



การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก
กรณีศึกษา ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง

**A COMPARATIVE STUDY OF THE PRODUCTION OF LOW ALCOHOLIC BEVERAGE
USING LOOK-PANG-KHAO-MAK IN FERMENTATION
A CASE STUDY : WHOLE GRAIN VS MASHED STEAMED GLUTINOUS RICE**



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาในระดับปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต
สาขาวิชาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล
พ.ศ.2539



Copyright by Mahidol University

วิทยานิพนธ์

เรื่อง

การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก
กรณีศึกษา ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง



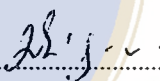
ดริกา เพ็ญรัตน์

ผู้วิจัย



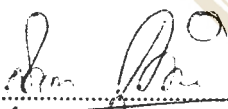
สมพงษ์ ชงไชย, M.Sc.

ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์



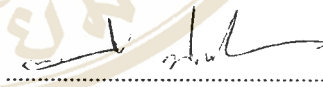
มนตรี จุลสมัย, พ.บ., Ph.D.

กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์



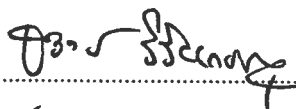
สชาติดา ชุณสนิต, Ph.D.

กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์



อาณัติ นิตธิธรรมยง, Ph.D.

กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

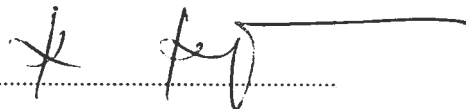


อดุลย์ วิริยเวชกุล ราชบัณฑิต,

น.บ., พ.บ., F.R.C.P.

คณบดี

บัณฑิตวิทยาลัย



เกษม กุลประดิษฐ์, M.Sc.

ประธานกรรมการประจำหลักสูตร

วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีเพื่อการพัฒนาทรัพยากร

คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์

วิทยานิพนธ์

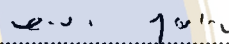
เรื่อง

การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเครื่องต้มแอลกอฮอล์ต่ำโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก
กรณีศึกษา ข้าวเหนียวหนึ่งหังเมล็ดและน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง

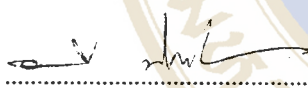
ได้รับการพิจารณาอนุมัติให้นับเป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตร
ปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต สาขาวิชาเทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร
วันที่ 25 พฤศจิกายน 2539



ดริกา เพ็ชรรัตน์
ผู้วิจัย



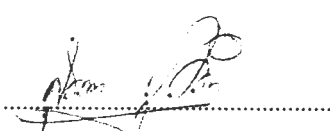
รุ่งจรัส ทูตะเจริญ, M.Sc.
ประธานกรรมการสอบวิทยานิพนธ์



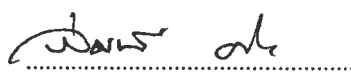
อาถนตี นิติธรรมยง, Ph.D.
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



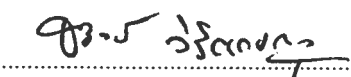
มนตรี จุลสมัย, พ.บ., Ph.D.
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



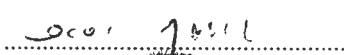
สุชดา ชุนสนธิ, Ph.D.
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



สมพงษ์ ชงไชย, M.Sc.
กรรมการสอบวิทยานิพนธ์



อดุลย์ วิริยเวชกุล ราชบัณฑิต,
น.บ., พ.บ., F.R.C.P.
คณบดี
บัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล



รุ่งจรัส ทูตะเจริญ M.Sc.
คณบดี
คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์
มหาวิทยาลัยมหิดล



ประวัติผู้วิจัย

ชื่อ นางสาว ดาริกา เพ็ญรัตน์
วัน เดือน ปีเกิด 5 มกราคม พ.ศ. 2512
สถานที่เกิด กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย
ประวัติการศึกษา มหาวิทยาลัยเชียงใหม่ , พ.ศ. 2534 :
วิทยาศาสตรบัณฑิต (เทคนิคการแพทย์)
มหาวิทยาลัยมหิดล , พ.ศ. 2539 :
วิทยาศาสตรมหาบัณฑิต (เทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร)
ทุนการวิจัย ได้รับทุนสนับสนุนการทำวิจัยบางส่วน
สำหรับนักศึกษาบัณฑิตวิทยาลัย มหาวิทยาลัยมหิดล , พ.ศ. 2539

กิตติกรรมประกาศ

การดำเนินงานวิจัยจนมาเป็นวิทยานิพนธ์เล่มนี้ได้ฉัน ต้องขอกราบขอบพระคุณอาจารย์ สมพงษ์ ธงไชย ประธานกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่ได้ชี้แนะแนวทางในการวิจัยเมื่อเริ่มแรก และขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร.มนตรี จุลสมัย กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์ ที่กรุณาให้คำแนะนำปรึกษาที่เป็นประโยชน์อย่างยิ่งสำหรับแนวทางในการค้นคว้าวิจัยเรื่องนี้ ขอกราบขอบพระคุณ ดร.สุชาติ ชุนสนธิ และ ดร.อาณัติ นิติธรรมยง กรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์อีกสองท่าน ที่กรุณาเสียสละเวลาอันมีค่าในการดูแลเอาใจใส่ ชี้แนะให้คำปรึกษา และแก้ไขเพื่อความสมบูรณ์ในการเขียนวิทยานิพนธ์อย่างดียิ่งมาโดยตลอด เป็นผลให้วิทยานิพนธ์ฉบับนี้สำเร็จลงด้วยดีดังที่ตั้งใจไว้ทุกประการ

ขอขอบพระคุณ ดร.ช่อฟ้า ทองไทย คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้ความอนุเคราะห์ในด้านสถานที่และอุปกรณ์ในการทดลองทางด้านชีววิทยา และขอขอบพระคุณ คุณจิรพันธ์ วรพงษ์ แห่งสถาบันวิจัยและพัฒนาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยี มหาวิทยาลัยมหิดล ซึ่งเป็นผู้เชี่ยวชาญในด้านกิดวิทยา (Mycology) ที่ให้ความช่วยเหลือแนะนำและดูแลตลอดการศึกษาทางด้านชีววิทยา ด้วยความจริงใจและเต็มใจยิ่งมาโดยตลอด

ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ ที่ให้ความอนุเคราะห์ในการใช้อุปกรณ์การวิจัยต่างๆ ขอขอบคุณเจ้าหน้าที่ประจำห้องปฏิบัติการ ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ที่ได้ให้คำแนะนำในการใช้อุปกรณ์เครื่องมือในการวิจัยหาปริมาณแอลกอฮอล์ ซึ่งเป็นงานส่วนหนึ่งในการวิจัยครั้งนี้

ขอขอบคุณเพื่อน ๆ ทุกคนที่ให้ความช่วยเหลือในเรื่องต่าง ๆ ที่มีส่วนทำให้วิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงด้วยดี โดยเฉพาะคุณสันติภาพ ศิริวัฒนไพณุลย์ ที่เป็นกำลังสำคัญในการช่วยประดิษฐ์เครื่องมือประกอบในการทดลอง และคุณอภิรดี ศรีรังสิต ที่มาช่วยออกแรงให้การดำเนินการทดลองเสร็จเรียบร้อยเร็วยิ่งขึ้น

ขอกราบขอบพระคุณบิดามารดา ที่เป็นทั้งกำลังใจและกำลังทรัพย์สนับสนุนให้การทำวิทยานิพนธ์สำเร็จลุล่วงในที่สุด

ดริกา เพ็ญรัตน์

ชื่อวิทยานิพนธ์ การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก
กรณีศึกษา ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง

ผู้วิจัย ดาริกา เพ็ญรัตน์

ปริญญา วิทยาศาสตร์มหาบัณฑิต (เทคโนโลยีที่เหมาะสมเพื่อการพัฒนาทรัพยากร)

คณะกรรมการควบคุมวิทยานิพนธ์

สมพงษ์ ธงไชย

M.Sc. (Technology of Environmental Management)

มันตรี จุลสมัย

Ph.D. (Microbiology)

อาณัติ นิตธิธรรมยง

Ph.D. (Food Science)

สุชาดา ชุนสนิท

Ph.D. (Agriculture)

วันที่สำเร็จการศึกษา 25 พฤศจิกายน พ.ศ. 2539

บทคัดย่อ

การวิจัยมีวัตถุประสงค์หลักเพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งเป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำร่วมกับลูกแป้งข้าวหมาก โดยทำการทดลองใช้ลักษณะของวัตถุดิบที่แตกต่างกัน 3 ระดับ คือ ทริทเม้นต์ที่หมักโดยใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง, ทริทเม้นต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำ และทริทเม้นต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว ในแต่ละทริทเม้นต์จะทำการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้ง 3 ระดับ (0.4%, 0.6%, 0.8% โดยน้ำหนัก) เพื่อเลือกระดับที่สามารถให้ผลผลิตสูงสุด (ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมัก) มาทำการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆ ทางเคมีในขบวนการหมัก (pH, Total soluble solid, อุณหภูมิ, กรดแลคติก และ แอลกอฮอล์) โดยใช้สถิติ One - way ANOVA และ Duncan's multiple range test ในการวิเคราะห์ จากนั้นจึงทำการทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์

ผลการทดลองสรุปได้ว่า การใช้ปริมาณลูกแป้งที่แตกต่างกันทั้ง 3 ระดับในแต่ละทริทเม้นต์ ไม่ได้ทำให้ปริมาณผลผลิตแตกต่างกัน กล่าวคือทริทเม้นต์ที่หมักโดยใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 0.37, 0.27, 0.27% และได้ปริมาณน้ำหมัก 262, 258, 257 มล. ทริทเม้นต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 1.63, 1.67, 1.97% และได้ปริมาณน้ำหมัก 268, 258, 277 มล. ส่วนทริทเม้นต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวได้ปริมาณแอลกอฮอล์ 3.53, 3.87, 3.73% และได้ปริมาณน้ำหมัก 167, 167, 167 มล. เมื่อใช้ลูกแป้ง 0.4, 0.6, 0.8% ตามลำดับ ดังนั้นจึงได้เลือกใช้ลูกแป้งที่ระดับ 0.4% ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยที่สุดเพื่อเป็นการประหยัดวัตถุดิบมาทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆ ทางเคมี ผลปรากฏว่า ทริทเม้นต์ที่หมัก

โดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้นมีประสิทธิภาพดีที่สุดเพราะสามารถให้ผลผลิตคือปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด (4.51%) เมื่อเทียบในระยะเวลาการหมักเท่ากัน (7 วัน) และยังให้กลิ่นและรสที่ดีกว่าด้วย ในขณะที่ทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำ ให้ผลผลิตที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 1.06% และ 1.27% ตามลำดับ เมื่อเปรียบเทียบปริมาณแอลกอฮอล์ระหว่างทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำ พบว่าการบดข้าวเหนียวหนึ่งไม่ได้ช่วยให้ผลผลิตแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆทางเคมีในน้ำหมัก พบว่าทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้นมีปริมาณน้ำตาล (วัดอยู่ในรูป Total soluble solid) เริ่มต้นและสุดท้ายของการหมักเท่ากับ 31.5°Brix และ 31.7°Brix (ทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง เท่ากับ 13.1°Brix , 22.5°Brix และ ทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำ เท่ากับ 18.9°Brix ,18.3°Brix) ส่วนปริมาณกรดแลกติกในช่วงต้นของการหมักของทั้งสามทรีทเมนต์จะใกล้เคียงกัน (ประมาณ 0.37%) แต่ปริมาณกรดแลกติกสุดท้ายของทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้น (0.47%) จะน้อยกว่าอีกสองทรีทเมนต์ (1.07% สำหรับทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง และ 1.10% สำหรับทรีทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและน้ำ)

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำที่ได้จากการหมักโดยวิธีใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้นซึ่งมีปริมาณแอลกอฮอล์ 1.7% มาทำการทดสอบการยอมรับเบื้องต้น ปรากฏว่าผู้ชิมมีความเห็นว่าผลิตภัณฑ์ที่ได้มีรสหวานมากเกินไป และมีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยเกินไป

Thesis Title A Comparative Study of the Production of Low Alcoholic Beverage
Using Look-pang-khao-mak in Fermentation

A case study : whole grain vs mashed steamed glutinous rice

Name Dariga Penrat

Degree Master of Science (Appropriate Technology for Resource Development)

Thesis Supervisory Committee

Sompong Thongchai M.Sc. (Technology of Environmental Management)

Monthree Chulasamaya Ph.D. (Microbiology)

Anadi Nitithamyong Ph.D. (Food Science)

Suchada Chunsanit Ph.D. (Agriculture)

Date of Graduation 25 November B.E. 2539 (1996)

ABSTRACT

The objective of the study was to investigate the efficiency of fermentation methods to produce a low alcoholic beverage using Look-pang-khao-mak (LP) in fermentation. Three different types of raw materials ; mashed steamed glutinous rice , whole grain glutinous rice with and without water were used to ferment with 0.4% , 0.6% and 0.8% (by weight) of LP. The level of LP which provided the highest yield (alcohol and volume) was determined and chosen for studying the efficiency of fermentation and change of chemical compositions in the process of fermentation (pH, total soluble solid, temperature , % lactic acid and % alcohol). One - way ANOVA and Duncan's multiple range test were used in statistical analysis. Finally the acceptability of product was determined.

The results of using three levels of LP showed no difference in the yield as follows. The method using mashed steamed glutinous rice produced 0.37 , 0.27 , 0.27% of alcohol and 262 , 258 , 257 ml. of volume while those using whole grain glutinous rice with water produced 1.63 , 1.67 , 1.97% of alcohol and 268 , 258 , 277 ml. of volume and whole grain glutinous rice without water produced 3.53 , 3.87 , 3.73% of alcohol and 268 , 258 , 277 ml. of volume when used 0.4% , 0.6% , 0.8% LP , respectively. Therefore, the study on the efficiency of fermentation used 0.4% LP to save the raw materials.

The results of study on the efficiency of fermentation methods revealed that the best method was the one using whole grain glutinous rice without water in fermentation because it provided the highest yield (4.51% of alcohol at 7 days of fermentation time) and better flavor and odor while the methods using mashed steamed glutinous rice produced 1.06% and whole grain glutinous rice with water provided 1.27% of alcohol, respectively. The comparison of alcohol between the methods using mashed steamed glutinous rice and whole grain glutinous rice with water revealed that mashing did not increase alcohol yield. Change of chemical compositions during fermentation showed that the sample using whole grain glutinous rice without water contained 31.5 °Brix of total soluble solid at the beginning and 31.7 °Brix at the end. The sample using mashed steamed glutinous rice contained 13.1 °Brix , 22.5 °Brix while that using whole grain glutinous rice with water contained 18.9 °Brix , 18.3 °Brix , respectively. All three samples contained similar amount of lactic acid at the early stage of fermentation (0.37%). At the end of fermentation , the sample using whole grain glutinous rice without water contained less amount of lactic acid (0.47%) than the other methods (1.07% lactic acid for mushed steamed glutinous rice and 1.10% for whole grain glutinous rice with water)

Study on acceptibility of the product from fermentation of whole grain glutinous rice without water (1.7% alcohol) revealed that the judges thought the product was too sweet and too low in alcohol.

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย	ก
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ	ค
สารบัญ	จ
สารบัญตาราง	ช
สารบัญรูป	ซ
บทที่ 1 บทนำ	
1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา	1
1.2 แนวคิดในการวิจัย	3
1.3 วัตถุประสงค์ในการวิจัย	6
1.4 สมมุติฐานในการวิจัย	6
1.5 ขอบเขตการวิจัย	7
1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย	7
1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ	8
บทที่ 2 การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง	
2.1 เทคโนโลยีการผลิตลูกแป้ง	9
2.2 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง	13
2.3 แป้งและเอ็นไซม์ย่อยแป้ง	16
2.4 เทคโนโลยีการผลิตเครื่องต้มแอลกอฮอล์พื้นบ้านหรือไวน์ข้าว	19
บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย	
3.1 กรอบวิธีการวิจัย	26
3.2 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย	27
3.2.1 ขั้นตอนการเตรียมการและออกแบบวิจัย	27
3.2.2 ขั้นตอนการทดลองในห้องปฏิบัติการ	27
3.2.3 ขั้นตอนการประเมินผลและวิเคราะห์ผล	37

สารบัญ (ต่อ)

	หน้า
3.3 สถานที่ดำเนินการวิจัย	37
3.4 ระยะเวลาการวิจัย	37
บทที่ 4 ผลการทดลองและอภิปรายผล	
4.1 ผลการศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้งข้าวหมากแตกต่างกันคือ 0.4% , 0.6% และ 0.8%	38
4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆ ทางเคมีในขบวนการหมัก	42
4.3 ผลการทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ	49
4.4 ผลการศึกษาคูณภาพของน้ำประปา	51
4.5 ผลการแยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมาก	52
4.6 อภิปรายผลการทดลอง	55
บทที่ 5 สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ	
5.1 สรุปผลการทดลอง	61
5.2 ข้อเสนอแนะ	63
5.2.1 ปัญหาและอุปสรรคที่พบในการทดลอง	63
5.2.2 ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาค้างต่อไป	64
บรรณานุกรม	67
ภาคผนวก ก. ผลการวิเคราะห์ทางสถิติ	70
ภาคผนวก ข. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำหมักและการทดสอบทางสรีรวิทยาของเชื้อต่างๆ	86
ภาคผนวก ค. แบบสอบถามการประเมินผลทางประสาทสัมผัส	95
ภาคผนวก ง. รูปภาพประกอบการทดลอง	99

สารบัญตาราง

ตารางที่	หน้า
2-1 ชื่อเรียกลูกแบ่งตามภาษาท้องถิ่นของประเทศต่างๆ และการใช้ประโยชน์	10
2-2 ชื่อราและยีสต์ในลูกแบ่งข้าวหมากและลูกแบ่งเหล้าไทย	14
3-1 การทดลองแต่ละทรีทเมนต์ในการศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแบ่งข้าวหมากแตกต่างกันคือ 0.4%, 0.6% และ 0.8%	28
3-2 การทดลองแต่ละทรีทเมนต์ในการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆทางเคมีในขบวนการหมัก	31
4-1 ผลผลิตที่ได้จากการหมักน้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งโดยใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับต่าง ๆ	38
4-2 ผลผลิตที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ โดยใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับต่าง ๆ	39
4-3 ผลผลิตที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวโดยใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับต่าง ๆ	39
4-4 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศที่ระยะเวลาต่างๆ	48
4-5 คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำก่อนและหลังการพาสเจอร์ไรซ์	49
4-6 ผลการทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ (แสดงผลเป็น % ของจำนวนผู้ชิมทั้งหมด)	50
4-7 ผลการตรวจวัดคุณภาพของน้ำประปา	51

สารบัญรูป

รูปที่	หน้า
2-1	การผลิตลูกแป้ง
2-2	ส่วนหนึ่งของโครงสร้างของอัลฟาอะมิเลส และอะมิโลเพคติน แสดงตำแหน่งของพันธะที่ถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ต่างๆ
2-3	ขั้นตอนการผลิตสาโทหรือน้ำขาว
2-4	ขั้นตอนการผลิตอุ
2-5	การผลิตข้าวหมาก
3-1	กรอบวิธีการวิจัย
3-2	ขั้นตอนการทดลองศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณ- ลูกแป้งข้าวหมากแตกต่างกันคือ 0.4%, 0.6% และ 0.8%
3-3	ขั้นตอนการทดลองศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมัก และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆทางเคมีในขบวนการหมัก
4-1	การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการหมัก
4-2	การเปลี่ยนแปลงค่า Total soluble solid ในระหว่างการหมัก
4-3	การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการหมัก
4-4	ปริมาณกรดแลกติกเมื่อหมักจนครบที่ระยะเวลาต่างๆ
4-5	ปริมาณแอลกอฮอล์เมื่อหมักจนครบที่ระยะเวลาต่างๆ

1.1 ที่มาและความสำคัญของปัญหา

เป็นที่ยอมรับกันว่า “ข้าว” เป็นพืชเศรษฐกิจที่สำคัญอย่างหนึ่งของไทยเรามาช้านานแล้ว ความสำคัญของข้าวมีทั้งในแง่ของการเป็นพืชที่ปลูกเพื่อใช้เป็นอาหารหลักประจำวัน รวมทั้งเป็นพืชที่เกษตรกรส่วนใหญ่ทำกันเป็นอาชีพหลัก เป็นแหล่งรายได้ทั้งต่อตัวเกษตรกรผู้ปลูกเอง และยังเป็นสินค้าส่งออกที่ทำรายได้ให้ประเทศอีกด้วย ถึงแม้ว่าในปัจจุบันมูลค่าของข้าวที่เป็นสินค้าส่งออกนี้จะลดลง เนื่องจากประเทศไทยสามารถส่งออกผลิตภัณฑ์ประเภทอื่นที่มีมูลค่าสูงกว่า แต่ข้าวก็ยังถือเป็นพืชหลักที่เกษตรกรยังคงนิยมปลูกมาโดยตลอด โดยสถิติในปีเพาะปลูก 2534/35 ประเทศไทยมีเนื้อที่เพาะปลูกข้าวทั้งสิ้นรวม 5,9671,000 ไร่ ได้ผลผลิตรวม 20,400,000 ตัน (สำนักงานสถิติแห่งชาติ, 2537) และสามารถส่งเป็นสินค้าออกในปี 2534 ได้ถึง 4,333,015 ตัน คิดเป็นมูลค่า 30,515 ล้านบาท ซึ่งเป็นอันดับสามของมูลค่าสินค้าส่งออกจากภาคเกษตรกรรมทั้งหมดในปีเดียวกัน (สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร, 2535) “ข้าว” นอกจากจะขายโดยตรงเป็นรายได้แล้ว ยังสามารถนำมาแปรรูปเป็นผลิตภัณฑ์อย่างอื่นได้อีกมากมาย เป็นการเพิ่มมูลค่าของข้าวและเป็นการเพิ่มอาชีพให้กับเกษตรกรได้อีกทางหนึ่ง ผลิตภัณฑ์ที่แปรรูปมาจากข้าวและเป็นที่รู้จักกันเป็นอย่างดีอย่างหนึ่ง ได้แก่ “ไวน์ข้าว” (rice wine)

ไวน์ข้าว เป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านที่ใช้เทคโนโลยีการหมักโดยหมักข้าวเหนียวนี้ร่วมกับลูกแป้ง ไวน์ข้าวในประเทศไทยส่วนมากทำกันในชนบทและมีชื่อเรียกแตกต่างกันไปตามแต่ละท้องถิ่น เช่น ภาคกลางเรียกไวน์ข้าวว่า “น้ำขาว” แต่บางท้องถิ่นเรียกว่า “กะแซ่” (กะแซ่ในบางท้องถิ่นก็จะหมายถึง “น้ำตาลเมา” ซึ่งทำมาจากน้ำตาลสดของต้นตาลโตนครหรือมะพร้าว) ส่วนภาคอีสานเรียกไวน์ข้าวชนิดเดียวกันนี้ว่า “สาโท” หรือ “เหล้าโท” (จรรยา คำนวนตา และ มนตรี เขาวนสังเกต, 2524) การผลิตไวน์ข้าวดังกล่าวจะทำขึ้นเพื่อบริโภคเองในครอบครัว หรืออาจจะผลิตขึ้นเพื่อจำหน่ายลงในโอกาสงานประเพณี และวันพิธีสำคัญต่างๆ เช่น งานทำบุญบ้าน งานบวช งานแต่งงาน งานทอดกฐินและผ้าป่า เป็นต้น การผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านหรือไวน์ข้าวนี้สะท้อนให้เห็นว่าเป็นวัฒนธรรมและประเพณีของคนไทย ที่มีการถ่ายทอดเทคโนโลยีการผลิตกันมานานนับศตวรรษ และนับว่าเป็นเทคโนโลยีที่เหมาะสมกับสภาพชีวิตความเป็นอยู่และสภาพเศรษฐกิจของคนไทย เพราะข้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบนั้นสามารถหาได้ง่ายและราคาถูก กระบวนการผลิตก็ทำได้ง่ายไม่ยุ่งยากแต่อย่างใด สามารถตอบสนองความต้องการของชุมชนได้เป็นอย่างดี

แต่อย่างไรก็ตามการผลิตเครื่องดื่มดังกล่าว ต้องมีการขออนุญาตตามกฎหมายเสียก่อน ทำให้อุตสาหกรรมการผลิตเครื่องดื่มประเภทนี้ไม่ก้าวหน้าเท่าที่ควร เนื่องจากชาวบ้านมักจะลักลอบทำดื่มกันแต่ในครัวเรือน เพราะกลัวความผิด อีกทั้งไม่มีทุนทรัพย์ที่จะขอสร้างโรงงานได้ แต่อย่างไรก็ดีได้มีเอกชนบาง

รายพยายามทำการผลิตเครื่องต้มแอลกอฮอล์เช่นสาโท ออกมาจำหน่ายในทางการค้า โดยการตั้งโรงงาน และปรับปรุงกรรมวิธีการผลิตที่ทันสมัยขึ้น แต่ก็ไม่สามารถรักษากลิ่นและรสแบบดั้งเดิมไว้ได้ จึงไม่ได้รับความนิยมจากผู้ดื่ม อีกทั้งยังประสบปัญหาเกี่ยวกับคุณภาพของผลผลิตที่ได้ คือ ปริมาณแอลกอฮอล์ไม่แน่นอน ทำให้การผลิตต้องยกเลิกไปในที่สุด ปัจจุบันโรงงานผลิตสุราส่วนใหญ่จะใช้กากน้ำตาลเป็นวัตถุดิบในการผลิตแอลกอฮอล์ เพราะมีความสะดวกและได้ปริมาณแอลกอฮอล์สูง และจากกรรมวิธีการผลิตที่พัฒนาขึ้น สามารถควบคุมคุณภาพของผลผลิตให้สม่ำเสมอได้ (ประดิษฐ์ ครุวัฒนา, 2527)

ในปัจจุบันไวน์ข้าวจึงไม่ค่อยมีให้เห็นมากนัก โดยเฉพาะคนรุ่นใหม่แทบจะไม่รู้จักและเคยเห็นไวน์ข้าวเหล่านี้เลย เนื่องจากการผลิตหรือต้มจะทำโดยเปิดเผยไม่ได้ดังเหตุผลที่กล่าวแล้วข้างต้น จึงเป็นที่น่าเสียดายอย่างยิ่งที่วัฒนธรรมดังกล่าวนี้อาจจะต้องสูญไป ถ้าเราไม่มีการส่งเสริมหรืออนุรักษ์คุณค่าของภูมิปัญญาชาวบ้านไว้

ในการผลิตไวน์ข้าว **ลูกแป้ง** นับว่าเป็นวัตถุดิบที่สำคัญที่ใช้หมักร่วมกับข้าว เนื่องจากลูกแป้งจะเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมัก คือ สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล (saccharification) และเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ (fermentation) และจากปัญหาที่เกิดขึ้นจากการใช้ลูกแป้งในการหมักไวน์ข้าวซึ่งปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ไม่แน่นอนนั้น มนตรี เชาวน์สังเกต (2521) ได้ทำการศึกษาเพื่อคัดเลือกเชื้อบริสุทธิ์ที่มีคุณสมบัติเหมาะสม และมีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งและได้แอลกอฮอล์สูง รวมทั้งต้องให้กลิ่นรสที่ดีด้วย ซึ่งจากการศึกษาพบว่าเชื้อ *Amylomyces* หรือเชื้อ *Rhizopus* และเชื้อ *Saccharomyces* มีคุณสมบัติเหมาะสมสำหรับนำมาใช้ในอุตสาหกรรมหมักไวน์ข้าวในประเทศไทย แต่ในทางปฏิบัติแล้วยังไม่มีผู้ใดทดลองทำการผลิตเป็นอุตสาหกรรม อาจจะเป็นเพราะไม่คุ้มทุนเนื่องจากการใช้กากน้ำตาลในการผลิตต้นทุนจะต่ำกว่า ส่วนการผลิตในระดับชาวบ้านนั้นก็ยังคงทำการผลิตโดยใช้ลูกแป้งอยู่นั่นเอง ซึ่งอาจจะเนื่องมาจากการขาดการส่งเสริมหรือขาดข้อมูลการผลิตเรื่องการใช้เชื้อบริสุทธิ์ รวมทั้งความไม่แน่ใจในกรรมวิธีการผลิตเพราะชาวบ้านยังคุ้นเคยกับการผลิตแบบดั้งเดิมมากกว่า อีกทั้งวัตถุดิบที่ใช้ซึ่งจะต้องเปลี่ยนมาใช้เชื้อบริสุทธิ์แทนลูกแป้งนั้นก็หาซื้อได้ยากกว่า ปัจจัยต่างๆดังกล่าวนี้ล้วนเป็นข้อจำกัดในหลายประการในการที่จะผลิตไวน์ข้าวโดยใช้เชื้อบริสุทธิ์ในระดับอุตสาหกรรมครัวเรือนนอกเหนือจากข้อจำกัดในทางกฎหมายที่กล่าวแล้ว ดังนั้นจะเห็นว่าการผลิตสุราหรือเครื่องต้มแอลกอฮอล์จะเป็นผู้ผลิตรายใหญ่เข้ามาดำเนินการแทบทั้งสิ้น

เมื่อหันมามองการผลิตแบบพื้นบ้านดั้งเดิมโดยการใช้ลูกแป้งนั้น ก็พบว่ามีข้อดีอยู่หลายประการ เช่น การที่มีจุลินทรีย์หลายชนิดหลายสายพันธุ์อยู่ร่วมกันในลูกแป้งทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยแป้งได้ดีกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ การย่อยจากจุลินทรีย์สายพันธุ์เดียวที่มีประสิทธิภาพสูงสุด (จิราภรณ์ สุขุมวาลี, 2518) และจากกรรมวิธีการผลิตลูกแป้งนั้นก็นับได้ว่าเป็นวิธีการเก็บรักษาพันธุ์จุลินทรีย์ด้วยเทคโนโลยีที่เหมาะสม เนื่องจากตามปกติแล้ว เชื้อ *Amylomyces* เป็นเชื้อราที่เก็บรักษาค่อนข้างยาก เมื่อเก็บในสภาพเชื้อสดในตู้เย็นบนอาหารเลี้ยงเชื้อ คุณสมบัติของเชื้อจะเปลี่ยนไปค่อนข้างรวดเร็ว ข้อดีอีกประการหนึ่งของลูกแป้ง คืออายุ

การเก็บรักษาของลูกแป้ง ที่สามารถเก็บไว้ได้นานอย่างน้อยที่สุดประมาณ 6 เดือน โดยที่คุณสมบัติในด้านการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลไม่เปลี่ยนแปลง (นภา โล่ห์ทอง, 2534)

นอกจากนี้แล้วในด้านของการศึกษาเปรียบเทียบการยอมรับผลิตภัณฑ์ “ข้าวหมาก” ซึ่งมีการผลิตโดยใช้เทคโนโลยีการหมักเช่นเดียวกันกับการผลิตไวน์ข้าว โดยชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2520) ได้ทดลองหมักข้าวหมากด้วยเชื้อบริสุทธิ์ที่เขาได้คัดเลือกไว้แล้วว่ามีความสมบัติที่เหมาะสม และมีประสิทธิภาพในการหมักข้าวหมาก และได้ทำการเปรียบเทียบกลิ่นและรสกับข้าวหมากที่ใช้เป็นตัวควบคุม (ซื้อมาจากตลาดสะพานใหม่ กรุงเทพฯ ซึ่งทำโดยใช้ลูกแป้ง) ปรากฏว่าข้าวหมากที่ทำจากเชื้อบริสุทธิ์ได้คะแนนความชอบในกลิ่นและรสต่ำกว่าข้าวหมากที่ใช้เป็นตัวควบคุม แสดงให้เห็นว่าคุณภาพของข้าวหมากที่หมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์นั้นยังด้อยกว่าข้าวหมากที่หมักด้วยลูกแป้ง ดังนั้นเทคโนโลยีการหมักโดยใช้ลูกแป้งจึงยังคงมีความสำคัญทั้งในด้านกลิ่นและรสซึ่งถือเป็นคุณภาพของผลผลิต และในด้านซึ่งเป็นการดำรงไว้ของเทคโนโลยีพื้นบ้านนี้

เมื่อพิจารณาตลาดของเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ในปัจจุบัน พบว่าแนวโน้มของเครื่องดื่มประเภทที่มีแอลกอฮอล์ต่ำ กำลังได้รับความสนใจและเป็นที่นิยมดื่มกันในกลุ่มผู้บริโภคที่เป็นวัยรุ่นที่มีอายุ 18 - 25 ปี กลุ่มผู้บริโภคที่เป็นสตรี และผู้ที่สนใจในสุขภาพของตนเอง เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำซึ่งเป็นที่รู้จักและนิยมดื่มกันอย่างแพร่หลายในปัจจุบัน ได้แก่ เครื่องดื่มประเภท “ไวน์คูลเลอร์” ซึ่งจะมีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 3 - 5 % โดยปริมาตร (ประดิษฐ์ ครุวัฒนา, 2531)

จากข้อดีของการผลิตแอลกอฮอล์โดยใช้ลูกแป้งในการหมักแบบพื้นบ้าน ดังนั้นการวิจัยในเรื่องการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำโดยใช้ลูกแป้งในการหมัก จึงน่าจะเป็นประโยชน์สำหรับใช้เป็นแนวทางการผลิตในระดับอุตสาหกรรมในครัวเรือนได้ต่อไปในอนาคต และยังเป็นการรักษาซึ่งเทคโนโลยีพื้นบ้านเหล่านี้ไม่ให้สูญหายไปด้วย

1.2 แนวคิดในการวิจัย

จากการตรวจสอบเอกสารพบว่านอกจากไวน์ข้าวแล้ว ในประเทศไทยยังมีการผลิตอาหารหมักประเภทของหวานที่ทำจากข้าว ซึ่งต้องใช้ลูกแป้งในการหมักเช่นเดียวกับไวน์ข้าว คือ “ข้าวหมาก” ที่ได้กล่าวถึงแล้วในข้างต้น การบริโภคข้าวหมากนั้นจะแตกต่างจากการบริโภคไวน์ข้าว กล่าวคือ ไวน์ข้าวจะบริโภคเฉพาะส่วนที่เป็นน้ำในลักษณะของเครื่องดื่ม แต่สำหรับข้าวหมากจะบริโภคเป็นของหวาน โดยจะบริโภคทั้งในส่วนที่เป็นเมล็ดที่อ่อนนุ่มและส่วนที่เป็นน้ำที่ซึมออกมาจากข้าวในระหว่างการหมัก ในส่วนของการผลิตนั้น การผลิตข้าวหมากจะมีกรรมวิธีการผลิตที่คล้ายกันกับการผลิตไวน์ข้าว แต่ต่างกันตรงชนิดของลูกแป้งที่ใช้และระยะเวลาในการหมัก กล่าวคือการผลิตไวน์ข้าวจะใช้ลูกแป้งเหล้าและใช้ระยะเวลาในการหมักประมาณ 7 - 14 วัน ส่วนการผลิตข้าวหมากนั้นจะใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมักและใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นกว่าคือ 2 - 3 วันเท่านั้น ความแตกต่างของลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมากอยู่ที่ชนิดและปริมาณของจุลินทรีย์ในลูกแป้ง

แต่บทบาทของจุลินทรีย์ในลูกแป้งทั้งสองชนิดนี้จะเหมือนกัน คือทั้งในลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมาก จะมีจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาล และมีจุลินทรีย์ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ได้เช่นเดียวกัน โดยเชื้อจุลินทรีย์ที่สามารถย่อยแป้งได้ที่พบในลูกแป้งเหล้าส่วนใหญ่จะเป็นเชื้อราพวก *Rhizopus* ส่วนที่พบในลูกแป้งข้าวหมากเป็นเชื้อราพวก *Amylomyces* ซึ่งเชื้อทั้งสองชนิดนี้ต่างก็มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งได้ดี และในลูกแป้งข้าวหมากยังพบยีสต์พวก *Endomycopsis* ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งได้ดีอีกด้วย (จิราภรณ์ สุขุมวาลี, 2518) ดังนั้นข้าวหมากจึงมีความหวานค่อนข้างมากแต่จะมีปริมาณแอลกอฮอล์น้อยกว่าในไวน์ข้าว เนื่องจากจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมากที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์มีประสิทธิภาพน้อยกว่าจุลินทรีย์ที่พบในลูกแป้งเหล้า (ชัยวัฒน์ จาติเสถียร, 2520) ดังนั้นการที่จะผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์หรือไวน์ข้าว สามารถเลือกใช้ได้ทั้งลูกแป้งเหล้าและลูกแป้งข้าวหมาก เพียงแต่รสชาติและปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จะแตกต่างกัน

ดังนั้นการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำในงานวิจัยครั้งนี้ จึงเลือกใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก เนื่องจากในลูกแป้งข้าวหมากมีจุลินทรีย์ ที่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้เช่นเดียวกับจุลินทรีย์ในลูกแป้งเหล้าแม้ว่าจะมีประสิทธิภาพต่ำกว่าดังที่ได้กล่าวแล้วก็ตาม แต่เนื่องจากงานวิจัยครั้งนี้ต้องการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่สูงนักซึ่งกำหนดไว้ไม่เกิน 5% โดยปริมาตร การเลือกใช้ลูกแป้งข้าวหมากจึงมีความเหมาะสมกว่า เพราะสามารถหาซื้อลูกแป้งข้าวหมากจากแหล่งผลิตได้ง่ายกว่าลูกแป้งเหล้า อีกทั้งคุณสมบัติของจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมากที่สามารถย่อยแป้งได้ดีทำให้น้ำที่หมักได้มีความหวานค่อนข้างมากนั้น ก็นับว่าเป็นข้อที่ดีเพราะความหวานที่เกิดจากการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลนี้ น้ำตาลที่ได้ส่วนใหญ่จะเป็นน้ำตาลกลูโคส ซึ่งสามารถดูดซึมเข้าสู่ร่างกายนำไปใช้ได้ทันทีจึงมีคุณประโยชน์ต่อร่างกายทั้งหมดเหล่านี้จึงเป็นเหตุผลที่ทำให้ผู้วิจัยเลือกใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก เพื่อผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 5% โดยปริมาตร อย่างไรก็ตามลูกแป้งที่ผลิตจากแหล่งต่าง ๆ กันจะมีจุลินทรีย์ในลูกแป้งแตกต่างกันไป ดังนั้นในการวิจัยจะได้ทำการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมากที่นำมาใช้ในการทดลองวิจัยครั้งนี้ด้วย

การศึกษาเปรียบเทียบการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ โดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมักสำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ นั้น ต้องการหาวิธีการผลิตที่สามารถให้ผลผลิต (yield) สูงสุด เพื่อให้มีการใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบคือข้าวให้ได้มากที่สุดนั่นเองและจะช่วยให้กากที่เหลือจากการผลิตซึ่งเป็นของเหลือที่ไม่ได้ใช้ประโยชน์แล้วมีปริมาณน้อยลงไปด้วย ซึ่งจะง่ายต่อการกำจัดทิ้งต่อไปด้วยเช่นกัน ผลผลิตที่กล่าวนี้หมายถึง ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมักที่ได้จากการหมัก ซึ่งขึ้นอยู่กับปัจจัยที่สำคัญ 2 ประการ คือ คุณภาพของลูกแป้งที่ใช้ และปริมาณลูกแป้งที่ใช้ (สิรินเทพ ภักดีคุณผล, 2521 และศิริลักษณ์ สินธวาลัย, 2525) ในด้านคุณภาพของลูกแป้ง ลูกแป้งที่นำมาใช้ในการวิจัยจะเป็นลูกแป้งที่ซื้อมาจากผู้ผลิตเพียงหนึ่งรายเท่านั้น ซึ่งเราไม่สามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้งได้ การเลือกใช้ลูกแป้งแทนที่จะใช้เชื้อบริสุทธิ์ซึ่งสามารถควบคุมเชื้อจุลินทรีย์ที่ต้องการได้นั้น เนื่องจากข้อดีของการใช้ลูกแป้งที่ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อแรก และ

เหตุผลอีกประการหนึ่งคือผู้วิจัยต้องการให้งานวิจัยชิ้นนี้มีความใกล้เคียงกับสภาพการผลิตจริงของชาวบ้าน เพื่อความเป็นไปได้ในการผลิตในระดับครัวเรือน ทั้งนี้เพราะชาวบ้านคงไม่สามารถหาเชื้อบริสุทธิ์มาหมักได้ หรือหาได้ยาก ส่วนในด้านของปริมาณลูกแป้งที่ใช้ในการหมักนั้น จะมีผลต่อปริมาณผลผลิตด้วยเช่นกัน กล่าวคือ ถ้าใช้ลูกแป้งมากปริมาณผลผลิตก็จะมากขึ้นตามไปด้วย ดังนั้นจึงได้มีการทดลองเพื่อศึกษาเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตกับปริมาณลูกแป้งที่ใช้ในแต่ละวิธีหมักก่อนในขั้นแรก โดยใช้ปริมาณลูกแป้งแตกต่างกันเป็น 3 ระดับ คือ 0.4% , 0.6% และ 0.8% (โดยน้ำหนักข้าวเหนียวข้าวสาร) เพื่อที่จะเลือกใช้ปริมาณลูกแป้งที่ให้ผลผลิตมากที่สุดมาทำการทดลองเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆทางเคมีในขั้นตอนต่อไป (หรือถ้าปริมาณผลผลิตที่ได้ไม่แตกต่างกันก็จะเลือกใช้ปริมาณลูกแป้งที่น้อยที่สุดเพื่อเป็นการประหยัดวัตถุดิบ)

สำหรับกรรมวิธีการผลิตไวน์ข้าวหรือข้าวหมากนั้น จะใช้ข้าวเหนียวหนึ่งสูกทั้งเมล็ดคลุกเคล้ากับลูกแป้งให้เข้ากันและสม่ำเสมอ จากนั้นนำไปใส่ภาชนะที่ปิดมิดชิด แล้วหมักไว้ตามระยะเวลาที่ต้องการจุลินทรีย์ในลูกแป้งก็จะทำการย่อยแป้งในข้าวเหนียวจนได้น้ำตาลและแอลกอฮอล์ ถ้ามีงานวิจัยโดยนำข้าวเหนียวหนึ่งไปบดและมีการเติมน้ำลงไปด้วย เพื่อให้มีลักษณะเป็นเหมือนน้ำแป้ง แล้วจึงนำไปหมักกับลูกแป้ง ซึ่งเปรียบเสมือนการให้จุลินทรีย์เจริญในอาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลวนั่นเอง โดยอาศัยหลักการที่ว่าจุลินทรีย์จะเจริญในที่ที่มีน้ำผสมอยู่มากได้ดีกว่าที่มีน้ำผสมอยู่น้อย แต่ทั้งนี้ก็ขึ้นอยู่กับความต้องการน้ำ (ความชื้น) ของจุลินทรีย์แต่ละชนิดด้วยซึ่งจะแตกต่างกันไป โดยแบคทีเรียและยีสต์ต้องการน้ำมาก ส่วนราต้องการน้ำค่อนข้างน้อยในการเจริญ (บัญญัติ สุขศรีงาม, 2525) การบดข้าวเหนียวหนึ่งนี้จะทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างจุลินทรีย์กับ substrate (ข้าวเหนียวหนึ่ง) มีมากขึ้น การให้จุลินทรีย์เจริญในอาหารที่มีลักษณะเป็นของเหลวดังกล่าว จึงน่าจะเป็นการเพิ่มประสิทธิภาพในการใช้ประโยชน์จากข้าวได้มากขึ้น แต่เนื่องจากการนำข้าวเหนียวหนึ่งไปบดและมีการเติมน้ำลงไปเพื่อให้เป็นน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งนั้น น้ำที่เติมลงไปนี้จะมีส่วนต่อการหมักในเรื่องของความชื้นและมีผลต่อปริมาณน้ำหมักที่จะได้ด้วย ดังนั้นการที่จะเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักระหว่างการบดข้าวเหนียวหนึ่งกับไม่บดนั้น เราจึงต้องเติมน้ำลงไปปริมาณที่เท่ากันในวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดที่ไม่ได้ผ่านการนำไปบดด้วยเช่นกัน เพื่อควบคุมการทดลองให้มีปริมาณน้ำเริ่มต้นและความชื้นเริ่มต้นที่เท่ากัน หรืออย่างน้อยต้องใกล้เคียงกันมากที่สุด และเนื่องจากการทำข้าวหมากโดยทั่วไปมักจะไม่นิยมเติมน้ำลงไป ดังนั้นนอกจากจะเปรียบเทียบวิธีหมักโดยใช้ลักษณะของวัตถุดิบ (ข้าวเหนียวหนึ่ง) ต่างกัน 2 แบบ คือ วิธีหมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งในลักษณะที่เป็นน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง และวิธีหมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดแต่เติมน้ำลงไปด้วยแล้ว ผู้วิจัยยังจะทำการทดลองโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว ซึ่งไม่มีการเติมน้ำลงไป เพื่อเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้กับสองวิธีข้างต้นด้วย ในการนี้เพื่อศึกษาดูว่าถ้าหมักข้าวในลักษณะของการทำข้าวหมากโดยทั่วไปด้วยแล้ว จะได้ปริมาณผลผลิตแตกต่างกันอย่างไร สรุปว่าการวิจัยในครั้งนี้ผู้วิจัยได้ตั้งคำถามไว้ 3 ข้อ คือ

1. การเพิ่มปริมาณการใช้ลูกแป้งจะทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นด้วยหรือไม่
2. การบดข้าวเหนียวหนึ่งจะทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นหรือไม่เมื่อเปรียบเทียบกับการไม่บด
3. วิธีการหมักแบบใดที่ให้ปริมาณและคุณภาพของผลผลิตดีที่สุด โดยเปรียบเทียบในสามวิธี คือ
 - 3.1 วิธีการหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งบด (น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง)
 - 3.2 วิธีการหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด (ไม่บด) และมีการเติมน้ำลงไปด้วย
 - 3.3 วิธีการหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด (ไม่บด) อย่างเดียว

1.3 วัตถุประสงค์ในการวิจัย

1. เพื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง, ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดทั้งแบบเติมน้ำและไม่เติมน้ำ เป็นวัตถุประสงค์ในการหมักร่วมกับลูกแป้งข้าวหมาก เพื่อผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ
2. เพื่อเปรียบเทียบการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบต่างๆทางเคมีในกระบวนการหมัก (pH, ปริมาณน้ำตาล, อุณหภูมิ, ปริมาณกรดแลคติก และปริมาณแอลกอฮอล์) ในแต่ละวิธีการหมัก
3. เพื่อทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ ที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 5 % โดยปริมาตร โดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมัก

1.4 สมมุติฐานในการวิจัย

1. ในการหมักที่ใช้ปริมาณลูกแป้งมากกว่า จะได้ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมักมากกว่าการหมักที่ใช้ปริมาณลูกแป้งน้อย โดยเปรียบเทียบการใช้ปริมาณลูกแป้งที่ระดับ 0.4% , 0.6% และ 0.8 %
2. การบดข้าวเหนียวหนึ่ง จะทำให้ได้ผลผลิตมากกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับการไม่บด โดยสมมุติฐานในข้อนี้จะดูจากผลผลิตที่ได้จากการหมักของวิธีการหมักที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งเปรียบเทียบกับวิธีการหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดเติมน้ำ เนื่องจากการเติมน้ำเพื่อให้เป็นน้ำแป้งนั้น น้ำที่เติมลงไปจะมีผลต่อการหมักในเรื่องของความชื้นและปริมาณน้ำหมักเริ่มต้นดังที่ได้กล่าวแล้ว ดังนั้นการที่จะบอกได้ว่าการบดทำให้ได้ผลผลิตเพิ่มขึ้นจริงหรือไม่นั้น จึงต้องเปรียบเทียบกับวิธีการหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดเติมน้ำ (โดยเติมน้ำในปริมาณที่เท่ากัน) เพราะเป็นการทดลองที่มีการควบคุมปริมาณความชื้นและปริมาณน้ำหมักเริ่มต้นเหมือนกันกับวิธีที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง

1.5 ขอบเขตการวิจัย

การศึกษาวิจัยในครั้งนี้เป็นการทดลองในห้องปฏิบัติการ โดยมีขอบเขตการวิจัยดังนี้

1. วัตถุดิบที่ใช้ในการวิจัย

- 1.1 ข้าวเหนียว ใช้ข้าวเหนียวใหม่พันธุ์เขี้ยววู เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายตามท้องตลาดทั่วไป
- 1.2 ลูกแป้ง จะใช้ลูกแป้งที่เลือกซื้อจากผู้ผลิตเพียง 1 รายเท่านั้น เพราะลูกแป้งที่ผลิตจากแหล่งต่างๆกัน จะมีประสิทธิภาพต่างกัน และการซื้อลูกแป้งจะคัดเลือกลูกแป้งที่มีลักษณะดี คือ โปร่งเบา สีขาวนวล ไม่มีรอยแตกร้าว ก้อนแป้งเป็นรูปพูน และไม่มียากลิ่นเหม็นเปรี้ยว
- 1.3 น้ำ จะใช้น้ำประปา เนื่องจากมีความสะดวกในการจัดหาและมีความสะอาดดี

2. อุปกรณ์ที่ใช้ในการวิจัย

- 2.1 ภาชนะหมัก ใช้ขวดโหลพลาสติก เนื่องจากหาซื้อได้ง่ายและราคาถูก
 - 2.2 เครื่องบดข้าวเหนียวหนึ่ง ใช้เครื่องบดด้วยมือขนาดเล็ก (meat mincer)
3. ระยะเวลาในการหมักนานที่สุดไม่เกิน 14 วัน เพราะโดยทั่วไปการทำไวน์ข้าวจะใช้ระยะเวลาการหมักประมาณ 7 - 14 วัน และการวิจัยครั้งนี้ต้องการแอลกอฮอล์ไม่สูงนักคือประมาณ 5% โดยปริมาตร

1.6 คำจำกัดความที่ใช้ในการวิจัย

1. ลูกแป้ง

หมายถึง กล้าเชื้อจุลินทรีย์ (inoculum) ที่เก็บในรูปเชื้อแห้งเพื่อใช้ในการผลิตอาหารหมักหลายชนิดในประเทศแถบเอเชีย (นภา โล่ห์ทอง, 2534)

2. ปริมาณลูกแป้งข้าวหมาก

หมายถึง ปริมาณลูกแป้งข้าวหมากซึ่งคิดเป็นเปอร์เซ็นต์(%) โดยน้ำหนักข้าวเหนียวข้าวสาร

3. เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ

หมายถึง เครื่องดื่มที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ไม่เกิน 5% โดยปริมาตร

4. saccharification

หมายถึง กระบวนการเปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลโดยเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้ง

5. fermentation

หมายถึง กระบวนการที่เกิดขึ้นเนื่องจากจุลินทรีย์ในลูกแป้งย่อยสลายน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ภายใต้สภาวะที่มีอากาศ

6. ปริมาณน้ำหมัก

หมายถึง ปริมาณน้ำที่ได้จากน้ำที่ซึมออกมาจากเมล็ดข้าว รวมกับน้ำที่ได้จากการทับน้ำออกจากเมล็ดข้าวด้วย ภายหลังจากหมักจนครบกำหนดเวลาแล้ว

7. ปริมาณผลผลิต (yield)

หมายถึง ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมัก

8. น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง

หมายถึง ข้าวเหนียวหนึ่งที่ถูกบดให้เล็กลงโดยการใช้เครื่องบด หลังจากนั้นจึงเติมน้ำลงไปผสมเพื่อให้แป้งข้าวเหนียวหนึ่งอยู่ในสภาพที่เป็นของเหลว

1.7 ประโยชน์ที่คาดว่าจะได้รับ

1. ทราบถึงผลผลิตคือปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมัก ที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวหนึ่งด้วยลูกแป้งข้าวหมากโดยวิธีการใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด เปรียบเทียบกับการใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง ซึ่งจะเป็นการหาวิธีการหมักที่เหมาะสมและใช้ประโยชน์จากวัตถุดิบอย่างคุ้มค่า และยังช่วยลดของเหลือจากขบวนการผลิตได้ด้วย

2. ใช้เป็นข้อมูลเบื้องต้นในการศึกษาวิจัยต่อไป เพื่อเป็นแนวทางในการพัฒนาการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำโดยการหมักข้าวเหนียวด้วยลูกแป้งให้เป็นอุตสาหกรรมในระดับครัวเรือน ซึ่งจะเป็นการเพิ่มมูลค่าของผลิตภัณฑ์จากการใช้ทรัพยากรคือ ข้าว เป็นวัตถุดิบในการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ และยังเป็นการคงไว้ของเทคโนโลยีพื้นบ้านนี้ด้วย

บทที่ 2

การตรวจเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้อง

สำหรับงานวิจัยในครั้งนี้ ซึ่งเป็นการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำโดยใช้เทคโนโลยีการหมัก ทำการหมักข้าวเหนียวกับลูกแป้ง จากนั้นจุลินทรีย์ในลูกแป้งจะทำการย่อยแป้งจนได้แอลกอฮอล์ ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้ทำการค้นคว้ารวบรวมเอกสารและงานวิจัยที่เกี่ยวข้องและได้แบ่งเนื้อหาในบทนี้ออกเป็น 4 หัวข้อ ดังนี้

- 2.1 เทคโนโลยีการผลิตลูกแป้ง
- 2.2 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง
- 2.3 แป้งและเอ็นไซม์ย่อยแป้ง
- 2.4 เทคโนโลยีการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านหรือไวน์ข้าว

2.1 เทคโนโลยีการผลิตลูกแป้ง

เทคโนโลยีการผลิตและการใช้ลูกแป้งนั้นพบว่ามีมาแต่โบราณแล้ว โดยเข้าใจว่ามีต้นกำเนิดจากประเทศจีน และชื่อเรียกของลูกแป้งก็จะแตกต่างกันไปในแต่ละท้องถิ่นแต่ละประเทศ ดังแสดงในตารางที่ 2-1 ส่วนการใช้ประโยชน์นั้นจะคล้ายคลึงกันเป็นส่วนใหญ่ คือใช้ในการหมักที่มีกิจกรรมการเปลี่ยนแป้งในวัตถุดิบให้เป็นน้ำตาล (saccharification) เพื่อผลิตอาหารหมักประเภทข้าวหมาก และสุรา เช่น สาโท หรือ อุ เป็นต้น

วรชิน สถิตนิมานการ (2492) ได้ให้ความหมายของการทำลูกแป้งว่า เป็นการเพาะและขยายพันธุ์ของราและยีสต์ในลูกแป้ง โดยราจะอยู่ในรูปของสปอร์ (spore) และยีสต์อยู่ในรูปของเซลล์คงทน (durable cell) เราสามารถแบ่งชนิดของลูกแป้งได้ตามลักษณะการใช้เพื่อให้ได้ผลผลิตที่ต้องการ ดังนี้คือ

1. ลูกแป้งเหล้า ใช้ทำสาโทและสุรา
2. ลูกแป้งข้าวหมาก ใช้ทำข้าวหมาก
3. ลูกแป้งน้ำส้มสายชู ใช้ทำน้ำส้มสายชู

ตารางที่ 2-1 ชื่อเรียกลูกแป้งตามภาษาท้องถิ่นของประเทศต่างๆ และการใช้ประโยชน์

ประเทศ	ชื่อท้องถิ่น	ผลิตภัณฑ์ที่ใช้ลูกแป้ง
จีน	ซีเหยว , เป๊ะเหยว , ซี - ชู	ข้าวหมาก , เครื่องดื่ม ประเภทกะแช่ ,สุราจากข้าว
ไต้หวัน	เพคคา (pekka)	สุราจากข้าว
ทิเบต	ฟับ (phab)	เครื่องดื่มประเภทกะแช่ , สุราจากข้าว
ลิทัวเนีย	ลิเวน (levian)	เครื่องดื่มประเภทกะแช่ , สุราจากข้าว
อินเดีย	บุคคาร์ (bukha) เมอร์ชา (murcha) รามุ (ramur)	เครื่องดื่มประเภทกะแช่ , สุราจากข้าว
เกาหลี	นุรุก ซี - ชู	สุราจากข้าว สุราจากข้าว
อินโดนีเซีย	ราจิทาเป้ ราจิเบราส ราจิพอยยัม ราจิเทมเป้	ข้าวหมาก เครื่องดื่มประเภทกะแช่ มันสำปะหลังหมักแบบข้าวหมาก (tape ketela) เทมเป้
มาเลเซีย	ราจิทาไป ,จูเบียง	เครื่องดื่มประเภทกะแช่
ไทย	ลูกแป้งข้าวหมาก ลูกแป้งเหล้า ลูกแป้งน้ำส้ม, สำนั้ส้ม	ข้าวหมาก กะแช่, สาโท, อุ น้ำส้มสายชู

ที่มา : นภา โล่ห์ทอง (2534)

การผลิตลูกแป้งแต่ละชนิดนั้นโดยทั่วไปจะมีวิธีการผลิตที่คล้ายคลึงกัน ต่างกันแต่เพียงองค์ประกอบของวัตถุดิบ ขนาด รูปร่าง ตลอดจนชนิดและสายพันธุ์จุลินทรีย์ในลูกแป้งเท่านั้น (มนตรี เชาวันสังเกต, 2521) สำหรับองค์ประกอบหลักที่ใช้ผลิตลูกแป้ง มีดังนี้

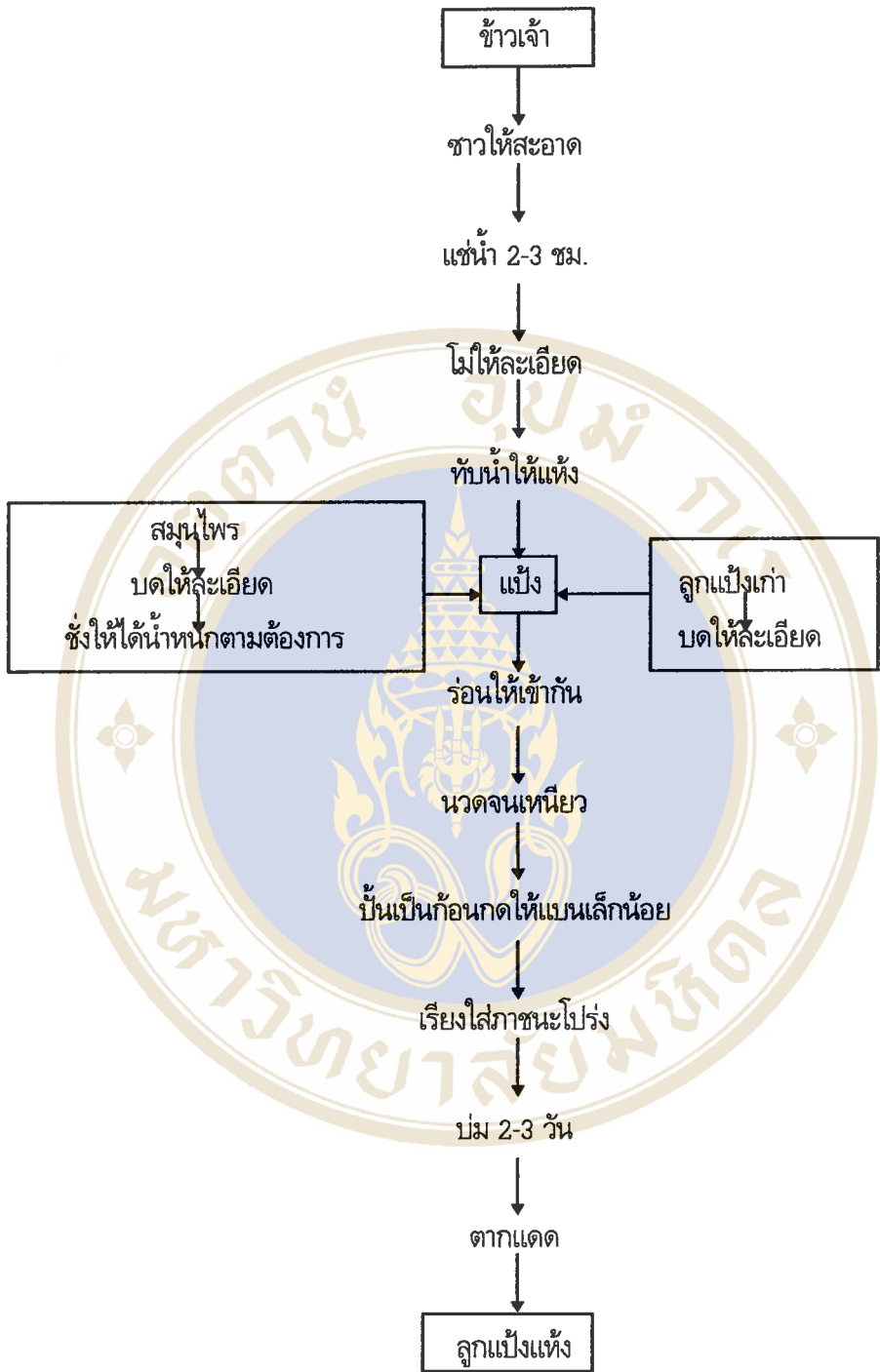
1) แป้ง สามารถใช้ได้ทั้งแป้งข้าวเหนียวและแป้งข้าวเจ้า แต่มีการศึกษาพบว่า ลูกแป้งที่ผลิตโดยใช้แป้งข้าวเจ้าล้วน ๆ จะมีคุณภาพดีกว่าที่ผลิตด้วยแป้งข้าวเหนียว หรือแป้งข้าวเจ้าผสมข้าวเหนียว (สงศรี กุลปรีชา, 2521) และควรใช้แป้งสดที่เตรียมใหม่ ๆ ไม่ควรใช้แป้งที่เตรียมค้างคืน เพราะจะทำให้ลูกแป้งที่ได้มีกลิ่นเหม็นเปรี้ยว

2) สมุนไพร ถือเป็นองค์ประกอบที่สำคัญอย่างหนึ่ง เพราะในสมุนไพรมีสารที่เป็นตัวยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ชนิดอื่นที่ไม่เป็นประโยชน์ แต่จะไม่ยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์พวงราและยีสต์ที่เป็นประโยชน์ (วรชิน สถิตนิมมานการ, 2492) ผู้ผลิตส่วนใหญ่มักปิดชนิดและปริมาณสมุนไพรที่ใช้ไว้เป็นความลับ ดังนั้นลูกแป้งจากแหล่งต่างๆ กันจะมีขนาด สี ลักษณะ และจุลินทรีย์ที่อยู่ในลูกแป้งแตกต่างกัน อย่างไรก็ตามวิสิฐ (2494) ได้แสดงความเห็นว่าสมุนไพรที่ใช้เป็นส่วนประกอบในการทำลูกแป้งจะมีอัตราส่วนต่างๆ กัน และลูกแป้งที่ได้ทำขึ้นมาจากทุกตำรับได้ผ่านการทดสอบมาแล้วว่าได้ผลดี การแก้ไขหรือตัดสมุนไพรบางชนิดออกไปอาจจะเป็นผลเสีย แต่ควรระมัดระวังในขั้นตอนการผลิตต่าง ๆ มากกว่า เพราะมีความสำคัญในการทำลูกแป้งเช่นเดียวกัน

3) ลูกแป้งเชื้อเดิม ซึ่งใช้เป็นแหล่งเชื้อจุลินทรีย์เริ่มแรกเพื่อขยายพันธุ์และยีสต์ให้เพิ่มขึ้นในลูกแป้งใหม่

4) น้ำ น้ำที่ใช้เตรียมลูกแป้งต้องใช้น้ำสะอาด สำหรับปริมาณน้ำที่ใช้นั้นไม่แน่นอนขึ้นกับความชำนาญของผู้ทำ แต่ควรจะใช้ในปริมาณที่พอเหมาะที่เมื่อนวดแป้งแล้วจะปั้นเป็นก้อนได้

ดังที่ได้กล่าวแล้วว่าการทำลูกแป้งจะแตกต่างกันไปในแต่ละแห่ง รายละเอียดของส่วนประกอบที่ใช้ก็แตกต่างกันไปด้วย แต่หลักการทำใหญ่ ๆ จะคล้ายกันคือ เริ่มจากการเตรียมแป้ง โดยข้าวข้าวให้สะอาดแช่น้ำไว้ประมาณ 2 - 3 ชั่วโมง จึงนำไปโม่แล้วหั่นน้ำให้แห้ง ผสมแป้งและสมุนไพรกับลูกแป้งเก่าที่บดละเอียดโดยคลุกเคล้าให้เข้ากัน จากนั้นจึงเติมน้ำในปริมาณที่นวดแป้งแล้วจะปั้นเป็นก้อนได้ ส่วนปริมาณน้ำที่ใช้นั้นกำหนดไม่ได้แน่นอนขึ้นกับความชำนาญของผู้ผลิต เมื่อนวดแป้งจนเหนียวแล้วจึงปั้นเป็นก้อนกลมให้มีขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 เซนติเมตร แต่มีการศึกษาพบว่าการหมักลูกแป้งที่นวดแล้วไว้ประมาณ 6 - 12 ชั่วโมง ก่อนจะนำมาปั้น จะได้ลูกแป้งที่มีคุณภาพดีกว่าที่ปั้นโดยไม่หมักแป้ง (นภา โล่ห์ทอง, 2534) หลังจากนั้นจึงเรียงลูกแป้งบนกระดังหรือภาชนะกันโปรงอื่น ๆ โดยให้แต่ละลูกห่างกันเล็กน้อย เมื่อเรียงลูกแป้งจนเต็มภาชนะแล้ว จึงโรยผงลูกแป้งที่เตรียมไว้ลงบนผิวของลูกแป้งที่ปั้นใหม่ แล้วปิดด้วยกระดังอีกใบหนึ่งคลุมภาชนะด้วยผ้าหนา ๆ เพื่อให้มีความร้อน ทิ้งไว้ประมาณ 2 - 3 วัน จึงนำไปตากแดดให้แห้งแล้วเก็บในภาชนะที่ปิดสนิทเพื่อใช้ต่อไป (รูปที่ 2-1)



รูปที่ 2-1 การผลิตลูกแป้ง

ที่มา : นภา โล่ห์ทอง (2534)

ลักษณะลูกแป้งที่ดีนั้นจะต้องโปร่งเบา มีสีขาวนวล ไม่มีรอยแตกร้าว น้ำหนักเบา และไม่มียีสขึ้นบนผิว เบรียว ถ้าสังเกตจะเห็นก้อนแป้งเป็นรูปพูน ซึ่งเกิดจากการฟูของแป้งขณะต้ม เมื่อบิออกมาในจะเห็นเส้นใยของรากะกับแป้งอยู่ทั่วไป และเมื่อขยี้เนื้อแป้งจะยุบเป็นผงละเอียด ลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าส่วนใหญ่มีลักษณะเป็นครึ่งวงกลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 3 - 4 เซนติเมตร ส่วนลูกแป้งน้ำส้มสายชูมักนิยมปั้นเป็นก้อนใหญ่ประมาณ 5 - 6 เซนติเมตร

สำหรับอายุการเก็บของลูกแป้ง ถ้าต้องการให้เก็บไว้ได้นาน ๆ ลูกแป้งจะต้องแห้ง และควรเก็บในตู้เย็นในภาชนะที่ปิดสนิท เพื่อลดปัญหาการถูกทำลายโดยแมลงและช่วยให้จุลินทรีย์ในลูกแป้งลดจำนวนช้าลง และพบว่าสามารถเก็บไว้ได้นานอย่างน้อยที่สุดประมาณ 6 เดือน (อ้างจากภา โล่ห์ทอง, 2534)

2.2 จุลินทรีย์ในลูกแป้ง

หลังจากที่บ่มลูกแป้งนานประมาณ 24 ชม. จะเห็นมีเส้นใยสีขาวของรากะขึ้นอย่างชัดเจน ส่วนยีสต์จะไม่สามารถมองเห็นได้ด้วยตาเปล่า ซึ่งเป็นการเจริญและขยายพันธุ์ของรากะและยีสต์ของแป้งเชื้อเดิมในลูกแป้งนั่นเอง โดยอาศัยอาหาร คือ แป้ง ความชื้นจากน้ำ ออกซิเจนในก้อนแป้ง และสภาพแวดล้อมที่พอเหมาะในการเจริญ หลังจากนั้นเมื่อนำลูกแป้งไปตากแดด จะทำให้ลูกแป้งอยู่ในสภาพที่ไม่เหมาะสมต่อการเจริญของจุลินทรีย์ รากะและยีสต์จะสร้างสปอร์และเซลล์ทนเพื่อปรับสภาพให้เข้ากับสิ่งแวดล้อมขณะนั้น เราจึงสามารถเก็บเชื้อจุลินทรีย์เหล่านี้ไว้ได้นานในสภาพของลูกแป้ง และเมื่อมีอาหารหรือสิ่งแวดล้อมที่เหมาะสม จุลินทรีย์เหล่านี้ก็จะเจริญและมีกิจกรรมต่อไปได้ สิ่งแวดล้อมหรือปัจจัยที่เหมาะสมสำหรับการเจริญของจุลินทรีย์นั้น ที่สำคัญคือ ออกซิเจน อาหาร ความชื้น อุณหภูมิ ความเป็นกรด-ด่าง (pH) และแสงสว่าง ถ้าทั้งหมดนี้อยู่ในสภาพที่เหมาะสม การเจริญของทั้งรากะและยีสต์ก็จะดำเนินไปอย่างรวดเร็ว (วรชิน สถิตนิมานการ, 2492) และเนื่องจากปัจจัยต่างๆดังกล่าวมีผลต่อการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ในลูกแป้ง ดังนั้นการศึกษาครั้งนี้จะทำการตรวจวัดสภาพแวดล้อมหรือสภาวะในขณะนั้นเอาไว้ ในช่วงระยะเวลาต่างๆของการดำเนินการทดลองจนเสร็จสิ้นการทดลอง ปัจจัยที่จะทำการตรวจวัดได้แก่ ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศและอุณหภูมิบรรยากาศ

ดังที่กล่าวแล้วว่าลูกแป้งที่ผลิตจากแหล่งต่างๆกันจะมีประสิทธิภาพต่างกัน เนื่องจากชนิดและปริมาณจุลินทรีย์ในลูกแป้งแตกต่างกัน สำหรับลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าไทย พบชนิดของเชื้อราและยีสต์ ดังรายละเอียดในตารางที่ 2-2

ตารางที่ 2-2 เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าไทย

ชนิดของลูกแป้ง	เชื้อรา	ยีสต์
ลูกแป้งข้าวหมากไทย	<i>Amylomyces rouxii</i> <i>Rhizopus spp.</i> <i>Mucor spp.</i> <i>Aspergillus niger</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Penicillium spp.</i> <i>Hyalodendron spp.</i>	<i>Endomycopsis fibuligera</i> <i>Endomycopsis spp.</i> <i>Hansenula malanga</i> <i>Candida tropicalis</i> <i>Torulopsis glabrata</i>
ลูกแป้งเหล้าไทย	<i>Rhizopus spp.</i> <i>A. rouxii</i> <i>Mucor spp.</i> <i>Aspergillus spp.</i> <i>Penicillium spp.</i>	<i>Saccharomyces cerevisiae</i> <i>Endomycopsis fibuligera</i> <i>Endomycopsis spp.</i>

ที่มา : นภา โล่ห์ทอง (2534)

จุลินทรีย์ที่เป็นเชื้อหลักที่พบในลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล้าไทยนั้นจะแตกต่างกัน โดยในลูกแป้งข้าวหมาก เชื้อราที่เป็นเชื้อหลักที่พบได้แก่ *Amylomyces rouxii** (กฤษณามวารวิสิฐ, 2494) และเป็นเชื้อราที่มีความสำคัญที่สุดในการทำข้าวหมาก เอ็นไซม์ที่ผลิตได้มีทั้งแอลฟาอะไมเลส และกลูโคอะไมเลส ดังนั้นในกระบวนการหมัก *Amylomyces rouxii* จึงมีบทบาทในการเปลี่ยนแป้งเป็นน้ำตาล (ชัยวัฒน์ จาติเสถียร, 2520 และกรองแก้ว พูนสวัสดิ์, 2516) จุลินทรีย์นี้มีปรากฏเพียง species เดียว และไม่มีรายงานว่ายแยกได้จากธรรมชาติ ซึ่งสันนิษฐานว่าเป็นเชื้อที่ผ่าเหล่าอย่างถาวรมาจาก *Rhizopus spp.* (Ellis และ Hesseltine, 1976) ราที่พบรองลงมาในลูกแป้งข้าวหมากคือ *Mucor* , *Rhizopus* และ *Aspergillus*

* *Amylomyces rouxii* มีชื่อพ้องคือ *Chlamydomucor oryzae* , *Chlamydomucor rouxii* , *Chlamydomucor rouxianus* , *Chlamydomucor japonicus* และ *Rhizopus chlamydosporus*

(ชัยวัฒน์ จาตเสถียร, 2520 และสิรินเทพ ภักดีศุภผล, 2521) สำหรับเชื้อราในลูกแป้งเหล่านี้จะพบทั้ง *Rhizopus spp.* และ *A. rouxii* เป็นเชื้อหลัก แต่เชื่อว่า *Rhizopus spp.* มีความสำคัญมากกว่า เพราะนอกจากจะแยกเชื้อได้เป็นจำนวนมากแล้ว ลูกแป้งที่เก็บมาจากหลายแห่งจะมีสืออกเทาเล็กน้อย และเมื่อนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ก็พบ sporangiospore จำนวนมาก (ชัยวัฒน์ จาตเสถียร, 2520)

ชัยวัฒน์ จาตเสถียร (2520) ยังได้ทำการแยกเชื้อยีสต์ในลูกแป้งข้าวหมากซึ่งพบว่าส่วนใหญ่ได้แก่ *Endomycopsis* รองลงมาเป็นพวก *Hansenula* และ *saccharomyces* พบน้อยที่สุด *Endomycopsis* เป็นยีสต์ที่มีความสามารถในการย่อยแป้ง จากการศึกษารายงานของจิราภรณ์ สุขุมวาลี (2518) เชื้อยีสต์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากคือ *Endomycopsis fibuligera* ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์ glucoamylase ได้สูงด้วย นอกจากนั้น *Endomycopsis spp.* ยังสามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ด้วย สำหรับ *Hansenula* ที่พบในลูกแป้งข้าวหมาก เป็นยีสต์ที่ไม่มีความสามารถในการย่อยแป้ง แต่สามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้และยังมีคุณสมบัติดีในด้านการสร้างกลิ่นของเอสเทอร์ (นภา โล่ห์ทอง, 2534) ส่วนลูกแป้งเหล่านี้จะพบ *Saccharomyces cerevisiae* ในปริมาณมากกว่า *Endomycopsis spp.* ซึ่งตรงกันข้ามกับลูกแป้งข้าวหมากที่พบ *Endomycopsis* มากกว่า *Saccharomyces* เชื้อ *S. cerevisiae* นี้จะมีประสิทธิภาพมากในการเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ ดังนั้นปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ข้าวจึงมีมากกว่าในข้าวหมาก แต่ถึงแม้ว่าในข้าวหมากจะมีแอลกอฮอล์เพียงเล็กน้อย แต่ก็มีควาหวานมาก เพราะมีทั้งเชื้อราและยีสต์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งมากดังที่กล่าวมาแล้วนั่นเอง

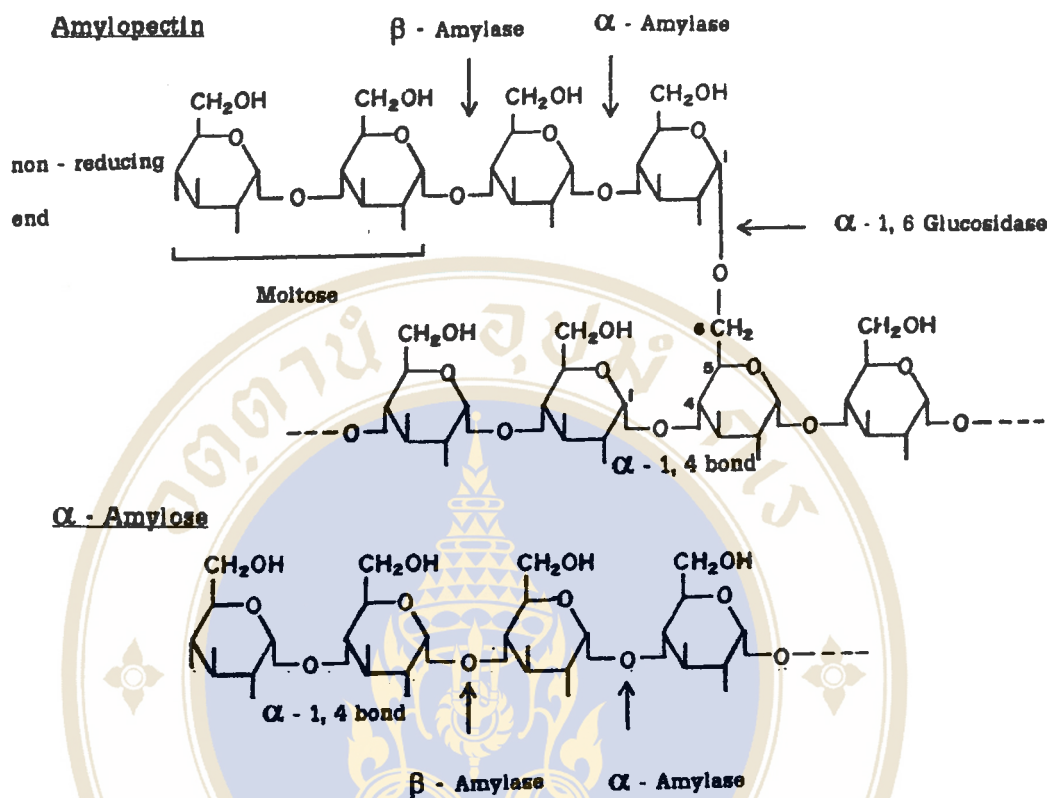
สำหรับแบคทีเรียทั้งในลูกแป้งเหล่านี้และลูกแป้งข้าวหมากมีรายงานตรวจพบแบคทีเรียแลคติก นอกจากนี้ในลูกแป้งเหล่านี้และลูกแป้งข้าวหมากของไทยจากบางท้องถิ่นยังตรวจพบ *Lactobacillus spp.* และเชื้อน้ำส้มสายชู (*Acetobacter spp.*, *Gluconobacter*) *Bacillus spp.* เป็นแบคทีเรียอีกกลุ่มหนึ่งที่พบในลูกแป้งอยู่บ่อยครั้ง เนื่องจากเป็นจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนมากับวัตถุดิบ เช่น แป้ง และสมุนไพร สำหรับแบคทีเรียแลคติกนั้น ไม่มีรายงานศึกษาถึงบทบาทที่แน่ชัด โดยเฉพาะในการหมักข้าวหมาก การมีแบคทีเรียเหล่านี้ในปริมาณมาก จะมีผลให้ข้าวหมากเปรี้ยวไม่เป็นที่ยอมรับ ส่วนเครื่องต้มแอลกอฮอล์ประเภทกะแช่หรือสาโทนั้น ยีสต์จะเจริญและผลิตแอลกอฮอล์ได้ดีเมื่อน้ำหมักมี pH ต่ำ และการมีกรดในน้ำหมักยังเป็นผลทำให้จุลินทรีย์ปนเปื้อนอื่นๆ เจริญได้ช้าลง ส่วน *Acetobacter spp.* ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากและลูกแป้งเหล่านี้ ถึงแม้จะมีในปริมาณน้อย ก็มีส่วนทำให้เกิดกลิ่นฉุนคาวโดยมีการดักน้ำส้มเกิดขึ้น (นภา โล่ห์ทอง, 2534)

ผลการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ในลูกแป้งดังที่กล่าวมาแล้วนั้น จะเห็นว่าการเปลี่ยนแปลงที่เกิดขึ้นในกระบวนการหมัก มีผลทำให้น้ำหมักที่ได้ประกอบไปด้วย น้ำตาล , แอลกอฮอล์ และกรด ดังนั้นในขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำหมัก จึงจะทำการตรวจหาปริมาณน้ำตาล , ปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณกรดทั้งหมด (คิดเป็นกรดแลคติก) ตามวิธีการของ Amerine and Ough. (1974) รวมทั้งวัดค่าความเป็นกรด - ด่าง (pH) ด้วย

การวิเคราะห์และจำแนกเชื้อจุลินทรีย์โดยทั่วไปจะอาศัยรูปร่างลักษณะของเชื้อ ทั้งที่มองเห็นได้ด้วยตาเปล่าและมองเห็นได้จากกล้องจุลทรรศน์ การดัดสีย้อม ลักษณะการเจริญเติบโตบนอาหารเลี้ยงเชื้อต่างๆ ตลอดจนการทดสอบทางชีวเคมี ฯลฯ จะเห็นได้ว่ามีหลักเกณฑ์การพิจารณาในการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์มากมายเพื่อให้สามารถจำแนกเชื้อแยกย่อยลงไปจนถึงเชื้อสาย (species) ได้ สำหรับการจำแนกเชื้อในลูกแบ่งในการวิจัยครั้งนี้จะทำการจำแนกเชื้อถึงระดับสกุล (genus) เท่านั้น

2.3 แป้งและเอ็นไซม์ย่อยแป้ง

แป้งเป็นสารคาร์โบไฮเดรตพอลิแซ็กคาไรด์ที่สำคัญในธรรมชาติ ตามธรรมชาติเกิดขึ้นในสองแบบคือ อัลฟาอะมิโลส (α - amylose) และอะมิโลเพคติน (amylopectin) โดยที่อัลฟาอะมิโลสประกอบด้วยหน่วยของกลูโคสต่อกันเป็นลูกโซ่ยาวด้วยพันธะ α - 1, 4 glycosidic linkage ไม่มีการแตกแขนง (รูปที่ 2-2) ขนาดของโมเลกุลแตกต่างกันไป โดยมีน้ำหนักโมเลกุลตั้งแต่ 2,000 - 500,000 คุณสมบัติไม่ละลายน้ำแต่กระจายตัวได้ในน้ำ และให้น้ำเงินกับสารละลายไอโอดีน ส่วนอะมิโลเพคตินเกิดจากกลูโคสต่อกันด้วย α - 1, 4 glycosidic linkage และมีแขนงแยกออกทุก 12 หน่วยของกลูโคส ตรงตำแหน่งที่แตกแขนงต่อกันด้วย α - 1, 6 glycosidic linkage อะมิโลเพคตินมีน้ำหนักโมเลกุลสูงถึงเป็นล้าน ละลายน้ำอยู่ในรูปสารละลายคอลลอยด์ ให้สีม่วงแดงกับสารละลายไอโอดีน (สิรินทร์ วิโมกษ์สันถ์ และคณะ, 2521) สำหรับปริมาณของอะมิโลสและอะมิโลเพคตินในข้าวเหนียวและข้าวเจ้าไม่เหมือนกัน ในข้าวเจ้าจะมีอะมิโลสประมาณ 7 - 33% และที่เหลือเป็นอะมิโลเพคติน ส่วนข้าวเหนียวมีอะมิโลสน้อยมากหรือไม่มีเลย (อ้างจากชัยวัฒน์ จาติเสถียร, 2520)



รูปที่ 2-2 ส่วนหนึ่งของโครงสร้างของอัลฟาอะไมเลส และอะไมโลเพคติน
แสดงตำแหน่งของพันธะที่ถูกย่อยได้โดยเอนไซม์ต่างๆ

ที่มา : สิริินทร์ วิโมกข์สันถ์ และคณะ (2521)

เอนไซม์ที่สามารถย่อยแป้งได้ คือ เอนไซม์อะไมเลส (amylase) ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ปล่อยออกมาภายนอกเซลล์ (extracellular enzyme) เอนไซม์นี้แบ่งตามตำแหน่งการย่อยแป้งออกเป็น 2 ประเภท คือ

1. endoamylase

ย่อยสลายแป้งแบบสุ่มที่ตำแหน่ง α - 1, 4 glycosidic linkage แต่จะไม่สามารถย่อยน้ำตาลที่ต่อกันแบบ α - 1, 6 glycosidic linkage ซึ่งเป็นจุดที่แตกแขนงของอะไมโลเพคติน ผลของเอนไซม์นี้ต่อแป้งคือ ถ้าย่อยไม่สมบูรณ์จะได้ กลูโคส มอลโตส และเด็คตริน แต่ถ้าย่อยเกิดขึ้นสมบูรณ์จะได้ มอลโตสและกลูโคส เอนไซม์ประเภทนี้ได้แก่ α - amylase หรือ amylo (1-4) dextrinase เอนไซม์นี้พบทั้งในสัตว์ พืช และจุลินทรีย์

2. exoamylase

ย่อยแบ่งจาก non reducing end เข้าไป เอ็นไซม์ประเภทนี้ ได้แก่ β - amylase และ glucoamylase สำหรับ β - amylase หรือ amylo (1-4) maltosidase จะย่อยแบ่งที่ตำแหน่ง α - 1, 4 glycosidic linkage เข้าไปที่ละ 2 หน่วยของกลูโคส แต่ไม่สามารถย่อยสลายพันธะที่ต่อกันแบบ α - 1, 6 glycosidic linkage ได้ ผลที่ได้จากการย่อยจึงเป็นน้ำตาลมอลโตสและ limit dextrin ที่มีน้ำหนักรวมสูงปนอยู่ด้วย เอ็นไซม์นี้พบมากในพืช ธัญพืช และมันเทศ ส่วนกลูโคอะมิเลสหรือ γ - amylase หรือ amylo (1-4,1-6) glucosidase หรือ α - D(1-4) glucan glucohydrolase สามารถย่อยแบ่งได้อย่างสมบูรณ์ จาก non reducing end ที่ตำแหน่งต่างๆ คือ α - 1, 4 และ α - 1, 6 glycosidic linkage เข้าไปที่ละ 1 หน่วย จึงได้น้ำตาลกลูโคสเพียงอย่างเดียวในการย่อย เอ็นไซม์นี้พบครั้งแรกในจุลินทรีย์ ต่อมาในเนื้อเยื่อสัตว์ก็พบด้วย จุลินทรีย์ที่สร้างก็มียีสต์และเชื้อรา เช่น *Endomycopsis fibuligera* *Aspergillus oryzae* และ *A. niger* เป็นต้น (ดวงพร คันทโชติ, 2530)

สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ได้เลือกใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมักข้าว เพื่อผลิตเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำนั้น มีเหตุผลดังที่ได้กล่าวไว้แล้วในแนวคิดในการศึกษา ว่าจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมากนั้นมีประสิทธิภาพในการย่อยแบ่งทั้งจากเชื้อราและยีสต์ ดังนั้นผลจากการย่อยแบ่งโดยเอ็นไซม์ที่สร้างจากราและยีสต์นี้จะทำให้น้ำตาลมอลโตส และน้ำตาลกลูโคส ซึ่งส่วนใหญ่แล้วจะได้เป็นน้ำตาลกลูโคส เพราะยีสต์ *Endomycopsis fibuligera* ในลูกแป้ง สามารถผลิตเอ็นไซม์กลูโคอะมิเลสที่สามารถย่อยแบ่งตรงตำแหน่ง α - 1, 6 glycosidic linkage ได้ ปริมาณน้ำตาลที่เกิดขึ้นนี้มีผลต่อความหวานของผลผลิต ซึ่งก็คือ น้ำที่หมักได้นั่นเอง และการวัดปริมาณน้ำตาลซึ่งเกิดจากการย่อยแบ่งโดยจุลินทรีย์ในลูกแป้งนี้ นิยมวัดเป็นปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (reducing sugar) โดยอาศัยคุณสมบัติในการเป็นตัวรีดิวซ์ของน้ำตาลกลูโคสและมอลโตส และอีกวิธีหนึ่งจะวัดปริมาณน้ำตาลในรูปของ Total soluble solid ซึ่งหมายถึงของแข็งที่ละลายน้ำได้ ในที่นี้ก็คือน้ำตาลในน้ำที่หมักได้นั่นเอง ซึ่งเป็นวิธีที่ง่าย ทำได้สะดวก รวดเร็ว และถ้าตัวอย่างมีความหวานค่อนข้างสูงดังเช่นน้ำหมักนั้นแล้ว ผลการวิเคราะห์ที่ได้จะมีความถูกต้องค่อนข้างสูง ดังนั้นในการทดลองวิจัยในขั้นตอนการวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำหมักนั้น จะใช้วิธีการตรวจวัดปริมาณน้ำตาลในรูปของ Total soluble solid (หน่วยเป็น Brix) โดยใช้เครื่องมือสำหรับวัดคือ Hand Refractometer

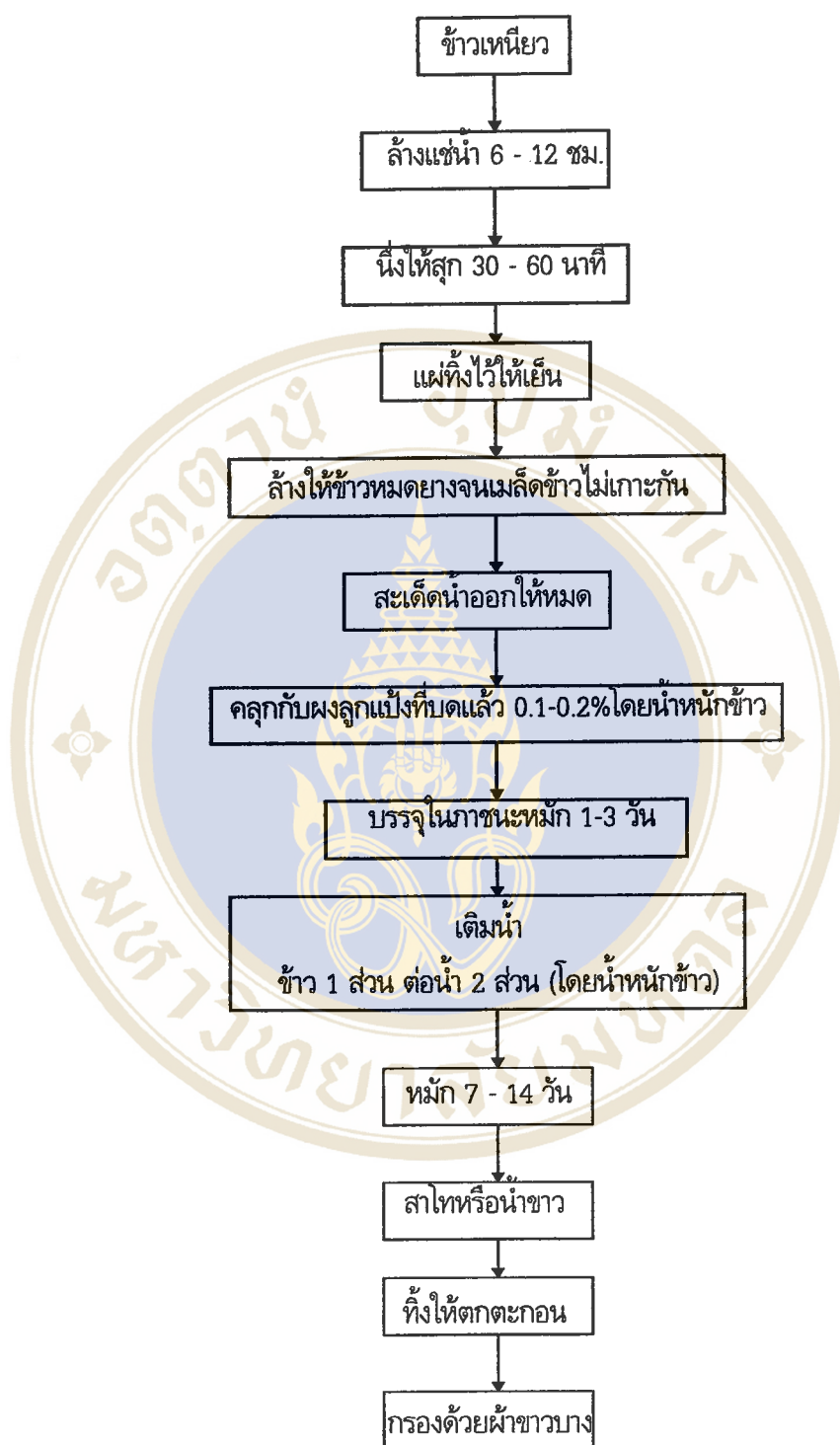
* น้ำตาลรีดิวซ์ หมายถึง โมโนแซคคาไรด์ที่มีหมู่ - OH ของคาร์บอนที่หนึ่งอยู่ในสภาพอิสระ จึงสามารถถูกออกซิไดซ์ด้วยตัวออกซิไดซ์ เช่น โบรมีน (Br_2) กรดไนตริก หรือ เทลลูรอนของทองแดงในสารละลายเบส (Fehling reagent) ได้

2.4 เทคโนโลยีการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านหรือไวน์ข้าว

เดิมทีเดียวนั้นการผลิตสุราในประเทศไทยจะใช้วิธีหมักจากข้าวล้วนๆ ไม่ได้ใช้กากน้ำตาลอย่างในปัจจุบัน โดยเข้าใจว่าชาวจีนเป็นผู้นำวิธีการผลิตเข้ามา ซึ่งในสมัยก่อนทำได้อย่างอิสระ ต่อมาจึงมีการเก็บภาษีทั้งภาษีอุตสาหกรรมและการค้าโดยมีชาวจีนและญวนเป็นผู้ผลิต ในสมัยรัชกาลที่ 6 จึงได้ออมนามาเป็นของรัฐบาล และต่อมาในปีพ.ศ. 2489 กิจการสุราทั้งหมดถูกโอนไปขึ้นกับกระทรวงอุตสาหกรรม (เฉลิม นურะนนท์, 2493) ซึ่งรวมถึงการผลิตไวน์ข้าวต่างๆ เช่น น้ำข้าว หรือสาโท และอุด้วย เพราะน้ำข้าว หรือสาโท และอุ จักอยู่ในจำพวก “สุราแช่” ตามความหมายในพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 ซึ่งให้คำนิยามไว้ว่า “สุราแช่” หมายถึง สุราที่ไม่ได้กลั่น และหมายความรวมถึงสุราแช่ที่ได้ผสมกับสุรากลับแล้ว แต่ยังมีแรงแอลกอฮอล์ไม่เกิน 15 ดีกรีด้วย (สามิตสาร, 2493)

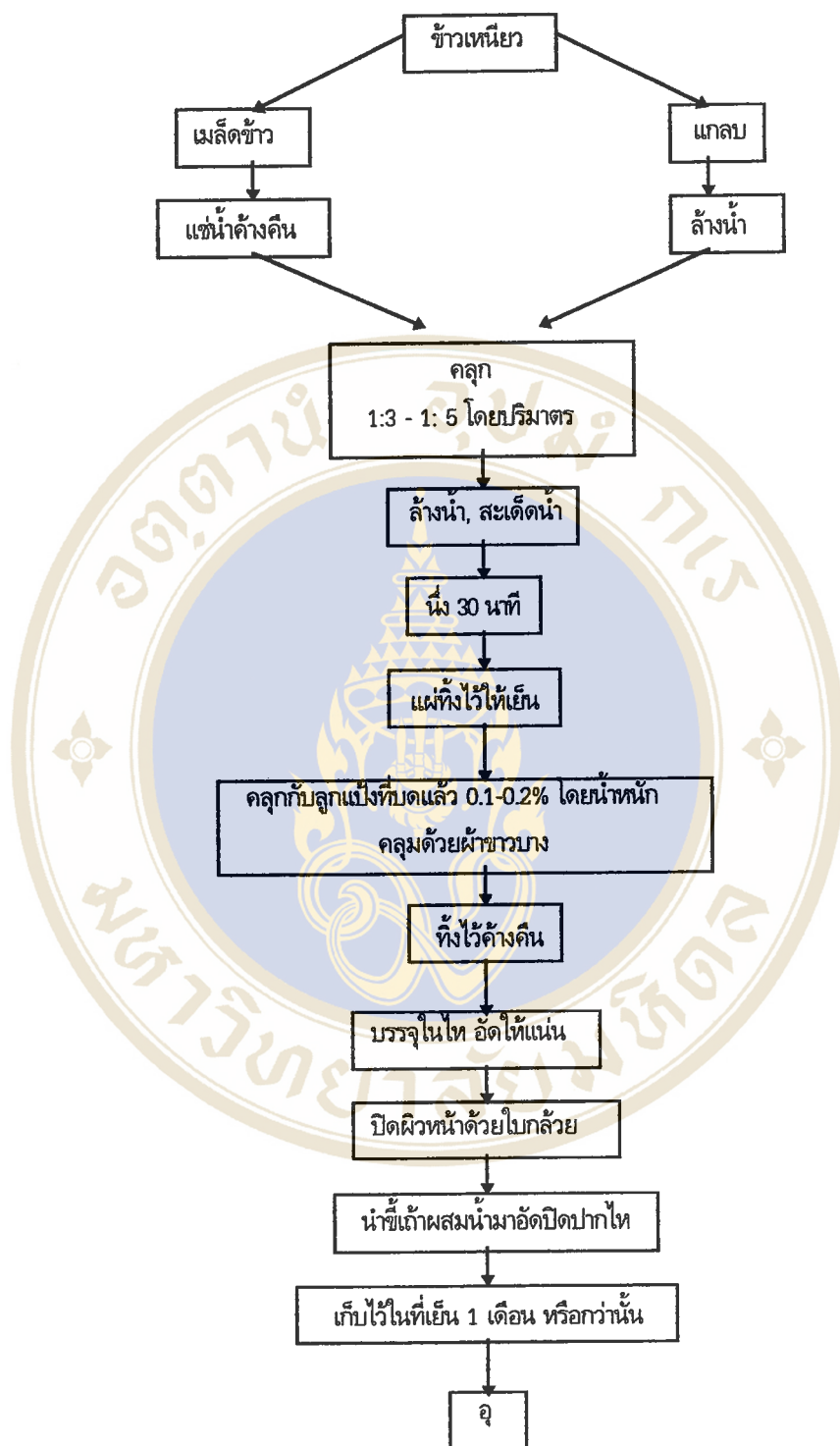
โดยทั่วไปการผลิตไวน์ข้าวไม่ว่าจะเป็นสาโทหรืออุก็ตาม (รูปที่ 2-3 และ 2-4) จะมีขั้นตอนที่สำคัญอยู่ 2 ขั้นตอน คือ

- 1) saccharification เป็นการเปลี่ยนแป้งในเมล็ดข้าวให้เป็นน้ำตาลโดยจุลินทรีย์ที่สร้าง amylolytic enzymes ซึ่งเป็นเอนไซม์ที่ย่อยแป้งได้
- 2) fermentation เป็นการเปลี่ยนน้ำตาลที่ได้จากขั้นตอนแรกให้เป็นแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์โดยยีสต์



รูปที่ 2-3 ขั้นตอนการผลิตสาโทหรือน้ำข้าว

ที่มา : มนตรี เชาว์นัสเสก (2521)



รูปที่ 2-4 ขั้นตอนการผลิตอุ

ที่มา : จรูญ คำนวนตา และมนตรี เชาว์นัสสังเกต (2524)

จากรูปที่ 2-3 จะเห็นว่าการทำงานสาโทหรือเหล้าขาว ในระยะ 3 วันแรกนั้นไม่มีการเติมน้ำ จะเป็นขั้นตอนย่อยแบ่งด้วยเชื้อราให้เป็นน้ำตาล หลังจากวันที่ 3 จึงเริ่มเติมน้ำ สัดส่วนของน้ำใช้ประมาณ 2 เท่าโดยน้ำหนักข้าว แล้วหมักไว้ประมาณ 7 - 14 วัน ก็กรองเอาน้ำมาดื่มได้ น้ำที่ได้จะมีสีขาวขุ่น จึงเรียก “น้ำขาว” แต่ถ้าทำจากข้าวเหนียวแดง สีแดงจะถูกสกัดออกมาในช่วงการหมัก น้ำที่ได้จะมีสีแดง และเรียกว่า “น้ำแดง” เมื่อทำเสร็จแล้วต้องรีบนำมาดื่ม เนื่องจากน้ำขาวนี้จะเก็บไว้ได้ไม่นาน เพราะไม่มีการฆ่าเชื้อ ดังนั้นในขณะที่จะนำมาดื่มการหมักก็ยังคงดำเนินอยู่ ในกรณีที่ต้องการรสหวานหรือต้องการแรงการหมัก และให้การหมักดำเนินต่อไปเรื่อยๆ ไม่ให้แอลกอฮอล์เปลี่ยนเป็นกรดน้ำส้มเสียก่อน ก็จะมีการเติมน้ำตาลลงไป ภาษาชาวบ้านเรียกการเติมน้ำตาลนี้ว่าเป็นการ “ถ่วง” ในสาโทจะมีแอลกอฮอล์อยู่ประมาณ 12 - 15% โดยปริมาตร และถ้านำสาโทไปกลั่นต่อ จะได้สุราที่เรียกว่า “เหล้าขาว” ซึ่งโดยทั่วไปจะมีแรงแอลกอฮอล์ประมาณ 30 - 45 ดีกรี (จรรยา คำนวนตา และมนตรี เชาวน์สังเกต, 2524) การกลั่นให้เป็นเหล้าจะทำให้เก็บได้นานขึ้น โดยปกติจะเก็บในไห เอาฝาไม้ปิดและปิดทับด้วยดินเหนียวหรือซีเมนต์ฝังดินไว้เพื่อปกปิดเจ้าหน้าที่ เพราะการทำเหล้าขาวถือว่าผิดกฎหมาย จึงมีคำเรียกเหล้าขาวหรือสุราที่ผิดกฎหมายนี้ว่า “เหล้าเถื่อน”

สำหรับการหมัก (รูปที่ 2-4) มีวิธีการเช่นเดียวกับการหมักสาโทหรือเหล้าขาว แต่ก็มีข้อแตกต่างกันอยู่หลายประการคือ อุณหภูมิข้าวผสมกับเกลบในไห และไม่มีการเติมน้ำระหว่างหมัก การเติมน้ำจะทำเฉพาะเวลาที่จะนำมาดื่มเท่านั้น ส่วนไหก็จะเก็บในที่เย็นหรือฝังไว้ใต้ดินหลายเดือน เมื่อต้องการดื่มก็ชะเอาซีเมนต์ที่ปิดปากไหและเอาใบกล้วยออก แล้วเติมน้ำฝนลงไปประมาณ 2 ลิตร ทั้งไว้สักครู่ น้ำจะไหลลงไปก้นไหพร้อมกับชะเอาแอลกอฮอล์ที่อยู่ในเกลบลงไปด้วย เมื่อจะดื่มก็ใช้กิ่งไม้ไผ่ขนาดนิ้วชี้เป็นหลอดดูด โดยเหลาให้ปล้องไม้ไผ่ตรงปลายแหลมเพื่อให้แทงลงไปไหได้สะดวก สำหรับปลายรูเจาะด้านข้างตรงปล้องเพื่อดูดน้ำออกจากด้านข้างของหลอด หลอดไม้ไผ่เรียกว่า “จวง” หรือ “งา” อุณหภูมิจะใช้เวลา 2 - 3 วัน เพื่อดื่ม 2 - 3 คน อุจึ้นนับว่าเป็นเครื่องดื่มเพื่อเชื่อมสัมพันธ์ไมตรีที่ตระหว่งผู้ดื่มอย่างหนึ่ง และเมื่อดื่มน้ำอุหมดแล้วก็จะเติมน้ำฝนลงไปใหม่ รสก็ครู่แอลกอฮอล์ก็จะซึมออกมาจากเกลบอีก จากการวิเคราะห์ปริมาณแอลกอฮอล์ น้ำอุที่มีอยู่เล็กน้อยจะมีแอลกอฮอล์ราว 15% โดยปริมาตร ในการเติมน้ำลงไปครั้งแรก แอลกอฮอล์จะลดลงเหลือประมาณ 8% และครั้งที่สองจะเหลือราว 5 - 6% น้ำอุจะมีสีฟางขาวค่อนข้างใส เพราะเกลบจะช่วยกรองน้ำให้ใสไม่ให้เมล็ดข้าวปนออกมา อีกทั้งยังมีกลิ่นหอม รสนุ่มไม่บาดคอ และมีรสฝาดเล็กน้อยจากสารที่สกัดจากเกลบ จึงนับได้ว่าเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์พื้นบ้านที่มีเอกลักษณ์ของตัวเอง มีกลิ่นและรสชาติที่ดียิ่งอย่างหนึ่งของไทยเรา (จรรยา คำนวนตา และมนตรี เชาวน์สังเกต, 2524)

จากการวิเคราะห์ไวน์ข้าวในขณะที่ยังมีปฏิกิริยาของการหมักจากบางแห่งในประเทศของมนตรี เชาวน์สังเกต (2520) พบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์อยู่ระหว่าง 3.0 - 11.0% โดยปริมาตร ซึ่งเป็นข้อสนับสนุนว่าคุณภาพของลูกแป้งที่ผลิตจากแหล่งผลิตต่างกัน จะมีประสิทธิภาพในการหมักแตกต่างกัน ดังนั้นการเลือกซื้อลูกแป้งจากผู้ผลิตเพียงหนึ่งรายมาเป็นตัวอย่างในการทดลองหมักดังที่ได้กล่าวไว้ในขอบเขตการศึกษานั้น จึงต้องทำการตรวจหาชนิดและปริมาณของเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้งข้าวหมาก เพื่อนำมาเป็น

ข้อมูลจำเพาะของลูกแป้งที่ได้นำมาใช้ในการทดลองวิจัยในครั้งนี้แน่นอน ทั้งนี้นอกจากคุณภาพของลูกแป้งแล้ว ยังมีปัจจัยอื่นที่มีผลต่อปริมาณแอลกอฮอล์ที่จะได้อีก เช่น น้ำ ซึ่งเป็นองค์ประกอบที่มีอยู่ในไวน์ข้าวไม่ต่ำกว่า 80% (อ้างจากมนตรี เชาว์นสังเกต, 2521) ในประเทศไทยยังไม่มีรายงานเกี่ยวกับคุณภาพของน้ำที่เหมาะสมสำหรับการผลิตไวน์ข้าวหรือข้าวหมาก จากการค้นคว้าเอกสารพบว่าน้ำที่ใช้ส่วนใหญ่จะใช้น้ำฝนหรือน้ำสะอาดต้มสุกสำหรับทำไวน์ข้าว และใช้น้ำฝน หรือน้ำบาดาลที่สะอาด น้ำประปา รวมทั้งน้ำในแม่น้ำ (จากการสอบถามผู้ผลิต) สำหรับทำข้าวหมาก แต่ก็มีรายงานที่กล่าวถึงคุณภาพของน้ำสำหรับการผลิตเหล้าสาเก ซึ่งเป็นไวน์ข้าวของประเทศญี่ปุ่น โดยรายงานของ Kodama (1970) กล่าวว่า การผลิตเหล้าสาเกต้องคำนึงถึงคุณภาพน้ำเป็นพิเศษ เช่น น้ำไม่ควรจะมีเหล็กมาก เพราะเหล็กจะทำปฏิกิริยากับไวน์ข้าว ทำให้ไวน์ข้าวมีสีน้ำตาล และทำให้รสไม่ดี นอกจากนี้ถ้ามีแอมโมเนีย,ไนเตรทหรืออนและสารอินทรีย์ต่างๆ มาก จะทำให้เกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์อื่นๆ ได้ง่าย น้ำที่เหมาะสมสำหรับทำเหล้าสาเกควรมี pH เป็นกลางหรือเป็นด่างเล็กน้อย ไม่มีรส ไม่มีตะกอน ปราศจากกลิ่นรสที่ไม่ต้องการและไม่มิจุลินทรีย์ (อ้างจากมนตรี เชาว์นสังเกต, 2521) และถึงแม้ว่าจะใช้น้ำที่มีคุณภาพอย่างไรก็ตามในการผลิต แต่ถ้าขาดการระมัดระวังในเรื่องความสะอาดระหว่างทำการผลิตแล้ว ก็อาจจะทำให้ผลผลิตที่ได้มีคุณภาพลดลง เพราะการรักษาความสะอาดเป็นส่วนสำคัญในการช่วยลดปริมาณการปนเปื้อนของจุลินทรีย์ สำหรับการวิจัยเรื่องการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำโดยใช้ลูกแป้งข้าวหมากในการหมักในครั้งนี้ การที่จะทาน้ำฝนหรือน้ำบาดาลที่สะอาดเพื่อใช้ในการทดลอง ในปัจจุบันค่อนข้างหาได้ยาก อีกทั้งความไม่แน่ใจในเรื่องความสะอาดของน้ำฝน ดังนั้นผู้วิจัยจึงได้เลือกใช้น้ำประปาสำหรับการทดลองวิจัย ทั้งนี้เพราะน้ำประปามีความสะอาดพอสมควรและมีความสะดวกในการจัดหา อีกทั้งยังเพื่อความแน่ใจได้ในการผลิตจริงต่อไปด้วย โดยเราจะทำการตรวจวัดคุณภาพของน้ำประปาที่ใช้ในการทดลองนี้ไว้ด้วย

ดังที่ได้กล่าวแล้วว่าการทำไวน์ข้าวซึ่งเป็นเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ กับการทำข้าวหมากซึ่งเป็นอาหารหมักประเภทของหวาน มีกรรมวิธีการผลิตที่คล้ายคลึงกัน และได้กล่าวถึงการทำไวน์ข้าวไปแล้ว สำหรับการทำข้าวหมาก มีส่วนประกอบที่ใช้และวิธีการทำ ดังนี้

ส่วนประกอบที่ใช้ในการทำข้าวหมาก

1) ข้าว ในการทำข้าวหมากโดยทั่วไป นิยมใช้ข้าวเหนียวมากกว่าข้าวเจ้า เนื่องจากข้าวเหนียวให้กลิ่นและรสที่ดีกว่า นอกจากนี้ในข้าวเหนียวจะมีแป้งมากกว่าข้าวเจ้า เมื่อจุลินทรีย์ย่อยแป้งแล้วจะทำให้ได้น้ำข้าวเหนียวมากกว่าการใช้ข้าวเจ้าในปริมาณวัตถุดิบที่เท่ากัน (เฉลิม นูรณชนนท์, 2493)

2) ลูกแป้งข้าวหมาก ถือเป็นปัจจัยสำคัญในการทำข้าวหมาก เพราะเป็นแหล่งของจุลินทรีย์ที่มีบทบาทในการหมัก ลักษณะเป็นก้อนแป้งครึ่งวงกลม มีขายค่อนข้างจำกัดในท้องตลาด ถ้าใช้ลูกแป้งมากเกินไปจะทำให้ใช้เวลาในการหมักข้าวหมากนานขึ้น ข้าวหมากที่ได้จะมีกลิ่นไม่ค่อยดี มีรสหวานน้อยและอาจเสียรสชาติของความเป็นข้าวหมากไปเลย การใส่ลูกแป้งมากหรือน้อยก็เป็นส่วนสำคัญ หากใส่น้อยต้องใช้เวลา

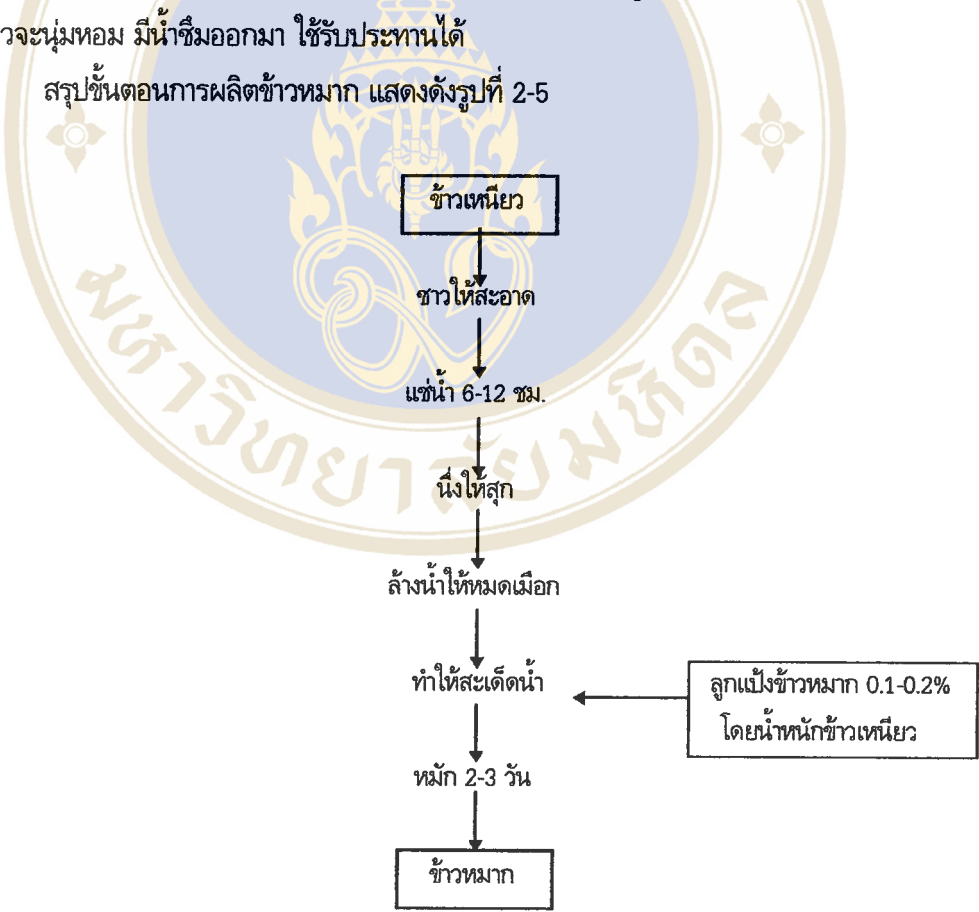
นานกว่าจะเป็นข้าวหมาก และเนื้อข้าวจะไม่ฟูขึ้น สีไม่น่ารับประทาน ถ้าใส่ลูกแป้งมากเกินไปก็จะได้ข้าวหมากเร็ว แต่เก็บไว้ได้ไม่นาน และอาจมีกลิ่นเครื่องเทศปนอยู่ด้วย (สิรินเทพ รักดีกุล, 2523)

- 3) น้ำ นิยมใช้น้ำฝน หรือน้ำบาดาลที่สะอาด รวมทั้งน้ำในแม่น้ำ ปัจจุบันผู้ผลิตบางรายใช้น้ำประปา
- 4) ภาชนะสำหรับใส่ข้าวหมาก อาจเป็นใบตอง โถ ไห หรือกล่องพลาสติก ก็ได้

วิธีทำข้าวหมาก

นำข้าวเหนียวที่แช่น้ำทิ้งไว้ 6 - 12 ชม. มาล้างให้สุกพอสมควร ถ้านึ่งนานเกินไปจะทำให้เมล็ดข้าวเหนียวเกาะกันแน่นมาก เมื่อนำไปทำข้าวหมากเมล็ดข้าวจะละลายไม่สวย ข้าวที่นึ่งเสร็จแล้วผึ่งให้เย็นในภาชนะกว้าง ๆ ที่สะอาด ล้างด้วยน้ำจนกระทั่งหมดเมือก เมื่อสะเด็ดน้ำแล้วเกลี่ยข้าวให้กระจายและหนาเท่า ๆ กัน โรยลูกแป้งข้าวหมากที่บดละเอียดแล้วลงบนข้าวให้สม่ำเสมอ โดยทั่วไปจะใช้ลูกแป้งประมาณ 0.1 - 0.2% โดยน้ำหนักของข้าวเหนียว คลุกเคล้าข้าวให้ทั่วเบา ๆ แล้วนำไปใส่ภาชนะสำหรับหมักที่สะอาด ควรใส่ข้าวโหียง ๆ อย่างดัดให้แน่น ปิดภาชนะให้มิดชิด นำไปไว้ในที่เย็น ๆ อย่างให้ถูกแดดและลมโกรก หมักไว้ 2 - 3 วัน เมล็ดข้าวจะนุ่มหอม มีน้ำซึมออกมา ใช้รับประทานได้

สรุปขั้นตอนการผลิตข้าวหมาก แสดงดังรูปที่ 2-5



รูปที่ 2-5 การผลิตข้าวหมาก

ที่มา : นภา โล่ห์ทอง (2534)

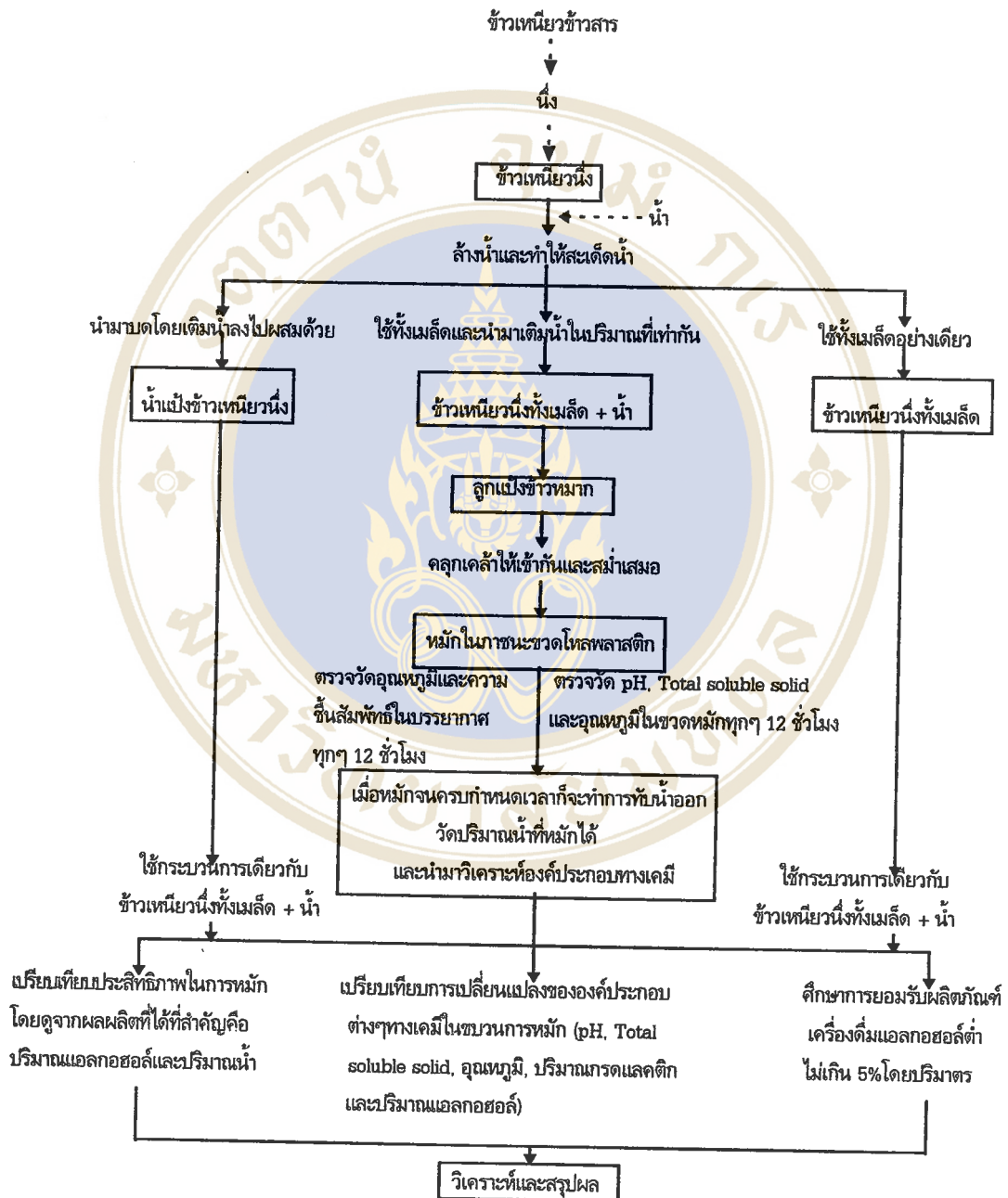
การที่จัดข้าวหมากอยู่ในอาหารประเภทของหวาน มีไข่เครื่องมันเม่าประเภทสุรา เนื่องจากข้าวหมากนั้นเมื่อรับประทานมากจะรู้สึกซึมคล้ายดื่มสุรา แต่ความรู้สึกในเชิงมันเม่าที่เกิดจากข้าวหมากน้อยมากจนเกือบไม่มี การทำข้าวหมากจึงไม่มีการควบคุม คงมีแต่พระราชบัญญัติสุราควบคุมแต่เฉพาะแบ่งเชื้อข้าวหมากเท่านั้น (กฎหมายวิธีวิธี, 2494) โดยพระราชบัญญัติสุรา พ.ศ. 2493 ให้คำจำกัดความว่า “เชื้อสุรา” หมายถึงแบ่งเชื้อสุรา แบ่งข้าวหมาก หรือเชื้อใด ๆ ที่เมื่อหมักกับวัตถุดิบหรือของเหลวอื่น ๆ แล้ว สามารถทำให้เกิดแอลกอฮอล์ที่ใช้ทำสุราได้ (สามิตสาร, 2493) ดังนั้นผู้ที่ผลิตหรือขายหรือมีลูกแบ่งไว้ในครอบครอง จึงต้องได้รับอนุญาตจากกรมสรรพสามิต

พิไลพรรณ พงษ์บุล (2523) กล่าวถึงการทำข้าวหมากว่า ทุกขั้นตอนของกรรมวิธีการผลิตมีความสำคัญและมีผลต่อคุณภาพของข้าวหมากเป็นอย่างมาก เช่น การนึ่งข้าวเหนียว จะต้องนำข้าวเหนียวแช่น้ำไว้ก่อนอย่างน้อย 3 - 4 ชั่วโมง ถ้าไม่ได้แช่น้ำจะทำให้หนึ่งสุกได้ยาก กินเวลานาน และการนึ่งนั้นจะต้องนึ่งจนไม่มีแกนกลางในเมล็ดข้าวเหนียว มิฉะนั้นข้าวหมากที่ได้จะแข็งกระด้าง เมื่อนึ่งสุกแล้วต้องทิ้งไว้ให้เย็นจึงค่อยล้างน้ำ ถ้าล้างตอนร้อนข้าวเหนียวจะพองบาน ซึ่งเมื่อเสร็จเป็นข้าวหมากแล้วอาจจะได้ข้าวหมากรสขำและเปรี้ยวได้ เป็นต้น

ศิริลักษณ์ สินธวลัย (2525) กล่าวถึงข้าวหมากว่าเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าวเหนียวหนึ่ง นำมาหมักด้วยลูกแบ่งข้าวหมาก อาจจะเติมน้ำตาลเพื่อให้เกิดแอลกอฮอล์สูงขึ้น และถ้าต้องการให้มันน้ำมาก ก็อาจเติมน้ำลงไปด้วยได้ ขบวนการเกิดแอลกอฮอล์ในข้าวหมากนี้จะใช้เวลาประมาณ 2 - 3 วัน และยิ่งนานวันปริมาณแอลกอฮอล์ก็จะเพิ่มมากขึ้น จนอาหารของยีสต์จะถูกใช้ไปจนหมด ดังนั้นในการวิจัยครั้งนี้ซึ่งต้องการผลผลิต(ปริมาณแอลกอฮอล์) ที่สูงกว่าที่มีในข้าวหมาก จึงออกแบบการทดลองโดยใช้ระยะเวลาในการหมักนานกว่าการหมักข้าวหมากโดยทั่วไป แต่กำหนดไว้ไม่เกิน 2 สัปดาห์ เพราะถ้าหมักนานเกินไป ผลิตภัณฑ์ที่ได้ อาจจะเสียหรือเกิดรสเปรี้ยวได้

บทที่ 3 วิธีการดำเนินการวิจัย

3.1 กรอบวิธีการวิจัย



รูปที่ 3-1 กรอบวิธีการวิจัย

3.2 ขั้นตอนในการดำเนินการวิจัย

3.2.1 ขั้นตอนการเตรียมการและออกแบบวิจัย

1. ศึกษาการทำไวน์ข้าวและข้าวหมาก ทั้งจากข้อมูลทุติยภูมิและการสอบถามผู้ผลิต เพื่อใช้เป็นข้อมูลในการออกแบบการวิจัย
2. สืบหาแหล่งจำหน่ายลูกแป้งข้าวหมากเพื่อนำมาใช้ในการวิจัย โดยลูกแป้งข้าวหมากที่จะนำมาใช้ในการวิจัย จะเลือกซื้อจากผู้ผลิตที่ได้รับอนุญาตจากกรมสรรพสามิตเพียงหนึ่งรายเท่านั้นมาเป็นตัวอย่างในการวิจัย
3. การกำหนดปริมาณข้าวเหนียวหนึ่งลูกที่จะใช้ในการหมัก การทดลองวิจัยในครั้งนี้มีจำนวนทริทเมนต์สูงสุด 15 ทริทเมนต์ ซึ่งนับเป็นข้อจำกัดประการหนึ่งที่ทำให้เลือกใช้ปริมาณข้าวในการหมักมากนักไม่ได้ เพราะอุปกรณ์สำหรับการนึ่งข้าวเหนียวจะนึ่งข้าวในแต่ละครั้งได้ประมาณ 4 กิโลกรัม เท่านั้น ถ้าใช้ข้าวเหนียวมากก็ต้องนึ่งข้าวมากครั้งตามไปด้วย ซึ่งจะทำให้เสียเวลามาก และทำให้มีความคลาดเคลื่อนในหน่วยทดลองเพิ่มขึ้นด้วย ดังนั้นจึงได้ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งลูกจำนวน 300 กรัม ในการหมักในแต่ละหน่วยทดลอง ซึ่งเป็นปริมาณที่เหมาะสมในข้อจำกัดดังกล่าวข้างต้น
4. การกำหนดปริมาณน้ำที่จะใช้เติมในขั้นตอนการหมัก โดยทั่วไปการทำไวน์ข้าวจะใช้น้ำในสัดส่วนประมาณ 2 - 3 เท่าของน้ำหนักข้าว หมายถึง ถ้าใช้ข้าว 1 ส่วน ก็จะเติมน้ำประมาณ 2 - 3 ส่วน เช่น ใช้ข้าว 1 กิโลกรัม ก็จะเติมน้ำ 2 - 3 ลิตร เป็นต้น แต่สำหรับการวิจัยในครั้งนี้ซึ่งเป็นการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ ถ้าเติมน้ำลงไปมากก็จะทำให้ความเข้มข้นหรือปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้เจือจางลง ดังนั้นจึงควรเติมน้ำในปริมาณที่ให้ข้าวเหนียวหนึ่งบดอยู่ในสภาพของเหลวได้ก็เพียงพอ จึงได้เลือกใช้ปริมาณน้ำเป็น 0.5 เท่าของน้ำหนักข้าว (น้ำหนักของข้าวเหนียวหนึ่งผ่านการล้างน้ำแล้ว) คือ ใช้ข้าว 300 ก. ต่อน้ำ 150 มล.

3.2.2 ขั้นตอนการทดลองในห้องปฏิบัติการ

3.2.2.1 การศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้งข้าวหมากแตกต่างกันคือ 0.4% , 0.6% และ 0.8%

การศึกษาในขั้นนี้ได้ใช้การวางแผนการทดลองเป็นแบบสุ่มตัวอย่างสมบูรณ์ (Completely randomized design , CRD) มีจำนวนทริทเมนต์เท่ากับ 9 ทริทเมนต์ แต่ละทริทเมนต์ทำ 3 ซ้ำ (Replications) รวมมีชุดการทดลองย่อยทั้งหมด 27 ชุดทดลอง โดยการทดลองแต่ละทริทเมนต์มีรายละเอียดดังนี้

ตารางที่ 3-1 การทดลองแต่ละทรีทเมนต์ในการศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมัก
โดยใช้ปริมาณลูกแป้งข้าวหมากแตกต่างกันคือ 0.4%, 0.6% และ 0.8%

Treatment* (T)	ลักษณะวัตถุดิบ			ปริมาณลูกแป้ง (%)
	น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง	ข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ด + น้ำ	ข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ด	
T1	/			0.4
T2	/			0.6
T3	/			0.8
T4		/		0.4
T5		/		0.6
T6		/		0.8
T7			/	0.4
T8			/	0.6
T9			/	0.8

หมายเหตุ : * คือ ทุกทรีทเมนต์ใช้ระยะเวลาการหมักเท่ากัน (5 วัน)

อุปกรณ์และวัตถุดิบที่ใช้

1. ข้าวเหนียวข้าวสารพันธุ์เขี้ยว
2. ลูกแป้งข้าวหมาก
3. โกร่งสำหรับบดลูกแป้ง
4. เครื่องบดด้วยมือ สำหรับบดข้าวเหนียวหนึ่งสุก (ดูภาคผนวก ง)
5. ขวดโหลพลาสติก
6. น้ำประปา ที่ตั้งทิ้งไว้ 2 คืน
7. เครื่องชั่งน้ำหนัก
8. เครื่องมือสำหรับตักน้ำออกจากเมล็ดข้าว (ดูภาคผนวก ง)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมลูกแป้ง

นำลูกแป้งข้าวหมากมาบดโดยใช้โกร่งบดที่สะอาดจนมีลักษณะเป็นผงแป้ง จากนั้นแบ่งเก็บไว้ส่วนหนึ่งสำหรับตรวจหาเชื้อจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในลูกแป้งข้าวหมากต่อไป โดยจะเก็บไว้ในช่องแช่แข็งในตู้เย็น

2. การเตรียมข้าวเหนียว

ซังข้าวเหนียว จำนวน 4.5 กก. ต่อการทดลองทั้งหมด 9 ทรีทเมนต์ 27 ชุด-การทดลอง โดยนำข้าวเหนียวมาชอนน้ำให้สะอาด แช่น้ำทิ้งไว้ค้างคืน (ประมาณ 7-8 ชั่วโมง) จากนั้นนำมาล้างให้สุกประมาณ 30 นาที ซังน้ำหนักของข้าวเหนียวที่นึ่งสุกแล้วนี้เอาไว้ เพื่อดูว่าข้าวเหนียวสามารถดูดน้ำไว้ได้ปริมาณเท่าไร จากนั้นทิ้งไว้ให้พออุ่น แล้วจึงนำไปล้างน้ำให้หมดเมือกประมาณ 3 ครั้ง และทำให้สะอาด น้ำ ซังน้ำหนักไว้อีกครั้งหนึ่ง

3. การหมัก

สำหรับทรีทเมนต์ T1 - T3 แบ่งข้าวเหนียวหนึ่งที่สะอาดแล้วนำมาบดโดยใช้เครื่องบด จากนั้นซังข้าวเหนียวหนึ่งที่บดแล้วนี้ให้ได้ 300 ก. ใส่ในขวดโหลพลาสติกทรีทเมนต์ละ 3 ใบ สำหรับ T1 จะเติมน้ำซึ่งได้ผสมกับลูกแป้ง 0.4% แล้วในปริมาณ 150 มล. ส่วน T2 จะเติมน้ำ 150 มล. ซึ่งได้ผสมกับลูกแป้งในปริมาณ 0.6% แล้วเช่นกัน และ T3 ก็ทำในลักษณะเดียวกัน โดยใช้ น้ำ 150 มล. ผสมกับลูกแป้งในปริมาณ 0.8%

สำหรับทรีทเมนต์ T4 - T6 จะแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งที่สะอาดแล้วใส่ในขวดโหลพลาสติกขวดละ 300 มล. ทรีทเมนต์ละ 3 ใบ และทำเช่นเดียวกับข้างต้น โดยแต่ละทรีทเมนต์จะต่างกันที่ปริมาณลูกแป้งที่เติมลงไปผสมกับน้ำจำนวน 150 มล. T4 จะใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.4% , T5 ใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.6% และ T6 ใช้ปริมาณลูกแป้งเป็น 0.8% ตามลำดับ

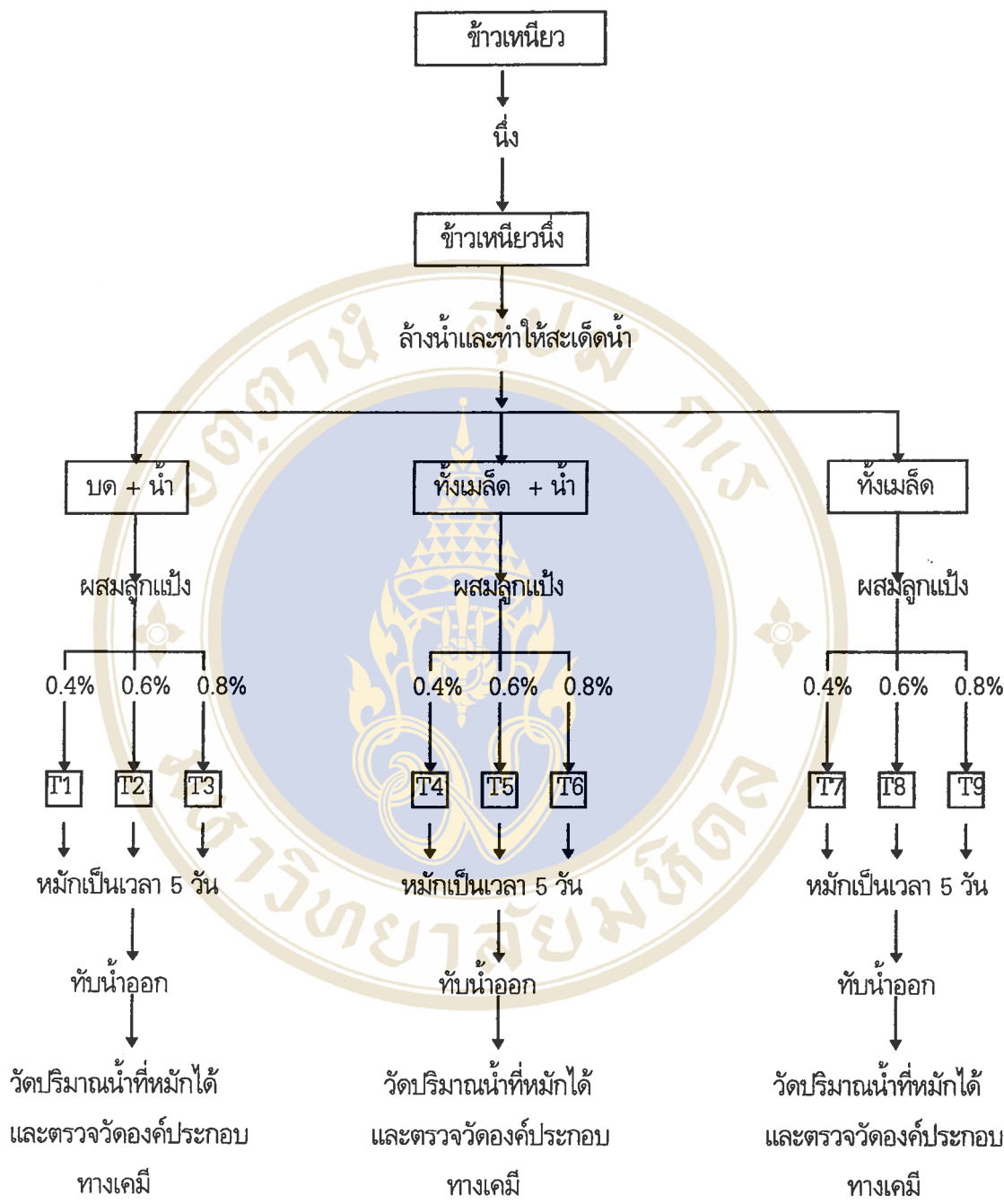
ส่วนทรีทเมนต์ T7 - T9 จะแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งที่สะอาดแล้วใส่ในขวดโหลพลาสติกขวดละ 300 ก. ทรีทเมนต์ละ 3 ใบ เหมือนกัน แต่จะไม่มีการเติมน้ำ โดย T7 จะใช้ลูกแป้งปริมาณ 0.4% เติมน้ำไปในขวดโหลที่ได้ใส่ข้าวไว้เรียบร้อยแล้ว แล้วจึงใช้แท่งแก้วคนคลุกเคล้าข้าวกับลูกแป้ง ส่วน T8 จะใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.6% และ T9 ใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.8% ตามลำดับ

หลังจากนั้นจึงนำขวดโหลพลาสติกทั้งหมดมาวางเรียงกัน และคลุมด้วยพลาสติกสีดำ หมักทิ้งไว้เป็นเวลา 5 วัน ที่อุณหภูมิห้อง เมื่อหมักครบ 5 วันแล้วจึงทำการทักน้ำในแต่ละขวดออกมา จากนั้นนำมาวัดปริมาณน้ำที่หมักได้ แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น (10°C) นาน 24 ชั่วโมง เพื่อตกตะกอนให้น้ำหมักมีความใสมากขึ้น จากนั้นรินเอาน้ำหมักส่วนที่ใสไปตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีต่อไป (ดูรูปที่ 3-2)

4. การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำหมัก

สำหรับองค์ประกอบทางเคมีที่จะทำการตรวจวัดในแต่ละทรีทเมนต์ ได้แก่ pH , Total soluble solid (°Brix) , ปริมาณกรดทั้งหมด (คิดเป็น%กรดแลคติก) โดยน้ำหนัก/ปริมาตร และ ปริมาณแอลกอฮอล์ (%โดยปริมาตร) (ดูภาคผนวก ข)

เมื่อเสร็จสิ้นการทดลองในขั้นตอนนี้แล้ว ก็ให้นำผลการทดลองที่ได้มาพิจารณาเพื่อเลือกใช้ปริมาณลูกแป้งที่เหมาะสมเพียงค่าหนึ่ง สำหรับการทดลองในขั้นต่อไป



รูปที่ 3-2 ขั้นตอนการทดลองศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมัก โดยใช้ปริมาณลูกแป้งข้าวหมากแตกต่างกันคือ 0.4%, 0.6% และ 0.8%

3.2.2.2 การศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมัก และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆทางเคมีในขบวนการหมัก

การทดลองนี้ใช้การวางแผนการทดลองแบบสุ่มตัวอย่างสมบูรณ์ (Completely randomized design ; CRD) โดยมีจำนวนทรีทเมนต์ 15 ทรีทเมนต์ และแต่ละทรีทเมนต์ก็จะทำ 3 ซ้ำ (Replications) เช่นเดียวกัน ดังนั้นจะมีชุดการทดลองย่อยรวม 45 ชุดการทดลอง โดยการทดลองมีดังนี้

ตารางที่ 3-2 การทดลองแต่ละทรีทเมนต์ในการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมัก และการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆทางเคมีในขบวนการหมัก

Treatment* (T)	ลักษณะวัตถุดิบ			ระยะเวลาการหมัก (วัน)
	น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง	ข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ด + น้ำ	ข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ด	
T-A3	/			3
T-A5	/			5
T-A7	/			7
T-A9	/			9
T-A11	/			11
T-B3		/		3
T-B5		/		5
T-B7		/		7
T-B9		/		9
T-B11		/		11
T-C3			/	3
T-C5			/	5
T-C7			/	7
T-C9			/	9
T-C11			/	11

หมายเหตุ : T - A คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งเมล็ดที่เติมน้ำในลักษณะของน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง

T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ดและเติมน้ำลงไปด้วย

T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ดอย่างเดียวไม่มีการเติมน้ำ

* คือ ทุกทรีทเมนต์จะใช้ปริมาณลูกแป้งซึ่งได้จากการทดลองในขั้นตอน 3.2.2.1 เท่ากัน

อุปกรณ์และวัสดุที่ใช้

1. ข้าวเหนียวข้าวสารพันธุ์เขี้ยว
2. ลูกแป้งข้าวหมากที่บดไว้แล้ว
3. เครื่องบด
4. ขวดโหลพลาสติก
5. น้ำประปา ที่ตั้งทิ้งไว้ 2 คืน
6. เครื่องชั่งน้ำหนัก
7. เทอร์โมมิเตอร์
8. เครื่องวัดความชื้นสัมพัทธ์
9. เครื่องวัดปริมาณ Total soluble solid (Hand Refractometer)
10. เครื่องวัด pH (pH Meter)

วิธีการทดลอง

1. การเตรียมข้าวเหนียว

ซึ่งข้าวเหนียวจำนวน 7.5 กก. ต่อการทดลองทั้งหมด 15 ทริทเมนต์ 45 ชุดการทดลองย่อย จากนั้นนำข้าวเหนียวมาชอนน้ำให้สะอาด แช่น้ำทิ้งไว้ 7-8 ชั่วโมง แล้วนำมาหนึ่งให้สุกประมาณ 30 นาที ซึ่งน้ำหนักของข้าวเหนียวที่หนึ่งสุกแล้วนี้ หลังจากนั้นทิ้งไว้ให้พออุ่น แล้วนำไปล้างน้ำออกให้หมดเมื่อประมาณ 3 ครั้ง ทำให้สะอาดแล้ว แล้วชั่งน้ำหนักไว้อีกครั้งหนึ่ง

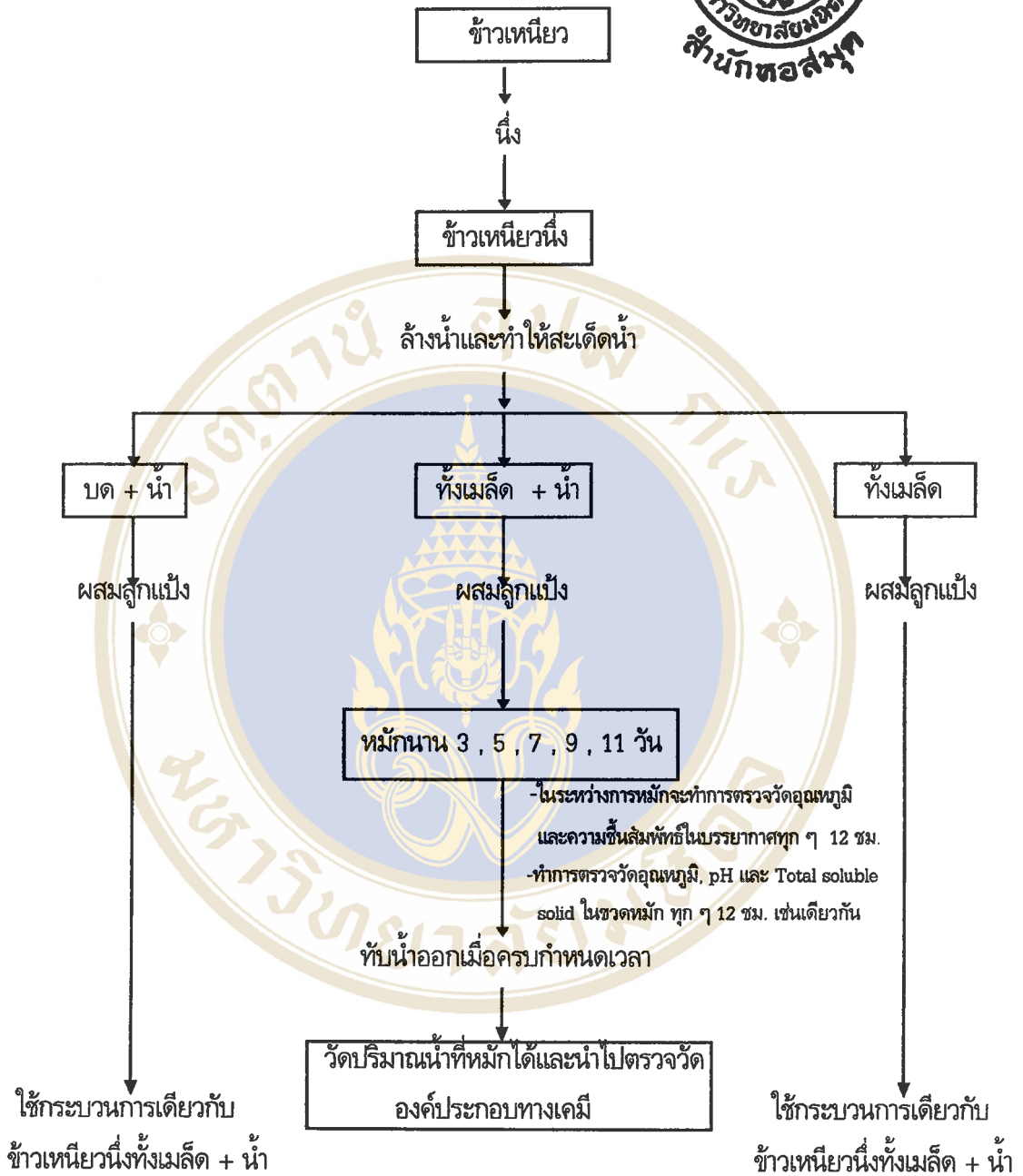
2. การหมัก

ทำเช่นเดียวกันกับ T1 - T9 ซึ่งใช้วิธีการหมักโดยใช้วัสดุคือ ข้าวเหนียวแตกต่างกัน 3 แบบ แต่ละแบบของวิธีการหมักจะใช้ปริมาณลูกแป้งเท่ากัน โดยพิจารณาจากผลการทดลองที่ได้ในขั้นตอน 3.2.2.1 และใช้ระยะเวลาในการหมักเป็น 3 , 5 , 7, 9 และ 11 วัน ดังนั้นเมื่อหมักจนครบ 3 , 5, 7, 9 และ 11 วันแล้ว จะทำการหั่นน้ำออก แล้ววัดปริมาณน้ำที่หมักได้นั้น แล้วนำไปตั้งทิ้งไว้ในตู้เย็น (10°C) นาน 24 ชั่วโมง เพื่อตกตะกอนให้น้ำหมักมีความใสมากขึ้น จากนั้นรินเอาน้ำหมักส่วนที่ใสไปตรวจวัดองค์ประกอบทางเคมีต่อไป (ดูรูปที่ 3-3)

ในระหว่างการหมักจะทำการตรวจวัดสภาพแวดล้อม หรือสภาวะในการหมักไว้ทุก ๆ 12 ชม. สำหรับปัจจัยที่จะทำการตรวจวัดมีดังนี้ คือ

- อุณหภูมิบรรยากาศ
- ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ

ส่วนการศึกษาการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีในระหว่างการหมักจะทำการตรวจวัดอุณหภูมิ, pH และ Total soluble solid ในขวดหมักทุก ๆ 12 ชม. เช่นเดียวกัน (ดูรูปที่ 3-3)



รูปที่ 3-3 ขั้นตอนการทดลองศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่างๆทางเคมีในขบวนการหมัก

3.2.2.3 การทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เครื่องต้มแอลกอฮอล์ต่ำ

การทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เครื่องต้มแอลกอฮอล์ต่ำ ซึ่งใช้ลูกแป้งข้าวหมากหมักร่วมกับข้าวเพื่อผลิตแอลกอฮอล์ในครั้งนี้ ได้ทำการประเมินคุณภาพด้านกลิ่นและรส ด้วยวิธีการให้คะแนน (Scoring Method) โดยใช้ 5-point hedonic scale ออกแบบสอบถาม (ดูภาคผนวก ค) ให้ผู้ชิมทั่วไปทั้งหญิงและชาย จำนวน 35 คน ซึ่งเป็นนักศึกษาและข้าราชการในมหาวิทยาลัยมหิดล (ศาลายา) และเคยมีประสบการณ์ในการต้มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ต่ำมาก่อน โดยให้ชิมในช่วงเวลา 10.00 - 12.00 น.

ในส่วนของวิธีการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำเพื่อนำมาทดสอบชิมนั้น จะใช้วิธีการหมักที่ให้ผลดีที่สุดโดยพิจารณาจากผลการทดลองที่ได้ในหัวข้อ 3.2.2.1 และ 3.2.2.2 และผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำจะผ่านการพาสเจอร์ไรซ์ที่อุณหภูมิ 60°C นาน 30 นาที ก่อนนำมาให้ชิม โดยแช่เครื่องดื่มให้เย็นก่อนการชิม

3.2.2.4 การตรวจวัดคุณภาพของน้ำประปา

ดังที่กล่าวแล้วว่าการทดลองครั้งนี้จะใช้น้ำประปาสำหรับแช่ ล้าง และหมักข้าวเหนียว ซึ่งคุณภาพของน้ำประปานี้อาจจะมีผลต่อการหมัก จึงได้ทำการตรวจวัดคุณภาพของน้ำประปาเฉพาะที่ใช้ในการทดลองนี้ไว้ และในการนำน้ำประปามาใช้นั้นจะไม่ใช้น้ำประปาที่รองจากก๊อกทันที แต่จะทำการปล่อยน้ำประปาทิ้งไว้ค้างคืนก่อนนำมาใช้ในการทดลอง เพื่อให้คลอรีนระเหยออกไปให้หมดก่อนจากการทดลองข้อ 3.2.2.1 - 3.2.2.3 ดังนั้นจึงมีตัวอย่างน้ำให้เก็บมาวิเคราะห์ทั้งหมด 3 ตัวอย่าง สำหรับพารามิเตอร์ที่จะทำการตรวจวัด มีดังนี้คือ

1. ความเป็นกรด-ด่าง (pH)
 - โดยใช้เครื่องวัด pH Meter
2. ปริมาณออกซิเจนที่ละลายน้ำ (Dissolved Oxygen ; DO)
 - โดยวิธี Aride Modification of Iodometric Method
3. ความกระด้าง (hardness)
 - โดยวิธี EDTA Titrimetric Method
4. คลอรีนตกค้าง (residual chlorine)
 - โดยวิธี Iodometric Method I
5. เหล็ก (iron)
 - โดยวิธี Phenanthroline Method

6. ไนโตรเจน (ในรูปของ TKN หรือ Total Kjeldahl Nitrogen)

- โดยวิธี Kjeldahl Method โดยใช้เครื่อง Kjeltech System 1026

7. ปริมาณแบคทีเรียทั้งหมด (total bacteria)

- โดยวิธี Total Plate Count

เหตุผลที่เลือกทำการตรวจวัดพารามิเตอร์ซึ่งแสดงถึงคุณภาพของน้ำประปาทั้ง 7 ตัวดังกล่าว นั้น เนื่องจากค่าต่าง ๆ เหล่านี้อาจจะมีผลต่อการเจริญและการดำเนินกิจกรรมของจุลินทรีย์ในลูกเบ็งที่มีบทบาททำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงต่าง ๆ ในกระบวนการหมัก ซึ่งจะส่งผลต่อคุณภาพของผลผลิตในที่สุด (ดูหน้า 23)

สำหรับวิธีการตรวจวัดข้อ 1-6 ดูกรณีการ สิริสิงห์ (2522) ส่วนข้อ 7 ดู โทมัส คิวบอร์ (2524)

3.2.2.5 การแยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกเบ็งข้าวหมาก

1. การแยกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกเบ็งข้าวหมาก (สิรินทรเทพ ภัคดีศุภผล, 2523)

1) แยกเชื้อโดยวิธี dilution plate โดยบดลูกเบ็ง 0.5 กรัม ให้ละเอียดด้วยโกร่งที่ล้างสะอาด นำมาทำเป็น suspension ที่มีความเจือจาง 10^{-2} , 10^{-3} , 10^{-4} , 10^{-5} ตามลำดับ ไปเปิด suspension 0.5 มล. ลงบนผิวหน้าอาหารรูน MY (malt yeast extract agar) ซึ่งปรับ pH ไว้ประมาณ 4 ด้วย 1 N HCl เพื่อแยกและยีสต์ และอาหารรูน NA (Nutrient agar) เพื่อแยกแบคทีเรีย แล้วใช้แท่งแก้วจุ่มแอลกอฮอล์เผาไฟ เกลี่ยให้หยด suspension กระจายทั่วไปบนผิวของอาหาร ทำ 3 ซ้ำ บ่มที่อุณหภูมิห้อง (ประมาณ 30 องศาเซลเซียส) เป็นเวลา 24 - 48 ชั่วโมง สังเกตโคโลนีของเชื้อที่ขึ้นอยู่เดี่ยวๆ แยกเชื้อมาทำให้บริสุทธิ์โดยการเชี่ยจากสปอร์ของรา สำหรับยีสต์ใช้วิธี streak ลงบนอาหารแข็ง MY และสำหรับแบคทีเรียใช้วิธี streak ลงบนอาหารรูน NA อีกครั้งหนึ่ง แล้วเชี่ยเชื้อใส่หลอดทดสอบไว้ทำการศึกษาต่อไป การแยกเชื้อด้วยวิธีนี้นอกจากจะได้เชื้อบริสุทธิ์แล้ว ยังสามารถนับจำนวนเชื้อในลูกเบ็งได้อีกด้วย

2) แยกเชื้อโดยวิธีเพิ่มจำนวน (enrichment) เป็นการแยกเชื้อยีสต์อื่นๆ ที่มีอยู่ในลูกเบ็งเพราะว่ายีสต์เหล่านี้มีอยู่เพียงเล็กน้อยในลูกเบ็ง การใช้วิธี dilution plate ไม่สามารถแยกเชื้อเหล่านี้ได้ครบถ้วน จึงต้องเลี้ยงยีสต์เหล่านั้นเพิ่มจำนวนในฟลาสก์ที่มีอาหารเหลว MY ซึ่งปรับค่า pH ให้ได้ประมาณ 4 ด้วย 1 N HCl จากนั้นนำเข้าเครื่องเขย่า (ความเร็วประมาณ 250 รอบต่อนาที) ที่ตั้งอุณหภูมิไว้ประมาณ 25°C นาน 2 วัน เชื้อราจะเจริญเป็นก้อนกลมๆ ส่วนยีสต์จะทวีจำนวนขึ้น ทำให้อาหารขุ่น ใช้ลูปแตะอาหารที่ขุ่นนั้น streak ลงบนอาหารรูนไนเตรต เพื่อแยกยีสต์ที่ใช้เกลือไนเตรต

เป็นแหล่งของไนโตรเจนได้ และบนอาหารวุ้น MY เพื่อแยกยีสต์ชนิดอื่นๆ หลังจากนั้นเลือกโคโลนีเดี่ยวมาทำให้บริสุทธิ์โดยการ streak ข้น แล้วเขี่ยเชื้อใส่หลอดทดสอบ เพื่อศึกษาต่อไป

2. การจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมาก

เชื้อรา ยีสต์ และแบคทีเรีย นำมาจำแนกชนิดดังต่อไปนี้

1) เชื้อรา

กรณีของเชื้อราจาก stock culture นำมาเพาะบนอาหารวุ้น PDA (Potato dextrose agar) หลังจากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 25°C นาน 2 - 3 วัน จึงเขี่ยเส้นใยของเชื้อลงบนสไลด์ที่มีน้ำยา Lactophenol แล้วปิดด้วย cover glass นำมาส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ ศึกษาและจำแนกชนิดของเชื้อราโดยอาศัยลักษณะของเส้นใย ส่วนที่สร้างสปอร์ รูปร่าง ขนาด ตลอดจนชนิดของสปอร์ตามหลักของ Ellis และคณะ (1976)

2) เชื้อยีสต์

จำแนกเชื้อยีสต์โดยอาศัยคุณสมบัติทางสรีรวิทยา เช่นการ ferment และ assimilate น้ำตาลต่างๆ รวมทั้งความสามารถ assimilate เกลือไนเตรต และความสามารถในการย่อยแป้งด้วย นอกจากนี้ยังอาศัยลักษณะและจำนวนของ ascospore ของเชื้อยีสต์ การศึกษาลักษณะของ ascospore กระทำโดยเลี้ยงเชื้อยีสต์บนอาหารวุ้น MY หลังจากที่ได้เชื้อเจริญดีแล้ว นำไปปลูกลงบนอาหารสำหรับสร้างสปอร์ (sporulation medium) ได้แก่ McClary acetate agar , Malt extract agar และ Corn meal agar บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิ 25°C นำมาตรวจหา ascospore ผลจากการศึกษาทางด้านสรีรวิทยาและสรีรวิทยาของเชื้อ นำมาจำแนกเชื้อยีสต์ตามวิธีการของ Lodder (1970) และ Barnett J.A. (1983)

3) แบคทีเรีย

จำแนกเชื้อแบคทีเรียโดยการย้อมแกรมเพื่อดูลักษณะ รูปร่าง การติดสีของเชื้อ และการสร้างสปอร์ จากนั้นนำมาทดสอบทางชีวเคมีเพื่อจำแนกเชื้อแบคทีเรียแลคติก โดยใช้อาหารเลี้ยงเชื้อ LM (Litmus milk medium) ตามวิธีของ Jean.F.MacFaddin (1976)

สูตรอาหารและวิธีการต่างๆอยู่ในภาคผนวก ข

3.2.3 ขั้นตอนการประเมินผลและวิเคราะห์ผล

1. สถิติพรรณนา เช่น ค่าเฉลี่ย (Mean) ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน (Standard Deviation)
2. สถิติวิเคราะห์ จะใช้การวิเคราะห์ความแปรปรวนแบบจำแนกทางเดียว (One way Analysis of Variance หรือ One - way ANOVA) ในการศึกษาประสิทธิภาพในการหมักโดยวิธีใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและวิธีใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด เพื่อผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ และถ้าพบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติในแต่ละการทดลอง ก็จะหาค่าเฉลี่ยคู่ใดบ้างที่มีความแตกต่าง โดยใช้วิธี Duncan's multiple range test ซึ่งจะทดสอบให้ทราบว่า การทดลองใดที่แตกต่างกัน หรือเป็นการทดสอบความแตกต่างรายคู่ตนเอง

3.3 สถานที่ดำเนินการวิจัย

ในการดำเนินการวิจัยครั้งนี้สถานที่ดำเนินการวิจัยจะทดลองหมัก และวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในห้องปฏิบัติการ คณะสิ่งแวดล้อมและทรัพยากรศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล ส่วนการจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมักได้ขอความอนุเคราะห์ให้ห้องปฏิบัติการจุลชีววิทยาของภาควิชาจุลชีววิทยา คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล และการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์จะทำที่ห้องปฏิบัติการของภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยมหิดล

3.4 ระยะเวลาการวิจัย

เดือนมกราคม - ตุลาคม 2539

บทที่ 4
ผลการทดลองและอภิปรายผล

4.1 ผลการศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้งข้าวหมากแตกต่างกัน คือ 0.4%, 0.6% และ 0.8%

ผลจากการหมักข้าวในแต่ละวิธีคือ 1. หมักโดยใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง (T1-T3) 2. หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ (T4-T6) และ 3. หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดเพียงอย่างเดียว (T7-T9) โดยที่ในแต่ละวิธีจะใช้ปริมาณลูกแป้งแตกต่างกันเป็น 3 ระดับคือ 0.4, 0.6 และ 0.8% โดยน้ำหนัก ใช้ระยะเวลาในการหมักเท่ากันคือ 5 วัน จากนั้นจึงทำการเปรียบเทียบปริมาณผลผลิตที่ได้คือ ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมัก ปรากฏว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ (คิดเป็น %) ของวิธีหมักที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งมีค่าเฉลี่ยเท่ากับ 0.37, 0.27 และ 0.27% เมื่อใช้ปริมาณลูกแป้งเท่ากับ 0.4, 0.6 และ 0.8% ตามลำดับ ส่วนวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ มีค่าเฉลี่ยของแอลกอฮอล์เท่ากับ 1.63, 1.67 และ 1.97% ในขณะที่วิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวมีค่าเฉลี่ยของแอลกอฮอล์เท่ากับ 3.53, 3.87 และ 3.73% ดังแสดงในตารางที่ 4-1, 4-2 และ 4-3

ตารางที่ 4-1 ผลผลิตที่ได้จากการหมักน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งโดยใช้ปริมาณลูกแป้งที่ระดับต่าง ๆ

Treatment (T)	pH	% กรดแลคติก (นน./ปริมาตร)	Total soluble-solid (°Brix)	% แอลกอฮอล์ (โดยปริมาตร)	ปริมาณน้ำหมัก (มล.)
T1	3.33 ± 0.03	0.83 ± 0.05	22.6 ± 0.3	0.37 ± 0.09 a	262 ± 6.24 b
T2	3.27 ± 0.04	0.85 ± 0.02	22.4 ± 0.8	0.27 ± 0.12 a	258 ± 6.24 b
T3	3.18 ± 0.01	0.92 ± 0.02	21.3 ± 0.5	0.27 ± 0.05 a	257 ± 6.24 b

หมายเหตุ : - ตัวเลขในตารางแสดงค่า Mean ± S.D. mean , n = 3
 - ตัวอักษรที่เหมือนกันอย่างน้อย 1 ตัว ถือว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4-2 ผลผลิตที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ด + น้ำ โดยใช้ปริมาณลูกแป้งที่ระดับต่าง ๆ

Treatment (T)	pH	% กรดแลคติก (นน./ปริมาตร)	Total soluble- solid ('Brix)	% แอลกอฮอล์ (โดยปริมาตร)	ปริมาณน้ำหมัก (มล.)
T4	3.43 ± 0.05	0.70 ± 0.06	24.5 ± 0.3	1.63 ± 0.12 a	268 ± 2.36 ab
T5	3.32 ± 0.02	0.82 ± 0.01	24.2 ± 0.3	1.67 ± 0.09 a	258 ± 4.71 d
T6	3.37 ± 0.02	0.75 ± 0.03	24.0 ± 0.5	1.97 ± 0.12 b	277 ± 4.71 ac

หมายเหตุ : - ตัวเลขในตารางแสดงค่า Mean ± S.D. mean , n = 3
- ตัวอักษรที่เหมือนกันอย่างน้อย 1 ตัว ถือว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

ตารางที่ 4-3 ผลผลิตที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ดอย่างเดียวโดยใช้ปริมาณลูกแป้งที่ระดับต่าง ๆ

Treatment (T)	pH	% กรดแลคติก (นน./ปริมาตร)	Total soluble- solid ('Brix)	% แอลกอฮอล์ (โดยปริมาตร)	ปริมาณน้ำหมัก (มล.)
T7	4.32 ± 0.01	0.35 ± 0.01	35.7 ± 0.3	3.53 ± 0.12 bc	167 ± 1.41 c
T8	4.31 ± 0.02	0.35 ± 0.01	36.3 ± 0.3	3.87 ± 0.05 ad	167 ± 2.94 c
T9	4.30 ± 0.02	0.35 ± 0.01	35.6 ± 0.4	3.73 ± 0.12 ab	167 ± 1.41 c

หมายเหตุ : - ตัวเลขในตารางแสดงค่า Mean ± S.D. mean , n = 3
- ตัวอักษรที่เหมือนกันอย่างน้อย 1 ตัว ถือว่าไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ
ที่ระดับความเชื่อมั่น 95%

เมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้ One - way ANOVA พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.4, 0.6 และ 0.8% ของวิธีที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง ไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ดังแสดงในตารางที่ ก-1 (ภาคผนวก ก) ส่วนปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้งในแต่ละระดับของวิธีที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ด + น้ำ จะมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ ก-2 (ภาคผนวก ก) และจากการหาค่าความแตกต่างรายคู่โดยใช้ Duncan's multiple range test ในตารางที่ ก-3 (ภาคผนวก ก) จะเห็นได้ว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากวิธีหมักที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ดที่ระดับ 0.4 และ 0.6% ไม่แตกต่างกัน แต่จะแตกต่างกับวิธีหมักที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ดที่ระดับ 0.8% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% สำหรับวิธีที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งหึ่งเมล็ดเพียงอย่างเดียวในการหมักจะมีปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักของแต่ละ

ระดับปริมาณลูกแบ่งแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ ก-4 (ภาคผนวก ก) และจากการหาค่าความแตกต่างรายคู่พบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากทริทเมนต์ที่ใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับ 0.8% ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติกับทริทเมนต์ที่ใช้ปริมาณลูกแบ่ง 0.4 และ 0.6% แต่ทริทเมนต์ที่ใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับ 0.4% จะมีปริมาณแอลกอฮอล์แตกต่างกับทริทเมนต์ที่ใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับ 0.6% อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ ก-5 (ภาคผนวก ก)

สำหรับปริมาณน้ำหมักที่ได้จากการหมักในแต่ละวิธีและแต่ละระดับปริมาณลูกแบ่งนั้น ผลปรากฏว่าวิธีหมักที่ใช้ข้าวแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งมีค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำหมักเท่ากับ 262, 258 และ 257 มล. เมื่อใช้ปริมาณลูกแบ่ง 0.4, 0.6 และ 0.8% ตามลำดับ ส่วนวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ มีค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำหมักเท่ากับ 268, 258 และ 277 มล. ในขณะที่วิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว มีค่าเฉลี่ยของปริมาณน้ำหมักเท่ากับ 167 มล. ทั้งสามระดับปริมาณลูกแบ่ง เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำหมักที่ได้จากวิธีหมักที่ใช้ข้าวแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะเห็นว่าได้ปริมาณน้ำหมักใกล้เคียงกันในทุกระดับลูกแบ่ง ยกเว้นที่ระดับลูกแบ่ง 0.8% ทริทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะได้ปริมาณน้ำหมักมากกว่าทริทเมนต์ที่หมักโดยใช้ข้าวแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง ดังแสดงในตารางที่ 4-1 และ 4-2

เมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวน พบว่า ปริมาณน้ำหมักที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแบ่ง 0.4, 0.6 และ 0.8% ของวิธีที่ใช้ข้าวแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติดังแสดงในตารางที่ ก-6 (ภาคผนวก ก) ส่วนปริมาณน้ำหมักที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแบ่งในแต่ละระดับของวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ พบว่ามีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ ก-7 (ภาคผนวก ก) และจากการหาค่าความแตกต่างรายคู่ ปรากฏว่าปริมาณน้ำหมักที่ได้จากทริทเมนต์ที่ใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับ 0.4 และ 0.8% ไม่พบความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ แต่จะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ของปริมาณน้ำหมักที่ได้จากทริทเมนต์ที่ใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับ 0.4 และ 0.8% กับทริทเมนต์ที่ใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับ 0.6% ดังแสดงในตารางที่ ก-8 (ภาคผนวก ก) สำหรับวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว มีปริมาณน้ำหมักที่ได้จากการใช้ปริมาณลูกแบ่งในแต่ละระดับไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด ดังแสดงในตารางที่ ก-9 (ภาคผนวก ก)

จากผลการทดลองดังกล่าว จะเห็นว่าวิธีหมักที่ใช้ข้าวแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งนั้น จะได้ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมักในแต่ละระดับลูกแบ่ง ไม่แตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติแต่อย่างใด และถึงแม้ว่าจะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของปริมาณแอลกอฮอล์ที่ระดับลูกแบ่งต่าง ๆ ของทั้งวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาค่าเฉลี่ยของแอลกอฮอล์ที่ต่างกันนั้น จะพบว่ามีความแตกต่างกันไม่มากนัก ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไป ผู้วิจัยจะได้เลือกใช้ปริมาณลูกแบ่งที่ระดับ 0.4% เพียงค่าเดียว ซึ่งเป็นปริมาณที่น้อยที่สุดเพื่อเป็นการ

ประหยัศวัตถุติบมาทำการทดลองศึกษาประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงขององค์ประกอบทางเคมีต่อไป

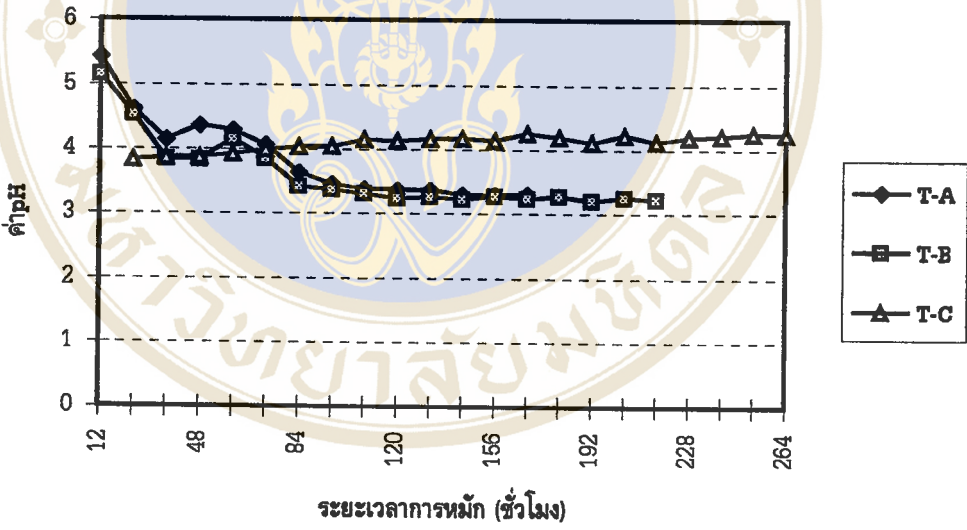
นอกจากจะได้ทำการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมักแล้ว ยังได้ทำการตรวจวัดค่า pH, ปริมาณกรดแลกติก และ Total soluble solid ด้วย ดังแสดงในตารางที่ 4-1, 4-2 และ 4-3 ซึ่งจะเห็นว่าค่า pH และ Total soluble solid ของวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดเพียงอย่างเดียวมีค่ามากกว่าวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และวิธีหมักที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งในทุกระดับของลูกแป้ง แต่ในทางตรงกันข้ามจะได้ปริมาณกรดแลกติกน้อยกว่า ซึ่งค่า pH นี้จะแสดงถึงความเป็นกรดของสาร กล่าวคือ ถ้า pH ต่ำแสดงว่ามีความเป็นกรดสูง แต่ถ้า pH สูงแสดงว่ามีความเป็นกรดต่ำ ในที่นี้ผลของค่า pH ของวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวมีค่าสูงกว่า pH ของวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และวิธีหมักที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง ดังนั้นจึงมีปริมาณกรดแลกติกน้อยกว่าสองวิธีข้างต้นนั่นเอง

เนื่องจากในขั้นตอนการตรวจวัดปริมาณน้ำหมักนั้น จะต้องทำการทักน้ำออกจากเมล็ดข้าวเสียก่อน โดยใช้เครื่องทักน้ำที่ได้ประดิษฐ์ขึ้นดังรูปที่ ง-12 ในภาคผนวก ง ในขณะที่ทำการทักน้ำออกมานั้นพบว่ามีความไม่สะดวกสำหรับวิธีหมักที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง เพราะลักษณะของของหมักที่ได้มีความหนืดและข้นมาก จนไม่สามารถแยกน้ำออกมาได้โดยการใช้เครื่องทักน้ำนี้ ลักษณะที่หนืดและข้นดังกล่าวน่าจะเป็นผลมาจากการเตรียมน้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง ซึ่งจะต้องนำข้าวเหนียวหนึ่งมาผ่านการบดโดยใช้เครื่องบดบดให้เล็กลงก่อนจะนำมาเติมน้ำเพื่อให้เป็นน้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง ดังนั้นจึงทำให้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งที่ได้มีความหนืดและข้นมาก ผู้วิจัยจึงได้ทำการนำของหมักที่ได้นี้มาบีบคั้นน้ำออกโดยใช้แรงมือ (ดูรูปที่ ง-15 ในภาคผนวก ง) ดังนั้นแรงที่ใช้มือบีบน้ำออกมาจึงอาจมีผลทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของปริมาณน้ำหมักที่ได้ อย่างไรก็ตามผู้วิจัยได้ทำการควบคุมปัจจัยดังกล่าวโดยใช้คนคนเดียวกันในการบีบน้ำแต่ละครั้ง เพื่อควบคุมแรงให้ออกมาเท่า ๆ กัน จากอุปสรรคดังกล่าวรวมทั้งการได้มกกลิ่นและชิมรสของน้ำหมักที่ได้จากการหมักของทั้งสามวิธีแล้ว ซึ่งพบว่าน้ำหมักที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำในการหมักนั้น มีกลิ่นและรสไม่ค่อยดี คือ มีกลิ่นเหม็นบูดและมีรสเปรี้ยว ผู้วิจัยจึงจะไม่ทำการวัดปริมาณน้ำหมักในการศึกษาขั้นตอนต่อไป เพราะถึงแม้ว่าวิธีทั้งสองจะทำให้ได้ปริมาณน้ำหมักมากก็ตาม แต่ปริมาณแอลกอฮอล์ก็ได้น้อยลงด้วย และประการสำคัญถ้ากลิ่นและรสซึ่งถือเป็นคุณสมบัติที่สำคัญในการผลิตเครื่องดื่มไม่ดีแล้ว ก็คงจะไม่ใช้วิธีการผลิตเหล่านี้ในการทดลองผลิตเพื่อศึกษาการยอมรับผลิตภัณฑ์โดยการให้ชิม เมื่อพิจารณาผลการทดลองในขั้นนี้แล้ว สามารถมองเห็นแนวโน้มของประสิทธิภาพของวิธีการหมักได้ระดับหนึ่ง แต่การทดลองขั้นต่อไปจะทำให้ทราบถึงการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆ ทางเคมีในขบวนการหมัก ซึ่งมีผลทำให้ประสิทธิภาพการหมักนั้นแตกต่างกัน

จากการสังเกตการเปลี่ยนแปลงในขวดหมักของแต่ละวิธีหมักในระหว่างการทดลอง พบว่าวิธีหมักที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งและวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำในการหมักนั้น จะเกิดการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ในขวดหมักทุกใบไม่ว่าจะใช้ปริมาณลูกแป้งเท่าใดก็ตาม การปนเปื้อนนี้จะเริ่มสังเกตได้ในวันที่ 5 ซึ่งเป็นวันสุดท้ายของการหมัก และในระหว่างการหมักไม่มีการเปิดฝาขวดหมักเลย

4.2 ผลการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆ ทางเคมีในขบวนการหมัก

การศึกษการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆทางเคมีในขบวนการหมัก ซึ่งได้ทำการตรวจวัด pH, Total soluble solid และอุณหภูมิในขวดหมักทุก ๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลานาน 11 วัน ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4-1, 4-2 และ 4-3 ตามลำดับ



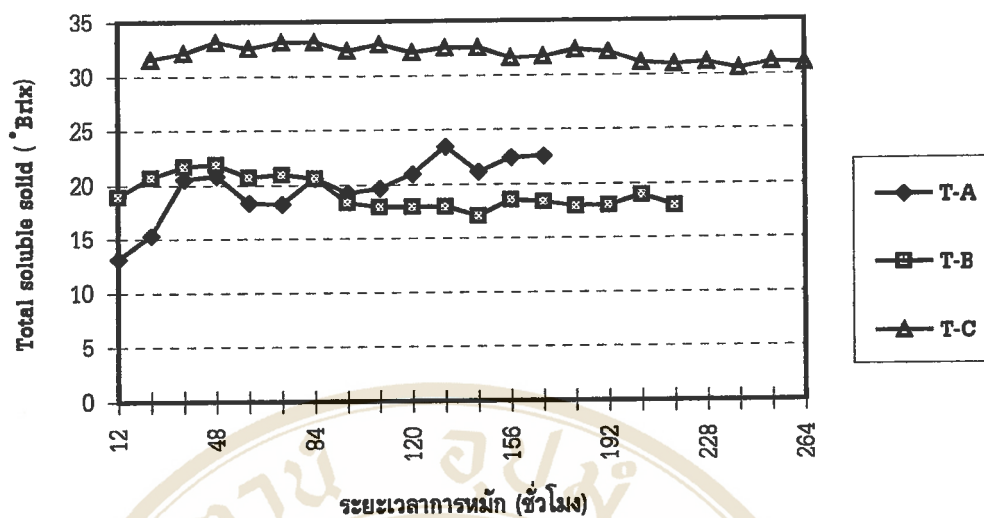
หมายเหตุ : ข้อมูลของ T - A และ T - B ในช่วงท้ายของการหมักจะขาดหายไป เนื่องมาจากเกิดการปนเปื้อนในขวดหมัก

T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

รูปที่ 4-1 การเปลี่ยนแปลงค่า pH ในระหว่างการหมัก



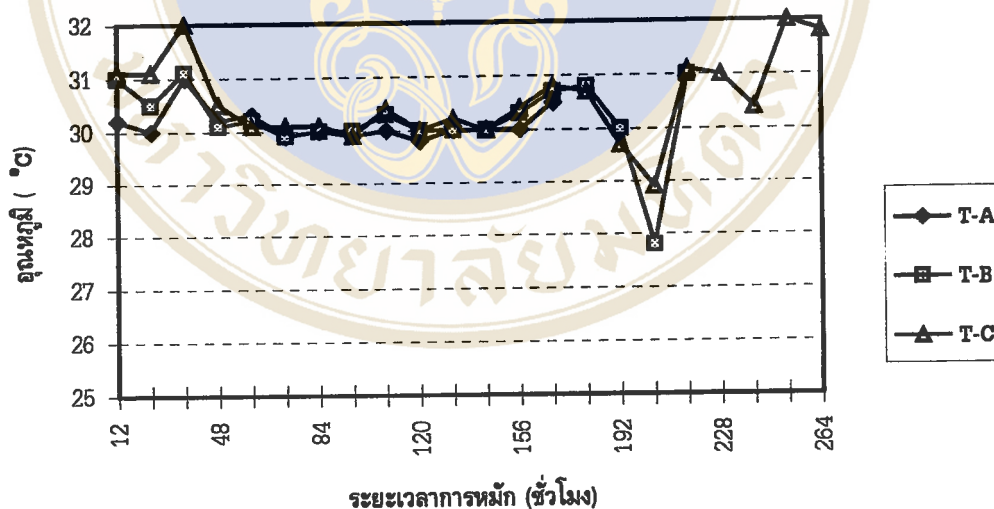
หมายเหตุ : ข้อมูลของ T - A และ T - B ในช่วงท้ายของการหมักจะขาดหายไป เนื่องมาจากเกิดการปนเปื้อนในขวดหมัก

T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

รูปที่ 4-2 การเปลี่ยนแปลงค่า Total soluble solid ในระหว่างการหมัก



หมายเหตุ : ข้อมูลของ T - A และ T - B ในช่วงท้ายของการหมักจะขาดหายไป เนื่องมาจากเกิดการปนเปื้อนในขวดหมัก

T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

รูปที่ 4-3 การเปลี่ยนแปลงอุณหภูมิในระหว่างการหมัก

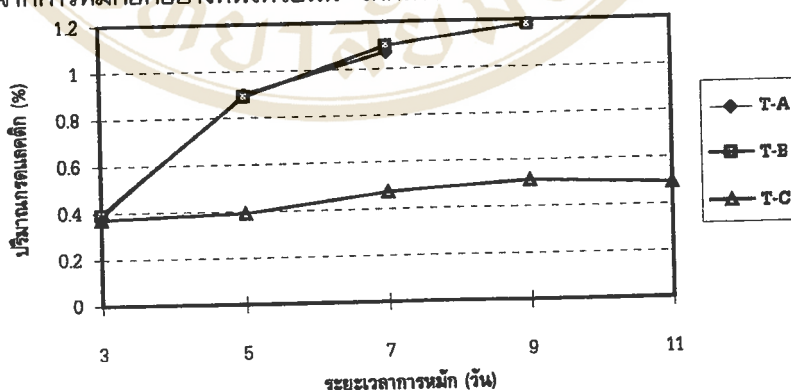
จากรูปที่ 4-1 , 4-2 และ 4-3 จะพบว่าในชั่วโมงที่ 180-264 ของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่ง และชั่วโมงที่ 228-264 ของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะไม่มีข้อมูลของค่า pH , Total soluble solid และอุณหภูมิ สาเหตุเนื่องมาจากเกิดการปนเปื้อนในขวดหมัก กล่าวคือ ในทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่ง เมื่อการหมักดำเนินมาจนถึงชั่วโมงที่ 144 พบว่ามีการปนเปื้อนเกิดขึ้นในขวดหมัก จำนวน 3 ใบ จากขวดหมักทั้งหมดในขณะนั้น 9 ใบ จึงได้ทำการทบน้ำออกจากขวดหมักทั้ง 3 ใบที่เกิดการปนเปื้อนในชั่วโมงที่ 144 ดังกล่าว (จึงเหลือขวดหมักอีก 6 ใบ) จากนั้นเมื่อการหมักดำเนินมาจนถึงชั่วโมงที่ 168 ก็พบการปนเปื้อนในขวดหมักที่เหลือทั้งหมดจำนวน 6 ใบ ในลักษณะเดียวกัน จึงได้ทำการทบน้ำออกทั้งหมด เหตุการณ์ดังกล่าวนี้เกิดขึ้นกับทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ในชั่วโมงที่ 168 และชั่วโมงที่ 216 ด้วยเช่นกัน ดังนั้นจึงไม่มีข้อมูลของค่าต่าง ๆ ในช่วงเวลาดังกล่าว

จากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 4-1 จะเห็นว่าทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ มีแนวโน้มการเปลี่ยนแปลงในรูปแบบที่คล้ายกัน กล่าวคือ ในทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่ง ค่า pH จะลดลงอย่างรวดเร็วจากที่ pH 5.42 ในชั่วโมงที่ 12 ลดลงเหลือ 4.14 ในชั่วโมงที่ 36 และเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยเป็น 4.36 ในชั่วโมงที่ 48 จากนั้นค่า pH จะลดลงจนถึง 3.29 ในชั่วโมงที่ 144 และมีแนวโน้มที่จะคงที่ต่อไป ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ค่า pH จะลดลงอย่างรวดเร็วจากที่ pH 5.15 ในชั่วโมงที่ 12 ลดลงเหลือ 3.83 ในชั่วโมงที่ 48 และเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยเป็น 4.15 ในชั่วโมงที่ 60 จากนั้น pH จะลดลงจนถึง 3.23 ในชั่วโมงที่ 120 จึงเริ่มมีแนวโน้มคงที่ ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว พบว่าค่า pH จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นจาก 3.8 ในชั่วโมงที่ 24 จนถึง pH 4.2 ในชั่วโมงที่ 168 และจากนั้นค่า pH ก็จะขึ้นลงไม่คงที่ จนถึงชั่วโมงที่ 240 จึงมีแนวโน้มว่าจะคงที่ต่อไป ซึ่งจะเห็นว่าค่า pH ของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด จะเปลี่ยนแปลงจาก pH สูงแล้วค่อย ๆ ต่ำลง ในขณะที่ทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว นั้น ค่า pH จะเปลี่ยนแปลงจากค่าต่ำแล้วค่อย ๆ สูงขึ้น

จากผลการทดลองที่แสดงในรูปที่ 4-2 จะเห็นว่าทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ค่า Total soluble solid จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จาก 18.9 °Brix ในชั่วโมงที่ 12 เพิ่มขึ้นเป็น 20.9 °Brix ในชั่วโมงที่ 72 และจะค่อย ๆ ลดลงจนกระทั่งคงที่ ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งนั้น ค่า Total soluble solid จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วจาก 13.1 °Brix ในชั่วโมงที่ 12 เป็น 20.8 °Brix ในชั่วโมงที่ 48 จากนั้นค่าก็จะลดลงและเพิ่มขึ้นไม่แน่นอน ซึ่งการเปลี่ยนแปลงของค่า Total soluble solid ที่ขึ้นลงนั้นจะอยู่ในช่วงแคบ ๆ เท่านั้น สำหรับทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแ่งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว พบว่า การเปลี่ยนแปลงของค่า Total soluble solid มีน้อยมาก จนเกือบจะเป็นกราฟเส้นตรงที่ไม่มีความชันเลย กล่าวคือ มีค่า Total soluble solid เริ่มต้นในชั่วโมงที่ 24 เท่ากับ 31.5 °Brix และเปลี่ยนแปลงขึ้นลงอีกเล็กน้อยในระหว่างการหมัก

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิที่ระยะเวลาต่างๆในระหว่างการหมักของแต่ละทรีทเมนต์พบว่า อุณหภูมิเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 12 ของทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวมีค่าใกล้เคียงกัน คือ 31.0°C และ 31.1°C ตามลำดับ ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งจะมีอุณหภูมิเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 12 ต่ำกว่าเล็กน้อยคือ 30.2°C อีก 12 ชั่วโมงต่อมา (ชั่วโมงที่ 24) อุณหภูมิของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด จะลดลงเหลือ 30.0°C และ 30.5°C ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวอุณหภูมิยังคงที่อยู่ จากนั้นอุณหภูมิของทั้งสามทรีทเมนต์จะขึ้นสูงสุดเหมือนกันในชั่วโมงที่ 36 แล้วลดลงในชั่วโมงที่ 48 หลังจากนั้นอุณหภูมิของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งจะขึ้นลงอยู่ในช่วงแคบ ๆ ($29.8^{\circ}\text{C} - 30.0^{\circ}\text{C}$) จนถึงชั่วโมงที่ 168 อุณหภูมิเพิ่มขึ้นเป็น 30.5°C สำหรับทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว หลังจากชั่วโมงที่ 48 แล้ว อุณหภูมิจะขึ้นลงแล้วมาสูงอีกครั้งในชั่วโมงที่ 168 คือ 30.7°C และ 30.8°C ตามลำดับ จากนั้นอุณหภูมิจะลดลงต่ำสุดในชั่วโมงที่ 204 เหลือ 27.8°C และ 28.9°C และเมื่อถึงชั่วโมงที่ 216 อุณหภูมิจะขึ้นสูงอีกครั้งเป็น 31.0°C และ 31.1°C ตามลำดับ ต่อมาในชั่วโมงที่ 216 - 264 ของทรีทเมนต์ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวอุณหภูมิจะขึ้นลงไม่แน่นอน ดังแสดงในรูปที่ 4-3

สำหรับผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในส่วนของการกรดแลคติกและปริมาณแอลกอฮอล์ ที่ทำการตรวจวัดเมื่อหมักจนครบ 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน ได้ผลการทดลองดังแสดงในรูปที่ 4-4 และ 4-5 ซึ่งผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละช่วงเวลาดังกล่าวนี้ จะนำมาเปรียบเทียบกับประสิทธิภาพของวิธีการหมักโดยวิธีการทางสถิติ เหตุที่ขั้นตอนนี้ไม่ได้ศึกษาในเรื่องปริมาณน้ำหมัก ซึ่งถือเป็นผลผลิตที่ได้จากการหมักอีกอย่างหนึ่งด้วยนั้น ได้กล่าวไว้แล้วในหัวข้อ 4.1 หน้า 41



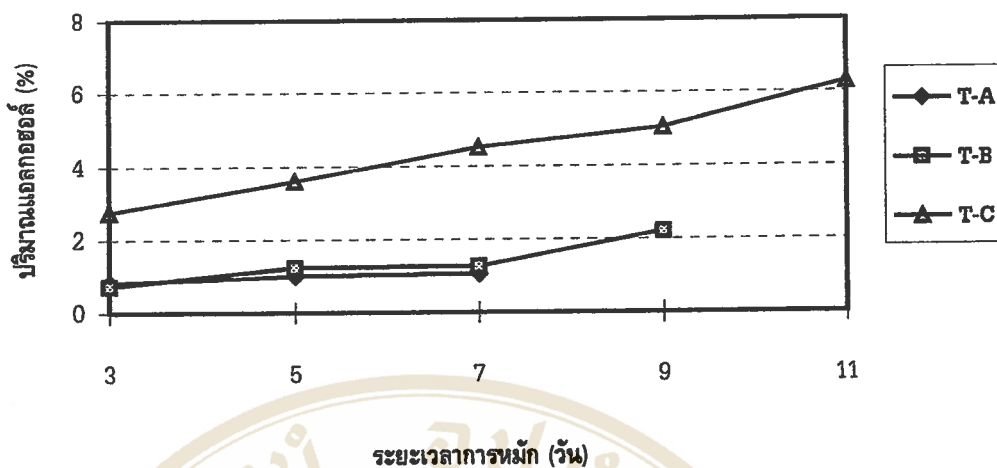
หมายเหตุ : ข้อมูลของ T - A และ T - B ในช่วงท้ายของการหมักจะขาดหายไป เนื่องจากเกิดการปนเปื้อนในขวดหมัก

T - A = การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - B = การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - C = การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

รูปที่ 4-4 ปริมาณกรดแลคติกเมื่อหมักจนครบที่ระยะเวลาต่าง ๆ



หมายเหตุ : ข้อมูลของ T - A และ T - B ในช่วงท้ายของการหมักจะขาดหายไป เนื่องมาจากเกิดการปนเปื้อนในขวดหมัก

T - A = การทดลองที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - B = การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - C = การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

รูปที่ 4-5 ปริมาณแอลกอฮอล์เมื่อหมักจนครบที่ระยะเวลาต่าง ๆ

จากรูปที่ 4-4 ซึ่งแสดงการเปลี่ยนแปลงปริมาณกรดแลคติก จะเห็นว่าทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ มีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายกันเช่นเดียวกับการเปลี่ยนแปลง pH (ดูรูปที่ 4-1 หน้า 42) แต่เป็นในลักษณะตรงกันข้าม การเปลี่ยนแปลงของกรดแลคติกนี้จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงวันที่ 3 - วันที่ 5 ของการหมัก คือ เพิ่มขึ้นจาก 0.38% เป็น 0.90% สำหรับทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่ง และจาก 0.39% เป็น 0.89% สำหรับทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จากนั้นกรดแลคติกก็จะเพิ่มขึ้นอีก แต่เป็นไปในอัตราที่น้อยกว่าในช่วง 3-5 วันแรก ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้น พบว่า กรดแลคติกจะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ จาก 0.37% ในวันที่ 3 เป็น 0.51% ในวันที่ 9 และลดลงอีกเล็กน้อยเหลือ 0.49% ในวันที่ 11

ส่วนการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ซึ่งถือเป็นผลผลิตที่สำคัญนั้น พบว่า ทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นน้อยมาก แม้ว่าเวลาหมักจะนานขึ้นก็ตาม กล่าวคือ ทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งเมื่อหมักครบ 3 วัน จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ 0.83% และเพิ่มเป็น 1.06% เมื่อหมักครบ 7 วัน ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ เมื่อหมักครบ 3 วัน จะมีปริมาณแอลกอฮอล์ 0.72% และเพิ่มขึ้นเป็น 1.27% และ 2.19% เมื่อหมักครบ 7 และ 9 วันตามลำดับ ในขณะที่ทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวได้มีการเปลี่ยนแปลงแอลกอฮอล์ในอัตราที่เร็วและมากกว่า คือ จาก 2.74 เป็น 3.59, 4.51, 5.04 และ 6.27% เมื่อหมักครบ 3, 5, 7, 9 และ 11 วัน ตามลำดับ ซึ่งจะเห็นเส้นกราฟเป็นเส้นตรงที่มีความชัน ดังแสดงในรูปที่ 4-5

เมื่อเปรียบเทียบผลผลิต(ปริมาณแอลกอฮอล์)ระหว่างทรีทเมนต์ที่ใช้ น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ (ดูรูปที่ 4-5) จะเห็นว่าทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ได้ปริมาณแอลกอฮอล์มากกว่าทรีทเมนต์ที่ใช้ น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งเล็กน้อยเมื่อเทียบในระยะเวลาการหมักเท่ากัน และจากการพิสูจน์สมมุติฐานโดยใช้สถิติ F - Test ดังแสดงในหน้า 75-77 พบว่า ค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในวันที่ 5 และ 7 ของทรีทเมนต์ที่ใช้ น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งแตกต่างกับทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยมีค่าเฉลี่ยน้อยกว่า ผลการทดลองแสดงให้เห็นว่า การบดไม่ได้ช่วยให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด

ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละวิธีหมักที่ระยะเวลาหมัก 3 วัน พบว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังตารางที่ ก-10 (ภาคผนวก ก) และเมื่อทำการทดสอบความแตกต่างรายคู่พบว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ของทรีทเมนต์ที่ใช้ น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งกับทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ไม่แตกต่างกัน แต่ปริมาณแอลกอฮอล์ของทรีทเมนต์ทั้งสองนี้จะแตกต่างกับทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดี่ยวอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ ก-11 (ภาคผนวก ก) ส่วนการหมักที่ระยะเวลา 5 วัน และ 7 วัน ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนจะเหมือนกันคือ มีความแตกต่างกันในแต่ละทรีทเมนต์อย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% (ดูตารางที่ ก-12, ก-13, ก-14 และ ก-15 ในภาคผนวก ก) สำหรับการหมักที่ระยะเวลา 9 วัน จะทำการเปรียบเทียบความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในสองทรีทเมนต์คือ ระหว่างทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดี่ยว โดยใช้สถิติ T-Test Pairs ผลปรากฏว่า มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ดังแสดงในตารางที่ ก-16 (ภาคผนวก ก)

จากผลการทดลอง จะเห็นว่าทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดี่ยว มีความเหมาะสมที่จะนำมาทดลองผลิตในขั้นตอนการศึกษาการยอมรับผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเป็นทรีทเมนต์ที่มีประสิทธิภาพในการหมักดีที่สุด กล่าวคือ ผลผลิตที่ได้ซึ่งหมายถึงปริมาณแอลกอฮอล์นั้นมีค่าสูงที่สุด (ถึงแม้ว่าจะได้ปริมาณน้ำหมักน้อยกว่าอีกสองวิธีก็ตาม แต่เมื่อคิดเทียบในปริมาณน้ำหมักที่ใกล้เคียงกันโดยการเติมน้ำลงไปอีกเท่าตัว ก็ยังคงได้ปริมาณแอลกอฮอล์มากกว่าอยู่นั่นเอง) อีกทั้งกลิ่นและรสของน้ำหมักที่ได้จากวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวก็น่าดีกว่าด้วย (จากการประเมินโดยผู้วิจัยเอง) ดังนั้นในการทดลองขั้นต่อไปเพื่อศึกษาการยอมรับผลิตภัณฑ์ จะใช้วิธีการหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดี่ยว โดยใช้ปริมาณลูกแป้งเท่ากับ 0.4% และใช้ระยะเวลาในการหมักนาน 7 วัน ซึ่งคาดว่าจะได้ปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 4.5% (ดูรูปที่ 4-5 ประกอบ)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศที่ระยะเวลาต่างๆ ในระหว่างการหมักนั้น พบว่าอุณหภูมิเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 29.0 - 33.0°C และความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศเปลี่ยนแปลงอยู่ในช่วง 74 - 91% ดังแสดงในตารางที่ 4-4

ตารางที่ 4-4 อุณหภูมิและความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศที่ระยะเวลาต่าง ๆ

ชั่วโมงที่	อุณหภูมิบรรยากาศ (°C)	ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ (%)
12	29.0	74
24	32.0	83
36	32.0	79
48	31.5	83
60	31.0	83
72	31.1	83
84	31.0	81
96	32.0	81
108	31.5	79
120	31.8	79
132	31.2	81
144	32.0	79
156	31.5	79
168	33.0	85
180	31.2	79
192	31.7	79
204	32.0	79
216	32.8	91
228	32.0	91
240	32.3	91
252	33.0	91
264	32.2	91

4.3 ผลการทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ

การทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำในขั้นตอนนี้ เป็นเพียงการศึกษาแนวโน้มของการยอมรับในขั้นต้นเท่านั้น โดยใช้จำนวนผู้ชิม 35 คน ทำการชิมผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวหนึ่งหั่งเมล็ดกับลูกแป้ง 0.4% เป็นเวลานาน 7 วัน

เมื่อหมักจนครบ 7 วันแล้ว จึงทำการทบน้ำออกมา และนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำที่ได้มาผ่านการพาสเจอไรซ์ก่อนที่จะนำมาให้ชิม โดยจะทำการตรวจวัดปริมาณแอลกอฮอล์ ,ปริมาณกรดแลคติก, Total soluble solid , pH และปริมาณจุลินทรีย์ทั้งก่อนและหลังการพาสเจอไรซ์ ผลของค่าต่าง ๆ ดังกล่าวแสดงในตารางที่ 4-5

ตารางที่ 4-5 คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำก่อนและหลังการพาสเจอไรซ์

คุณสมบัติ	ก่อนพาสเจอไรซ์	หลังพาสเจอไรซ์
% แอลกอฮอล์	1.75	1.70
% กรดแลคติก	0.77	0.76
Total soluble solid ('Brix)	35.8	35.8
pH	3.40	3.39
ปริมาณจุลินทรีย์ (โคโลนี/มล.)	ไม่ได้ทำการตรวจวัด	90

หมายเหตุ : สาเหตุที่ไม่ได้ทำการตรวจวัดปริมาณจุลินทรีย์ก่อนการพาสเจอไรซ์ เนื่องจากไม่มีความจำเป็น เพราะความสำคัญอยู่ที่การตรวจวัดจุลินทรีย์ที่อาจจะคงเหลืออยู่ในเครื่องดื่มหลังจากทำการพาสเจอไรซ์ที่อุณหภูมิประมาณ 60°C นาน 30 นาที แล้วมากกว่า ซึ่งเมื่อนำจุลินทรีย์ที่พบนี้ไปจำแนกเชื้อ พบว่าเป็นแบคทีเรียสกุล Bacillus และ Lactobacillus โดยพบในปริมาณคิดเป็นอัตราส่วนเท่ากับ 3: 1 ตามลำดับ

จากผลการทดลองในตารางที่ 4-5 จะเห็นว่าปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวหนึ่งกับลูกแป้ง 0.4% เป็นเวลานาน 7 วัน ซึ่งเท่ากับ 1.75% นั้น น้อยกว่าที่คาดประมาณไว้ในตอนแรกว่าจะได้ประมาณ 4.5% ซึ่งจะได้อภิปรายผลการทดลองในส่วนนี้ต่อไป อย่างไรก็ตามเมื่อเปรียบเทียบค่าต่าง ๆ ก่อนและหลังการพาสเจอไรซ์ผลิตภัณฑ์ จะเห็นว่ามีค่าใกล้เคียงกัน ดังนั้นการพาสเจอไรซ์จึงไม่ได้ทำให้คุณสมบัติของผลิตภัณฑ์เปลี่ยนแปลงไป

เมื่อให้ผู้ทดสอบชิมทำการประเมินคุณภาพด้านกลิ่นและรส รวมทั้งลักษณะต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 1.75% โดยการตอบแบบสอบถามที่ใช้วิธีการให้คะแนนในด้านต่าง ๆ ของผลิตภัณฑ์ โดยมีระดับความชอบให้เลือกตอบ 5 ระดับด้วยกัน ผลการทดสอบแสดงในตารางที่ 4-6

ตารางที่ 4-6 ผลการทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ (แสดงผลเป็น % ของจำนวนผู้ชิมทั้งหมด)

คุณสมบัติของ- ผลิตภัณฑ์	จำนวนผู้ชิมที่ระดับความชอบต่าง ๆ		
	ชอบ	เฉย ๆ	ไม่ชอบ
ลักษณะโดยทั่วไป	83	17	0
สี	77	14	9
ความใส	88	6	6
กลิ่น	46	23	31
รส	57	11	32

จากข้อมูลการตอบแบบสอบถาม พบว่า ผู้ชิมเป็นเพศหญิง 22 คน และเพศชาย 13 คน มีอายุอยู่ระหว่าง 19 - 33 ปี และเนื่องจากการวิจัยในขั้นตอนนี้เป็นการทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เท่านั้น จึงได้ทำการรวมกลุ่มระดับความชอบและแบ่งออกเป็น 3 กลุ่ม เพื่อให้ง่ายต่อการทำความเข้าใจ และเพื่อให้เห็นภาพได้ชัดเจนยิ่งขึ้น คือ กลุ่มที่ 1 รวมผู้ที่ให้ความเห็นว่าชอบมากและชอบเล็กน้อย เป็น ชอบ กลุ่มที่ 2 เป็นผู้ที่ให้ความเห็นว่า เฉย ๆ (ซึ่งหมายถึงมีความรู้สึกอยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ) กลุ่มที่ 3 รวมผู้ที่ให้ความเห็นว่าไม่ชอบมากและไม่ชอบเล็กน้อยเป็น ไม่ชอบ ผลการทดสอบพบว่า ส่วนใหญ่ผู้ชิมให้ความเห็นว่า ชอบ ต่อลักษณะโดยทั่วไปของผลิตภัณฑ์ , สี , ความใส , กลิ่น และรสของผลิตภัณฑ์ ซึ่งความเห็นต่อรสของผลิตภัณฑ์นี้ มีจำนวนผู้ชิมที่ให้ความเห็นว่า ชอบมาก เป็นเพศหญิงถึง 64% อย่างไรก็ตามผู้ชิมที่ให้ความเห็นต่อกลิ่นและรสของผลิตภัณฑ์ว่า ไม่ชอบ นั้น ก็มีอยู่ถึง 31% และ 32% ตามลำดับสาเหตุที่ไม่ชอบกลิ่นนั้นผู้ชิมมีความเห็นว่า กลิ่นของผลิตภัณฑ์ค่อนข้าง เหม็นแปลก ๆ บางคนบอกว่า เหม็นกลิ่นเปรี้ยว หรือ เหม็นกลิ่นบูด ส่วนสาเหตุที่ไม่ชอบรสของผลิตภัณฑ์ ผู้ชิมมีความเห็นว่า รสหวานเกินไป สำหรับข้อเสนอแนะก็มีหลายประการ เช่น ควรมีกลิ่นของผลไม้ , ควรเพิ่มสีสรรของผลิตภัณฑ์ และควรเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ในผลิตภัณฑ์ให้มากกว่านี้ เพื่อให้ได้กลิ่นและรสของแอลกอฮอล์มากขึ้น

4.4 ผลการตรวจวัดคุณภาพของน้ำประปา

ผลการตรวจวัดคุณภาพของน้ำประปาที่ใช้ในการทดลองครั้งนี้ ซึ่งมีตัวอย่างน้ำ 3 ตัวอย่าง แสดงดังตารางที่ 4-7

ตารางที่ 4-7 ผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำประปา

Parameter	Sample 1	Sample 2	Sample 3
pH	8.89	8.63	7.98
DO (mg/l)	8.85	8.20	7.19
Hardness (mg/l)	120	69	110
Residual chlorine (mg/l)	< 0.04	< 0.04	< 0.04
Iron (mg/l)	0	0	0
TKN (mg/l)	< 0.5	< 0.5	< 0.5
Total bacteria (standard plate count /ml)	8	35	300

จากผลการตรวจวัดคุณภาพน้ำประปาในตารางที่ 4-7 จะเห็นว่า ค่า Residual chlorine และ TKN ของทั้งสามตัวอย่างน้ำ มีปริมาณน้อยกว่าค่า Detection limit ที่วิธีการตรวจวัดนั้น ๆ จะสามารถหาได้ กล่าวคือ วิธีการตรวจวัด Residual chlorine ที่ใช้วิธี Iodometric Method I สามารถตรวจหาค่า Residual chlorine ได้ตั้งแต่ 0.04 mg/l ขึ้นไป ส่วนวิธีการตรวจวัด TKN โดยใช้วิธี Kjeldahl Method นั้นจะสามารถหาค่า TKN ได้ตั้งแต่ 0.5 mg/l ขึ้นไป สำหรับการตรวจหาเหล็ก (Iron) ในตัวอย่างน้ำไม่พบเหล็กในทั้งสามตัวอย่างน้ำเช่นเดียวกัน

ในตัวอย่างที่ 3 พบว่าค่า pH และค่าออกซิเจนที่ละลายในน้ำ (dissolved oxygen) น้อยกว่าตัวอย่างที่ 1 และ 2 แต่ในตัวอย่างที่ 3 จะพบปริมาณ Total bacteria มากกว่า อย่างไรก็ตามปริมาณ Total bacteria ที่พบในตัวอย่างที่ 3 นี้ก็ยังมีค่าน้อยกว่าค่ามาตรฐานของน้ำประปาซึ่งกำหนดไว้ไม่เกิน 500 standard plate count /ml (โกลล คิวบวอร์, 2524)

4.5 ผลการแยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมาก

จากตัวอย่างลูกแป้งข้าวหมากที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้ สามารถแยกเชื้อและจำแนกเชื้อได้ดังนี้

1. เชื้อรา

จากการแยกเชื้อราในลูกแป้งข้าวหมาก และนำมาจำแนกเชื้อพบว่ามียู 2 ชนิดคือ *Rhizopus spp.* และ *Aspergillus spp.* ในปริมาณ 2.3×10^4 และ 1.0×10^4 เซลต่อลูกแป้งข้าวหมาก 0.5 กรัม ตามลำดับ

ราที่จำแนกได้มีลักษณะดังต่อไปนี้

Rhizopus

ลักษณะโคโลนี : เจริญเติบโตเร็ว มองดูคล้ายสาหร่าย ๆ ระยะเวลาที่มีสีขาว ต่อมา มีสีเทาดำ ด้านล่างโคโลนีมีสีเหลือง

ลักษณะที่เห็นในกล้องจุลทรรศน์ : hypha ไม่มี septum , พบ rhizoid ตรงบริเวณเดียวกับที่มี sporangiophores ส่วน sporangium มีรูปร่างกลมและสีดำ

Aspergillus

ลักษณะโคโลนี : การเจริญเติบโตค่อนข้างเร็ว ระยะเวลาที่มีสีขาว หลังจากนั้นจะค่อย ๆ มีสี ซึ่งอาจจะมีสีเขียว เหลือง น้ำตาล หรือ ดำ ขึ้นกับ species ในที่นี้พบเชื้อที่ระยะเวลาที่มีสีขาว ต่อมาสีดำ ส่วนด้านล่างโคโลนีมีสีเหลือง และพบเชื้อที่ระยะเวลาที่มีสีขาวเช่นเดียวกัน แต่ต่อมามีสีเหลืองและด้านล่างโคโลนีมีสีน้ำตาล ผิวของโคโลนีคล้ายกำมะหยี่หรือเป็นผง ซึ่งทั้งสองเชื้อจัดอยู่ในสกุล *Aspergillus*

ลักษณะที่เห็นในกล้องจุลทรรศน์ : hypha มี septum , conidiophore ไม่มีแขนง เกิดจาก foot cell vesicle มีรูปร่างกลม บนผิวของ vesicle มี sterigma 1 ชั้น หรือ 2 ชั้น ส่วนปลายของ sterigma มี conidia ติดอยู่เป็นสาย

การที่พบเชื้อราส่วนใหญ่เป็นพวก *Rhizopus* นั้น เนื่องจาก *Rhizopus* เป็นเชื้อราที่เจริญได้เร็วมากในอาหารเลี้ยงเชื้อ ซึ่งโดยปกติเชื้อนี้จะเจริญเติบโตเต็มผิวหน้าอาหารในจานเลี้ยงเชื้ออย่างรวดเร็วในเวลาหนึ่งถึงสองวันเท่านั้น ทำให้เชื้ออื่นที่โตช้ากว่าไม่มีโอกาสเจริญได้ และเนื่องจากชัชวพันธ์ จาติเสถียร (2520) ได้กล่าวถึงเชื้อราที่เข้าใจว่ามีความสำคัญในลูกแป้งข้าวหมากว่า คือเชื้อ *Amylomyces* ทั้งนี้เพราะรานี้จะสร้าง chlamydospore จำนวนมาก และลักษณะโคโลนีไม่มีสี ถ้านำลูกแป้งข้าวหมากมา smear ในสารละลายไโอดีน แล้วนำไปส่องดูด้วยกล้องจุลทรรศน์ จะพบว่าอยู่ในสภาพของ chlamydospore มากกว่าที่อยู่ในสภาพของเส้นใยและ conidium หรือ sporangiophore ดังนั้นจึงได้นำลูกแป้งข้าวหมากส่วนหนึ่งมาบดให้ละเอียดแล้วหยดสารละลายไโอดีนลงไป 1 - 2 หยด และนำไปส่องดู

ด้วยกล้องจุลทรรศน์ ปรากฏว่าพบ chlamydo-spore จำนวนมาก ซึ่งสอดคล้องกับรายงานดังกล่าว ดังนั้นเชื้อที่มีความสำคัญในลูกแป้งข้าวหมากจึงน่าจะเป็นเชื้อ *Amylomyces*

2. เชื้อยีสต์

ยีสต์ที่พบในลูกแป้งข้าวหมากมีเพียงชนิดเดียว คือ *Endomycopsis* spp. ส่วนในด้านปริมาณของเชื้อที่พบนั้นไม่สามารถบอกได้ เนื่องจากในขั้นตอนการแยกเชื้อ เชื้อยีสต์ที่พบเจริญบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MY มีลักษณะไม่แยกจากกัน เชื้อเจริญติดกันเป็นวงกว้าง จึงไม่สามารถนับจำนวนโคโลนีได้ แต่พอจะประมาณด้วยสายตาได้ว่ามีเพียงจำนวนเล็กน้อยเท่านั้น

ยีสต์ในสกุล *Endomycopsis* ที่จำแนกได้มีลักษณะดังนี้

ลักษณะโคโลนี : ขนาดโคโลนีเล็กมาก มีสีครีม เจริญบนผิวหน้าของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะที่เห็นในกล้องจุลทรรศน์ : มี septate hyphae , เซลล์มีรูปร่างเป็นรูปไข่ (long - oval), spherical และ cylindrical มีการสร้างหน่อแบบ multiple budding และเซลล์ต่อกันเป็นเส้นใยแบบ true mycelium ในแต่ละ ascus มี ascospore รูปร่างคล้ายหมวก (hat - shaped) จำนวนสองถึงสี่

ลักษณะทางสรีรวิทยา :

1) ความสามารถในการ ferment น้ำตาล (Fermentation) ได้ผลดังนี้

- glucose +
- sucrose +
- maltose +
- galactose -
- lactose -

2) ความสามารถในการ assimilate น้ำตาล (Assimilation) ได้ผลดังนี้

- glucose +
- sucrose +
- maltose +
- raffinose +
- galactose -
- lactose -
- xylose -

หมายเหตุ : ผลบวก (+) = positive คือ สามารถ ferment หรือ assimilate น้ำตาลนั้นได้

ผลลบ (-) = negative คือ ไม่สามารถ ferment หรือ assimilate น้ำตาลนั้นได้

3) ความสามารถในการ assimilate เกลือไนเตรท ได้ผลดังนี้

assimilation of potassium nitrate : negative

4) ความสามารถในการย่อยแป้ง

ปรากฏว่าสามารถย่อยแป้งได้ดี

3. แบคทีเรีย

เมื่อทำการแยกเชื้อแบคทีเรียในลูกแป้งข้าวหมาก สามารถจำแนกเชื้อออกเป็น 2 ชนิด คือ

1. *Bacillus* spp. และ 2. *Lactobacillus* spp. ในปริมาณ 3.8×10^5 และ 2.0×10^4 เซลต่อลูกแป้งข้าวหมาก 0.5 กรัม ตามลำดับ

แบคทีเรียที่จำแนกได้มีลักษณะดังต่อไปนี้

Bacillus

ลักษณะโคโลนี : มีสีครีม เจริญทั้งบนผิวและใต้ผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะที่เห็นในกล้องจุลทรรศน์ : จะเห็นติดสไลด์เงินแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่ง (rods) และสร้างสปอร์

การทดสอบทางชีวเคมี : Catalase Test

- ผลการทดสอบ ปรากฏว่า Positive

Lactobacillus

ลักษณะโคโลนี : มีสีครีม กลม ขนาดเส้นผ่าศูนย์กลางประมาณ 1 - 2 มม. เจริญบนผิวของอาหารเลี้ยงเชื้อ

ลักษณะที่เห็นในกล้องจุลทรรศน์ : จะเห็นติดสไลด์เงินแกรมบวก รูปร่างเป็นแท่งยาว (long rods) พบทั้งแบบเซลล์เดี่ยวและแบบต่อกันเป็นโซ่ ไม่สร้างสปอร์

การทดสอบทางชีวเคมี : Catalase Test

- ผลการทดสอบ ปรากฏว่า Negative

จากการจำแนกแบคทีเรียแลคติกโดยการทดสอบทางชีวเคมีของเชื้อ *Bacillus* และ *Lactobacillus* กับอาหารทดสอบ (Litmus milk) ปรากฏว่าเชื้อทั้งสองชนิดให้ผลบวกกับ Litmus milk จึงจัดเป็นแบคทีเรียแลคติกทั้งสองชนิด

4.6 อภิปรายผลการทดลอง

การศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตซึ่งหมายถึง ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมัก ที่ได้จากการหมักโดยใช้ปริมาณลูกแป้งแตกต่างกัน 3 ระดับของทั้งสามวิธีหมัก คือ 1.หมักโดยใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง 2.หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และ 3.หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้น พบว่า ผลผลิตที่ได้จากการหมักที่ใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.4, 0.6 และ 0.8% ของวิธีหมักโดยใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งไม่แตกต่างกัน (ดูตารางที่ 4-1) และถึงแม้ว่าจะพบความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติของผลผลิตในแต่ละระดับลูกแป้งของทั้งวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวกก็ตาม แต่เมื่อพิจารณาความแตกต่างของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมักแล้ว จะเห็นว่ามีความแตกต่างกันไม่มากนัก (ดูตารางที่ 4-2 และ 4-3) แสดงว่าจุลินทรีย์ในลูกแป้งสามารถทำงานได้อย่างมีประสิทธิภาพเท่าเดิมหรือเพิ่มขึ้นไม่มากนักถึงแม้ว่าเราจะเพิ่มปริมาณลูกแป้งก็ตาม จึงอาจกล่าวได้ว่า ปริมาณการใช้ลูกแป้งที่เพิ่มขึ้นนั้นไม่ส่งผลต่อการเพิ่มขึ้นของปริมาณผลผลิตน้อยมาก

ในด้านของการศึกษาการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบทางเคมีในน้ำหมักของแต่ละวิธีหมักทุก ๆ 12 ชั่วโมง เป็นเวลานาน 11 วัน โดยใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.4% เท่ากันนั้น พบว่าค่า pH ของทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งและทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ หลังจากชั่วโมงที่ 12 ผ่านไป ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงของกรดแลกติกจะเป็นไปในทางตรงกันข้ามกับการเปลี่ยนแปลงค่า pH ส่วนทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้นค่า pH จะเพิ่มขึ้นอย่างช้า ๆ ในขณะที่กรดแลกติกก็เปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นเช่นเดียวกัน แต่มีอัตราการเพิ่มขึ้นน้อยกว่าเมื่อเทียบกับอัตราการเพิ่มขึ้นของกรดแลกติกในสองทรีหมักหมักข้างต้น ดังที่กล่าวไว้แล้วในบทที่ 2 ว่า กรดแลกติกที่ได้จากการหมักข้าวโดยใช้ลูกแป้งนี้ เกิดจากการผลิตของแบคทีเรียแลกติกที่พบอยู่ในลูกแป้ง และนอกจากแบคทีเรียแลกติกจะเป็นตัวผลิตกรดแลกติกที่สำคัญแล้ว เชื้อรา *Amylomyces* ยังสามารถผลิตกรดแลกติกได้อีกด้วย (มนตรี เชน-สังเกต, 2521) ดังนั้นการที่ปริมาณกรดแลกติกเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งและทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ อาจจะเนื่องมาจากทรีหมักหมักเหล่านี้มีสภาวะที่เหมาะสมต่อการเจริญของแบคทีเรียมากกว่าทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวกกล่าวคือ ทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งและทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะมีการเติมน้ำทำให้อยู่ในลักษณะที่เป็นของเหลว และเนื่องจากแบคทีเรียจะเจริญในที่ที่มีความชื้นสูงได้ดี จึงทำให้แบคทีเรียแลกติกเหล่านี้เจริญและผลิตกรดแลกติกออกมาได้มากกว่าในทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวกที่ไม่มีการเติมน้ำลงไป สำหรับกรดแลกติกที่เกิดขึ้นในทรีหมักหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้น น่าจะได้รับการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นกรดแลกติกโดยบทบาทของเชื้อรา *Amylomyces* เป็นสำคัญ

ผลการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลซึ่งวัดอยู่ในรูปของ Total soluble solid พบว่าวิธีหมักที่ใช้ น้ำ แบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง จะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลอย่างรวดเร็วในช่วง 2 วันแรก แล้วจะลดลงและเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยจนถึงวันที่ 7 ของการหมัก (ดูรูปที่ 4-2) ในขณะที่อัตราการเพิ่มขึ้นของปริมาณ แอลกอฮอล์ใน 3 วันแรกจะมากกว่าวันต่อ ๆ มาซึ่งพบเพิ่มขึ้นอีกเพียงเล็กน้อยเมื่อถึงวันที่ 5 และวันที่ 7 (ดูรูปที่ 4-5) ทั้งนี้สามารถอธิบายได้ว่าการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลและปริมาณแอลกอฮอล์ในช่วง 2-3 วันแรกนี้ เป็นผลมาจากการย่อยแป้งโดยเชื้อรา *Amylomyces* และ *Rhizopus* และเชื้อยีสต์ *Endomycopsis* พร้อม ๆ กับที่ยีสต์ก็สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ดีเช่นเดียวกัน ต่อจากนั้น ปริมาณน้ำตาลจะลดลงทั้งนี้เนื่องมาจากการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์ รวมทั้งการใช้น้ำตาลใน กิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์อื่น ๆ ที่มีอยู่ในลูกแป้ง และการที่ปริมาณน้ำตาลได้เพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยหลังจาก วันที่ 3 นั้น น่าจะเป็นเพราะเชื้อรา ยังคงทำการย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลได้ดีอยู่ ในขณะที่กิจกรรมการ เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์จะดำเนินไปได้ช้ากว่า ทั้งนี้อาจเป็นเพราะ pH ที่ลดลงเหลือ 3.64 หลังจากวันที่ 3 ทำให้ยีสต์ทำงานได้น้อยลง (ยีสต์จะทำงานได้ดีที่ pH 4.0-4.5) ซึ่งที่ pH นี้เชื้อรา ยังคงทำงานได้ดี เพราะส่วนใหญ่แล้วเชื้อราจะชอบความเป็นกรด (ศิริลักษณ์ สันธวาลัย , 2525)

ส่วนการเปลี่ยนแปลงปริมาณน้ำตาลและปริมาณแอลกอฮอล์ของทรีทเม้นต์ที่หมักโดยใช้ข้าวเหนียว หนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะพบว่าปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นจาก 18.9°Brix เป็น 21.9°Brix เมื่อหมักครบ 2 วัน จากนั้นจึงค่อย ๆ ลดลงจนคงที่ (ดูรูปที่ 4-2) ในขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้นจนถึง 1.23% ในวันที่ 5 และคงที่ในวันที่ 7 จากนั้นจึงเพิ่มขึ้นอีกในวันที่ 9 ของการหมัก (ดูรูปที่ 4-5) การเปลี่ยนแปลงดังกล่าว สามารถอธิบายได้ว่า ในช่วง 2 วันแรกที่ปริมาณน้ำตาลเพิ่มขึ้นนั้นเกิดจากการย่อยแป้งเป็นน้ำตาลของราและ ยีสต์ในลูกแป้ง และต่อมาปริมาณน้ำตาลจะลดลงอีกเล็กน้อย ซึ่งการลดลงของปริมาณน้ำตาลนี้ส่วนหนึ่งเกิด จากการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์และอีกส่วนหนึ่งเกิดจากการถูกนำไปใช้ในกิจกรรมต่าง ๆ ของ จุลินทรีย์ และต่อมาพบว่าปริมาณน้ำตาลเริ่มคงที่ไม่เพิ่มขึ้นอีก ซึ่งน่าจะเป็นเพราะว่ากิจกรรมการย่อยแป้ง เป็นน้ำตาลของราและยีสต์ และกิจกรรมการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์โดยยีสต์เกิดขึ้นในอัตราที่ใกล้เคียงกันนั่นเอง และทำให้ปริมาณแอลกอฮอล์สะสมเพิ่มขึ้นจากเดิม 1.23% ในวันที่ 5 เป็น 2.19% ในวันที่ 9 ของการหมัก

เมื่อเปรียบเทียบปริมาณน้ำตาลและปริมาณแอลกอฮอล์ระหว่างทรีทเม้นต์ที่ใช้ น้ำ แบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง และทรีทเม้นต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ (ดูรูปที่ 4-2 และ 4-5) จะเห็นว่าปริมาณน้ำตาลเมื่อเริ่มต้น ของทรีทเม้นต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ (18.9°Brix) จะมากกว่าทรีทเม้นต์ที่ใช้ น้ำ แบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง (13.1°Brix) แสดงว่าในสภาวะของทรีทเม้นต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะทำให้ราและยีสต์สามารถ เจริญและย่อยแป้งได้ดีกว่าในสภาวะที่เป็นน้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง แต่เมื่อเวลาการหมักผ่านไป 2 วัน จะพบว่า ปริมาณน้ำตาลเริ่มมีค่าใกล้เคียงกัน (20.8 °Brix สำหรับทรีทเม้นต์ที่ใช้ น้ำ แบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง , 21.9°Brix สำหรับทรีทเม้นต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ) และในอีก 24 ชั่วโมงต่อมา อัตราการลดลงของปริมาณ

น้ำตาลในทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งจะลดลงมากกว่าในทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ซึ่งการลดลงนี้เป็นเพราะยีสต์ได้เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ จึงทำให้ทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง มีปริมาณแอลกอฮอล์มากกว่าทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำเล็กน้อย ที่เวลาการหมัก 3 วัน (0.83% สำหรับทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง , 0.72% สำหรับทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ) จากนั้นปริมาณน้ำตาลของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งจะเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อย และค่อนข้างจะคงที่ ในขณะที่ทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ปริมาณน้ำตาลยังคงค่อย ๆ ลดลงอย่างช้า ๆ ดังนั้นจึงพบว่าปริมาณแอลกอฮอล์ของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ในวันที่ 5 (1.23%) และ วันที่ 7 (1.27%) จะมากกว่าทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง (1.00% ในวันที่ 5 และ 1.06% ในวันที่ 7) ผลการทดลองดังกล่าวแสดงให้เห็นว่าการบดข้าวเหนียวหนึ่งและการเติมน้ำลงไปเพื่อให้มีลักษณะเป็นของเหลว นั้น ไม่ได้ทำให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นอย่างที่ได้อ้างอิงไว้ ซึ่งอาจจะเป็นผลมาจากการที่ต้องนำข้าวเหนียวหนึ่งมาบดก่อน จึงทำให้ข้าวเหนียวหนึ่งบดนั้นมีลักษณะเหนียวหนืดและจับตัวกันแน่น แม้ว่าเราจะเติมน้ำลงไปผสมแล้วก็ตาม แต่น้ำนั้นก็ยังไม่สามารถที่จะแทรกตัวเข้าไปผสมเป็นเนื้อเดียวกันแบบของเหลวหรือสารละลายได้ ลักษณะเช่นนี้ทำให้เราและยีสต์ไม่สามารถแพร่สลายเข้าไปได้ ปริมาณน้ำตาลที่จะได้จากการย่อยแป้งของราและยีสต์จึงเกิดขึ้นน้อย และทำให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์น้อยตามไปด้วยเช่นเดียวกัน

สำหรับทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้น พบว่าปริมาณน้ำตาลจะขึ้นสูงสุดเมื่อถึงวันที่ 2 ของการหมัก (33.1°Brix) ซึ่งสอดคล้องกับงานวิจัยของชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2520) ที่ได้ทำการทดลองหมักข้าวเหนียวกับเชื้อบริสุทธิ์ผสมของ *Amylomyces* กับ *Endomycopsis* โดยพบว่าปริมาณน้ำตาลจะขึ้นสูงสุดในวันที่ 2 (34.47°Brix) เช่นเดียวกัน จากนั้นการเปลี่ยนแปลงของปริมาณน้ำตาลจะเห็นไม่เด่นชัดนัก ค่อนข้างจะเปลี่ยนแปลงขึ้นลงน้อยมากในลักษณะที่คงที่ ในขณะที่การเปลี่ยนแปลงของแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็ว ที่เป็นเช่นนี้อาจจะเนื่องมาจากสภาวะแวดล้อมของทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวยังไม่มีการเติมน้ำลงไปด้วยนั้น มีความเหมาะสมต่อการเจริญของทั้งราและยีสต์ ทำให้เกิดการย่อยแป้งและเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ดี

ส่วนการเปลี่ยนแปลงของอุณหภูมิ ที่พบว่าทั้งสามทรีทเมนต์ คือ ทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง, ทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว จะมีอุณหภูมิขึ้นสูงสุดเมื่อการหมักดำเนินมาถึงชั่วโมงที่ 36 แสดงให้เห็นว่าในช่วงเวลาดังกล่าวนี้นี้ กิจกรรมต่าง ๆ ของจุลินทรีย์จะดำเนินไปได้ค่อนข้างมากและรวดเร็ว ซึ่งจะเห็นค่าต่าง ๆ เช่น ปริมาณน้ำตาล , ปริมาณแอลกอฮอล์ และปริมาณกรดแลกติก มีอัตราการเพิ่มขึ้นอย่างรวดเร็วในช่วงเวลานี้ ดังเช่นที่กล่าวไว้โดยละเอียดในข้างต้น (ดูรูปที่ 4-3)

จากผลของการศึกษาปริมาณผลผลิต (แอลกอฮอล์) ในทรีหมักที่ใช้ น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งดังกล่าว พบว่านอกจากลักษณะของน้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งจะทำให้ได้แอลกอฮอล์น้อยแล้ว ยังทำให้กลิ่นและรสของน้ำหมักที่ได้ไม่ดีอีกด้วย ทั้งนี้เนื่องจากน้ำหมักที่ได้นั้น มีลักษณะคล้ายน้ำแบ่งซึ่งจะได้กลิ่นแบ่งของข้าวอย่างชัดเจนรวมทั้งมีกลิ่นหืนด้วย ทำให้กลิ่นของน้ำหมักที่ได้ไม่น่าดื่ม อีกทั้งยังมีรสเปรี้ยวที่เกิดจากปริมาณกรดแลคติกที่มีมากในวิธีที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งดังที่ได้กล่าวแล้วด้วย

ดังนั้นไม่ว่าจะพิจารณาในด้านของปริมาณผลผลิตหรือกลิ่นและรสของน้ำหมักที่ได้จากการใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งก็ตาม จะเห็นว่าไม่เหมาะสมที่จะนำวิธีนี้มาผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ วิธีที่เหมาะสมที่สุดจึงเป็นวิธีดั้งเดิมที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว เพราะได้ปริมาณแอลกอฮอล์มากที่สุด ในขณะเดียวกันก็ให้กลิ่นและรสที่ดีกว่าด้วย

ส่วนการปนเปื้อนของเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่พึงประสงค์ที่พบในการทดลองหัวข้อ 4.1 และ 4.2 (จากการสังเกตจุลินทรีย์ที่ปนเปื้อนอยู่บนผิวหน้าของเหลวในขวดหมักนั้น พบว่ามีสีเขียวเทา ซึ่งคาดว่าน่าจะเป็นสีของเชื้อรา *Aspergillus* ที่พบอยู่ในลูกแบ่งที่นำมาใช้ในการวิจัยครั้งนี้) ซึ่งเกิดการปนเปื้อนเฉพาะในขวดหมักที่หมักโดยวิธีใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง และวิธีใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ แต่ไม่พบการปนเปื้อนในขวดหมักที่หมักโดยวิธีใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวเลยนั้น อาจแยกประเด็นพิจารณาถึงสาเหตุที่น่าจะทำให้เกิดการปนเปื้อนได้ดังนี้

1. ในการทดลองหัวข้อ 4.1 นั้น ไม่มีการเปิดฝาขวดหมักเลยในระหว่างที่ทำการหมักเป็นเวลา 5 วัน ดังนั้นการปนเปื้อนที่เกิดขึ้นจึงไม่น่าจะเกิดจากปัจจัยภายนอก หลังจากที่ทำการหมักในขวดหมักแล้วนั้น
2. การที่พบว่าการปนเปื้อนเกิดขึ้นทั้งในขวดหมักที่หมักโดยวิธีใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง และในขวดหมักที่หมักโดยวิธีใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ แสดงว่าในขั้นตอนการบดข้าวเหนียวหนึ่งโดยใช้เครื่องบดนั้น ไม่ได้เป็นสาเหตุที่ทำให้เกิดการปนเปื้อน
3. จากการศึกษาถึงคุณภาพน้ำที่ใช้เติมในขั้นตอนการหมัก พบว่าพารามิเตอร์ต่าง ๆ ที่ทำการตรวจวัด เพื่อใช้เป็นดัชนีชี้วัดถึงคุณภาพน้ำนั้น มีค่าอยู่ในเกณฑ์มาตรฐานของมาตรฐานน้ำประปาในปัจจุบัน (ดูตารางที่ ก-24 ในภาคผนวก ก) ดังนั้นน้ำที่เติมลงไปขั้นตอนการหมักนี้ จึงจัดได้ว่าเป็นน้ำที่สะอาด และไม่น่าจะเป็นปัจจัยที่ทำให้เกิดการปนเปื้อนเช่นเดียวกัน

เมื่อพิจารณาปัจจัยต่าง ๆ ข้างต้นแล้ว อาจเป็นไปได้ว่าเชื้อราที่พบปนเปื้อนอยู่บนผิวหน้าของเหลวในขวดหมักของทรีหมักที่ใช้ น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำนั้น เป็นผลเนื่องมาจากเชื้อราดังกล่าวสามารถเจริญเติบโตได้อย่างรวดเร็วในขณะที่ปฏิกิริยาการหมักยังคงดำเนินอยู่ในช่วงเวลาวันที่ 5-6 ของการหมัก ซึ่งในสภาวะดังกล่าวเชื้อ *Amylomyces* ที่เป็นเชื้อราที่มีบทบาทในการหมักจะเจริญได้ช้ากว่าเชื้อที่ปนเปื้อนหรืออีกนัยหนึ่งอาจกล่าวได้ว่า วิธีหมักที่มีการเติมน้ำลงไปด้วยนั้น จะทำให้เชื้อราที่ไม่พึงประสงค์เจริญเติบโตได้ดี เมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น

จากผลการทดลองดังกล่าวมาทั้งหมด เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักต่าง ๆ แล้ว จะเห็นว่าวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวนั้นมีประสิทธิภาพสูงสุด เนื่องจากสามารถให้ปริมาณ แอลกอฮอล์ได้สูงสุด ดังนั้นจึงได้ทดลองผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำเพื่อนำมาทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์ โดยการให้ชิม โดยใช้วิธีหมักดังกล่าวและใช้ปริมาณลูกแบ่งเท่ากับ 0.4% หมักเป็นเวลา 7 วัน ซึ่งคาดว่าจะได้ ปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 4.5% แต่เมื่อทำการทดลองแล้ว ปรากฏว่ากลับได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพียง 1.75% เท่านั้น สำหรับปัจจัยต่างๆ ที่อาจจะส่งผลทำให้การหมักได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพียง 1.75% ดังกล่าว มีอยู่หลายประการ ดังนี้

1. ประการแรก เกี่ยวกับคุณภาพของน้ำที่ใช้แช่ และล้างข้าว ซึ่งจากผลของการตรวจวัดคุณภาพ น้ำของทั้งสามตัวอย่างน้ำที่ใช้ในการทดลองหัวข้อ 4.1, 4.2 และ 4.3 (ดูตารางที่ 4-7) ต่างก็มีค่าอยู่ในเกณฑ์ มาตรฐานและมีค่าแตกต่างกันไม่มากนัก จึงไม่น่าจะมีผลต่อการหมัก

2. ประการที่สอง เกี่ยวกับน้ำหนักของข้าวเหนียวภายหลังจากที่ทำการนึ่งและล้างน้ำแล้ว ซึ่งพบว่า ในการทดลองหัวข้อ 4.1, 4.2 และ 4.3 มีน้ำหนักข้าวเหนียวหลังนึ่งและหลังจากผ่านการล้างน้ำ เพิ่มขึ้นใน สัดส่วนที่ใกล้เคียงกัน (ดูตารางที่ ก-25 ในภาคผนวก ก) ดังนั้นปัจจัยทั้งสองประการดังกล่าว จึงไม่น่าจะมี ผลต่อการหมักที่ทำให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพียง 1.75%

3. ประการที่สาม เกี่ยวกับวิธีการผสมข้าวเหนียวหนึ่งกับลูกแบ่งซึ่งแตกต่างกัน กล่าวคือ ในการ ทดลองหัวข้อ 4.1 และ 4.2 นั้น ในวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด เราจะเติมข้าวเหนียวหนึ่งที่ ล้างและสะเด็ดน้ำแล้วจำนวน 300 กรัม ลงไปในขวดหมักก่อน แล้วจึงค่อยโรยลูกแบ่งลงไปบนข้าวเหนียว และใช้แหยงแก้วคนให้สะอาดคลุกเคล้าไปมาเล็กน้อย ส่วนการทดลองหัวข้อ 4.3 ซึ่งเป็นการทดลองเพื่อผลิต น้ำหมักมาใช้ทดสอบชิมนั้น หลังจากทำการล้างข้าวเหนียวหนึ่งและสะเด็ดน้ำเรียบร้อยแล้ว จะนำมาใส่ กะละมังและโรยลูกแบ่งลงไปผสม พร้อมทั้งใช้มือคลุกเคล้าข้าวกับลูกแบ่งให้เข้ากันดี จากนั้นจึงนำไปใส่ถัง หมักเพื่อทำการหมักต่อไป ซึ่งเมื่อครบเวลาหมักแล้ว จึงทำการทักน้ำออกมาวัดปริมาณน้ำที่หมักได้นั้น และ พบว่าได้ปริมาณน้ำหมักมากกว่าการทดลองในหัวข้อ 4.1 เมื่อเทียบในปริมาณวัตถุดิบที่ใช้เท่ากัน (จากที่ได้ ปริมาณน้ำหมักประมาณ 1,100 มล./กก. ในการทดลองหัวข้อ 4.1 มาเป็น 2,100 มล./กก.) ผลการทดลอง ดังกล่าวแสดงให้เห็นว่า การหมักโดยการคลุกเคล้าข้าวกับลูกแบ่งด้วยมือให้เข้ากันดี จะทำให้จุลินทรีย์ สามารถทำงานได้มากและทั่วถึงดีขึ้น จึงทำให้ได้ปริมาณน้ำหมักมากขึ้น คล้ายคลึงกับที่ชัยวัฒน์ จาติเสถียร (2520) ได้กล่าวไว้ว่า การใช้วิธีคลุกเคล้าลูกแบ่งข้าวหมักกับข้าวเหนียวให้เข้ากันดีนั้น จะทำให้เชื้อกระจาย ไปได้ทั่วข้าวเหนียว และเป็นผลให้เกิดการย่อยแป้งข้าวเหนียวเป็นน้ำตาลได้มากกว่า ซึ่งปริมาณน้ำหมักที่ได้ เพิ่มขึ้นนี้ อาจจะเป็นตัวไปเจือจางปริมาณแอลกอฮอล์ลง ทำให้วัดปริมาณแอลกอฮอล์ได้เพียง 1.75%

4. ประการที่สี่ เกี่ยวกับพื้นที่ผิวสัมผัสระหว่างลูกแบ่งกับอากาศ เนื่องจากจุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่ เปลี่ยนแป้งให้เป็นน้ำตาลนั้นต้องการออกซิเจนในการเจริญ แต่จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็น แอลกอฮอล์จะเจริญในสภาพที่ไม่ต้องใช้ออกซิเจนได้ดี ดังนั้นการทดลองในสเกลที่ใหญ่ขึ้นจึงเป็นการเพิ่ม

พื้นที่ผิวสัมผัสให้จุลินทรีย์ได้สัมผัสกับอากาศมากขึ้น จึงพบว่าจุลินทรีย์สามารถย่อยแป้งได้มากขึ้นและทำให้ได้ปริมาณน้ำหมักมากขึ้นด้วยนั่นเอง และนอกจากการทดลองในสเกลที่ใหญ่ขึ้นนี้จะทำให้พื้นที่ผิวสัมผัสกับอากาศเพิ่มขึ้นแล้ว ปริมาณข้าวเหนียวที่ใช้มากขึ้นยังทำให้เกิดความลึกในภาชนะหมักมากขึ้นด้วย ดังนั้น จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ซึ่งเจริญได้ดีในสภาพที่ไร้ออกซิเจนจึงน่าจะทำงานได้มากขึ้น แต่อย่างไรก็ดีการหมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งถังเมล็ดนี้อากาศยังสามารถที่จะแทรกซึมผ่านได้ เพราะยังมีช่องว่างระหว่างเมล็ดอยู่ ประกอบกับความเข้มข้นของน้ำตาลที่ได้จากการทดลองในสเกลใหญ่ก็มากกว่าด้วย (จากที่ได้ปริมาณน้ำตาลประมาณ 33°Brix ในการทดลองหัวข้อ 4.1 และ 4.2 มาเป็นประมาณ 35°Brix) จากสภาพดังกล่าวจึงอาจจะทำให้จุลินทรีย์ที่ทำหน้าที่เปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ไม่สามารถเจริญได้ดีเท่าที่ควร ดังนั้นจึงผลิตแอลกอฮอล์ได้น้อยลง

เมื่อนำผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มที่มีปริมาณแอลกอฮอล์ 1.75% นี้ มาผ่านการพาสเจอไรซ์ ซึ่งหลังจากการพาสเจอไรซ์แล้วจะเหลือแอลกอฮอล์ 1.7% จากนั้นนำมาทดสอบการยอมรับผลิตภัณฑ์โดยการให้ชิม ซึ่งผู้ชิมมีทั้งเพศหญิงและเพศชาย และมีอายุอยู่ระหว่าง 19 - 33 ปี ผลปรากฏว่า ผู้ชิมส่วนใหญ่ให้ความเห็นว่าผลิตภัณฑ์มีรสหวานมากเกินไป และมีกลิ่นและรสของแอลกอฮอล์น้อยไป ปริมาณแอลกอฮอล์ในระดับนี้ จึงนับว่าน้อยเกินไปสำหรับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ โดยทั่วไปแล้วเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำจะมีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณ 5% ขึ้นไป และมีความหวานประมาณ 11°Brix เท่านั้น (จากการวัดปริมาณน้ำตาลในเครื่องดื่มประเภทไวน์คูลเลอร์ ยี่ห้อ “คูลเลอร์คลับ”)

บทที่ 5

สรุปผลการทดลองและข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

จากการทดลองแยกและจำแนกเชื้อจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมากที่ใช้ในการวิจัยครั้งนี้ พบเชื้อรา 3 ชนิด คือ 1. *Rhizopus spp.* ในปริมาณ 2.3×10^4 เซลต่อลูกแป้งข้าวหมาก 0.5 กรัม 2. *Aspergillus spp.* ในปริมาณ 1.0×10^4 เซลต่อลูกแป้งข้าวหมาก 0.5 กรัม และ 3. *Amylomyces spp.* ส่วนยีสต์ที่พบคือ *Endomycopsis spp.* เพียงชนิดเดียว

ผลการศึกษาเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมัก ซึ่งหมายถึงปริมาณน้ำหมักและปริมาณแอลกอฮอล์ โดยการใช้ปริมาณลูกแป้งแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ 0.4 , 0.6 และ 0.8% ในแต่ละวิธีหมัก คือ 1.หมักโดยใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง 2.หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และ 3.หมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว พบว่าทริทแมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งที่ระดับลูกแป้ง 0.4% จะได้ผลผลิตสูงสุด และเมื่อทำการวิเคราะห์ความแปรปรวนโดยใช้สถิติ One - way ANOVA ผลปรากฏว่าไม่มีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ในแต่ละระดับลูกแป้ง ทั้งของปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมัก ส่วนทริทแมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำและทริทแมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว พบว่าปริมาณผลผลิตในแต่ละระดับลูกแป้งมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติที่ระดับความเชื่อมั่น 95% แต่ถึงแม้ว่าจะมีความแตกต่างกันดังกล่าวก็ตาม เมื่อพิจารณาค่าที่ต่างกันนั้นแล้ว จะเห็นว่าค่าแตกต่างกันไม่มากนัก จึงอาจกล่าวได้ว่า การใช้ปริมาณลูกแป้งเพิ่มขึ้นจะมีผลต่อการเพิ่มขึ้นของผลผลิตน้อยมาก

ส่วนการศึกษาเปรียบเทียบประสิทธิภาพของวิธีการหมักและการเปลี่ยนแปลงองค์ประกอบต่าง ๆ ทางเคมีในขบวนการหมัก ซึ่งได้ทำการทดลองหมักข้าวเหนียวโดยใช้ปริมาณลูกแป้ง 0.4% และใช้ระยะเวลาการหมัก 11 วัน ทำการตรวจวัด ค่า pH , Total soluble solid และ อุณหภูมิในขวดหมัก ทุกๆ 12 ชั่วโมง รวมทั้งตรวจวัดปริมาณกรดแลคติกและปริมาณแอลกอฮอล์ เมื่อทำการหมักครบ 3 , 5 , 7 , 9 และ 11 วัน ตามลำดับ ผลปรากฏว่า ค่า pH เริ่มต้น (ชั่วโมงที่ 12) ของทริทแมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งและทริทแมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ มีค่าใกล้เคียงกัน (pH 5.42 และ 5.15 ตามลำดับ) และมีรูปแบบการเปลี่ยนแปลงที่คล้ายคลึงกันด้วย กล่าวคือ pH จะค่อยๆ ลดลงจนกระทั่งคงที่ ส่วนทริทแมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวมีค่า pH เริ่มต้น (ชั่วโมงที่ 24) น้อยกว่าสองทริทแมนต์ข้างต้น (pH 3.83) และจากนั้น pH จะค่อยๆ เพิ่มขึ้นจนคงที่ ส่วนปริมาณกรดแลคติกเริ่มต้นในวันที่ 3 ของทั้งสามทริทแมนต์มีค่าใกล้เคียงกัน (0.38% สำหรับน้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่ง , 0.39% สำหรับข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ , 0.37% สำหรับข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว) หลังจากนั้นปริมาณกรดแลคติกของทริทแมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งและ

ทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ จะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นในอัตราที่เร็วและมากกว่าในทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว

สำหรับการเปลี่ยนแปลงค่าปริมาณน้ำตาลซึ่งวัดในรูปของ Total soluble solid นั้น พบว่าปริมาณน้ำตาลเริ่มต้น (ชั่วโมงที่ 24) ของทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว เท่ากับ 31.5 °Brix และมีการเปลี่ยนแปลงขึ้นลงอีกเล็กน้อยในระหว่างการหมัก ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ได้ปริมาณน้ำตาลเริ่มต้นในชั่วโมงที่ 12 เท่ากับ 13.1 °Brix และ 18.9 °Brix ตามลำดับ จากนั้นในทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งจะมีการเปลี่ยนแปลงเพิ่มขึ้นของปริมาณน้ำตาลจนถึง 22.5 °Brix ในชั่วโมงที่ 168 ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ปริมาณน้ำตาลจะเพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยเป็น 21.9 °Brix (ในชั่วโมงที่ 48) และจะลดลงเหลือ 17.9 °Brix ในชั่วโมงที่ 216

ผลการศึกษาการเปลี่ยนแปลงปริมาณแอลกอฮอล์ในระหว่างการหมัก พบว่าทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ มีปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นในวันที่ 3 ใกล้เคียงกัน คือ 0.83 และ 0.72% ตามลำดับ จากนั้นปริมาณแอลกอฮอล์จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้นอีกเล็กน้อยในทั้งสองทรีทเมนต์ ส่วนทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว พบว่ามีปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นมากกว่าอีกสองทรีทเมนต์ข้างต้น กล่าวคือ มีปริมาณแอลกอฮอล์เริ่มต้นในวันที่ 3 เท่ากับ 2.74% จากนั้นปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มขึ้นในอัตราที่เร็วและมากกว่าอีกสองทรีทเมนต์เช่นเดียวกัน

ผลการศึกษาเปรียบเทียบผลผลิต (ปริมาณแอลกอฮอล์) ระหว่างในทรีทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งและทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ปรากฏว่า ทรีทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ ได้ปริมาณแอลกอฮอล์มากกว่าเล็กน้อย ดังนั้นการบดจึงไม่ได้ช่วยให้ผลผลิตเพิ่มขึ้นแต่อย่างใด

เมื่อทำการเปรียบเทียบผลผลิตที่ได้จากการหมักของทั้งสามวิธี พบว่าวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว มีประสิทธิภาพสูงสุด เพราะสามารถให้ปริมาณแอลกอฮอล์สูงสุด และยังให้กลิ่นและรสชาติดีกว่าวิธีที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง หรือวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ

ผลการทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำที่ใช้วิธีหมักโดยใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียวในการผลิต และใช้ปริมาณลูกแป้งข้าวหมาก 0.4% หมักเป็นเวลา 7 วัน พบว่าได้ผลผลิตที่มีปริมาณแอลกอฮอล์เท่ากับ 1.75% เมื่อให้ผู้ทดสอบชิมที่เคยมีประสบการณ์ในการดื่มเครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์ต่ำทำการประเมินคุณภาพผลิตภัณฑ์ พบว่าผู้ชิมซึ่งมีอายุอยู่ระหว่าง 19 - 33 ปี ส่วนใหญ่ให้ความเห็นต่อลักษณะโดยทั่วไป, สี, ความใส, กลิ่น และรสของผลิตภัณฑ์ อยู่ในระดับ ชอบ อย่างไรก็ดี มีจำนวนผู้ชิมที่ให้ความเห็นต่อกลิ่นและรสของผลิตภัณฑ์ในระดับที่ ไม่ชอบ อยู่สูงถึง 31% และ 32% ตามลำดับ ซึ่งสาเหตุที่ไม่ชอบรสนั้น เพราะรู้สึกว่ามีควาหวานมากเกินไป ส่วนความเห็นต่อกลิ่นของผลิตภัณฑ์ที่บอกว่าไม่ชอบนั้นเป็นเพราะได้กลิ่นเหม็นแปลก ๆ หรือกลิ่นเหม็นเปรี้ยวจากผลิตภัณฑ์ ส่วนข้อเสนอแนะสำหรับการปรับปรุงผลิตภัณฑ์ คือ ควรจะลดความหวานลง และเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ให้มากขึ้น



5.2 ข้อเสนอแนะ

จากการทดลองเพื่อผลิตเครื่องตีเมล็ดแอลกอฮอล์ต่ำในครั้งนี้นั้น ผู้วิจัยได้พบกับปัญหาและอุปสรรคบางประการ ซึ่งจะขอนำมาสรุปไว้ในที่นี้ รวมทั้งข้อเสนอแนะสำหรับการปรับปรุงแก้ไขการทดลองเพื่อใช้เป็นแนวทางในการศึกษาครั้งต่อไปด้วย

5.2.1 ปัญหาและอุปสรรคที่พบในการทดลอง

1) ในขั้นตอนการทักน้ำออกของวิธีการหมักที่ใช้ น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง ที่ต้องใช้แรงมือบีบน้ำให้ไหลผ่านผ้าขาวบางนั้น พบว่ามีความไม่สะดวกและอาจจะทำให้เกิดความคลาดเคลื่อนของปริมาณน้ำหมักที่จะได้จากการใช้มือบีบน้ำออกในแต่ละครั้งซึ่งอาจใช้แรงไม่เท่ากัน อีกทั้งวิธีนี้ยังไม่สามารถบีบน้ำให้ออกจนหมดได้

ข้อเสนอแนะ อาจจะใช้ผ้าขาวบางห่อของหมักที่ได้ และทับด้วยของหนักตั้งทิ้งไว้ค้างคืนเพื่อให้ น้ำค่อย ๆ ไหลออกมา เนื่องจากน้ำแบ่งจะใช้เวลาค่อนข้างนานในการไหลผ่านผ้าขาวบาง

2) ในขั้นตอนการผลิตเครื่องตีเมล็ดแอลกอฮอล์ต่ำเพื่อนำมาทดสอบการยอมรับเบื้องต้นของผลิตภัณฑ์ซึ่งพบว่าเมื่อทำการหมักแล้วได้ปริมาณแอลกอฮอล์เพียง 1.75% นั้น

ข้อเสนอแนะ การเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์อาจทำได้โดยเติมแอลกอฮอล์ (เอทิลแอลกอฮอล์) เหมือนกันกับการผลิตสุราทั่วไปก็ได้ หรืออาจจะเติมยีสต์ลงไปเพื่อให้ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์เพิ่มขึ้น และการทดลองในขั้นนี้ควรจะทำซ้ำ 3 ครั้งด้วยเช่นกัน เพื่อหาค่าเฉลี่ย (average) ของแอลกอฮอล์ที่ผลิตได้

3) ในการทดลองครั้งนี้ไม่มีหลักเกณฑ์ (criteria) ในการเลือกผู้ที่จะมาทดสอบชิมผลิตภัณฑ์ เนื่องจากเป็นการทดสอบคนทั่วไปเพื่อให้ทราบว่ามีความรู้สึกอย่างไรต่อผลิตภัณฑ์ ซึ่งถ้าผู้มาทดสอบชิมนั้นเป็นผู้ที่ไม่ชอบรับประทานข้าวหมากอยู่แล้ว จะมีแนวโน้มที่จะไม่ชอบผลิตภัณฑ์นี้ด้วย (เพราะผลิตภัณฑ์ที่ได้จะมีกลิ่นและรสชาติคล้ายกับข้าวหมาก) ดังนั้นการที่เราไม่ได้สอบถามผู้ที่จะมาทดสอบชิมก่อนว่าเคยมีประสบการณ์ในการรับประทานข้าวหมากมาก่อนหรือไม่นั้น จึงอาจจะทำให้ได้ผู้ชิมที่ไม่เป็นตัวแทนที่ดีของกลุ่มตัวอย่าง เพราะเกิดการ bias จากการชอบหรือไม่ชอบรับประทานข้าวหมากอยู่ก่อนแล้ว

ข้อเสนอแนะ ถ้าต้องการผลิตเพื่อกลุ่มคนที่นิยมรับประทานข้าวหมากอยู่แล้ว ควรจะคัดเลือกผู้ทดสอบชิมที่เคยมีประสบการณ์ในการรับประทานข้าวหมากและต้องมีความรู้ถึงชอบรับประทาน

ข้าวหมกด้วย แต่ถ้าต้องการผลิตสำหรับคนทั่วไป ควรจะเลือกผู้ที่จะมาทดสอบชิมเป็นผู้ที่ไม่เคยมีประสบการณ์ในการรับประทานข้าวหมกมาก่อน เพื่อให้ได้ผลการทดสอบตรงกับกลุ่มเป้าหมาย (ตลาด) มากที่สุด

4) นอกเหนือจากปัจจัยที่ได้ทำการตรวจวัดในการทดลองครั้งนี้แล้ว (อุณหภูมิในบรรยากาศ, ความชื้นสัมพัทธ์ในบรรยากาศ, คุณภาพน้ำที่ใช้ในการทดลอง) ยังมีปัจจัยอีกหลายอย่างที่มีอาจจะมีผลต่อการหมักและปริมาณผลผลิตที่จะได้ แต่เนื่องจากเวลาและอุปกรณ์เครื่องมือในการทดลองมีจำกัด จึงไม่สามารถทำการตรวจวัดได้ครบทุกตัว

ข้อเสนอแนะ ควรพยายามควบคุมหรือตรวจวัดปัจจัย (ตัวแปร) ที่จะมีผลต่อการทดลองให้ครอบคลุมมากที่สุด ตัวแปรที่ควรจะต้องตรวจวัดเพิ่มเติม เช่น

- ความร้อนที่ใช้ในการนี้ , สภาวะขณะนี้ข้าวเหนียว
- คุณภาพของข้าวเหนียวข้าวสารที่ใช้
- ปริมาณน้ำที่ใช้ล้างข้าวเหนียวหนึ่ง และคุณภาพของน้ำที่ผ่านการล้างข้าวเหนียวหนึ่งแล้ว
- อุณหภูมิของน้ำที่ใช้ในการหมัก และความชื้นเริ่มต้นในการหมัก
- ปริมาณแสง ตลอดจนสภาวะอื่น ๆ ในการหมัก เป็นต้น

5.2.2 ข้อเสนอแนะสำหรับการศึกษาในครั้งต่อไป

1) สำหรับงานวิจัยครั้งนี้ ซึ่งได้ทำการทดลองศึกษาปริมาณผลผลิตโดยใช้ปริมาณลูกแป้งแตกต่างกัน 3 ระดับ คือ เริ่มจาก 0.4% , 0.6% และสูงสุด 0.8% ในขณะที่การทำข้าวหมกโดยทั่วไปจะใช้ปริมาณลูกแป้งเพียง 0.2% เท่านั้น การที่ผู้วิจัยเลือกใช้ปริมาณลูกแป้งเริ่มต้นที่ 0.4% นั้น เนื่องจากต้องการให้ได้ปริมาณแอลกอฮอล์มากขึ้น และต้องการลดระยะเวลาการหมักลง แต่ปรากฏว่าผลที่ได้จากการทดลองดังที่ได้กล่าวแล้วนั้น ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้จากการใช้ลูกแป้งที่เพิ่มขึ้น (0.6% และ 0.8%) มีปริมาณที่ใกล้เคียงกันกับที่ระดับ 0.4% ดังนั้นในการศึกษาครั้งต่อไปควรจะได้ทำการทดลองโดยใช้ปริมาณลูกแป้งเริ่มต้นที่ระดับ 0.2% รวมด้วย ถ้าแอลกอฮอล์ยังได้ในปริมาณที่ใกล้เคียงกันกับที่ระดับอื่น ๆ ข้างต้น การเลือกใช้ปริมาณลูกแป้งที่น้อยกว่า ก็จะเป็นการประหยัดวัตถุดิบลงได้ส่วนหนึ่ง ทั้งยังเป็นการลดต้นทุนการผลิตได้อีกด้วย

2) ในการทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดและมีการเติมน้ำลงไปด้วยนั้น การเติมน้ำที่มีลูกแป้งผสมอยู่ จะทำในตอนเริ่มแรก (ชั่วโมงที่ 0) จากนั้นก็จะทำการหมักเป็นระยะเวลาต่าง ๆ ซึ่งการทำสาโทของไทยเราโดยทั่วไปจะเติมน้ำลงไปเมื่อหมักไว้นานครบ 3 วัน ดังนั้นถ้ามีการทดลองโดยการเติม

ลูกแบ่งลงไปก่อนในชั่วโมงที่ 0 แล้วหมักไว้ครบ 24 ชั่วโมง หรือ อาจจะหมักไว้นาน 48 ชั่วโมง จึงค่อยเติมน้ำลงไปผสมในชั่วโมงที่ 24 หรือ 48 ดังกล่าว อาจจะทำได้ปริมาณผลผลิตมากขึ้นก็ได้ ทั้งนี้เนื่องจากขบวนการหมักอาจสามารถเกิดได้ดีขึ้น

3) จากการบดข้าวเหนียวหนึ่งจำนวน 300 กรัม แล้วจึงค่อยเติมน้ำลงไปผสมจำนวน 150 มิลลิลิตร ดังที่ทำการทดลองในครั้งนี้นั้น ทำให้ข้าวเหนียวบดมีลักษณะเหนียวหนืดและจับตัวกันแน่น ซึ่งในการทดลองครั้งต่อไปน่าจะทดลองโดยลดปริมาณข้าวเหนียวหนึ่งที่ใช้ลง เช่น อาจจะใช้ข้าวเหนียวหนึ่งเพียง 30 , 50 , 70 หรือ 100 กรัม แล้วจึงเติมน้ำ 150 มิลลิลิตร หรืออาจจะทดลองโดยใช้ปริมาณข้าวเหนียวหนึ่งจำนวนต่าง ๆ กัน (จากปริมาณที่น้อยก่อน แล้วค่อย ๆ เพิ่มขึ้น) เพื่อศึกษาว่าต้องใช้ปริมาณข้าวเหนียวหนึ่งเท่าไรจึงจะสามารถให้ผลผลิตสูงที่สุด เป็นต้น เพราะการลดปริมาณข้าวเหนียวหนึ่งลงนี้น่าจะลดปัญหาที่เกิดจากการบดข้าวเหนียวหนึ่งแล้วทำให้ข้าวเหนียวหนึ่งบดที่ได้มีลักษณะที่เหนียวหนืดและจับตัวกันแน่นลงได้

4) ในการทดลองครั้งนี้จะเห็นว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ที่ได้ยังค่อนข้างน้อย สำหรับการทดลองในครั้งต่อไป อาจจะนำเชื้อบริสุทธิ์ *Saccharomyces* ซึ่งมีประสิทธิภาพสูงในการเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์มาใช้ร่วมด้วย เพื่อให้ได้แอลกอฮอล์มากขึ้น และเนื่องจากน้ำหมักที่ได้ในครั้งนี้มีควมหวานสูงมากอยู่แล้ว จึงไม่ต้องสิ้นเปลืองเติมน้ำตาลลงไปอีก แต่อย่างไรก็ดีควรจะได้มีการศึกษาด้วยการที่จะเติมยีสต์ลงไปนี้จะควรเติมในขณะที่มีความเข้มข้นของน้ำตาลที่ระดับใด จึงจะทำให้ยีสต์สามารถเปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ได้ดีที่สุด

5) ควรมีการวิจัยเพื่อนำกากของเหลือจากขบวนการผลิตเครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำที่ใช้ข้าวเหนียวหมักร่วมกับลูกแบ่งในครั้งนี้ไปใช้ประโยชน์อื่น ๆ เช่น อาจนำไปหมักร่วมกับลูกแบ่งน้ำส้มสายชูเพื่อผลิตเป็นน้ำส้มสายชูได้ เพราะในกากของเหลือยังมีน้ำตาลอยู่อีกมาก ซึ่งจะเป็น substrate ให้จุลินทรีย์ในลูกแบ่งน้ำส้มสายชูเปลี่ยนเป็นกรดอะซิติกต่อไป เป็นต้น แต่สิ่งที่จะต้องคำนึงถึงอยู่เสมอ ก็คือ จะต้องพยายามหาวิธีที่จะใช้วัตถุดิบในกระบวนการผลิตแอลกอฮอล์นี้ให้หมด เพื่อให้มีของเหลือจากการผลิตน้อยที่สุด ซึ่งจะเป็นการลดภาระที่จะต้องกำจัดของเหลือเหล่านี้ หรือไม่ก็ต้องหาวิธีที่เหมาะสมมาแปรรูปของเหลือให้เป็นผลิตภัณฑ์อื่นอีกต่อไป

6) สำหรับการศึกษายอมรับผลิตภัณฑ์ในครั้งต่อไป ควรจะคำนึงถึงประสบการณ์ในการชิมไวน์ของผู้ที่เลือกมาทดสอบชิมด้วย ซึ่งอาจจะเก็บข้อมูล จำนวนปีที่ดื่มไวน์ , ความถี่ในการดื่มไวน์ และอายุของผู้ชิมด้วย เพื่อดูว่าประสบการณ์และอายุมีผลต่อการประเมินทางด้านประสาทสัมผัสหรือไม่

(หรือดูว่ามีผลต่อการที่จะได้คำตอบว่า ชอบ / ไม่ชอบ นั่นเอง) โดยใช้สถิติวิเคราะห์ Measurement of Association

7) ในขั้นตอนการตกตะกอน สามารถใช้สารอื่น ๆ มาช่วยให้การตกตะกอนเกิดได้ดีขึ้น เช่น ไข่ขาว , bentonite หรือ อื่นๆ

8) ควรเพิ่มกลิ่นและสีสรรให้ผลิตภัณฑ์ มีความน่าสนใจ ดึงดูดใจมากขึ้น เช่น อาจจะทำผลไม้ที่มีสีสวยสดลงไปผสมด้วย เช่น น้ำกระเจี๊ยบ น้ำสับปะรด ฯลฯ ซึ่งผลไม้ไทยก็มีมากมายตลอดทั้งปี และราคาไม่แพงเกินไป หาซื้อได้ง่าย หรืออาจจะมีการเติมก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์เพื่อให้เกิดความซ่า เหมือนกับผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มประเภท “ไวน์คูลเลอร์” ก็ได้

9) โดยที่วัตถุดิบที่ใช้ในการหมักไวน์ข้าวแบบพื้นเมืองจะใช้ข้าวเหนียวหนึ่ง เพื่อให้จุลินทรีย์ในลูกแป้งย่อยแป้ง (ข้าวเหนียวหนึ่ง) ให้เป็นน้ำตาลและแอลกอฮอล์ต่อไป การเตรียมข้าวเหนียวหนึ่งจะต้องทำใหม่ทุกครั้งที่จะทำการหมัก ซึ่งถ้ามีการบดข้าวเหนียวหนึ่งแล้วทำให้อยู่ในรูปแห้ง แล้วจึงค่อยนำมาหมัก ก็จะเป็นการสะดวกและประหยัดเวลาในการที่จะนึ่งข้าวเหนียวแต่ละครั้ง อีกทั้งยังสามารถทำได้ครั้งละมาก ๆ เพื่อเก็บเป็นสต็อกไว้ใช้ได้นานขึ้น ดังนั้นจึงน่าจะมีการทดลองศึกษาเพื่อหาปริมาณและคุณภาพของผลผลิตโดยการใช้วัตถุดิบที่เป็นแป้งข้าวเหนียวหนึ่งบดในรูปแห้ง ทดลองหมักร่วมกับลูกแป้งดังกล่าว

บรรณานุกรม

กองคลังข้อมูลและสนเทศสถิติ. สมุดสถิติรายปีแห่งประเทศไทย. สำนักงานสถิติแห่งชาติ.

สำนักนายกรัฐมนตรี. บรรพ 41. 2537.

กรรณิการ์ สิริสิงห. เคมีของน้ำ น้ำโสโครกและการวิเคราะห์. คณะสาธารณสุขศาสตร์.

มหาวิทยาลัยมหิดล, 2525.

กรองแก้ว พูนสวัสดิ์. การศึกษาจุลินทรีย์ในลูกแป้งข้าวหมาก. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท 598 .

คณะวิทยาศาสตร์และอักษรศาสตร์. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2516.

กฤษณามรรยวิสิฐ , ขุน. "ข้าวหมาก". สามิตสาร . 2494 . 7(2) : 75-79

โกมล คิวขาว และคณะ. การประปาเบื้องต้น. ภาควิชาสุขาภิบาลอุตสาหกรรม.

คณะสาธารณสุขศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล, 2524 .

ชวนพิศ ดีเอกนามกุล และคณะ. คู่มือปฏิบัติการกักตักน้ำ. ภาควิชาเทคโนโลยีชีวภาพ.

คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล, 2538.

จิราภรณ์ สุขุมวาลี. การศึกษากิจกรรมเอนไซม์ของลูกแป้ง. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2518 .

จรรยา คำนวนตา และ มนตรี เชาวันสังเกตุ. การสัมมนาเชิงปฏิบัติการเรื่องการพัฒนาการผลิตสุรา-

และแอลกอฮอล์. ศูนย์ปฏิบัติการวิจัยและเรือนปลูกทดลองวิทยาเขตกำแพงแสน.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2524.

เฉลิม บุรณะนนท์. การปฏิบัติเพื่อให้ได้แอลกอฮอล์สูงสุดจากวิธีหมักสา. วิทยาศาสตร์.

2493. 4(1) : 3-17

ชัยวัฒน์ จาติเสถียร. การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราและยีสต์ในลูกแป้งสำหรับการหมักข้าวหมาก .

กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2520.

ดวงพร คันทโชติ. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. กรุงเทพฯ :

สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2530.

นาท โล่ห์ทอง. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. คณะวิทยาศาสตร์.

มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2534.

บัญญัติ สุขศรีงาม. จุลชีววิทยาทั่วไป. กรุงเทพฯ : คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยบูรพา.

สำนักพิมพ์โอเดียนสโตร์, 2525 .

- ประดิษฐ์ ครุวัฒนา. การสัมมนาเรื่องการเพิ่มผลผลิตและลดต้นทุนการหมักแอลกอฮอล์.
สถาบันค้นคว้าและพัฒนาผลิตภัณฑ์อาหาร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, เมษายน : 2527 .
- ประดิษฐ์ ครุวัฒนา. “ไวน์คูลเลอร์ในประเทศไทย” . วารสารชมรมวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร.
2531. 1 (1).
- ประดิษฐ์ ครุวัฒนา. เทคโนโลยีการผลิตไวน์จากองุ่น ผลไม้ และข้าว . เอกสารการบรรยายทางวิชาการ -
ณ ตึกแถว นีละนิธิ. จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย, 2534.
- ไพโรจน์ พงษ์บุล. การศึกษาชีววิทยาของลูกแป้งข้าวหมาก. รายงานการวิจัยสำนักงานคณะกรรมการ-
วิจัยแห่งชาติ, 2523.
- พระราชบัญญัติสุรา. สามีตสาร . 2493. 6(1) : 1-10
- มนตรี เชาวน์สังเกต. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และราเพื่อใช้ในการผลิตไวน์ข้าว. กรุงเทพฯ :
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2521 .
- วรชิน สถิตนิมานการ. “การผลิตสุราและแอลกอฮอล์จากข้าว” . วิทยาศาสตร์.
2492. 4(7) : 383-387
- ศิริลักษณ์ สันธวาลย์. ทุษฏีอาหาร เล่ม 2 หลักการถนอมอาหารและการควบคุมคุณภาพอาหาร . 2525.
- สงศรี กุลปรีชา. อิทธิพลของสูตรอาหารต่าง ๆ ที่มีผลต่อการสร้างสปอร์ของรา *Rhizopus spp.* ในลูกแป้ง
วิทยานิพนธ์ปริญญาโท. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2521.
- สิรินทรเทพ ภัคดีศุภผล. ข้าวหมากและลูกแป้งข้าวหมาก. ปัญหาพิเศษปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2521.
- สิรินทรเทพ ภัคดีศุภผล. การหมักข้าวหมากด้วยเชื้อบริสุทธิ์. กรุงเทพฯ : วิทยานิพนธ์ปริญญาโท.
มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์, 2523.
- สิรินทร์ วิโมกษ์สันถ์ และคณะ. ข้าวเค็ม. คณะวิทยาศาสตร์. มหาวิทยาลัยมหิดล, 2521.
- ศูนย์สถิติการเกษตร. เอกสารสถิติการเกษตร เลขที่ 440. กรุงเทพฯ : สำนักงานเศรษฐกิจการเกษตร .
กระทรวงเกษตรและสหกรณ์, 2535.
- Amerine, M.A. and Ough, C.S. **Wine and Must analysis**. John Wiley and Sons, Inc,
Newyork, U.S.A. , 1974.
- Ellis , J.J., L. Rhodes and C.W. Hesseltine. The genus *Amylomyces*. **Mycologia**.
1976. 68 : 131-143
- J.A. Barnett, R.W. Payne and D. Yarrow. **Yeasts : characteristics and identification**.
Cambridge University Press, 1983.

J.A. VON ARX . **The Genera of Fungi Sporulating in Pure Culture.** 2 nd edition 5. VIII
Germany, 1974.

Jean. F. MacFaddin. **Biochemical Tests for Identification of Medical Bacteria.**

"Litmus Milk test" . The Williams & Wilkins Company . USA : Baltimore , 1976.

Lodder , J. **The Yeast , a Toxonomic Study.** Amsterdam , London : North - Holland
Publishing Co. , 1970.





-----ONEWAY-----

ตารางที่ ก-1 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ปริมาณลูกแบ่งระดับต่าง ๆ
สำหรับวิธีที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	.0200	.0100	.7500	.5120 (NS)
Within Groups	6	.0800	.0133		
Total	8	.1000			

ตารางที่ ก-2 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ปริมาณลูกแบ่งระดับต่าง ๆ
สำหรับวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	.2022	.1011	5.0556	.0517 (S)
Within Groups	6	.1200	.0200		
Total	8	.3222			

ตารางที่ ก-3 Duncan's multiple range test ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ปริมาณลูกแบ่งระดับต่าง ๆ
สำหรับวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ

Multiple Range Tests : Duncan test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$MEAN (J) - MEAN (I) \geq .1000 * RANGE * \text{SORT} (1 / N (I) + 1 / N (J))$$

with the following value (s) for RANGE :

Homogeneous Subets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 4	Grp 5
Mean	1.6333	1.6667

Subset 2

Group	Grp 6
Mean	1.9667

ตารางที่ ก-4 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ปริมาณลูกแบ่งระดับต่าง ๆ สำหรับวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	.1689	.0844	5.0667	.0514 (S)
Within Groups	6	.1000	.0167		
Total	8	.2689			

ตารางที่ ก-5 Duncan's multiple range test ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ที่ปริมาณลูกแบ่งระดับต่าง ๆ สำหรับวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว

Multiple Range Tests : Duncan test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$MEAN (J) - MEAN (I) \geq .0913 * RANGE * \sqrt{1 / N (I) + 1 / N (J) }$$

with the following value (s) for RANGE :

Homogeneous Subets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 7	Grp 9
Mean	3.5333	3.7333

Subset 2

Group	Grp 9	Grp 8
Mean	3.7333	3.8667

ตารางที่ ก-6 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหมักที่ปริมาณลูกแป้งระดับต่าง ๆ สำหรับวิธีที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	38.8889	19.4444	.3333	.7290 (NS)
Within Groups	6	350.0000	58.3333		
Total	8	388.8889			

ตารางที่ ก-7 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหมักที่ปริมาณลูกแป้งระดับต่าง ๆ สำหรับวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	505.5556	252.7778	10.1111	.0120 (S)
Within Groups	6	150.0000	25.0000		
Total	8	655.5556			

ตารางที่ ก-8 Duncan's multiple range test ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหมักที่ปริมาณลูกแบ่งระดับต่าง ๆ สำหรับวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ

Multiple Range Tests : Duncan test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$\text{MEAN (J) - MEAN (I)} \geq 3.5355 * \text{RANGE} * \text{SORT} (1 / \text{N (I)} + 1 / \text{N (J)})$$

with the following value (s) for RANGE :

Homogeneous Subets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 5
Mean	258.3333

Subset 2

Group	Grp 4	Grp 6
Mean	268.3333	276.6667

ตารางที่ ก-9 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณน้ำหมักที่ปริมาณลูกแบ่งระดับต่าง ๆ สำหรับวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	.0000	.0000	.0000	1.0000 (NS)
Within Groups	6	38.0000	6.3333		
Total	8	38.0000			

ตารางที่ ก-10 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละวิธีหมักที่ระยะเวลาหมัก 3 วัน

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	7.7526	3.8763	135.0108	.0000 (S)
Within Groups	6	.1723	.0287		
Total	8	7.9249			

ตารางที่ ก-11 Duncan's multiple range test ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละวิธีหมักที่ระยะเวลาหมัก 3 วัน

Multiple Range Tests : Duncan test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$\text{MEAN (J) - MEAN (I) } \geq .1198 * \text{RANGE} * \text{SQRT (1 / N (I) + 1 / N (J))}$$

with the following value (s) for RANGE :

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 2	Grp 1
Mean	.7200	.8267

Subset 2

Group	Grp 3
Mean	2.7400

ตารางที่ ก-12 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละวิธีหมักที่ระยะเวลาหมัก 5 วัน

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	12.3306	6.1653	733.9643	.0000 (S)
Within Groups	6	.0504	.0084		
Total	8	12.3810			

ตารางที่ ก-13 Duncan's multiple range test ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละวิธีหมักที่ระยะเวลาหมัก 5 วัน

Multiple Range Tests : Duncan test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$\text{MEAN (J) - MEAN (I)} \geq .0648 * \text{RANGE} * \text{SQRT} (1 / \text{N (I)} + 1 / \text{N (J)})$$

with the following value (s) for RANGE :

Homogeneous Subets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 1
Mean	.9967

Subset 2

Group	Grp 2
Mean	1.2267

Subset 3

Group	Grp 3
Mean	3.5867

ตารางที่ ก-14 Analysis of Variance ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละวิธีหมักที่ระยะเวลาหมัก 7 วัน

Source	D.F.	Sum of Squares	Mean Squares	F Ratio	F Prob.
Between Groups	2	22.4039	11.2019	1382.9561	.0000 (S)
Within Groups	6	.0486	.0081		
Total	8	22.4525			

ตารางที่ ก-15 Duncan's multiple range test ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ในแต่ละวิธีหมักที่ระยะเวลาหมัก 7 วัน

Multiple Range Tests : Duncan test with significance level .05

The difference between two means is significant if

$$\text{MEAN (J) - MEAN (I)} \geq .0636 * \text{RANGE} * \text{SORT} (1 / \text{N (I)} + 1 / \text{N (J)})$$

with the following value (s) for RANGE :

Homogeneous Subsets (highest and lowest means are not significantly different)

Subset 1

Group	Grp 1
Mean	1.0567

Subset 2

Group	Grp 2
Mean	1.2733

Subset 3

Group	Grp 3
Mean	4.5067

ตารางที่ ก-16 T-Test Pairs ของค่าเฉลี่ยปริมาณแอลกอฮอล์ระหว่างวิธีหมักที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำ และวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว ที่ระยะเวลาหมัก 9 วัน

Variable	Number of pairs	Corr	2-tail Sig	Mean	SD	SE of Mean
TREAT 2	3	-.017	.989	2.1933	.064	.037
TREAT 3				5.0433	.340	.196
Paired Difference						
Mean	SD	SE of Mean	t-value	df	2-tail Sig	
-2.8500	.347	.200	-14.23	2	.005	
95% CI (-3.712, -1.988)						

ตารางที่ ก-17 ค่า pH , ปริมาณกรดแลคติก และ Total soluble solid ของจำนวนซ้ำ
ในผลการทดลองหัวข้อ 4.1

Treatment (T)	pH			ปริมาณกรดแลคติก (%)			Total soluble solid (°Brix)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	3.30	3.37	3.32	0.88	0.77	0.85	23.0	22.4	22.4
T2	3.32	3.24	3.24	0.88	0.83	0.83	22.6	21.4	23.2
T3	3.17	3.17	3.20	0.95	0.92	0.90	22.0	21.0	20.8
T4	3.39	3.40	3.51	0.76	0.72	0.61	24.4	24.2	25.0
T5	3.34	3.33	3.30	0.81	0.81	0.83	24.4	23.8	24.4
T6	3.35	3.36	3.40	0.79	0.74	0.72	23.4	24.0	24.6
T7	4.33	4.33	4.30	0.34	0.34	0.36	35.6	35.4	36.0
T8	4.34	4.30	4.30	0.34	0.36	0.36	36.0	36.4	36.6
T9	4.29	4.28	4.34	0.36	0.36	0.34	35.0	35.8	36.0

ตารางที่ ก-18 ปริมาณแอลกอฮอล์และปริมาณน้ำหมักของจำนวนซ้ำ ในผลการทดลองหัวข้อ 4.1

Treatment (T)	ปริมาณแอลกอฮอล์ (%)			ปริมาณน้ำหมัก (มล.)		
	R1	R2	R3	R1	R2	R3
T1	0.5	0.3	0.3	270	260	255
T2	0.4	0.1	0.3	260	250	265
T3	0.2	0.3	0.3	255	265	250
T4	1.6	1.5	1.8	270	265	270
T5	1.6	1.8	1.6	265	255	255
T6	1.8	2.0	2.1	280	280	270
T7	3.7	3.5	3.4	165	168	168
T8	3.9	3.8	3.9	170	168	163
T9	3.7	3.6	3.9	168	168	165

ตารางที่ ก-19 ค่า pH ของจำนวนซ้ำ ในผลการทดลองหัวข้อ 4.2

ชั่วโมง ที่	T - A				T - B				T - C			
	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$
12	5.37	5.42	5.46	5.42	5.15	5.17	5.13	5.15	-	-	-	-
24	4.64	4.54	4.65	4.61	4.51	4.60	4.49	4.53	4.00	3.69	3.80	3.83
36	4.01	4.25	4.16	4.14	3.81	3.86	3.85	3.84	3.88	3.88	3.82	3.86
48	4.44	4.33	4.32	4.36	3.82	3.95	3.73	3.83	3.88	3.86	3.87	3.87
60	4.28	4.36	4.22	4.29	4.05	4.13	4.27	4.15	3.95	3.89	3.93	3.92
72	3.98	4.08	4.12	4.06	3.87	3.70	3.98	3.85	3.97	3.98	4.01	3.99
84	3.66	3.68	3.57	3.64	3.49	3.38	3.39	3.42	4.01	4.04	4.03	4.03
96	3.42	3.52	3.45	3.46	3.41	3.34	3.36	3.37	4.04	4.02	4.06	4.04
108	3.37	3.37	3.39	3.38	3.34	3.31	3.27	3.31	4.18	4.16	4.11	4.15
120	3.34	3.40	3.36	3.37	3.27	3.24	3.18	3.23	4.18	4.12	4.10	4.13
132	3.37	3.38	3.36	3.37	3.25	3.25	3.27	3.26	4.19	4.15	4.14	4.16
144	3.25	3.27	3.36	3.29	3.23	3.25	3.18	3.22	4.19	4.17	4.16	4.17
156	3.28	3.29	3.30	3.29	3.28	3.32	3.21	3.27	4.04	4.17	4.20	4.14
168	3.27	3.33	3.30	3.30	3.23	3.26	3.21	3.23	4.27	4.21	4.27	4.25
180	-	-	-	-	3.27	3.25	3.28	3.27	4.20	4.21	4.17	4.19
192	-	-	-	-	3.22	3.17	3.22	3.20	4.07	4.10	4.16	4.11
204	-	-	-	-	3.26	3.27	3.21	3.25	4.23	4.17	4.25	4.22
216	-	-	-	-	3.24	3.24	3.19	3.22	4.07	4.19	4.11	4.12
228	-	-	-	-	-	-	-	-	4.26	4.24	4.08	4.19
240	-	-	-	-	-	-	-	-	4.27	4.22	4.13	4.21
252	-	-	-	-	-	-	-	-	4.33	4.25	4.17	4.25
264	-	-	-	-	-	-	-	-	4.29	4.25	4.18	4.24

หมายเหตุ : T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

ตารางที่ ก-20 ค่า Total soluble solid ของจำนนซ้ำ ในผลการทดลองหัวข้อ 4.2

ชั่วโมง ที่	T - A				T - B				T - C			
	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$
12	13.2	12.8	13.4	13.1	19.0	19.0	18.8	18.9	-	-	-	-
24	16.0	15.0	15.0	15.3	20.6	20.8	20.8	20.7	31.0	32.0	31.4	31.5
36	20.4	21.0	20.2	20.5	22.2	21.6	21.2	21.7	32.2	32.0	32.0	32.1
48	20.6	20.6	21.2	20.8	22.2	21.2	22.2	21.9	33.4	33.0	33.0	33.1
60	16.8	18.4	19.6	18.3	20.6	20.4	21.2	20.7	32.6	31.8	33.0	32.5
72	19.4	18.4	16.8	18.2	21.6	20.4	20.8	20.9	33.2	33.0	33.0	33.1
84	20.2	20.6	21.0	20.6	21.6	19.8	20.4	20.6	33.2	33.0	33.0	33.1
96	19.0	20.0	18.6	19.2	18.0	19.0	18.0	18.3	32.0	32.4	32.6	32.3
108	19.2	19.0	20.6	19.6	18.0	18.0	17.6	17.9	33.0	33.2	32.4	32.9
120	21.6	20.6	20.6	20.9	18.2	17.2	18.4	17.9	32.2	32.0	32.0	32.1
132	21.0	25.0	24.2	23.4	19.2	17.6	16.8	17.9	32.6	32.0	32.8	32.5
144	20.2	21.6	21.4	21.1	16.4	17.4	17.2	17.0	32.4	32.8	32.2	32.5
156	22.8	23.8	20.6	22.4	19.2	17.4	19.0	18.5	31.8	31.8	31.2	31.6
168	23.0	22.6	22.0	22.5	19.4	18.0	17.6	18.3	31.6	31.6	31.8	31.7
180	-	-	-	-	17.6	18.0	18.0	17.9	32.2	32.4	32.2	32.3
192	-	-	-	-	16.6	19.0	18.4	18.0	32.4	32.0	31.8	32.1
204	-	-	-	-	19.4	18.2	19.2	18.9	31.0	31.0	31.2	31.1
216	-	-	-	-	16.8	18.0	19.0	17.9	31.2	31.0	30.4	30.9
228	-	-	-	-	-	-	-	-	30.8	31.6	31.0	31.1
240	-	-	-	-	-	-	-	-	30.0	31.2	30.2	30.5
252	-	-	-	-	-	-	-	-	31.0	31.4	31.0	31.1
264	-	-	-	-	-	-	-	-	30.8	31.2	31.0	31.0

หมายเหตุ : T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแข็งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - B คือ การทดลองที่ใช้น้ำข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%

T - C คือ การทดลองที่ใช้น้ำข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

ตารางที่ ก-21 ค่าอุณหภูมิของจำนวนซ้ำ ในผลการทดลองหัวข้อ 4.2

ชั่วโมง ที่	T - A				T - B				T - C			
	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$
12	30.2	30.2	30.2	30.2	31.0	31.0	31.0	31.0	31.1	31.1	31.2	31.1
24	30.0	30.0	29.9	30.0	30.8	30.5	30.2	30.5	31.0	31.4	31.0	31.1
36	31.0	31.0	31.0	31.0	31.2	31.2	31.0	31.1	32.0	32.0	32.0	32.0
48	30.3	30.1	30.3	30.2	30.2	30.2	30.0	30.1	30.5	30.5	30.5	30.5
60	30.5	30.5	30.0	30.3	30.2	30.2	30.3	30.2	29.9	30.0	30.4	30.1
72	30.0	29.8	29.8	29.9	30.0	29.9	29.8	29.9	30.1	30.1	30.0	30.1
84	30.1	30.0	30.0	30.0	30.1	30.0	30.0	30.0	30.2	30.1	30.1	30.1
96	29.9	29.9	29.9	29.9	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	29.9	29.9	29.9
108	30.1	30.0	30.0	30.0	30.2	30.3	30.3	30.3	30.5	30.3	30.5	30.4
120	29.9	29.8	29.8	29.8	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0
132	30.0	30.0	29.9	30.0	30.0	30.1	30.0	30.0	30.2	30.2	30.1	30.2
144	30.0	30.0	30.0	30.0	30.0	29.9	29.9	30.0	30.1	30.0	30.0	30.0
156	30.0	30.0	30.0	30.0	30.5	30.3	30.2	30.3	30.5	30.3	30.3	30.4
168	30.5	30.5	30.5	30.5	30.5	30.8	30.8	30.7	30.9	30.8	30.8	30.8
180	-	-	-	-	30.8	30.8	30.8	30.8	30.7	30.7	30.7	30.7
192	-	-	-	-	30.0	30.0	30.0	30.0	29.7	29.7	29.8	29.7
204	-	-	-	-	28.0	28.0	27.5	27.8	29.0	29.0	28.8	28.9
216	-	-	-	-	31.0	31.1	31.0	31.0	31.2	31.0	31.0	31.1
228	-	-	-	-	-	-	-	-	31.0	31.0	31.0	31.0
240	-	-	-	-	-	-	-	-	30.3	30.5	30.3	30.4
252	-	-	-	-	-	-	-	-	32.0	32.0	32.0	32.0
264	-	-	-	-	-	-	-	-	31.8	31.8	31.7	31.8

หมายเหตุ : T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่งหมกกับลูกแบ่ง 0.4%
T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมกกับลูกแบ่ง 0.4%
T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมกกับลูกแบ่ง 0.4%

ตารางที่ ก-22 ปริมาณกรดแลคติกของจำนวนซ้ำ ในผลการทดลองหัวข้อ 4.2

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	T - A				T - B				T - C			
	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$
3	0.40	0.36	0.38	0.38	0.41	0.36	0.40	0.39	0.38	0.38	0.36	0.37
5	0.94	0.85	0.92	0.90	0.92	0.88	0.88	0.89	0.38	0.41	0.38	0.39
7	1.08	1.06	1.08	1.07	1.04	1.12	1.15	1.10	0.45	0.47	0.49	0.47
9	-	-	-	-	1.15	1.19	1.19	1.18	0.54	0.52	0.47	0.51
11	-	-	-	-	-	-	-	-	0.47	0.49	0.50	0.49

หมายเหตุ : T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%
T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%
T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

ตารางที่ ก-23 ปริมาณแอลกอฮอล์ของจำนวนซ้ำ ในผลการทดลองหัวข้อ 4.2

ระยะเวลา การหมัก (วัน)	T - A				T - B				T - C			
	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$	R1	R2	R3	$\bar{X}$
3	1.05	0.60	0.83	0.83	0.65	0.65	0.86	0.72	2.70	2.62	2.90	2.74
5	1.05	1.02	0.92	1.00	1.20	1.36	1.12	1.23	3.50	3.63	3.63	3.59
7	1.02	1.13	1.02	1.06	1.40	1.20	1.22	1.27	4.42	4.60	4.50	4.51
9	-	-	-	-	2.23	2.12	2.23	2.19	4.70	5.05	5.38	5.04
11	-	-	-	-	-	-	-	-	6.30	6.25	6.25	6.27

หมายเหตุ : T - A คือ การทดลองที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งหมักกับลูกแป้ง 0.4%
T - B คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ด + น้ำหมักกับลูกแป้ง 0.4%
T - C คือ การทดลองที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดหมักกับลูกแป้ง 0.4%

ตารางที่ ก-24 มาตรฐานน้ำดื่มของการประปานครหลวง

ลำดับ ที่	ชนิด	ที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่ม P.P.M.
1	สารที่เป็นพิษถ้ามีเกินกำหนดทำให้เกิดอันตรายต่อสุขภาพคือ ตะกั่ว (Lead) เซลีนียม (selenium) โครเมียม (Chromium) ไซยาไนด์ (Cyanide) อาซีนิก (Arsenic)	0.05 0.01 0.05 0.01 - 0.2 0.01 - 0.05
2	สารบางจำพวกที่เกี่ยวกับสุขภาพถ้ามีมากเกินไปเกินจำนวนที่กำหนด อาจทำให้เกิดโรคได้คือ ฟลูออไรด์ (Fluoride) ไนเตรท (Nitrate)	1.2 (acceptable) 1.5
3	สารบางจำพวกที่เกี่ยวข้องกับคุณสมบัติของน้ำดื่มสารพวกนี้ ถ้ามีมากเกินไปเกินกำหนดทำให้น้ำไม่น่าดื่ม กลิ่นและรส (Odour and Taste) สี (Colour) ความขุ่น (Turbidity) ความเป็นกรดหรือด่าง (pH Value) สารทั้งหมด (Total solids) ความกระด้าง (Total hardness) เหล็ก (Iron) แมงกานีส (Manganese) ทองแดง (Copper) สังกะสี (Zinc) แมกนีเซียม (Magnesium) ซัลเฟต (Sulphate as Na_2SO_4) คลอไรด์ (Chloride) ฟีนอล (Phenol)	ไม่เป็นที่รังเกียจ 20 Unit 5 Unit 6.8 - 8.2 1000 300 0.5 0.3 1.0 - 3.0 15 125 250 250 0.002 - 0.001

ตารางที่ ก-24 มาตรฐานน้ำดื่มของการประปานครหลวง (ต่อ)

ลำดับ ที่	ชนิด	ที่ยอมให้มีได้ในน้ำดื่ม P.P.M.
4	สารบางจำพวกที่มีอยู่ในน้ำมากเกินไปแสดงว่าน้ำนั้นไม่สะอาดพอ มีสิ่งสกปรกปนอยู่ด้วย ออกซิเจนคอนซูมด์ (Oxygen Consumed) แอมโมเนียอิสระ (Free ammonia) อัลบูมินอยด์ แอมโมเนีย (Albumenoid ammonia) ไนไตรท์ (Nitrite) (ในรูป Nitrogen)	2 0.2 0.1 ต้องไม่มีอยู่เลยหรือน้อยกว่า 0.001
5	แบคทีเรียที่อาจทำให้เกิดโรคต่อมนุษย์ได้ยอมให้มีดังนี้ น้ำที่สะอาดมีโคลิฟอร์ม (Coliform Bacteria) ค่า MPN. น้อยกว่า 1 ในน้ำ 100 มิลลิลิตร หรือ ต้องไม่มีเลย น้ำที่สะอาดมีโคโลฟอร์ม แบคทีเรียค่า MPN. น้อยกว่า 1 - 2.2 ในน้ำ 100 มิลลิลิตร น้ำที่สงสัยว่าสะอาดหรือไม่ มีโคโลฟอร์มแบคทีเรียค่า MPN. 3 - 10 ในน้ำ 100 มิลลิลิตร น้ำที่ไม่สะอาดมีโคโลฟอร์มแบคทีเรียค่า MPN. มากกว่า 10 ในน้ำ 100 มิลลิลิตร สำหรับน้ำประปาจะต้องมีโคลิฟอร์มแบคทีเรียค่า MPN. น้อยกว่า 2.2 (หรือต้องไม่มีเลย)	

ที่มา : โกลม คิวบร และคณะ (2524)

ตารางที่ ก-25 ข้อมูลน้ำหนักของข้าวเหนียวในแต่ละครั้งของการทดลอง

การทดลอง	น้ำหนักข้าวเหนียว (กก.)		
	ก่อนนึ่ง	หลังนึ่ง	หลังล้างและสะเด็ดน้ำแล้ว
การทดลองหัวข้อ 4.1	4.50	6.54	8.60
การทดลองหัวข้อ 4.2	7.50	11.65	15.00
การทดลองหัวข้อ 4.3	2.00	2.95	4.10



ภาคผนวก ข.

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำหมักและการทดสอบทางสรีรวิทยาของเชื้อต่าง ๆ

การวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีในน้ำหมัก

1. การวัด pH

วิเคราะห์ pH โดยใช้เครื่อง pH Meter

2. การวัดปริมาณกรดแลคติก

วิเคราะห์โดยใช้การไตเตรท ตามวิธีของ Amerine and Ough. (1974) ทำการทดลองดังนี้

ปิเปตตัวอย่าง 5 มล. ลงในขวดแก้วขนาด 500 มล. ไตเตรทด้วยสารละลาย NaOH เข้มข้น 0.1 N. โดยใช้ phenolphthalein เข้มข้น 1% จำนวน 1 มล. เป็น indicator ไตเตรทจนกระทั่งมีเกิดสีชมพูจาง ๆ ซึ่งถือเป็นจุด end point คำนวณปริมาณกรดทั้งหมดเทียบเป็นกรดแลคติก โดยใช้สูตร

$$\text{เปอร์เซ็นต์กรดแลคติก} = \frac{(V)(N)(90)(100)}{(\text{น้ำหนัก/ปริมาตร})(1000)(v)}$$

โดยกำหนดให้

V = ปริมาณสารละลาย NaOH ที่ใช้ในการไตเตรทจนถึง end point (มล.)

N = normality ของสารละลาย NaOH

v = ปริมาตรของตัวอย่างที่นำมาไตเตรท (มล.)

3. การวัดปริมาณแอลกอฮอล์

วิเคราะห์โดยใช้เครื่อง Ebulliometer ซึ่งเป็นชุดทดลองเพื่อหาแอลกอฮอล์ในตัวอย่างไวน์ ตามวิธีของ Amerine and Ough. (1974) ทำการทดลองดังนี้

ใช้น้ำกลั่น 30 มล. ต้มจนจุดเดือดคงที่ ตั้งอุณหภูมิจน จุดเดือดที่คงที่นั้นให้ตรงกับสเกลศูนย์ (0) จากนั้นวัดปริมาตรตัวอย่าง 50 มล. ต้มจนจุดเดือดคงที่เช่นเดียวกัน แล้วจึงนำอุณหภูมิที่คงที่ ณ จุดเดือดที่ได้นั้นมาเทียบกับสเกล เพื่อหาค่าปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างไวน์

4. การวัดปริมาณน้ำตาล (Total soluble solid)

ใช้ปิเปตดูดตัวอย่าง 0.2 มล. นำมาวัดด้วยเครื่อง Hand Refractometer ปริมาณน้ำตาลแสดงเป็นองศาบริกซ์ (°Brix)

การทดสอบทางสรีรวิทยาของเชื้อยีสต์ (Physiological Tests)

1. การตรวจความสามารถในการ assimilate น้ำตาลต่าง ๆ

- น้ำตาลที่ใช้
- glucose
 - sucrose
 - maltose
 - raffinose
 - galactose
 - lactose
 - xylose

ทำการทดลองดังนี้

1) นำเชื้อยีสต์ที่แยกได้ มาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MY (Malt yeast extract agar) ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ในสภาพที่แอ็กทีฟ (active)

2) เตรียมอาหารเหลวสำหรับทดสอบ assimilation ซึ่งใช้ Bacto Yeast Nitrogen Base ผสมกับน้ำตาลต่าง ๆ ตามปริมาณที่กำหนดใน Direction

3) จากนั้นเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ลงในหลอดทดสอบที่บรรจุอาหารเหลวแล้วนั้น โดยนับเชื้อให้ได้ประมาณ 10^7 เซลล์/มล.

4) จากนั้นนำไป incubated ที่ 25°C และทำการเขย่าเชื้อเบาๆ ในระหว่างการ incubated

5) ตรวจการเจริญของเชื้อในอาหารดังกล่าว โดยดูจากความขุ่นของเชื้อในหลอดทดสอบภายใน 1-3 สัปดาห์ โดยปั่นให้เชื้อกระจายทั่วกันในอาหารด้วยเครื่อง Mixer แล้วตรวจดูปริมาณความขุ่นของเชื้อโดยนำกระดาษขาวที่ขีดเส้นตรงสีดำหนาประมาณ 3/4 มิลลิเมตร มาทาบบัวข้างหลังหลอดทดสอบ

6) การรายงานผล

0 No Growth - ไม่พบความขุ่นของเชื้อ โดยสามารถมองเห็นเส้นสีดำได้อย่างชัดเจน

+1 Very Weak Growth - พบความขุ่นเล็กน้อย โดยยังคงเห็นเส้นสีดำ แต่เห็นขอบเส้นไม่ชัดเจน

+2 Weak Growth - เห็นเส้น และขอบเส้นเพียงบาง ๆ

+3 Good Growth - มีความขุ่นมากจนมองไม่เห็นเส้นสีดำ

ผลของ 0 หมายถึง negative ส่วน +1 , +2 และ +3 หมายถึง positive

2. การตรวจความสามารถในการ ferment น้ำตาลต่าง ๆ

- น้ำตาลที่ใช้
- glucose
 - sucrose
 - maltose
 - galactose
 - lactose

ทำการทดลองดังนี้

- 1) นำเชื้อยีสต์ที่แยกได้ มาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MY ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ในสภาพที่แข็งแรง (active)
 - 2) เตรียมอาหารเหลวสำหรับทดสอบ fermentation ซึ่งใช้ Bacto Yeast Nitrogen Base เช่นเดียวกับการทดสอบ assimilation แต่จะผสมกับน้ำตาลต่าง ๆ ในปริมาณที่มากกว่าเป็น 4 เท่า ของการทดสอบ assimilation
 - 3) จากนั้นเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ลงในหลอดทดสอบที่บรรจุอาหารเหลวและมีหลอดดักก๊าซ (Durham tube) อยู่ โดยนับเชื้อให้ได้ประมาณ 10^7 เซลล์/มล.
 - 4) จากนั้นนำไป incubated ที่ 25°C และทำการเขย่าเชื้อเบาๆ ในระหว่างการ incubated
 - 5) ตรวจการเจริญของเชื้อในหลอดอาหารดังกล่าว โดยดูจากก๊าซที่เกิดขึ้นในอาหารเหลวที่มีหลอดดักก๊าซ
 - 6) การรายงานผล
 - Strong Fermentation - ถ้าปริมาณก๊าซเต็มหลอดภายใน 1-3 วัน
 - Slow Fermentation - ถ้าปริมาณก๊าซเต็มหลอดภายใน 3 วันขึ้นไป ถึง 7 วัน
 - Weak Fermentation - ถ้าปริมาณก๊าซไม่เต็มหลอดภายใน 7 วัน
- ยีสต์ที่ให้ก๊าซในหลอดถือเป็น + (positive) ส่วนยีสต์ที่ไม่ให้ก๊าซในหลอดถือเป็น - (negative)

3. การตรวจความสามารถในการ assimilate กลีโคไลไตรท

ทำการทดลองเหมือนการทดสอบความสามารถในการ assimilate น้ำตาล แต่อาหารเหลวที่ใช้ทดสอบจะเตรียมจาก Bacto Yeast Carbon Base และเติม potassium nitrate 0.78 กรัม ในน้ำกลั่น 100 มล. ที่มี 11.7 กรัม ของ Bacto Yeast Carbon Base ละลายอยู่

4. การทดสอบความสามารถในการย่อยแป้ง

ทำการทดลองดังนี้

- 1) นำเชื้อยีสต์ที่แยกได้ มาเพาะบนอาหารเลี้ยงเชื้อ MY ที่อุณหภูมิ 25°C เป็นเวลา 24-48 ชั่วโมง เพื่อให้เชื้ออยู่ในสภาพที่แข็งแรง (active)
- 2) เตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อ Starch Agar
- 3) เพาะเชื้อลงบน Starch Agar Plate โดยเชื้อพอประมาณลงบนกลางจานเพาะเชื้อ
- 4) incubated ที่ 25°C นานประมาณ 5-7 วัน
- 5) หยดน้ำยาไอโอดีนลงบนจานเพาะเชื้อให้พอท่วมเชื้อ จากนั้นตรวจดูวงใสที่เกิดรอบ ๆ โคลนของเชื้อ (clear zone)
- 6) การรายงานผล
 - + (positive) - มีวงใสเกิดขึ้นรอบ ๆ โคลน
 - (negative) - ไม่มีวงใสเกิดขึ้นและอาหารเลี้ยงเชื้อเปลี่ยนเป็นสีน้ำตาล

การทดสอบทางชีวเคมีของแบคทีเรีย

1. Litmus Milk Test

ทำการทดลองดังนี้

- 1) เพาะเชื้อลงบนอาหารเลี้ยงเชื้อ NA (Nutrient agar) ที่ 37°C นาน 24 ชั่วโมง
- 2) เตรียม Litmus Milk Medium ในหลอดทดสอบ
- 3) จากนั้นเชื้อที่เตรียมไว้ในข้อ 1 ลงในหลอดทดสอบ และใช้โยเกิร์ตตราดัชชีจำนวน 0.5 มล. เป็น control
- 4) incubated ที่ 25°C นาน 24 ชั่วโมง
- 5) ตรวจดูสีที่เกิดขึ้นในหลอดทดสอบ
- 6) การรายงานผล
 - + (positive) - สีของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดสอบเปลี่ยนเป็นสีแดง
 - (negative) - สีของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดสอบไม่เปลี่ยนแปลง

2. Catalase Test

ทำการทดลองดังนี้

- 1) เชื้อเชื้อไปตะบนสไลด์
- 2) หยดน้ำยา 3% H₂O₂ ลงไปบนเชื้อ 1 หยด
- 3) การรายงานผล
 - + (positive) - จะเกิดฟองก๊าซทันที
 - (negative) - ไม่เกิดการเปลี่ยนแปลง หรือได้ผลช้าเกินกว่า 20 วินาที

การเตรียมอาหารเลี้ยงเชื้อและสารละลายต่างๆ

1. สารละลายไอโอดีนที่ใช้ทดสอบแป้ง

KI	6.6	กรัม
I ₂	0.66	กรัม
distilled water	165	มิลลิลิตร

2. น้ำยา Lactophenol cotton blue

phenol crystals	20	กรัม
lactic acid	20	มิลลิลิตร
glycerol	40	มิลลิลิตร
distilled water	20	มิลลิลิตร
Poirier's (cotton) blue	0.05	กรัม

ละลาย phenol crystals ใน lactic acid , glycerol และน้ำกลั่น โดยใช้ความร้อน ช่วยก่อนแล้วจึงเติมสี cotton blue 0.05 กรัม (สี cotton blue อาจเรียกอีกอย่างว่า Poirier's blue หรือ methyl blue)

lactic acid ช่วยในการรักษารูปร่างของราให้อยู่ในสภาพเดิม ส่วน phenol จะฆ่าเชื้อรา ทำให้ไม่เป็นอันตรายต่อผู้ศึกษาทดลอง และสี cotton blue จะย้อมราให้ดูชัดเจนขึ้น

3. Malt yeast extract agar (MY agar)

Malt extract	3	กรัม
Yeast extract	3	กรัม
Peptone	5	กรัม
Glucose	10	กรัม
Agar	20	กรัม
distilled water	1	ลิตร

อบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

4. McClary's acetate agar

Glucose	1.0	กรัม
Kcl	1.8	กรัม
Yeast extract	2.5	กรัม
Sodium acetate . 3 H ₂ O	8.2	กรัม
Agar	15.0	กรัม
distilled water	1	ลิตร

อบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

5. Potato dextrose agar (PDA)

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปอบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

6. Corn meal agar

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปอบไอน้ำฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

**7. Litmus Milk Medium**

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปอบไอน้ำ
ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 110°C ความดัน 10 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

8. Nutrient agar (NA)

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปอบไอน้ำ
ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

9. Malt extract agar (MEA)

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปอบไอน้ำ
ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

10. Total plate count

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปอบไอน้ำ
ฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 120°C ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว นาน 15 นาที

11. Bacto Yeast Nitrogen Base

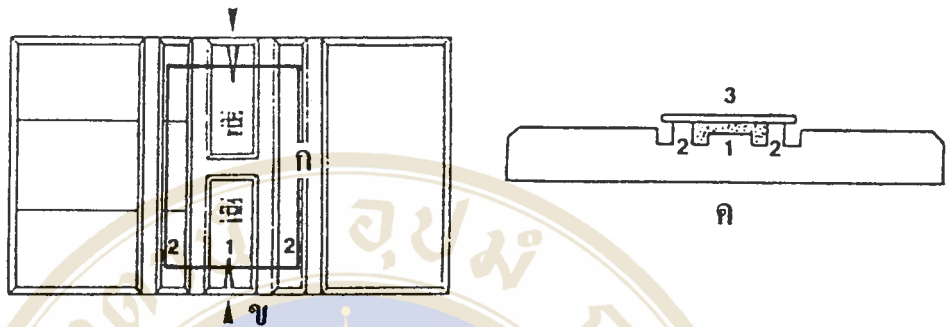
ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปกรอง
ในสภาวะไร้เชื้อ (filter sterilized)

12. Bacto Yeast Carbon Base

ใช้อาหารสำเร็จรูปของ Difco -laboratories ในปริมาณที่กำหนดไว้ใน Direction นำไปกรอง
ในสภาวะไร้เชื้อ (filter sterilized)

การนับเชื้อ (โดยใช้เครื่อง Hemacytometer)

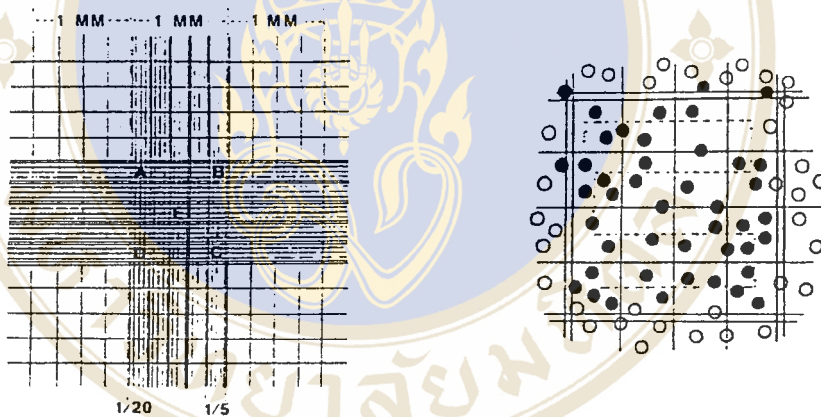
1. การหยอดตัวอย่าง



ก : วาง cover slip ให้สัมผัสบริเวณ 1 และ 2

ข : หยอดตัวอย่างตรงช่องสามเหลี่ยมบริเวณ 1 ทั้งสองข้าง

ค : ให้ของเหลวอยู่เฉพาะบริเวณ 1 อย่าให้ล้นออกมาในร่องข้าง ๆ ทั้งสองข้าง



ตารางของ Counting chamber แสดงช่อง A,B,C,D,E สำหรับนับเซลล์ (ก) และวิธีการนับเซลล์ (ข)

● : เซลล์ที่ต้องนับ

○ : เซลล์ที่ไม่ต้องนับ

2. วิธีคำนวณ

$$\text{Volume of A/B/C/D/E} = 1/5 \times 1/5 \times 1/10 = 1/250$$

$$\text{Volume of A+B+C+D+E} = 5 \times 1/250 = 1/50 \text{ มม.}^3$$

$$\text{Count in Volume } 1/50 \text{ มม.}^3 = X \text{ เซลล์}$$

$$\text{" " } 10^3 = 50X \times 10^3 \text{ "}$$

$$\text{Total count} = 50X \times 10^3 \times \text{dilution factor} \text{ เซลล์/มล.}$$

$$= X \times (5 \times 10^4) \times \text{dilution factor} \text{ เซลล์/มล.}$$



**แบบสอบถามการประเมินผลทางประสาทสัมผัส
ผลิตภัณฑ์เครื่องดื่มแอลกอฮอล์ต่ำ**

เพศ

ผลิตภัณฑ์หมายเลข

อายุ

วันที่ เวลา

แบบสอบถามมีทั้งหมด 3 ตอนด้วยกัน

ตอนที่ 1 ก่อนชิม เมื่อท่านได้รับผลิตภัณฑ์ กรุณาให้คะแนนความชอบของท่าน โดยการมองแล้วคิด
เครื่องหมาย / ลงในช่องที่ตรงกับความคิดเห็นของท่านมากที่สุด

1. ความชอบต่อลักษณะโดยทั่วไป หมายถึง ความชอบเมื่อท่านได้เห็นผลิตภัณฑ์

..... ชอบมาก

..... ชอบเล็กน้อย

..... อยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ

..... ไม่ชอบเล็กน้อย

..... ไม่ชอบมาก

2. ความชอบต่อสีของผลิตภัณฑ์

..... ชอบมาก

..... ชอบเล็กน้อย

..... อยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ

..... ไม่ชอบเล็กน้อย

..... ไม่ชอบมาก

3. ความชอบต่อความใสของผลิตภัณฑ์

..... ชอบมาก

..... ชอบเล็กน้อย

..... อยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ

..... ไม่ชอบเล็กน้อย

..... ไม่ชอบมาก

ข้อเสนอแนะ

.....

ตอนที่ 2 ก่อนชิม กรุณาให้คะแนนความชอบ โดยการดมกลิ่นผลิตภัณฑ์แล้วขีดเครื่องหมาย / ลงในช่อง
ที่ตรงกับความรู้สึกและความชอบของท่านมากที่สุด

- ชอบมาก
- ชอบเล็กน้อย
- อยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ
- ไม่ชอบเล็กน้อย
- ไม่ชอบมาก

ข้อเสนอแนะ

.....



ตอนที่ 3 หลังชิม กรุณาให้คะแนนความชอบ โดยการชิมผลิตภัณฑ์แล้วขีดเครื่องหมาย / ลงในช่อง
ที่ตรงกับความรู้สึกและความชอบของท่านมากที่สุด

..... ชอบมาก

..... ชอบเล็กน้อย

..... อยู่ระหว่างชอบและไม่ชอบ

..... ไม่ชอบเล็กน้อย

..... ไม่ชอบมาก

ข้อเสนอแนะ

.....







รูปที่ ง-1 การลอกผิวชั้นนอกสุดของลูกแป้งทิ้งไปเพราะอาจมีเชื้อปนเปื้อนที่มาจากอากาศเจริญติดอยู่



รูปที่ ง-2 เปรียบเทียบสีของลูกแป้งก่อนและหลังการลอกผิวลูกแป้ง



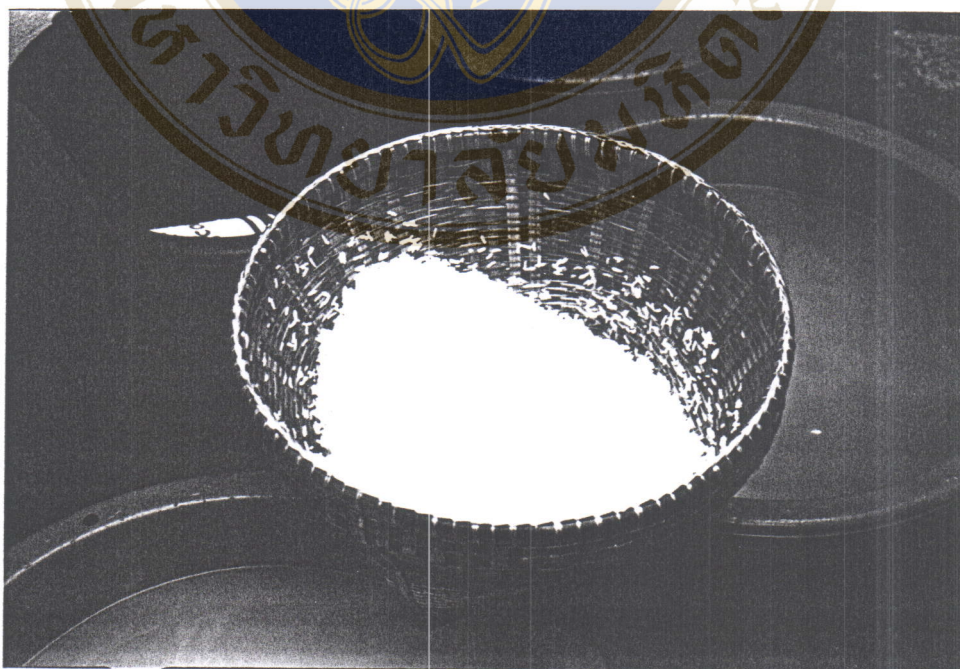
รูปที่ ง-3 การบดลูกแป้งในโกร่งที่สะอาด



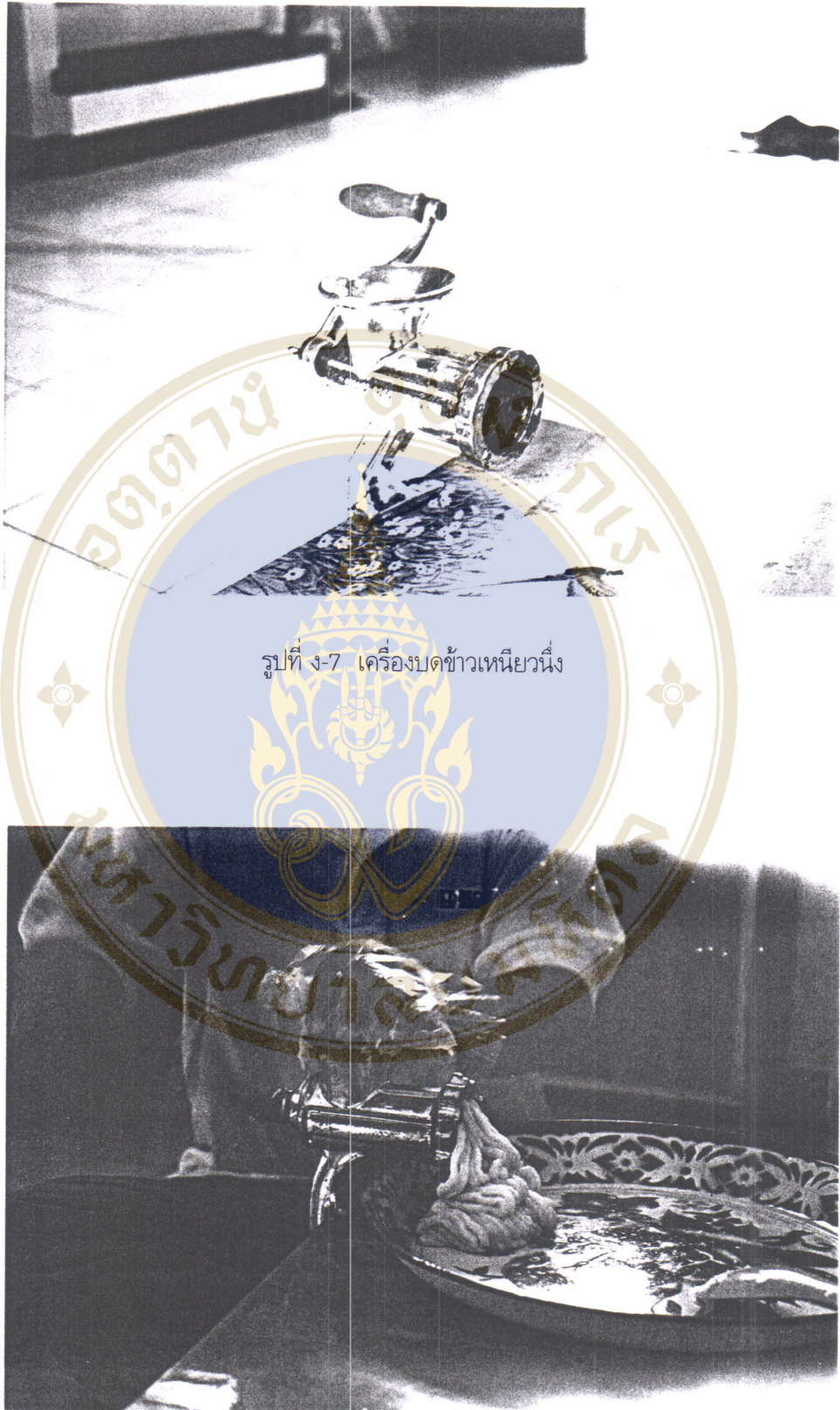
รูปที่ ง-4 การนึ่งข้าวเหนียว



รูปที่ ง-5 การล้างข้าวเหนียวหนึ่งโดยใช้น้ำประปาที่ตั้งทิ้งไว้ 2 คืน (เพื่อให้คลอรีนระเหยออกหมดก่อน)

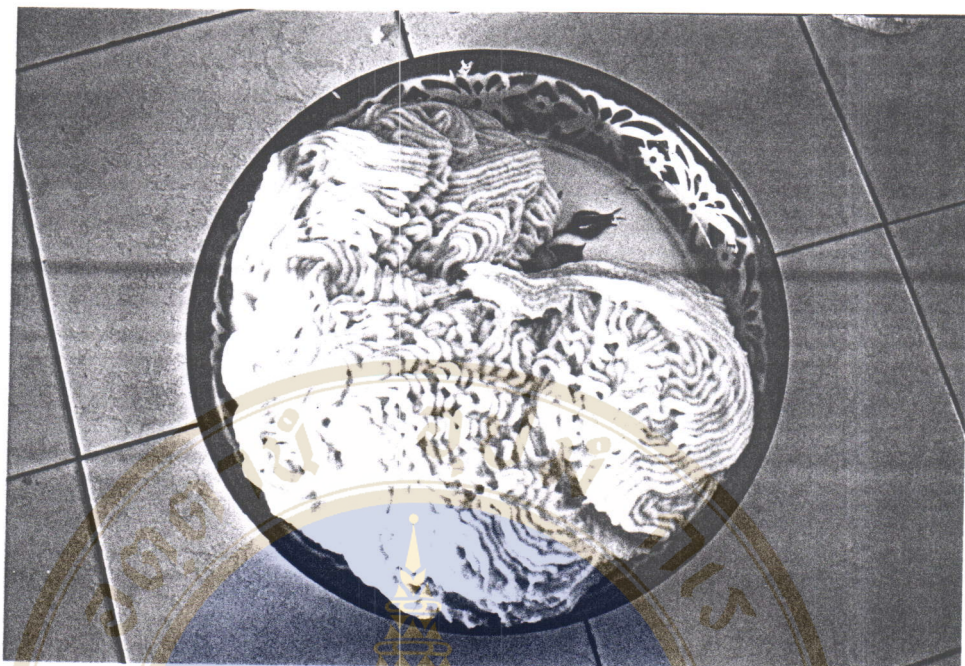


รูปที่ ง-6 การทำให้ข้าวเหนียวหนึ่งสะอาดขึ้นโดยตั้งทิ้งไว้สักครู (ประมาณ 15 นาที)

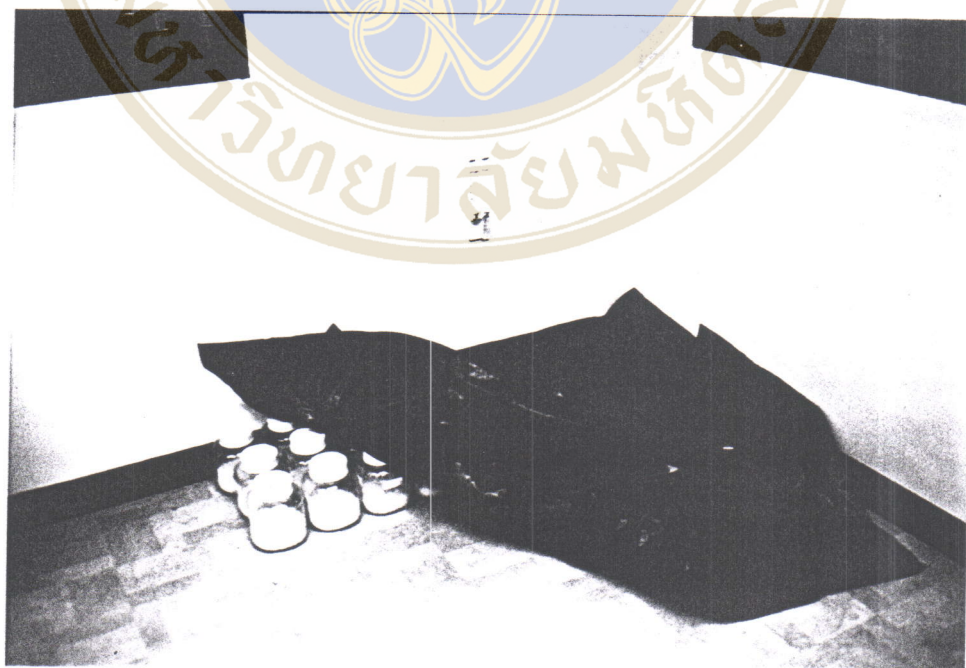


รูปที่ ง-8 การบดข้าวเหนียวนึ่ง

Copyright by Mahidol University



รูปที่ ง-9 ลักษณะข้าวเหนียวหนึ่งหลังจากการบด



รูปที่ ง-10 สภาวะการหมักในห้องปฏิบัติการ



รูปที่ ง-11 ลักษณะการปนเปื้อนที่พบบนผิวหน้าของเหลวในขวดหมัก



รูปที่ ง-12 การเทของหมักลงในอุปกรณ์เพื่อการให้น้ำออก



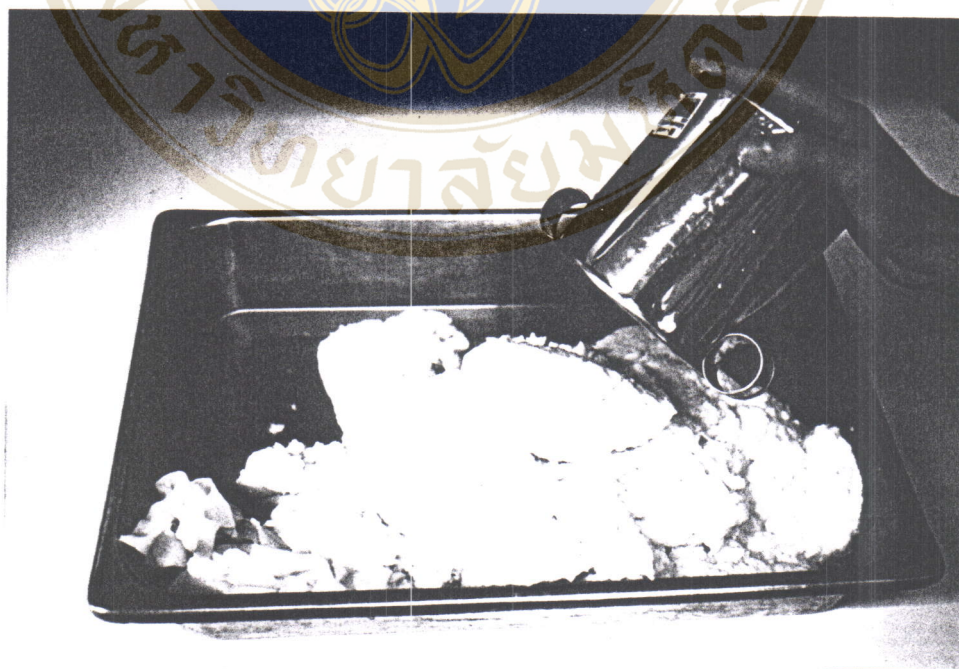
รูปที่ ง-13 การบีบน้ำออกโดยใช้แรงมือกด



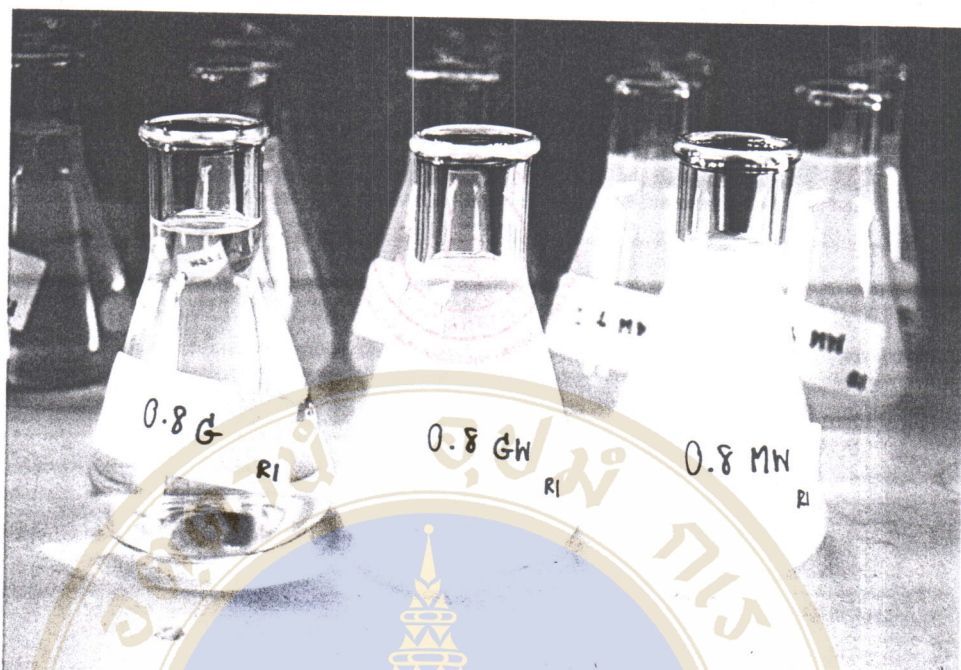
รูปที่ ง-14 น้ำหมักที่ได้หลังจากการบีบน้ำออกแล้ว



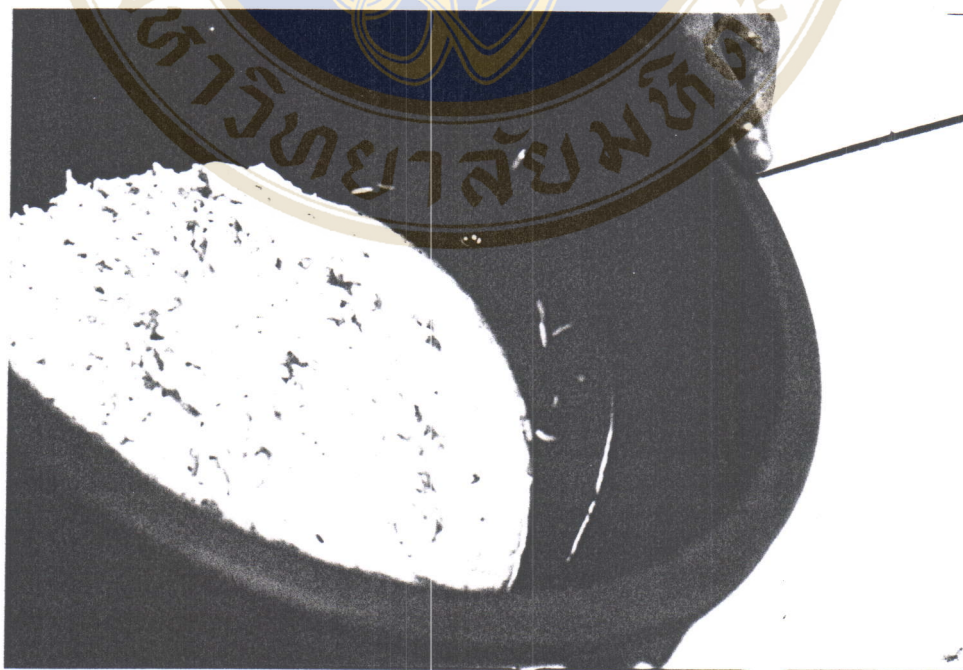
รูปที่ ง-15 วิธีการปั้นน้ำออกสำหรับทริทเมนต์ที่ใช้น้ำแป้งข้าวเหนียวหนึ่งในการหมัก



รูปที่ ง-16 กากของเหลือหลังจากการปั่นน้ำออกแล้ว



รูปที่ ง-17 เปรียบเทียบความใสของน้ำหมักหลังจากที่ตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงในตู้เย็น 10°C
(ขวา = ทริทเมนต์ที่ใช้น้ำแบ่งข้าวเหนียวหนึ่ง , กลาง = ทริทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้ง
เมล็ด + น้ำ , ซ้าย = ทริทเมนต์ที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว)



รูปที่ ง-18 ผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักโดยวิธีที่ใช้ข้าวเหนียวหนึ่งทั้งเมล็ดอย่างเดียว (หมักเป็นเวลา 7 วัน)
เพื่อนำมาทดสอบการยอมรับเบื้องต้น