lartc.rmult.ac.th. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : www.learn.cbse.in. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : https://surathai.wordpress.com/2011/05/15/thaidistill/. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 27 มิถุนายน 2559).

[Online].Available : www.termsuk.com. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : https://thanchanok0921.wordpress.com/pineapple. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : http://tourismawards.tourismthailand.org/th/ information.php?.id=352&lst_award_year=8. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : www.tpa.or.th. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

[Online].Available : http://www.vcharkarn.com/vcafe/125301. (วันที่สืบค้นข้อมูล : 24 พฤษภาคม 2559).

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ก
อาหารเลี้ยงเชื้อ

1. อาหาร YM broth (Yeast extrac-malt extract broth)

ยีสต์สกัด (Yeast Extract)	3	กรัม
มอลต์สกัด (Malt Extract)	3	กรัม
เปปโตน (Peptone)	5	กรัม
กลูโคส (Glucose)	10	กรัม
น้ำกลั่น	1,000	มิลลิลิตร

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ข

การวิเคราะห์

1. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอล

<u>สารเคมี</u>

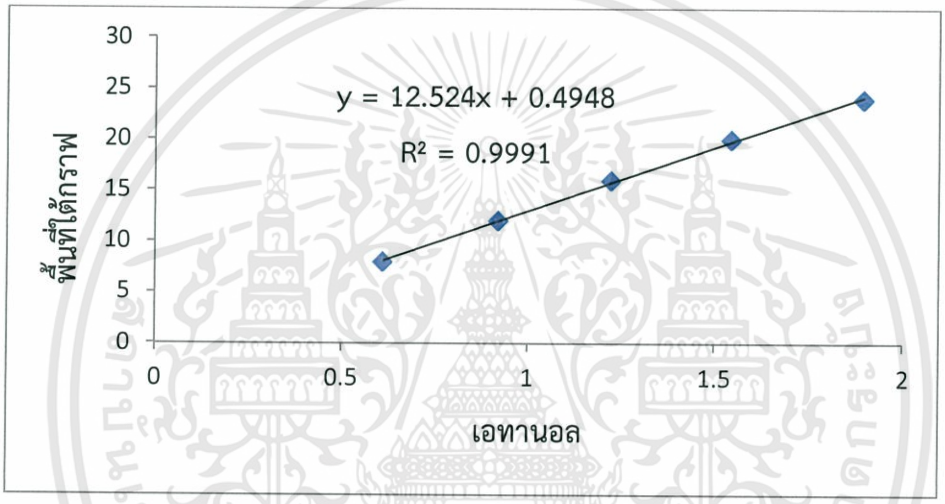
1. สารมาตรฐานเอทานอล
2. สารมาตรฐานเอนโพรพานอล

วิธีการวิเคราะห์

1. เตรียมสารมาตรฐานภายในโดยใช้ โพรพานอล (N-propanol) ความเข้มข้นร้อยละ 10 โดยปริมาตรเป็นสารละลายมาตรฐานภายใน
2. เตรียมสารละลายมาตรฐานเอทานอลให้มีความเข้มข้นร้อยละ 4, 6, 8, 10, 12 โดยปริมาตรโดยมีวิธีทำดังแผนภาพ
3. ใส่สารมาตรฐานแต่ละความโดยคว่ำด้านเทฟลอน ลงติดปากขวด จากนั้นจึงปิดด้วยฝาอะลูมิเนียม
4. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิคเฮดสเปซแก๊สโครมาโทกราฟี (HS-GC) โดยใช้เครื่องแก๊สโครมาโทกราฟี (GC-17A Chromatography, Shimadzu) ต่อกับเครื่อง HSS-4A ซึ่งเป็นส่วนที่ตัวอย่างจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 70 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 10 นาที สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยหลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป
5. ใช้คอลัมน์ DB-WAX ความยาว 30 เมตร เส้นผ่านศูนย์กลาว 0.53 มิลลิเมตร ความหนาของฟิล์ม 1 ไมครอน อุณหภูมิของคอลัมน์ 60 องศาเซลเซียสใช้ตัวตรวจวัด (Detector) ชนิด FID โดยปรับอุณหภูมิเท่ากับ 150 องศาเซลเซียส อุณหภูมิของตำแหน่งฉีดสาร(Injector) เท่ากับ 150 องศาเซลเซียส ใช้แก๊สฮีเลียมเป็นพาหะโดยมีความดันคอลัมน์เท่ากับ 30 kPa
6. สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 15 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 180 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 180 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 4 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 25 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโทแกรมแสดงเวลาที่เอทานอลและโพรพานอลถูกชะออกจากคอลัมน์

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

7. นำพื้นที่ใต้กราฟของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐาน โดยคำนวณอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลต่อโพรพานอลในแต่ละความเข้มข้นกำหนดให้เป็นแกน y และให้ความเข้มข้นของสารละลายมาตรฐานเอทานอลเป็นแกน x
8. วิเคราะห์ปริมาณเอทานอลในตัวอย่างโดยผสม สารละลายโพรพานอลร้อยละ 10 ปริมาตร 500 ไมโครลิตร และตัวอย่าง 500 ไมโครลิตร วิเคราะห์ดังสภาวะข้างต้น จากนั้นนำค่าอัตราส่วนพื้นที่ใต้กราฟของเอทานอลในสารตัวอย่างต่อโพรพานอล มาเทียบกับกราฟมาตรฐานเพื่อหาความเข้มข้นของเอทานอล



รูปที่ ข.1 แสดงกราฟมาตรฐานของเอทานอล

2. สารให้กลิ่นรส

1. สารให้กลิ่นรสที่วิเคราะห์มี 4 ชนิด ไดแก่ เอทิลอะซิเตต โพรพานอล บิวทานอล เอทานอล

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

3. เตรียมสารละลายมาตรฐานภายในโดยใช้เพนทานอล 800 มิลลิกรัมต่อลิตร โดยใช้เอทานอลร้อยละ 50 โดยปริมาตรเป็นตัวทำละลาย

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

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

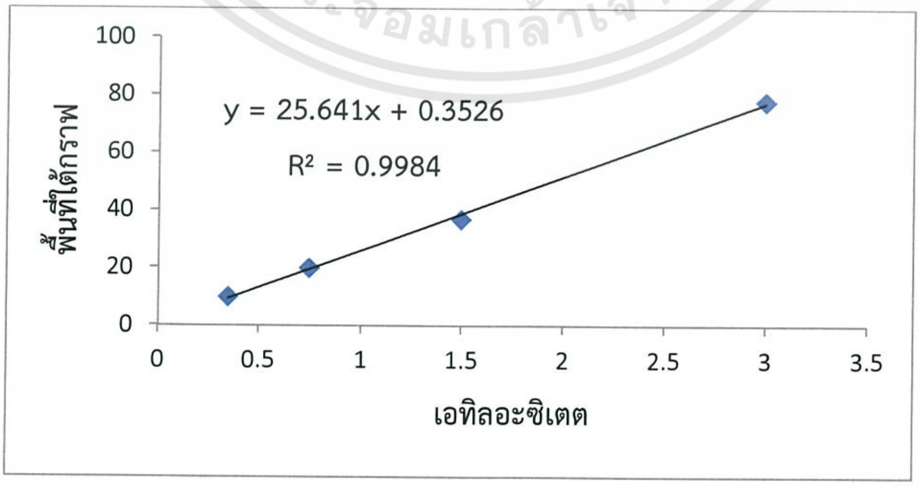
5. การวิเคราะห์ปริมาณเอทานอลใช้เทคนิคเฮดสปซ-แก๊สโครมาโตกราฟฟี่ โดยใช้เครื่อง Gas chromatography ต่อกับเครื่อง HSS-4A ซึ่งเป็นส่วนที่ตัวอย่างจะถูกบ่มที่อุณหภูมิ 75 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที สารตัวอย่างในขวดแก้วจะระเหยกลายเป็นไอจนกระทั่งอยู่ในสมดุลไดนามิก จากนั้นเครื่องจะดูดไอปริมาตร 1 มิลลิลิตร เพื่อเข้าสู่คอลัมน์ต่อไป

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

7. สภาวะในการวิเคราะห์เริ่มจากอุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 4 นาที จากนั้นเพิ่มอุณหภูมิในอัตรา 8 องศาเซลเซียสต่อนาที จนถึง 150 องศาเซลเซียส คงไว้ที่ 150 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที รวมเวลาในการวิเคราะห์ทั้งหมดเท่ากับ 30.25 นาทีต่อตัวอย่าง โครมาโทแกรมแสดงเวลาที่สารมาตรฐานแต่ละชนิดถูกชะออกจากคอลัมน์

8. นำพื้นที่ใต้กราฟ (peak area) ของสารมาตรฐานแต่ละความเข้มข้นมาสร้างกราฟมาตรฐานภายในโดยกำหนดให้เป็นแกน y และให้ความเข้มข้นของสารมาตรฐานเป็นแกน x

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



รูปที่ ข.2 แสดงกราฟมาตรฐานของเอธิลอะซิเตต

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

ภาคผนวก ค

การวิเคราะห์ทางสถิติ

1. ผลเปรียบเทียบความแตกต่างทางสถิติของสภาวะที่เหมาะสมในการทำบรั่นดีให้มีปริมาณแอลกอฮอล์สูง

1.1 สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวียและพันธุ์ภูเก็ต และเชื้อ *S. cerevisiae* TISTR 5013 และ *S. cerevisiae* TISTR 5019

- ไวน์

Descriptives

ปริมาณเอทานอล

treat	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
ปัตตาเวีย 5013	3	3.4300	.17776	.10263	2.9884	3.8716	3.29	3.63
ปัตตาเวีย 5019	3	1.6567	.07638	.04410	1.4669	1.8464	1.59	1.74
ภูเก็ต 5013	3	5.3900	.33407	.19287	4.5601	6.2199	5.09	5.75
ภูเก็ต 5019	3	5.0700	.03464	.02000	4.9839	5.1561	5.05	5.11
Total	12	3.8867	1.56163	.45080	2.8945	4.8789	1.59	5.75

ANOVA

ปริมาณเอทานอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.525	3	8.842	235.413	.000
Within Groups	.300	8	.038		
Total	26.826	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **บรั่นดี**

Descriptives

ปริมาณเอทานอล

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
ปัตตาเวีย 5013	3	21.0567	1.38019	.79685	17.6281	24.4853	20.05	22.63
ปัตตาเวีย 5019	3	21.4733	.32005	.18478	20.6783	22.2684	21.15	21.79
ภูเก็ต 5013	3	26.2367	1.29326	.74667	23.0240	29.4493	25.49	27.73
ภูเก็ต 5019	3	24.2900	.62554	.36116	22.7361	25.8439	23.68	24.93
Total	12	23.2642	2.37500	.68560	21.7552	24.7732	20.05	27.73

ANOVA

ปริมาณเอทานอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	53.905	3	17.968	17.654	.001
Within Groups	8.142	8	1.018		
Total	62.047	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

1.2 ปริมาณแหล่งไนโตรเจน

- สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03, 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์

Descriptives

ปริมาณเอทานอล

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
diam0	3	3.4300	.17776	.10263	2.9884	3.8716	3.29	3.63
diam0.03	3	5.1867	.69176	.39939	3.4682	6.9051	4.58	5.94
diam0.05	3	6.0367	.63971	.36934	4.4475	7.6258	5.32	6.55
diam0.07	3	5.2767	.58227	.33617	3.8302	6.7231	4.85	5.94
Total	12	4.9825	1.10643	.31940	4.2795	5.6855	3.29	6.55

ANOVA

ปริมาณเอทานอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	10.949	3	3.650	11.601	.003
Within Groups	2.517	8	.315		
Total	13.466	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สับปะรดพันธุ์ปัตตาเวีย เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03, 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์

Descriptives

ปริมาณเอทานอล

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
diam0	3	1.6567	.07638	.04410	1.4669	1.8464	1.59	1.74
diam0.03	3	5.0700	.03464	.02000	4.9839	5.1561	5.05	5.11
diam0.05	3	5.4267	.14154	.08172	5.0751	5.7783	5.34	5.59
diam0.07	3	3.4300	.17776	.10263	2.9884	3.8716	3.29	3.63
Total	12	3.8958	1.56601	.45207	2.9008	4.8908	1.59	5.59

ANOVA

ปริมาณเอทานอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	26.859	3	8.953	610.431	.000
Within Groups	.117	8	.015		
Total	26.976	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5013 ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03, 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์

Descriptives

ปริมาณเอทานอล

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
diam0	3	5.3900	.33407	.19287	4.5601	6.2199	5.09	5.75
diam0.03	3	7.4567	.49723	.28707	6.2215	8.6918	6.89	7.82
diam0.05	3	7.4867	.12897	.07446	7.1663	7.8070	7.38	7.63
diam0.07	3	7.2600	.18248	.10536	6.8067	7.7133	7.05	7.38
Total	12	6.8983	.95388	.27536	6.2923	7.5044	5.09	7.82

ANOVA

ปริมาณเอทานอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	9.191	3	3.064	29.980	.000
Within Groups	.818	8	.102		
Total	10.009	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- สับปะรดพันธุ์ภูเก็ต เชื้อ *Saccharomyces cerevisiae* TISTR 5019
ความเข้มข้นไดแอมโมเนียมฟอสเฟต 0.03, 0.05 และ 0.07 เปอร์เซ็นต์

Descriptives

ปริมาณเอทานอล

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
diam0	3	5.0700	.03464	.02000	4.9839	5.1561	5.05	5.11
diam0.03	3	5.9067	.30665	.17704	5.1449	6.6684	5.57	6.17
diam0.05	3	7.0533	.87672	.50617	4.8754	9.2312	6.21	7.96
diam0.07	3	5.7300	.50388	.29092	4.4783	6.9817	5.15	6.06
Total	12	5.9400	.87180	.25167	5.3861	6.4939	5.05	7.96

ANOVA

ปริมาณแอลกอฮอล์

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	6.125	3	2.042	7.306	.011
Within Groups	2.236	8	.279		
Total	8.360	11			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

2. การวิเคราะห์สารประกอบของบรั่นดีที่มีปริมาณเอทานอลเฉลี่ยดีที่สุด

- **เอทานอล**

Descriptives

ปริมาณเอทานอล

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean Lower Bound	95% Confidence Interval for Mean Upper Bound	Minimum	Maximum
diam0.03	3	30.3000	.72670	.41956	28.4948	32.1052	29.66	31.09
diam0.05	3	30.1900	.41725	.24090	29.1535	31.2265	29.75	30.58
diam0.07	3	29.7433	2.60158	1.50202	23.2806	36.2060	26.94	32.08
Total	9	30.0778	1.39025	.46342	29.0091	31.1464	26.94	32.08

ANOVA

ปริมาณเอทานอล

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.521	2	.261	.105	.902
Within Groups	14.941	6	2.490		
Total	15.462	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้

- **เอทิลอะซิเตต**

Descriptives

ปริมาณเอทิลอะซิเตต

	N	Mean	Std. Deviation	Std. Error	95% Confidence Interval for Mean		Minimum	Maximum
					Lower Bound	Upper Bound		
diam0.03	3	7.1100	.00000	.00000	7.1100	7.1100	7.11	7.11
diam0.05	3	7.1080	.00000	.00000	7.1080	7.1080	7.11	7.11
diam0.07	3	7.1080	.00006	.00003	7.1079	7.1082	7.11	7.11
Total	9	7.1087	.00099	.00033	7.1079	7.1094	7.11	7.11

ANOVA

ปริมาณเอทิลอะซิเตต

	Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Between Groups	.000	2	.000	3541.000	.000
Within Groups	.000	6	.000		
Total	.000	8			

เอกสารนี้เป็นเอกสารที่สงวนไว้สำหรับการใช้งานเพื่อการศึกษาเท่านั้น ไม่อนุญาตให้นำไปใช้ประโยชน์ด้านการค้า ไม่ว่ากรณีใดๆทั้งสิ้น อีกทั้งห้ามมิให้ดัดแปลงเนื้อหา และต้องอ้างอิงถึงเจ้าของเอกสารทุกครั้งที่มีการนำไปใช้