รายการอ้างอิง

ควงพร ตันธโชติ. 2533. จุลชีววิทยาอุตสาหกรรม / ผลิตภัณฑ์จากจุลินทรีย์. กรุงเทพ : โอเดียนสโตร์ 191 หน้า.

ดุ้ย ชุมสาย. 2533. เมล็ดพันธุ์/ข้าวพันธุ์. กรุงเทพ : สยามบิวตี้เพรส.

นภา โล่ห์ทอง. 2535. กล้าเชื้ออาหารหมักและเทคโนโลยีการผลิต. กรุงเทพ : ฟินนี่พลับบลิชชิ่ง.

บัญญัติ สุขศรีงาม. 2518. ประสิทธิภาพของเครื่องเทศบางชนิดในการยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย.

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

ประดิษฐ์ ครุวัฒฌา, มาลัย บุญรัตนกรกิจ และฉกามาศ วงศ์ข้าหลวง. 2535. การหมักแอลกอฮอล์จากข้าวเหนียวโดยใช้โคจิ. วารสารชมรมผู้หมักแอลกอฮอล์แห่งประเทศไทย. 2(3) : 171-172.

ประดิษฐ์ ครุวัฒฌา, ปทุมพร ฉิมเ อนก, บุญเทียม พันธุ์เพ็ง , วิภา สุโรจนะเมธากุล และชิดชม ธิรางะ. 2536. การพัฒนากระบวนการผลิตเพื่อปรับปรุงคุณภาพไวน์ข้าวไทย. รายงานผลการวิจัยประจำปี 2536. สถาบันวิจัยและพัฒนาแห่งมหาวิทยาลัย เกษตรศาสตร์ กรุงเทพ : 1-14.

ปราโมทย์ ธรรมรัตน์. 2533. การควบคุมขบวนการหมักส่าข้าวและส่าแดง. การสัมมนาควบคุมการหมักและวิเคราะห์เครื่องดื่มที่มีแอลกอฮอล์. กรมสรรพสามิต กระทรวงการคลัง กรุงเทพฯ.

พระราชบัญญัติสุรา. 2493. สามิตสาร. (61) : 1-10 .

ไพโรจน์ วิริยจารี. 2533. การวางแผนและการวิเคราะห์ทางด้านประสาทสัมผัส. ภาควิชาวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีการอาหาร คณะเกษตรศาสตร์ มหาวิทยาลัยเชียงใหม่.

มาตรฐานอุตสาหกรรมสุรา. 2516. กรุงเทพ : กรมส่งเสริมอุตสาหกรรม. กระทรวงอุตสาหกรรม.

มนตรี เชาวน์สังเกตุ. 2521. การคัดเลือกสายพันธุ์ยีสต์และราเพื่อหมักไวน์ข้าว. วิทยานิพนธ์ปริญญามหาบัณฑิต มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์ กรุงเทพ.

ลูกจันทร์ ภัครัชพันธุ์. 2535. จากข้าวสู่ไวน์. วารสารเกษตร. 8(1) : 49-54.

วรชิน สถิตนิมานการ. 2493. แป้งเชื้อทำสุรา. วิทยาศาสตร์. 4(7) : 393-387.

สมบูรณ์ สุขพงษ์ และเปรมใจ ตรีสรานุวัฒนา. 2527. หลักสถิติ 2 วิธีวิเคราะห์และวางแผนการทดลองเบื้องต้น. ภาควิชาสถิติ คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

ศุรพล อุปดิศสกุล. 2523. สถิติการวางแผนการทดลองเบื้องต้น. กรุงเทพ : แอ็ดเสทการพิมพ์

อรอนงค์ นัยวิกุล. 2532. เคมีทางธัญชาติ. อุตสาหกรรมเกษตร. มหาวิทยาลัยเกษตรศาสตร์.

อัมมาร สยามวาลา และวิโรจน์ ณ ระนอง. 2533. ประมวลความรู้เรื่องข้าว. กรุงเทพ :
สถาบันวิจัยเพื่อการพัฒนาประเทศไทย.

Ainsworth, G.C. , Saparrow, F.F. and Sussman A.S. 1973. The fungi. Academic Press: San Francisco.

Amerine, M.A. , Berg H.W. and Cruess W.V. 1972. The technology of wine making. The AVI Publishing.

Amerine, M.A. and Ough, C.S. 1979. Wine and must analysis. John Wiley and Sons., Inc.

Batra, L.D. and Miller P.D. 1974. Some Asian fermented foods and beverages and associated fungi. Mycologia. 66 : 942-949.

Bernfeld, P. 1951. Enzyme of starch degradation and synthesis. Advance in Enzymology. 12 : 388-424.

Ellis, J. , Wang H.J. and Hesseltine C.W. 1974. Rhizopus and Chlamydomucor strains surveyed for milk-clotting, amylolytic, and antibiotic activities. Mycologia. 66 : 593-599.

Hesseltine, C.W. , Smith M. , Brable B. and Djien K.S. 1963. Investigation of tempeh, and indonesia food. Development in Industrial Microbiology. 4 : 275-287.

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

Kitahara, K. ; Suganuma, T. and Nagahama, T. 1996. Susceptibility of amylose-lipid complexs to hydrolysis by glucoamylase from *Rhizopus niveus*. J. of Cereal Chem. 73 (4) : 428-432.

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

Kreger-van Rij. 1970. Endomycopsis In Lodder, J. The Yeasts, A Taxonomic study. 2 nd.ed. Amsterdam, North-Holland Publishing : London.

Lodder, J. 1970. The Yeasts, A Taxonomic Study. 2nd .ed. Amsterdam, North-Holland Publishing : London.

Miller, G.L. 1959. Use of dinitrosalicylic acid reagent for determination of reducing sugar. Analytical Chem. 31(3) : 426-428.

Nunokawa, Y. 1972. Sake. In D.F. Houston (ed.) Rice chemistry and technology. The American Association of Cereal Chemists Inc : USA.

Oyashiki, H. , Uchida, M. , and Hanai, S. 1985. Mirin production from nouglutinous rice. J. Ferment Technol. 63-311.

Phaff, H.J. , Miller M.W. and Mank E.H. 1978. The life of yeast . Harvard University press : London.

Platt, G.C. 1987. Fermented foods of the world. Butterworths : U.K.

Prescott, S.C. and Dunn G.C. 1959. Industrial microbiology. 3rd.ed. Mc Graw-Hill Book Co. : New York.

Sakai, H. and Caldo, G.A. 1985. Microbiological and chemical changes in tapuy fermentation. J. Ferment. Technol. 63 : 11.

Sanchez, P.C. , Juliano, B.O. Laude V.T. and Perez C.M. 1988. Nonwaxy rice for tapuy (rice wine) production. J. Cereal Chem. 65 (3) : 240-243.

Suprianto, R.O. , Koga T. and Ueda S. 1989. Liquefaction of glutinous rice and aroma formation in tape preparation by ragi. J. of Fermentation and Bioengineering. 67 (4) : 249-252.

Tedenuma, M. and Sato S. 1967. Studies on the colorants in sake presence of ferrichrycin as iron containing colorant on sake. J. Agr. Biol. Chem. 31 (12) : 1482-1489.

Teramoto, Y. , Saigusa, N. , Ueda, S. and Yoshizawa K. 1990. Effects of cooking process on the characteristics of aromatic red rice wine. J. of the Institute of Brewing . 100(3):155-157.

Tester, R.F. and Morrison W.A. 1990. Swelling and gelatinization of cereal starches. effects of amylopectin, amylose, and lipids. J. of Cereal Chem 67 : 551-557.

Ueda, S. , Teramoto, Y. , Saigusa, N. , Ueki, T. , Ohba, R. and Yoshizawa K. 1990. Sutdies on red rice wine brewing. J. of Fermentation and Biology. 72(3) : 221-223.

Van der Walt, J.P. 1970. Criteria and methods used in classification. In Lodder, J. The Yeasts, a Taxonomic Study. 2nd.ed. Amsterdam : North Holland Publishing : London.

Weiser, S.H. , Mountney G.J. and Gould, W.A. 1978. Food microbiology. The AVI publishing : Connecticut.

Windish, W.W. and Mhatre, N.S. 1965. Microbial amylase. Advances in Applied Microbiology. 7 : 273-304.

Yoshizawa, K. 1985. Rice in brewing. In B.O. Juliano (ed.). Rice chemistry and technology. The American Association of Cereal Chemists Inc. : USA.

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ก.

ตารางที่ 15 pH และ Total soluble solid ของข้าวเหนียวดำที่หมักด้วยเชื้อราที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพ liquefaction และ dextrinization แล้ว

รหัสเชื้อ	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	pH	TSS (°Brix)
LM1	3.21 ± 0.001	22.23 ± 0.18
LM3	3.34 ± 0.014	21.50 ± 0.35
LM4	3.32 ± 0.003	20.78 ± 0.25
LM9	4.20 ± 0.016	23.20 ± 0.92
LM13	3.72 ± 0.001	18.00 ± 0.16
LM16	3.48 ± 0.013	24.15 ± 0.78
LM18	3.56 ± 0.007	24.95 ± 0.21
LM19	3.51 ± 0.019	24.26 ± 0.30
LM23	3.53 ± 0.006	19.25 ± 0.13
LM24	3.44 ± 0.014	23.29 ± 0.59
LM25	3.28 ± 0.002	21.80 ± 0.42
LM28	3.24 ± 0.012	20.17 ± 0.21
LM29	3.36 ± 0.006	18.80 ± 0.46
LM31	3.37 ± 0.011	20.83 ± 0.24
LM33	3.32 ± 0.019	19.95 ± 0.33
LM35	3.43 ± 0.003	22.13 ± 0.39
LM36	3.51 ± 0.014	18.50 ± 0.21
LM37	3.38 ± 0.002	20.25 ± 0.48
LM40	3.44 ± 0.020	18.80 ± 0.34
LM61	3.25 ± 0.007	16.00 ± 0.20
LM64	3.38 ± 0.01	19.20 ± 0.24

ตารางที่ 15 (ต่อ) pH และ Total soluble solid ของข้าวเหนียวดำที่หมักด้วยเชื้อราที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพ liquefaction และ dextrinization แล้ว

รหัสเชื้อ	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	pH	TSS (°Brix)
LM72	3.44 ± 0.019	22.02 ± 0.88
LM76	3.52 ± 0.011	18.81 ± 0.44
LM82	3.58 ± 0.002	21.86 ± 0.37
LM89	3.28 ± 0.015	16.60 ± 0.24
LM96	3.33 ± 0.001	22.16 ± 0.83
LM105	3.62 ± 0.008	18.48 ± 0.61
LM106	3.45 ± 0.014	19.25 ± 0.37
LM108	3.48 ± 0.002	23.66 ± 0.21
LM114	3.55 ± 0.017	19.76 ± 0.24

ตารางที่ 16 Total acidity และ Reducing sugar ของข้าวเหนียวดำที่หมักด้วยเชื้อราที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพ Liquefation และ Dextrinization แล้ว

รหัสเชื้อ	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	TA (%)	Reducing sugar (%)
LM1	1.04 ± 0.02	14.23 ± 0.29
LM3	0.67 ± 0.04	15.73 ± 0.41
LM4	0.72 ± 0.05	16.82 ± 0.42
LM9	0.32 ± 0.01	15.74 ± 0.37
LM13	0.36 ± 0.02	9.40 ± 0.26
LM16	0.64 ± 0.00	16.54 ± 0.20
LM18	0.52 ± 0.01	19.16 ± 0.48
LM19	0.56 ± 0.02	16.92 ± 0.46

ตารางที่ 16 (ต่อ Total acidity และ Reducing sugar ของข้าวเหนียวดำที่หมักด้วยเชื้อราที่ผ่านการทดสอบประสิทธิภาพ Liquefation และ Dextrinization แล้ว

รหัสเชื้อ	ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน	
	TA (%)	Reducing sugar (%)
LM23	0.54 ± 0.04	14.15 ± 0.81
LM24	0.60 ± 0.03	11.34 ± 0.23
LM25	1.07 ± 0.09	14.26 ± 0.23
LM28	0.99 ± 0.07	12.60 ± 1.02
LM29	0.72 ± 0.04	7.25 ± 0.63
LM31	0.68 ± 0.02	15.86 ± 0.08
LM33	0.70 ± 0.07	11.97 ± 1.04
LM35	0.68 ± 0.02	16.60 ± 0.29
LM36	0.49 ± 0.01	14.02 ± 0.88
LM37	0.81 ± 0.06	11.13 ± 0.72
LM40	0.75 ± 0.07	10.52 ± 0.98
LM61	1.02 ± 0.03	8.24 ± 0.43
LM64	0.86 ± 0.09	7.74 ± 0.35
LM72	0.69 ± 0.04	15.39 ± 0.32
LM76	0.50 ± 0.01	10.56 ± 0.44
LM82	0.51 ± 0.01	14.25 ± 0.92
LM89	1.01 ± 0.08	8.42 ± 0.36
LM96	0.81 ± 0.00	14.47 ± 0.30
LM105	0.42 ± 0.02	10.33 ± 0.76
LM106	0.48 ± 0.04	10.54 ± 0.95
LM108	0.48 ± 0.02	14.72 ± 0.21
LM114	0.52 ± 0.01	13.67 ± 1.04

ตารางที่ 17 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของน้ำต้อยจากการหมักด้วยเชื้อรา 15 ไอโซเลท (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอย่าง	ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (°Brix)*
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM1	22.23 ± 0.18^{cde}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM3	21.50 ± 0.35^{ef}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM4	20.78 ± 0.25^{f}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM9	23.20 ± 0.92^{bcd}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM16	24.15 ± 0.78^{ab}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM18	24.95 ± 0.21^{a}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM19	24.26 ± 0.30^{ab}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM24	23.29 ± 0.59^{bc}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM25	21.80 ± 0.42^{ef}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM31	20.83 ± 0.24^{f}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM35	$22.13 \pm 0.39ef$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM72	22.02 ± 0.88^{def}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM82	21.86 ± 0.37^{ef}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM96	22.16 ± 0.83^{cde}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM108	23.66 ± 0.21^{b}

*ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

ตารางที่ 18 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ของน้ำต้อยจากการหมักด้วยเชื้อรา 15 ไอโซเลท (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอย่าง	ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ (%)*
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM1	$14.23 + 0.29^{e}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM3	$15.73 + 0.41^{bc}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM4	$16.82 + 0.42^{b}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM9	$15.74 + 0.37^{bc}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM16	$16.54 + 0.91^{b}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM18	$19.16 + 0.48^{a}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM19	$16.92 + 0.46^{b}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM24	$11.34 + 0.23^{f}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM25	$14.26 + 0.23^{c}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM31	$15.86 + 0.08^{bc}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM35	$16.60 + 0.29^{bc}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM72	$15.39 + 0.32^{cd}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM82	$14.47 + 0.30^{e}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM96	$13.88 + 0.13^{e}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM108	$14.72 + 0.21^{de}$

*ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

ตารางที่ 19 ปริมาณกรดทั้งหมดของน้ำต้อยจากการหมักด้วยเชื้อรา 15 ไอโซเลท (ค่าเฉลี่ย ± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน)

ตัวอย่าง	ปริมาณกรดทั้งหมด (%)*
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM1	1.04 ± 0.02^{b}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM3	$0.67 + 0.04^{g}$
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM4	0.72 ± 0.05^{d}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM9	0.32 ± 0.01^{n}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM16	0.64 ± 0.00^{h}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM18	0.52 ± 0.01^{l}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM19	0.56 ± 0.02^{j}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM24	0.60 ± 0.03^{i}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM25	1.07 ± 0.09^{a}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM31	0.68 ± 0.02^{f}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM35	0.68 ± 0.03^{f}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM72	0.69 ± 0.04^{e}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM82	0.51 ± 0.01^{k}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM96	0.81 ± 0.00^{c}
น้ำต้อยจากการหมักด้วยรา LM108	0.48 ± 0.02^{m}

*ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \geq 0.05$)

ภาคผนวก ข.

1. สูตรอาหารเลี้ยงเชื้อ

1.1 Potato Dextrose Agar (PDA)

Patato	200	กรัม
Glucose	20	กรัม
Agar	15	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

1.2 Yeast Extract Malt Extract broth (YM-broth)

Yeast extract	3	กรัม
Malt extract	3	กรัม
peptone	5	กรัม
glucose	10	กรัม
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1000	มิลลิลิตร

นึ่งฆ่าเชื้อที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ความดัน 15 ปอนด์ต่อตารางนิ้ว เป็นเวลา 15 นาที

<u>หมายเหตุ</u> ในการทดสอบประสิทธิภาพย่อยแป้งของเชื้อราให้เติมแป้งข้าวเหนียวลงไป 3% (มนตรี เชาว์นสังเกตุ, 2521) สำหรับสูตรอาหารที่ใช้ทดสอบประสิทธิภาพการหมักน้ำตาลของยีสต์ได้ใช้สูตรอาหารเดียวกันนี้แต่เปลี่ยนมาใช้สารละลายน้ำตาลทรายเข้มข้น 22°Brix และในการทดสอบประสิทธิภาพที่ยีสต์ที่ทนต่อแอลกอฮอล์ 15 เปอร์เซนต์จะใช้สูตรอาหารนี้เช่นกันแต่เปลี่ยนมาใช้สารละลายน้ำตาลทรายเข้มข้น 10°Brix แล้วเติมแอลกอฮอล์ลงไป 15 เปอร์เซนต์ภายหลังการนึ่งฆ่าเชื้ออาหารแล้ว

1.3 Yeast Extract Malt Extract Agar (YMA)

มีสูตรและวิธีการเช่นเดียวกับ YM-broth แต่เติม agar ลงไปจำนวน 20 กรัม

1.4 Carbon fermentation test broth

$(NH_4)_2SO_4$	5.0	กรัม
K_2HPO_4	1.0	กรัม
$MgSO_4.7H_2O$	0.5	กรัม
Sugar	20.0	กรัม
Vitamin solution	10.0	มิลลิลิตร
เติมน้ำกลั่นให้ครบ	1000	มิลลิลิตร

<u>หมายเหตุ</u> sugar ที่ใช้ในการทดสอบการ ferment ของยีสต์เพื่อจำแนกเชื้อคือ glucose, galactose, sucrose, maltose (Van der Walt, 1970)

1.5 สารละลายไอโอดีนที่ใช้ทดสอบแป้ง (Hesseltine และคณะ, 1963)

KI	6.6	กรัม
I_2	0.66	กรัม
น้ำกลั่น	165.0	มิลลิลิตร

2. การหาความเป็นกรด (acidity) ตามวิธีของ Amerine และคณะ, 1979

ดูดสารละลายตัวอย่างมา 5 มิลลิลิตร เติมน้ำกลั่น 95 มิลลิลิตร แล้วนำไปไทเทรตกับสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ความเข้มข้น 0.1 นอร์มัล โดยใช้ phenolpthalein เข้มข้น 1 เปอร์เซ็นต์ จำนวน 1 มิลลิลิตรเป็น indicator

$$\text{lactic acid (กรัม) / 100 มิลลิลิตร} = \frac{V \times N \times 90}{100 \times v} \times 100$$

V = ปริมาตรของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์ที่ใช้ไทเทรต (มิลลิลิตร)

N = ความเข้มข้นของสารละลายโซเดียมไฮดรอกไซด์เป็นนอร์มัล

v = ปริมาตรของสารละลายตัวอย่าง (5 มิลลิลิตร)

3. การหาปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ โดยวิธี DNS-method (Miller, 1959)

สารเคมี

3,5-dinitrosalicylic acid (DNS) เตรียมโดยชั่ง DNS จำนวน 20 กรัม ละลายในน้ำกลั่น 500 มิลลิลิตร เติมสารละลายด่างลงไปทีละหยด (NaOH 32 กรัม ละลายในน้ำ 350 มิลลิลิตร) คนให้เข้ากัน นำไปอังในน้ำร้อนจนสารละลายใส แล้วจึงเติม K_2Na - tartrate ลงไปทีละน้อยจนครบ 600 กรัม จากนั้นเติมน้ำกลั่นลงไปจนมีปริมาตรครบ 2000 มิลลิลิตร ใส่ในขวดมืดและเก็บที่อุณหภูมิห้อง

วิธีการ

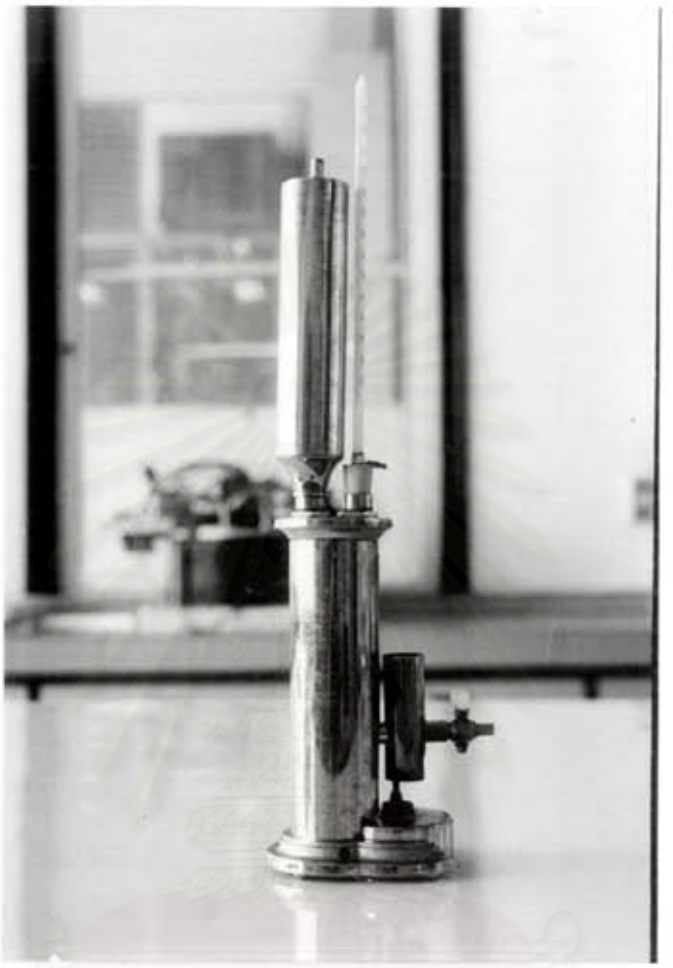
ดูดสารละลายตัวอย่างจำนวน 1 มิลลิลิตรใส่ในหลอดทดลอง เติมสารละลาย DNS ที่เตรียมไว้ 2 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือดนาน 5 นาที จากนั้นนำไปแช่ในน้ำเย็นทันทีเป็นเวลา 5 นาที เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่าการดูดกลืนแสง (O.D.) ที่ความยาวคลื่น 540 นาโนเมตร แล้วนำไปหาค่าน้ำตาลกลูโคสโดยเทียบกับกราฟสารละลายมาตรฐานกลูโคส

การเตรียมสารละลาย blank ดูดน้ำกลั่น 1 มิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองเติม DNS 2 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาที หลังจากนั้นนำไปแช่ในน้ำแข็ง 5 นาที เติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากัน นำไปวัดค่า O.D.ที่ 540 นาโนเมตร ใช้สำหรับปรับค่า O.D. เป็น 0

การเตรียมกราฟสารละลายมาตรฐานกลูโคส โดยใส่สารละลายกลูโคสความเข้มข้น 0.2, 0.4, 0.6, 0.8 และ 1 มิลลิกรัมต่อมิลลิลิตร ใส่ในหลอดทดลองหลอดละ 1 มิลลิลิตร เติม DNS 2 มิลลิลิตร นำไปต้มในน้ำเดือด 5 นาทีจึงเติมน้ำกลั่น 20 มิลลิลิตร เขย่าให้เข้ากันแล้วนำไปวัดค่า O.D. ที่ 540 นาโนเมตร โดยใช้ blank เป็นสารละลายเปรียบเทียบ จากนั้นนำค่า O.D. และความเข้มข้นของสารละลายกลูโคส (มิลลิกรัม ต่อ มิลลิลิตร) มาเขียนเป็นกราฟมาตรฐาน

4. การวัดปริมาณแอลกอฮอล์

ใช้เครื่องวัดปริมาณแอลกอฮอล์อีบูลลิโอมิเตอร์ (Ebulliometer) แสดงลักษณะของเครื่องดังรูปที่ 8



รูปที่ 8 เครื่องวัดแอลกอฮอล์ Ebulliometer

ในการวัดจะเริ่มจากเติมน้ำกลั่นด้วยกระบอกตรงลงในเครื่องและต้มจนเดือด อ่านจุดเดือดบนเทอร์โมมิเตอร์บันทึกค่าที่อ่านได้แล้วนำไปปรับแผ่นเทียบเปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ให้จุดเดือดของน้ำนั้นตรงกับ 0 เปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ จากนั้นไขน้ำกลั่นออกทิ้งแล้วเติมตัวอย่างไวน์ที่ต้องการวัดลงในเครื่องและให้ความร้อน บันทึกจุดเดือดของตัวอย่างไวน์แล้วนำไปอ่านเปอร์เซนต์แอลกอฮอล์บนแผ่นเทียบนั้น ก็จะทราบว่าตัวอย่างไวน์นั้นตรงกับเปอร์เซนต์แอลกอฮอล์ที่เท่าไร เช่น

อ่านจุดเดือดของน้ำกลั่นได้ 99.98 ให้หมุนแผ่นเทียบจุดเดือด 99.98 ตรงกับแผ่นล่างซึ่งเป็นสเกลของเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ห้ตรงกับเลข 0

ถ้าอ่านจุดเดือดของตัวอย่างไวน์ได้ 95.4 จะอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ได้ 5.12

ถ้าอ่านจุดเดือดของตัวอย่างไวน์ได้ 93.5 จะอ่านเปอร์เซ็นต์แอลกอฮอล์ได้ 8.02

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ค.

ราและยีสต์ที่คัดเลือกไว้อย่างละ 1 เชื้อ นำมาจำแนกชนิดของเชื้อโดยมีหลักการจำแนกชนิดของเชื้อดังนี้

1.การจำแนกชนิดของรา ศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาโดยการทำslide culture และทำ wet mount บนสไลด์ ศึกษารูปร่างลักษณะของ sporangiophore, sporangium, columella, sporangiospore, chlamydospore, rhizoid และ stolon

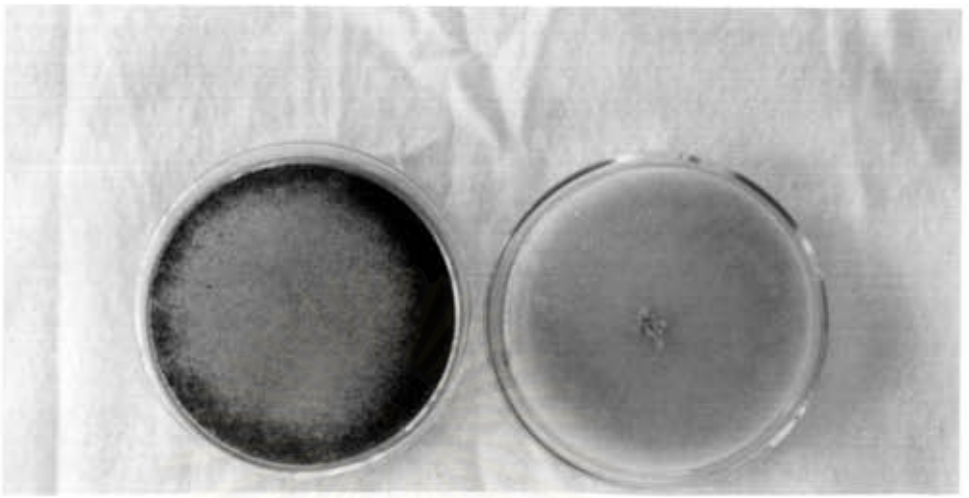
พบว่าเชื้อรารหัส LM18 มีลักษณะของเส้นใยไม่มีผนังกั้น สร้าง sporangium เดี่ยว ขนาดใหญ่ สีดำ มี rhizoid และ stolon โดยมี sporangiophore เกิดตรงบริเวณ rhizoid ลักษณะดังกล่าวเป็นเชื้อ *Rhizopus* sp.

2. การจำแนกชนิดของยีสต์ โดยศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยาและสรีรวิทยาตามวิธีที่บรรยายไว้โดย Van der Walt (1970)ดังนี้

2.1การศึกษาลักษณะทางสัณฐานวิทยา ได้แก่ลักษณะรูปร่างและสีของโคโลนีที่เลี้ยงในอาหาร YM-agar slant บ่มเชื้อไว้ที่อุณหภูมิห้อง ศึกษาขนาดและรูปร่างของเซล โดยนำเชื้ออายุ 3-5 วันมาทำ fresh smear ในหยดสี methylene blue แล้วนำไปส่องด้วยกล้องจุลทัศน์กำลังขยาย 400 X และ 1000 X

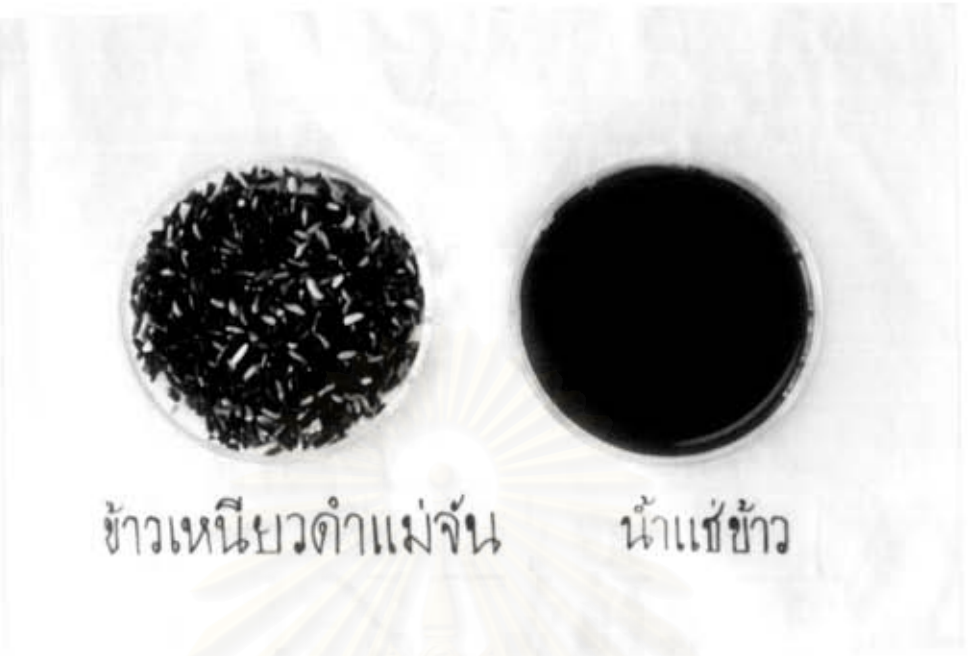
2.2 ศึกษาความสามารถในการหมักน้ำตาลต่าง ๆ โดยเขี่ยเชื้อลงในอาหารที่มีน้ำตาล glucose, galactose, sucrose, maltose ตรวจผลจากฟองอากาศที่เกิดในหลอดดักแก๊สแสดงว่ายีสต์มีความสามารถใช้น้ำตาลชนิดนั้นได้

พบว่าเชื้อ LY17 มีโคโลนีสีขาวครีม เป็นมัน เซลรูปร่างค่อนข้างกลมรี มีการแตกหน่อแบบ multiple budding ไม่สร้างเส้นใย mycelium มี ascospore รูปร่างกลมผิวเรียบจำนวน 1-4 สปอร์ ภายใน ascus สามารถหมักน้ำตาลกลูโคส กาแลคโตส ซูโครส และมอลโตส ซึ่งเป็นลักษณะของ *Saccharomyces* sp.

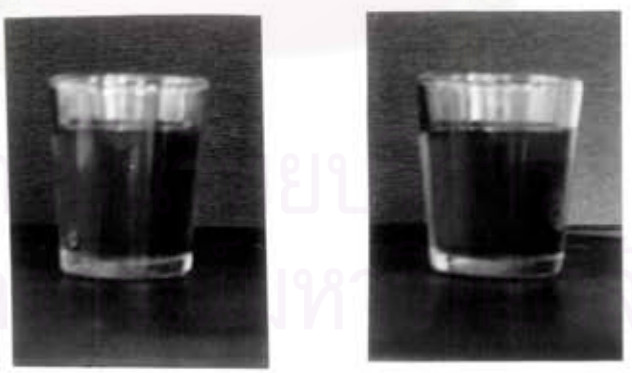


รูปที่ 7 ลักษณะของรา Rhizopus LM18 ที่คัดเลือกได้

รูปที่ 8 ลักษณะของยีสต์ Saccharomyces LY17 ที่คัดเลือกได้



รูปที่ 9 ข้าวเหนียวดำและน้ำแช่ข้าว



รูปที่ 10 ก. ไวน์ข้าวเหนียวดำที่ผลิตจากเชื้อบริสุทธิ์
ข. ไวน์ข้าวเหนียวดำที่ผลิตจากลูกแป้ง

รูปที่ 11 ตัวอย่างลูกแป้งเหล้าที่เก็บรวบรวมได้

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ภาคผนวก ง

แบบทดสอบทางประสาทสัมผัสของผลิตภัณฑ์ไวน์ข้าวเหนียวดำ

ชื่อผู้ทดสอบ.....

วันที่.....

คำอธิบาย ไวน์ข้าวเหนียวดำที่ท่านได้รับเป็นผลิตภัณฑ์ที่ได้จากการหมักโดยธรรมชาติ ไม่มีการเติมน้ำตาล และสารให้สี กลิ่นรส ใด ๆ มีการนำไปแช่เย็นที่ 10 องศาเซลเซียส ก่อนเสิร์ฟ

คำแนะนำ โปรดทำการประเมินตัวอย่างทั้ง 4 ตัวอย่างต่อไปนี้ ในด้านสี ความขุ่นใส กลิ่นรส รสชาติ และการยอมรับรวม โดยทำเครื่องหมาย | ลงบนจุดระดับที่เหมาะสมของสเกลที่สามารถอธิบายความรู้สึกของท่านที่มีต่อผลิตภัณฑ์ได้ดีที่สุด

<u>ด้านสีของผลิตภัณฑ์</u>

มีสีแดงน้อยที่สุด _____ มีสีแดงมากที่สุด

<u>ด้านความขุ่นใส</u>

มีความขุ่นมากที่สุด _____ มีความใสมากที่สุด

<u>ด้านกลิ่นรส</u>

ไม่มีกลิ่นรสของไวน์ข้าว _____ มีกลิ่นรสไวน์ข้าวมากที่สุด

<u>ด้านรสชาติความหวาน</u>

ไม่มีรสหวาน _____ มีรสหวานมากที่สุด

<u>ด้านความเป็นกรด</u>

ไม่มีความเปรี้ยว _____ มีความเปรี้ยวมากที่สุด

<u>ด้านการยอมรับรวม</u>

การยอมรับรวมน้อยที่สุด _____ การยอมรับรวมมากที่สุด

ขอบคุณค่ะ

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ประวัติผู้เขียน

นางสาววรรัตน์ โชติวรรณพร เกิดเมื่อวันที่ 16 กุมภาพันธ์ พ.ศ. 2510 ที่อ.เมือง จ.นครสวรรค์ จบการศึกษาเทคโนโลยีการเกษตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับ2) จากภาควิชาอุตสาหกรรมเกษตร คณะธุรกิจเกษตร สถาบันเทคโนโลยีการเกษตรแม่โจ้ ในปีการศึกษา 2531 และเข้าศึกษาต่อหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปี พ.ศ. 2536 โดยได้รับทุนการศึกษาจาก บริษัทไทวา จำกัด (มหาชน) ปัจจุบันรับราชการตำแหน่งอาจารย์ระดับ 4 สังกัดสถาบันราชภัฏเชียงราย อ.เมือง จ.เชียงราย

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย