

บทที่ 4

ผลการทดลองและวิจารณ์

4.1 การเก็บรวบรวมตัวอย่างถูกแป้งเห็ด

เก็บรวบรวมตัวอย่างถูกแป้งเห็ดจากแหล่งผลิตและจำหน่าย ในภาคกลาง ภาคเหนือ และภาคอีสานซึ่งเป็นแหล่งผลิตไวน์ข้าวมีชื่อของประเทศไทย โดยคัดเลือกถูกแป้งใหม่ซึ่งมีลักษณะสีขาวนวล มีกลิ่นหอมไม่เหม็นเปรี้ยว (นภา โตห์ทอง, 2535) ได้จำนวนตัวอย่างถูกแป้งเห็ดตัวอย่างจำนวนทั้งสิ้น 30 แห่งแสดงดังตารางที่ 5 พบว่าถูกแป้งเห็ดทุกตัวอย่างมีลักษณะกลม สีขาวครีม เมื่อทดสอบกลิ่นโดยการดมพบว่ามีกลิ่นหอมของเครื่องเทศ แต่ขนาดถูกแป้งจะแตกต่างกันไปเช่นเดียวกับความเนียนของเนื้อถูกแป้ง แสดงลักษณะของตัวอย่างถูกแป้งเห็ดดังรูปที่ 11 ในภาคผนวก ค. ซึ่งความเนียนของเนื้อถูกแป้งจะขึ้นกับชนิดของเครื่องเทศที่เติมลงไป在被แป้ง ในบางตัวอย่างมีชั้นเครื่องเทศ เช่น กากของกลีบกระเทียมให้เห็นชัดเจน สูตรการผลิตถูกแป้งเห็ดของแต่ละแห่งเป็นความลับและต่างกัน ดังนั้นจึงมีผลต่อคุณภาพไวน์ข้าวแตกต่างกันไป (วรชิน สถิตนิมานการ, 2493)

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 5 ตัวอย่างถูกแบ่งเหล่าที่เก็บรวบรวมได้

| ลำดับ | แหล่งที่มา |
|-------|------------------------------|
| 1 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.I |
| 2 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ |
| 3 | อ.ไพศาลี จ.นครสวรรค์ |
| 4 | อ.สอง จ.แพร่ |
| 5 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ |
| 6 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No. I |
| 7 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No. II |
| 8 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ |
| 9 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย |
| 10 | อ.เมือง จ.สุโขทัย |
| 11 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร |
| 12 | อ.ลานกระบือ จ.กำแพงเพชร |
| 13 | อ.เมือง จ.ตาก |
| 14 | อ.เมือง จ.ลำปาง |
| 15 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ |
| 16 | อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ |
| 17 | อ.เมือง จ.ลำพูน |
| 18 | อ.เมือง จ.เชียงราย No. I |
| 19 | อ.เมือง จ.เชียงราย No. II |
| 20 | ค.ขุนกรณ์ จ.เชียงราย |
| 21 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย |
| 22 | อ.เมือง จ.พิจิตร |
| 23 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No. I |
| 24 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No. II |
| 25 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ |

ตารางที่ 5 (ต่อ) ตัวอย่างลูกแป้งเหตั่วที่เก็บรวบรวมได้

| | |
|----|----------------------------|
| 26 | ต.วังชมภู จ.เพชรบูรณ์ |
| 27 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี |
| 28 | อ.เมือง จ.ตากนคร |
| 29 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No. II |
| 30 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี |

4.2 การคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ของราและยีสต์

จากการศึกษาคัดแยกเชื้อบริสุทธิ์ของราและยีสต์จากลูกแป้งเหตั่ว 30 แห่ง พบว่าสามารถคัดแยกเชื้อรากลุ่ม *Rhizopus* ได้จำนวนทั้งสิ้น 87 ไอโซเลท แสดงดังตารางที่ 6 และเชื้อยีสต์จำนวนทั้งสิ้น 107 ไอโซเลท แสดงดังตารางที่ 7 โดยเชื้อรากลุ่ม *Rhizopus* ที่แยกได้มีลักษณะเส้นใยไม่มีผนังกันมีสโตลอน (stolon) และไรซอยด์ (rhizoid) เส้นใยมีสีขาวเจริญเต็มภาชนะเลี้ยงเชื้อลักษณะคล้ายฟูผ้าย มีสปอร์สีดำ ลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะของเชื้อรากลุ่ม *Rhizopus* (Ainsworth, Saparrow และ Sussman, 1973) ส่วนเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้มีลักษณะโคโลนีสีขาวครีม เป็นมัน ส่วนเซลล์ที่สังเกตได้จากกล้องจุลทรรศน์มีลักษณะกลมรี มีการแตกหน่อบางไอโซเลท สังเกตเห็น ascospore จำนวน 1-2 สปอร์ ลักษณะดังกล่าวเป็นลักษณะของเชื้อ *Sachharomyces* แต่เนื่องจากบางไอโซเลทไม่สามารถสังเกตเห็น ascospore ในเซลล์ได้ จึงไม่สามารถระบุได้ว่าเชื้อยีสต์ทั้ง 107 ไอโซเลท เป็น *Saccharomyces* sp. จากตารางที่ 6 และ 7 ดังกล่าวจะสังเกตเห็นได้ว่าจำนวนไอโซเลทที่พบในลูกแป้งแต่ละแห่งมีจำนวนเล็กน้อยแตกต่างกัน ไป ตั้งแต่ 2-7 ไอโซเลท ที่เป็นเช่นนี้อาจเนื่องมาจากสูตรการผลิตลูกแป้งของแต่ละแห่งแตกต่างกัน โดยเฉพาะคุณภาพของวัตถุดิบที่นำมาทำลูกแป้งคือ ข้าว เครื่องเทศ และลูกแป้งเก่าที่ใช้เป็นเชื้อเริ่มต้น บัญญัติ สุขศรีงาม (2518) รายงานว่าเครื่องเทศที่เติมลงในลูกแป้งมีวัตถุประสงค์เพื่อยับยั้งการเจริญของจุลินทรีย์ที่ไม่ต้องการ เช่น กานพลู 30 % สามารถยับยั้งการเจริญของแบคทีเรียเกือบทุกชนิดหรือลูกจันทน์สามารถยับยั้งการเจริญของ *Mucor* sp. ได้ เนื่องจากสูตรการทำลูกแป้งของแต่ละแห่งเป็นความลับจึงไม่ทราบชนิดของเครื่องเทศที่เติมลงไป ประกอบกับความชำนาญในการผลิตลูกแป้งแตกต่างกัน จึงอาจเป็นผลให้เชื้อที่เจริญบนลูกแป้งมีชนิดและจำนวนจุลินทรีย์ปริมาณไม่เท่ากัน ทำให้ไอโซเลทที่พบในลูกแป้งแต่ละแห่งต่างกัน (ปราโมทย์ธรรมรัตน์, 2533)

ตารางที่ 6 เชื้อราที่คัดแยกได้จากอุกเบ็งแหล่งต่าง ๆ

| ลำดับ | แหล่งที่มา | รหัสเชื้อ | จำนวนไอโซเลท |
|-------|-----------------------------|--------------------------|--------------|
| 1 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | LM1,LM3,LM4,LM6,LM7 | 5 |
| 2 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ | LM9,LM10,LM12 | 3 |
| 3 | อ.ไพศาลี จ.นครสวรรค์ | LM13,LM14,LM15 | 3 |
| 4 | อ.สอง จ.แพร่ | LM16,LM18,LM19,LM20 | 4 |
| 5 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | LM23,LM24 | 2 |
| 6 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.1 | LM25,LM27,LM28 | 3 |
| 7 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | LM29,LM30 | 2 |
| 8 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | LM31,LM33,LM34 | 3 |
| 9 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | LM35,LM36,LM37,LM38,LM39 | 5 |
| 10 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | LM40,LM41,LM43 | 3 |
| 11 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | LM45,LM46,LM48 | 3 |
| 12 | อ.ลานกระบือ จ.กำแพงเพชร | LM50,LM52 | 2 |
| 13 | อ.เมือง จ.ตาก | LM54,LM55,LM57 | 3 |
| 14 | อ.เมือง จ.ลำปาง | LM58,LM59,LM60 | 3 |
| 15 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | LM61,LM62,LM63 | 3 |
| 16 | อ.คอกสะแกก่ จ.เชียงใหม่ | LM64,LM66 | 2 |
| 17 | อ.เมือง จ.ลำพูน | LM68,LM69 | 2 |
| 18 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.1 | LM72,LM73,LM74 | 3 |
| 19 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.11 | LM75,LM76,LM78 | 3 |
| 20 | ค.ขุนกรณ์ จ.เชียงราย | LM79,LM80 | 2 |
| 21 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย | LM81,LM82,LM84 | 3 |
| 22 | อ.เมือง จ.พิจิตร | LM86,LM87,LM88 | 3 |
| 23 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | LM89,LM91 | 2 |
| 24 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.11 | LM92,LM93,LM94 | 3 |
| 25 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | LM96,LM97,LM 98 | 3 |

ตารางที่ 6 (ต่อ) เชื้อราที่แยกได้จากลูกแป้งแห้งต่าง ๆ

| | | | |
|----|---------------------------|-------------------------|---|
| 26 | ต.วังชมพู จ.เพชรบูรณ์ | LM100,LM101 | 2 |
| 27 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | LM102,LM103 | 2 |
| 28 | อ.เมือง จ.สกลนคร | LM105,LM106,LM107,LM108 | 4 |
| 29 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | LM109,LM111 | 2 |
| 30 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | LM112,LM113,LM114,LM115 | 4 |



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 7 เชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จากถูกแบ่งแหล่งต่างๆ

| ลำดับ | แหล่งที่มา | รหัสเชื้อ | จำนวนไอโซเลท |
|-------|-----------------------------|---|--------------|
| 1 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | LS1,LS2,LS3,LS4,LS5,LS6,LS7 | 7 |
| 2 | อ.ตากขาว จ.นครสวรรค์ | LS8,LS9,LS10,LS11 | 4 |
| 3 | อ.ไพศาลี จ.นครสวรรค์ | LS12,LS13 | 2 |
| 4 | อ.ตอง จ.แพร่ | LS14,LS15,LS16,LS17 | 4 |
| 5 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | LS19,LS20,LS21,LS22,LS23 | 5 |
| 6 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.1 | LS24,LS25,LS26 | 3 |
| 7 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | LS27,LS28 | 2 |
| 8 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | LS29,LS30,LS31,LS32,LS33 | 5 |
| 9 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | LS34,LS35,LS36,LS37,LS38,LS39 | 6 |
| 10 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | LS40,LS41,LS42 | 3 |
| 11 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | LS43,LS45,LS46 | 3 |
| 12 | อ.ลานกระบือ จ.กำแพงเพชร | LS47,LS48 | 2 |
| 13 | อ.เมือง จ.ตาก | LS49,LS50,LS51,LS52 | 4 |
| 14 | อ.เมือง จ.ลำปาง | LS53,LS54,LS55 | 3 |
| 15 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | LS56,LS58,LS59 | 3 |
| 16 | อ.ดอยสะเก็ด จ.เชียงใหม่ | LS60,LS61,LS62 | 3 |
| 17 | อ.เมือง จ.ลำพูน | LS63,LS64,LS65,LS66 | 4 |
| 18 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.1 | LS67,LS68,LS69,LS70 | 4 |
| 19 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.11 | LS71,LS72 | 2 |
| 20 | ค.ขุนกรณ์ จ.เชียงราย | LS73,LS74 | 2 |
| 21 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย | LS75,LS76,LS77 | 3 |
| 22 | อ.เมือง จ.พิจิตร | LS79,LS80 | 2 |
| 23 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | LS82,LS83,LS85 | 3 |
| 24 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.11 | LS86,LS87,LS88,LS89,LS90 | 3 |
| 25 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | LS91,LS92,LS 93 | 5 |
| 26 | ค.วังชมพู จ.เพชรบูรณ์ | LS94,LS95,LS96,LS98 | 3 |
| 27 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | LS99,LS100,LS101 | 4 |
| 28 | อ.เมือง จ.สกลนคร | LS101,LS103,LS104,LS105, LS106,LS107 | 6 |
| 29 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | LS108,LS109,LS110 | 3 |
| 30 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | LS111,LS112,LS113,LS11 | 4 |

4.3 การคัดเลือกเชื้อราที่มีประสิทธิภาพในการหมักข้าวเหนียวดำ

4.3.1 เชื้อราที่คัดแยกได้จำนวน 87 ไอโซเลทจากถูกแป้งตัวอย่าง เมื่อนำมาคัดเลือกเบื้องต้นเพื่อคัดเลือกเชื้อที่มีประสิทธิภาพต่ำออกไป จากผลการทดลองดังตารางที่ 8 พบว่า เชื้อที่มีประสิทธิภาพดีในการย่อยแป้ง คือทำให้น้ำแป้งใสและเมื่อทดสอบกับสารละลายไอโอดีนมีระดับความสามารถ +++ และ ++++ เหมาะสมต่อการคัดเลือกในขั้นคอนต่อไป มีจำนวนทั้งสิ้น 30 ไอโซเลท โดยความใสที่เกิดขึ้นของน้ำแป้งจะเกิดขึ้นบริเวณรอบเส้นใยของเชื้อราก่อนบริเวณอื่นๆ อาจเนื่องมาจากเอนไซม์อะไมเลส (amylase) ที่เชื้อราผลิตขึ้นมีความสามารถย่อยสลายกับสเตรทจำพวกแป้งได้ผลผลิตเป็นน้ำตาล (Weiser, Mountney และ Gould, 1978) ซึ่งอะไมเลสเป็นเอนไซม์ที่ถูกปลดปล่อยออกนอกเซลล์ของเชื้อรา (extra cellular enzyme) แล้วเข้า hydrolyzed แป้งบริเวณรอบเส้นใยของเชื้อรา ดังนั้นอาหารเลี้ยงเชื้อบริเวณรอบเส้นใยของเชื้อราจะมีลักษณะใสมาก่อนบริเวณอื่น ต่อมาเมื่อเชื้อเจริญสร้างเส้นใยและผลิตเอนไซม์มากขึ้นจึงสามารถไฮโดรไลซ์น้ำแป้งให้ใสได้เป็นบริเวณกว้างขึ้น Bernfeld (1951) กล่าวว่า เมื่อแป้งถูก hydrolyze โดยอะไมเลสคุณสมบัติการให้สีกับไอโอดีนของน้ำแป้งจะเปลี่ยนไปจากสีน้ำเงินเป็นสีน้ำตาลแดง สีเขียวอมเหลืองหรือสีเหลืองเช่นเดียวกับสีของสารละลายไอโอดีนมากขึ้น (เสาวนีย์ จักรพิทักษ์, 2527) เมื่อพิจารณาลักษณะการเจริญของเชื้อราพบว่ามีการสร้างเส้นใยสีขาว บริเวณผิวด้านบนของอาหารเลี้ยงเชื้อในหลอดทดสอบและชูเส้นใยขึ้นสู่อากาศ

ตารางที่ 8 ความสามารถในการย่อยแป้งของเชื้อราที่คัดแยกได้จากถุกแป้งแหล่งต่างๆ

| ประสิทธิภาพ | Liquefaction | | Dextrinization | |
|-------------|--|--------------|---|--------------|
| | รหัสเชื้อ LM | จำนวนไอโซเลท | รหัสเชื้อ LM | จำนวนไอโซเลท |
| ++++ | 1,3,4,9,13,16,18, 23,33,35,105,108 | 12 | 1,4,9,13,16,18,23,33, 35,105,108 | 11 |
| +++ | 19,24,25,28,29,31, 36,37,40,61,64,72, 76,82,89,96,106, 114 | 18 | 3,19,24,25,28,29,31, 36,37,40,61,64,72,76 82,89,96,106,114 | 19 |
| ++ | 6,7,10,12,14,15,20 27,30,38,39,43,48 50,52,54,58,59,62 68,69,73,74,75,79 81,84,86,87,88,91 92,93,97,100,101, 102,103,107,109, 111,112,115 | 43 | 6,7,10,12,14,15,20, 27,30,38,39,43,48,50 52,54,58,59,62,68, 69,73,74,75,79,81,84 86,87,88,91,92,93, 97,100,101,102,103, 107,109,111,112,115 | 43 |
| + | 34,41,45,46,57,66, 78,94 | 8 | 34,41,45,46,57,66,78 94 | 8 |
| - | 55,60,63,80,98, 113 | 8 | 55,60,63,80,98,113 | 8 |

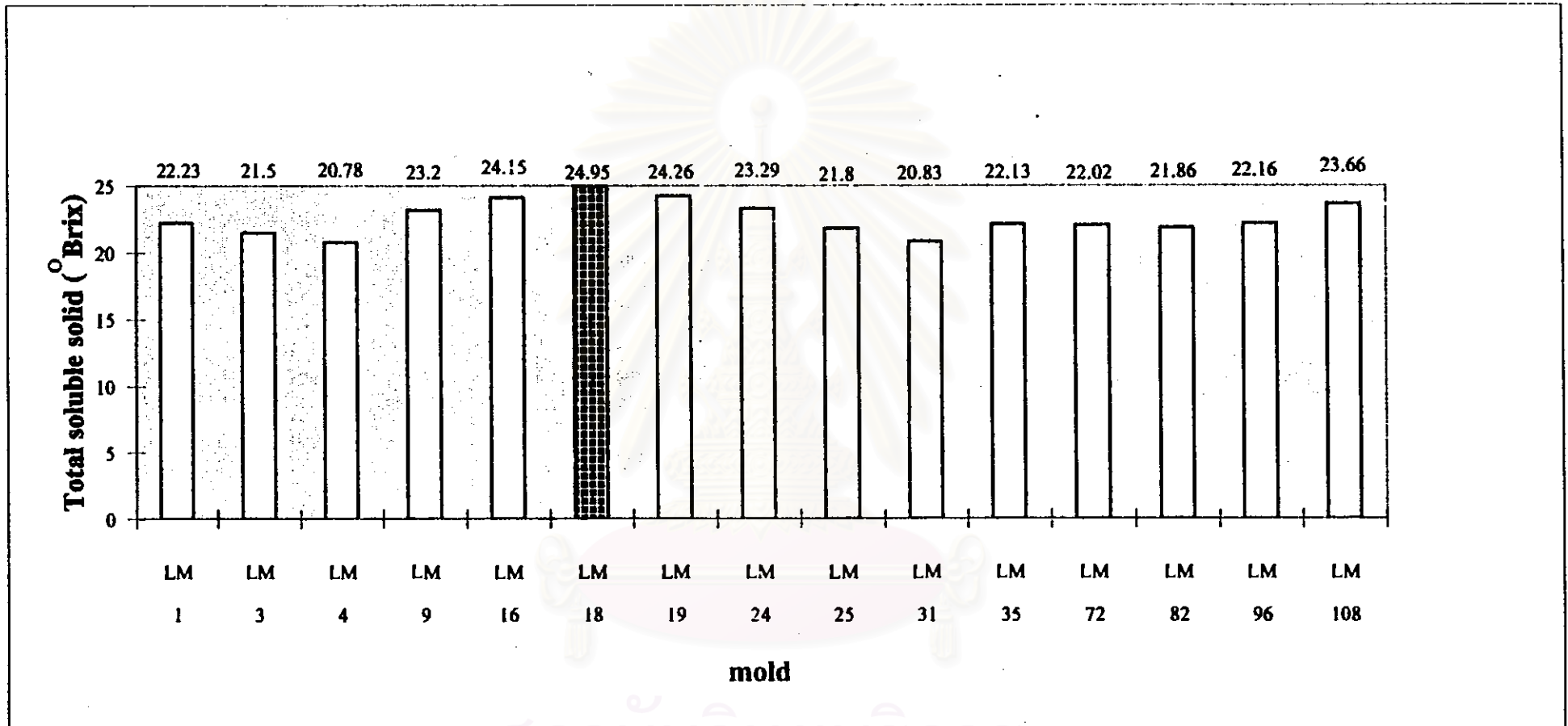
หมายเหตุ Liquefaction หมายถึง ความสามารถของเชื้อราในการย่อยแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อแล้ว เป็นผลให้อาหารเลี้ยงเชื่อนั้นมีลักษณะใสขึ้น โดยให้ลำดับความใสจากมากที่สุดถึงน้อยที่สุดเป็น +++++, +++, ++, +, - ตามลำดับ

Dextrinization หมายถึง ความสามารถของเชื้อราในการย่อยแป้งในอาหารเลี้ยงเชื้อ แล้วเป็นผลให้ปริมาณแป้งในอาหารเลี้ยงเชื่อนั้นลดลงจึงทำปฏิกิริยากับสีของสารละลายไอโอดีน แตกต่างกันตามปริมาณแป้งที่เหลือ

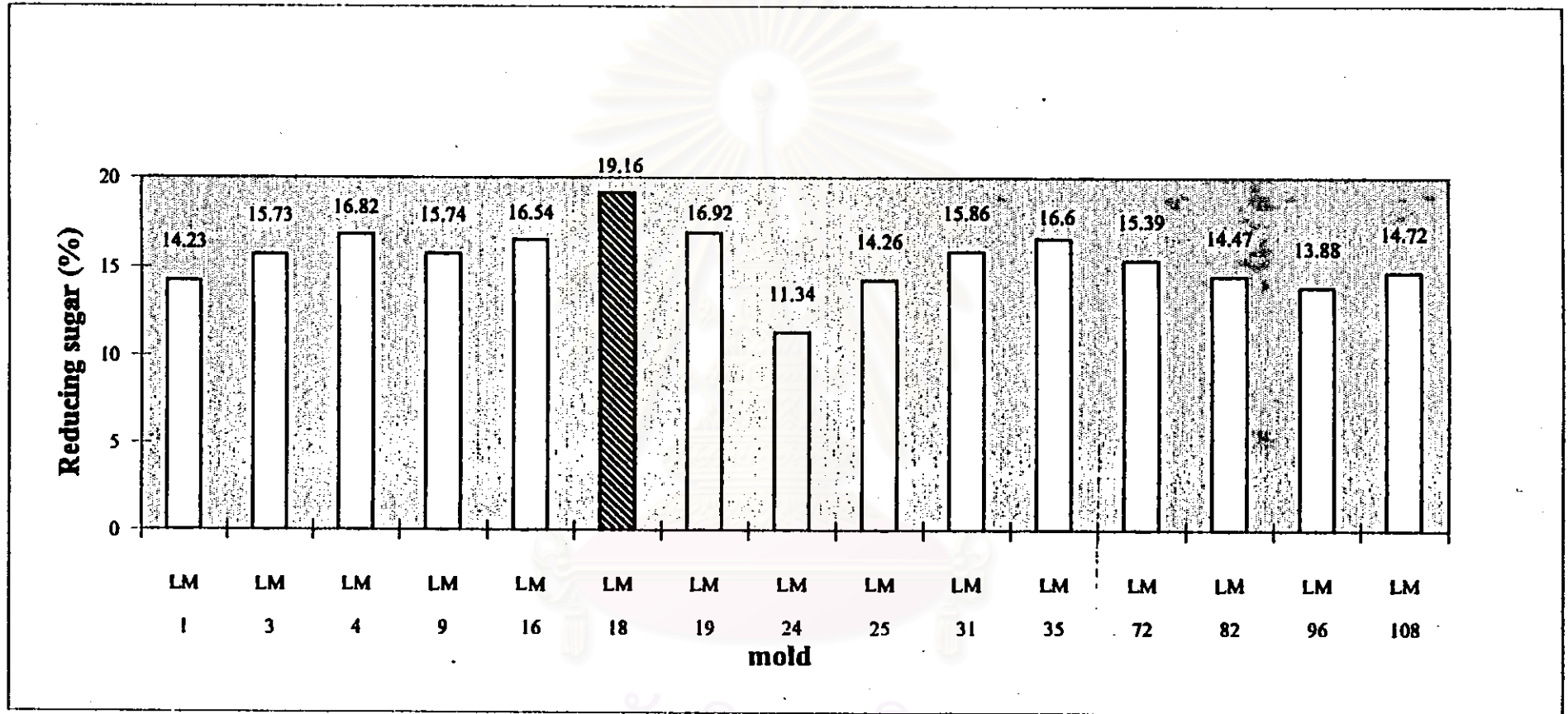
4.3.2 การคัดเลือกโดยทดสอบประสิทธิภาพการหมักข้าวเหนียวดำ

จากการศึกษานำเชื้อราที่ผ่านการคัดเลือกเบื้องต้นจำนวน 30 ไอโซเลท มาหมักข้าวเหนียวดำนึ่งสุกเป็นเวลา 4 วัน พบว่ามีของเหลวรสหวานอมเปรี้ยว มีกลิ่นหอมของข้าวหมักซึ่งเรียกว่า “ น้ำค๊อช ” (มนครี เชาวน์สังเกตุ, 2521) เกิดขึ้นในทุกตัวอย่าง เมื่อนำน้ำค๊อชไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมี พบว่ามีเชื้อรา 15 ไอโซเลทที่มีความสามารถหมักข้าวเหนียวดำได้ ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำปริมาณสูงระหว่าง 20.78 - 24.95 °Brix แสดงคั่งรูปที่ 3 ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์มีค่าระหว่าง 11.34 - 19.16 % แสดงคั่งรูปที่ 4 และมีปริมาณกรดประมาณ 0.32-1.07 % แสดงคั่งรูปที่ 5 เมื่อทดสอบทางสถิติและเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan's new multiple range test ดังตารางที่ 17-19 (ภาคผนวก ก.) พบว่าเชื้อรา LM18 มีประสิทธิภาพสูงในการหมักข้าวเหนียวดำ เนื่องจากให้ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ และน้ำตาลรีดิวซ์สูงที่สุดคือ 24.95 °Brix และ 19.16 % ตามลำดับ และมีปริมาณกรดค่อนข้างต่ำคือ 0.52 % จึงคัดเลือกเชื้อรา LM18 เพื่อศึกษาค่าในขั้นต่อไป

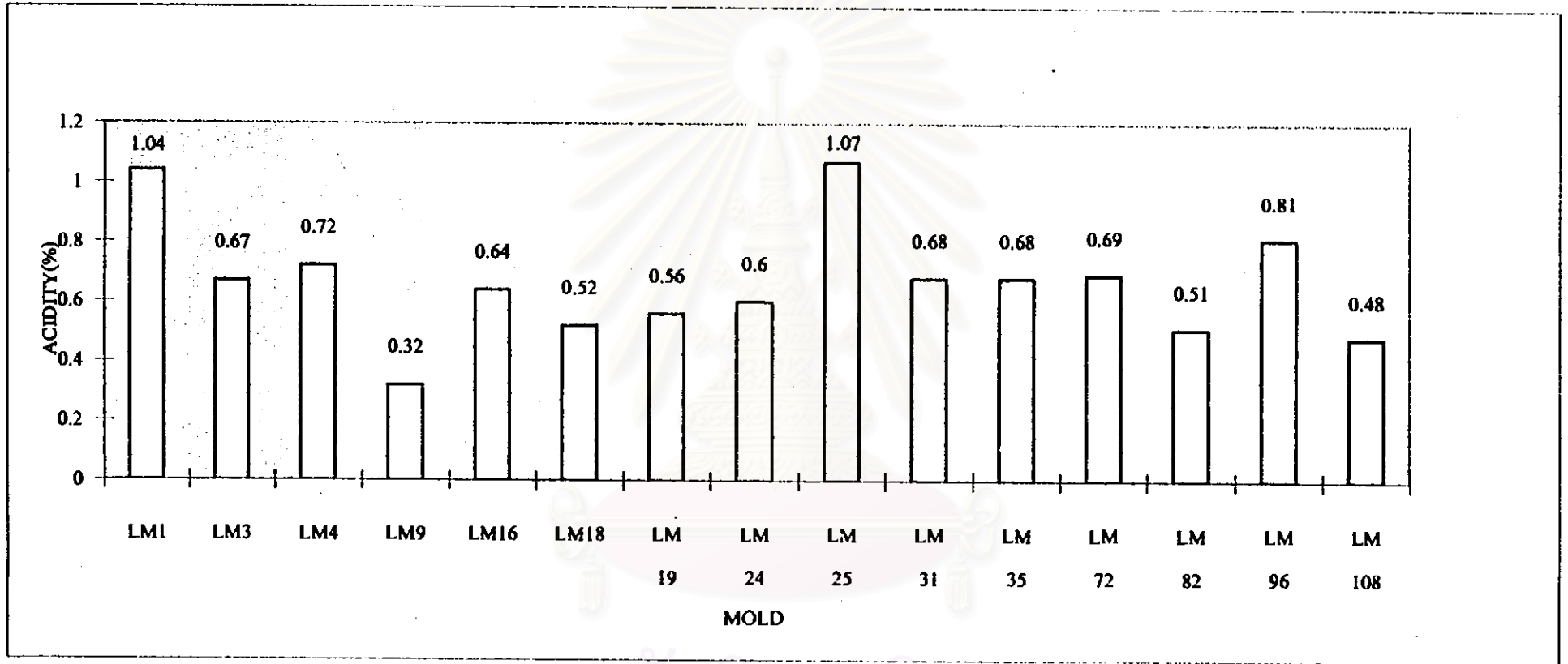
การย่อยแป้งให้เป็นน้ำตาลในขั้นตอนนี้เกิดจากเอนไซม์ อัมัยเลสในเชื้อราทำการ hydrolyze พันธะแป้งของข้าวเหนียวดำให้มีพันธะสั้นลงได้โมเลกุลของน้ำตาลกลูโคส มอลโตส และ ลิมิทเด็กทรีน (limit dextrins) ละลายอยู่ในน้ำค๊อช ซึ่งน้ำค๊อชอาจเป็นน้ำที่เมิดแป้งในข้าวเหนียวดำถูกซบไว้ขณะแช่ก่อนนึ่งให้สุกและอุ้มน้ำไว้ในโครงร่างแหของ amylose และ amylopectin ขณะเกิด gelatinization เมื่อได้รับความร้อน หรืออาจเป็นน้ำที่ไว้ล้างเมือกข้าวเหนียวสุกเพื่อไม่ให้เมล็ดข้าวเกาะติดกัน จึงสามารถวัดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ สำหรับปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์นั้นวัดได้จากน้ำตาลกลูโคสที่เอนไซม์ในราไฮโครไลซ์แป้งได้ เช่นเดียวกับงานวิจัยของ Oyashiki, Uchida และ Hanai (1985) รายงานว่าเอนไซม์ α -amylase , glucoamylase และ acid protease ในเชื้อรา *Aspergillus* เป็นตัวการหลักที่จะย่อยแป้งในข้าวให้เป็นน้ำตาล แต่เนื่องจากเอนไซม์ไม่สามารถไฮโครไลซ์พันธะของแป้งได้เป็นกลูโคสทั้งหมด แต่ยังมี limit dextrins ซึ่งไม่มีสมบัติเป็น reducing sugar จึงทำให้ปริมาณน้ำตาลรีดิวซ์ที่วัดได้มีค่าต่ำกว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (Kitahara, Suganuma and Nagahama, 1996 ; Sanchez และคณะ, 1988; ในการหมักสาค่นั้นปริมาณกรดแลกติกในสาคามีความเข้มข้นสูงชันกว่าปริมาณกรดแลกติกที่เดิมลงไปในช่วงเริ่มต้นของการหมักเล็กน้อย แต่ในงานวิจัยไม่มีการเติมกรดแลกติกเพื่อปรับ pH แต่พบว่ามีกรดเกิดขึ้นเช่นเดียวกัน อาจเนื่องจากเหตุผลที่ Heselüne และ Ellis (1973) รายงานว่า สายพันธุ์ของ *Rhizopus* มีความสามารถผลิตกรดแลกติกได้



รูปที่ 3 ปริมาณ Total soluble solid ของน้ำด้อยที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวดำด้วยเชื้อราที่คัดแยกได้



รูปที่ 4 : Reducing sugar ของน้ำค้อยที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวดำด้วยเชื้อราที่คัดแยกได้



รูปที่ 5 ปริมาณ Acidity ของน้ำค้อยที่ได้จากการหมักข้าวเหนียวดำด้วยเชื้อราที่คัดแยกได้

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

4.4 การคัดเลือกเชื้อยีสต์

4.4.1 จากการศึกษาฆ่าเชื้อยีสต์จำนวน 107 ไอโซเลท ที่แยกได้จากถูกแป้งหมัก มาทดสอบความสามารถในการหมักสารละลายน้ำตาล 22 °Brix ซึ่งเป็นภาวะที่กำหนดจากผลการย่อยแป้งของราจึงทำให้ได้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในน้ำค้อยมีค่าสูงดังแสดงในตารางที่ 15 ภาคผนวก ก. โดยมีค่าประมาณ 19-25°Brix Kerger-van Rij (1984) กล่าวว่าความเข้มข้นของน้ำตาลมีผลต่อการเจริญของยีสต์หากสารละลายน้ำตาลมีความเข้มข้นสูงจะทำให้เซลล์ของยีสต์สูญเสียน้ำ จึงต้องการคัดเลือกยีสต์ที่สามารถหมักน้ำตาลเข้มข้น 22°Brix ได้ดี ผลการทดลองแสดงดังตารางที่ 9 พบว่ายีสต์ทุกไอโซเลทสามารถหมักน้ำตาลกลูโคสได้ แต่ประสิทธิภาพในการหมักของยีสต์แต่ละไอโซเลทแตกต่างกัน โดยยีสต์ LY17 สามารถใช้น้ำตาล 22°Brix ให้ตกลงได้มากที่สุด โดยพิจารณาจากค่าปริมาณน้ำตาลที่เหลืออยู่เมื่อตรวจสอบผลน้อยที่สุดคือมีค่าเพียง 6.2 °Brix

4.4.2 นอกจากยีสต์จะมีความสามารถใช้น้ำตาล 22°Brix ได้ดีโดยมีปริมาณน้ำตาลตกต่ำลงแล้ว เชื้อยีสต์นั้นควรจะสามารถในการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์สูงด้วยโดยปกติไวน์ข้าวของไทยที่หมักด้วยถูกแป้งมีแอลกอฮอล์ประมาณ 8-12 % (ประสิทธิ์ คุรุวัฒนา, 2533) แต่สภาพของประเทศญี่ปุ่นซึ่งหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์ของราและยีสต์มีแอลกอฮอล์สูงถึง 17-22 % (Phaff และคณะ, 1978 ; Kodama, 1970 และ Yoshizawa, 1985) ในงานวิจัยต้องการคัดเลือกเชื้อยีสต์ที่มีความสามารถในการหมักให้แอลกอฮอล์ได้สูง Prescott และ Dunn (1959) กล่าวว่า ปริมาณแอลกอฮอล์ ตั้งแต่ 13-15 % จะยับยั้งการหมักของยีสต์ทั่วไปได้ ในการทดลองนี้ต้องการเชื้อที่ทนต่อแอลกอฮอล์อย่างน้อย 15 % ผลการทดลองแสดงในตารางที่ 10 พบว่ามียีสต์เพียง 4 ไอโซเลทเท่านั้นที่สามารถหมักสารละลายน้ำตาล 10°Brix ที่มีแอลกอฮอล์ 15 % แอลกอฮอล์ โดยปรากฏฟองก๊าซใน Durham tube ในหลอดทดสอบในระดับความสามารถ +++ และ ++++ คือ มีฟองก๊าซมากกว่า 1 ใน 3 ของหลอด จึงนำยีสต์ทั้ง 4 ไอโซเลทไปทดลองหมักข้าวเหนียวดำร่วมกับเชื้อรา LM18 เป็นเวลา 14 วัน นำไวน์ข้าวที่ได้ไปวิเคราะห์องค์ประกอบทางเคมีและวิเคราะห์ทางสถิติเพื่อคัดเลือกยีสต์ที่ดีที่สุดเพื่อศึกษาในขั้นต่อไป ผลการวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแสดงดังตารางที่ 11 พบว่าไวน์ทั้ง 4 ตัวอย่างมี total soluble solid ระหว่าง 6.20-8.40 โดยเชื้อ LY17 คงเหลือปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ต่ำที่สุด คือ 6.20 และมีปริมาณแอลกอฮอล์สูงที่สุด คือ 17.00 % ทั้งนี้แสดงให้เห็นว่ายีสต์ LY17 มีความสามารถเปลี่ยนน้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ดี และมีปริมาณกรดต่ำ คือ 0.62 % จึงคัดเลือกเชื้อยีสต์ LY17 เพื่อศึกษาในขั้นต่อไป

ตารางที่ 9 ความสามารถในการหมักน้ำตาลเข้มข้น 22 °Brix ของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จาก ถูกแป็ง

| รหัสเชื้อ | แหล่งถูกแป็ง | ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณน้ำตาลที่เหลือหลังการหมัก 1 สัปดาห์ (°Brix) |
|-----------|----------------------------|--|
| LY1 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | 12.6 \pm 1.00 |
| LY2 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | 16.10 \pm 1.47 |
| LY3 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | 14.50 \pm 1.31 |
| LY4 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | 16.30 \pm 1.51 |
| LY5 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | 13.65 \pm 1.29 |
| LY6 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | 9.40 \pm 0.81 |
| LY7 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | 10.80 \pm 0.94 |
| LY8 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | 19.00 \pm 1.01 |
| LY9 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | 18.70 \pm 1.77 |
| LY10 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | 16.50 \pm 1.62 |
| LY11 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | 18.20 \pm 1.64 |
| LY12 | อ.ไพศาลี จ.นครสวรรค์ No.1 | 17.30 \pm 1.68 |
| LY13 | อ.ไพศาลี จ.นครสวรรค์ No.1 | 14.70 \pm 1.49 |
| LY14 | อ.สอง จ.แพร่ | 6.50 \pm 0.44 |
| LY15 | อ.สอง จ.แพร่ | 7.10 \pm 0.68 |
| LY16 | อ.สอง จ.แพร่ | 7.20 \pm 0.72 |
| LY17 | อ.สอง จ.แพร่ | 6.20 \pm 0.38 |
| LY19 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | 6.50 \pm 1.75 |
| LY20 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | 17.10 \pm 1.51 |
| LY21 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | 7.20 \pm 0.74 |
| LY22 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | 14.20 \pm 1.29 |
| LY23 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | 14.80 \pm 1.39 |
| LY24 | อ.ทุ่งช้าง จ.อุดรธานี No.1 | 18.0 \pm 1.72 |
| LY25 | อ.ทุ่งช้าง จ.อุดรธานี No.1 | 15.40 \pm 1.55 |
| LY26 | อ.ทุ่งช้าง จ.อุดรธานี No.1 | 16.30 \pm 1.47 |

ตารางที่ 9 (ต่อ) ความสามารถในการหมักน้ำตาลเข้มข้น 22 °Brix ของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จาก
ถูกแป้ง

| รหัสเชื้อ | แหล่งถูกแป้ง | ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณน้ำตาลที่เหลือหลังการหมัก 1 สัปดาห์ (°Brix) |
|-----------|-----------------------------|--|
| LY27 | อ.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | 19.10 \pm 1.94 |
| LY28 | อ.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | 17.80 \pm 1.61 |
| LY29 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | 16.60 \pm 1.44 |
| LY30 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | 17.40 \pm 1.63 |
| LY31 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | 18.50 \pm 1.79 |
| LY32 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | 12.30 \pm 0.13 |
| LY33 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | 16.60 \pm 1.63 |
| LY34 | อ.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | 9.70 \pm 0.95 |
| LY35 | อ.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | 11.30 \pm 1.05 |
| LY36 | อ.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | 8.80 \pm 0.68 |
| LY37 | อ.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | 14.60 \pm 1.20 |
| LY38 | อ.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | 15.20 \pm 1.32 |
| LY39 | อ.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | 10.80 \pm 1.09 |
| LY40 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | 16.20 \pm 1.65 |
| LY41 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | 18.65 \pm 1.73 |
| LY42 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | 18.00 \pm 1.76 |
| LY43 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | 19.20 \pm 1.88 |
| LY45 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | 16.10 \pm 1.79 |
| LY46 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | 18.70 \pm 1.63 |
| LY47 | อ.ลานกระบือ จ.กำแพงเพชร | 20.10 \pm 1.42 |
| LY48 | อ.ลานกระบือ จ.กำแพงเพชร | 17.50 \pm 0.68 |
| LY49 | อ.เมือง จ.ตาก | 14.30 \pm 1.22 |
| LY50 | อ.เมือง จ.ตาก | 18.20 \pm 1.78 |
| LY51 | อ.เมือง จ.ตาก | 16.60 \pm 1.62 |
| LY52 | อ.เมือง จ.ตาก | 15.50 \pm 1.46 |

ตารางที่ 9 (ต่อ) ความสามารถในการหมักน้ำตาลเข้มข้น 22 °Brix ของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จาก
ถูกแป้ง

| รหัสเชื้อ | แหล่งถูกแป้ง | ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณน้ำตาลที่เหลือหลังการหมัก 1 สัปดาห์ (°Brix) |
|-----------|--------------------------|--|
| LY53 | อ.เมือง จ.ลำปาง | 14.60 \pm 1.21 |
| LY54 | อ.เมือง จ.ลำปาง | 17.50 \pm 1.74 |
| LY55 | อ.เมือง จ.ลำปาง | 10.80 \pm 1.15 |
| LY56 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | 16.60 \pm 1.52 |
| LY58 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | 19.42 \pm 1.77 |
| LY59 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | 17.00 \pm 1.63 |
| LY60 | อ.คอกสะแกก่ จ.เชียงใหม่ | 12.00 \pm 0.23 |
| LY61 | อ.คอกสะแกก่ จ.เชียงใหม่ | 14.40 \pm 1.28 |
| LY62 | อ.คอกสะแกก่ จ.เชียงใหม่ | 13.80 \pm 1.39 |
| LY63 | อ.เมือง จ.ลำพูน | 16.20 \pm 1.41 |
| LY64 | อ.เมือง จ.ลำพูน | 18.80 \pm 1.70 |
| LY65 | อ.เมือง จ.ลำพูน | 17.10 \pm 1.61 |
| LY66 | อ.เมือง จ.ลำพูน | 17.40 \pm 1.70 |
| LY67 | อ.เมือง จ.เชิงราช No.1 | 16.20 \pm 1.55 |
| LY68 | อ.เมือง จ.เชิงราช No.1 | 14.30 \pm 1.37 |
| LY69 | อ.เมือง จ.เชิงราช No.1 | 14.00 \pm 1.41 |
| LY70 | อ.เมือง จ.เชิงราช No.1 | 15.20 \pm 1.50 |
| LY71 | อ.เมือง จ.เชิงราช No.11 | 16.10 \pm 1.42 |
| LY72 | อ.เมือง จ.เชิงราช No.11 | 17.40 \pm 1.65 |
| LY73 | ค.ขุนกรณ์ จ.เชิงราช | 15.00 \pm 1.29 |
| LY74 | ค.ขุนกรณ์ จ.เชิงราช | 14.80 \pm 1.25 |
| LY75 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชิงราช | 13.30 \pm 1.20 |
| LY76 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชิงราช | 16.20 \pm 1.65 |
| LY78 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชิงราช | 14.70 \pm 1.67 |
| LY79 | อ.เมือง จ.พิจิตร | 18.00 \pm 1.66 |

ตารางที่ 9 (ต่อ) ความสามารถในการหมักน้ำตาลเข้มข้น 22 °Brix ของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จาก
ถูกแป้ง

| รหัสเชื้อ | แหล่งถูกแป้ง | ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณน้ำตาลที่เหลือหลังการหมัก 1 สัปดาห์ (°Brix) |
|-----------|-------------------------|--|
| LY80 | อ.เมือง จ.พิจิตร | 17.30 \pm 1.54 |
| LY82 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 16.90 \pm 1.45 |
| LY83 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 19.25 \pm 1.84 |
| LY85 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 18.10 \pm 1.67 |
| LY86 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 17.30 \pm 1.72 |
| LY87 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 15.20 \pm 1.35 |
| LY88 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 16.70 \pm 1.42 |
| LY89 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 15.20 \pm 1.44 |
| LY90 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | 18.40 \pm 1.80 |
| LY91 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | 19.50 \pm 1.87 |
| LY92 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | 19.20 \pm 1.89 |
| LY93 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | 16.70 \pm 1.64 |
| LY94 | ค.วังชมพู จ.เพชรบูรณ์ | 18.40 \pm 1.95 |
| LY95 | ค.วังชมพู จ.เพชรบูรณ์ | 17.60 \pm 1.78 |
| LY96 | ค.วังชมพู จ.เพชรบูรณ์ | 16.20 \pm 0.59 |
| LY98 | ค.วังชมพู จ.เพชรบูรณ์ | 17.80 \pm 1.77 |
| LY99 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | 18.30 \pm 1.88 |
| LY100 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | 19.70 \pm 1.98 |
| LY101 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | 18.00 \pm 1.29 |
| LY102 | อ.เมือง จ.สกลนคร | 14.70 \pm 1.36 |
| LY103 | อ.เมือง จ.สกลนคร | 15.10 \pm 1.33 |
| LY104 | อ.เมือง จ.สกลนคร | 13.30 \pm 1.28 |
| LY105 | อ.เมือง จ.สกลนคร | 12.70 \pm 1.22 |
| LY106 | อ.เมือง จ.สกลนคร | 13.50 \pm 0.63 |
| LY107 | อ.เมือง จ.สกลนคร | 16.20 \pm 1.52 |

ตารางที่ 9 (ต่อ) ความสามารถในการหมักน้ำตาลเข้มข้น 22 °Brix ของเชื้อยีสต์ที่คัดแยกได้จาก
ถูกแป้ง

| รหัสเชื้อ | แหล่งถูกแป้ง | ค่าเฉลี่ย \pm ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน ปริมาณน้ำตาลที่เหลือหลังการหมัก 1 สัปดาห์ (°Brix) |
|-----------|---------------------------|--|
| LY108 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | 17.00 \pm 1.82 |
| LY109 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | 16.40 \pm 1.54 |
| LY110 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | 13.10 \pm 1.38 |
| LY111 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | 15.30 \pm 1.36 |
| LY112 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | 18.20 \pm 1.76 |
| LY113 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | 14.10 \pm 1.32 |
| LY114 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | 16.80 \pm 1.74 |

ตารางที่ 10 ประสิทธิภาพในการหมักสารละลายน้ำตาลที่มีแอลกอฮอล์ 15 เปอร์เซ็นต์ ของยีสต์
ที่แยกได้จากถูกแป้งแหล่งต่าง ๆ

| รหัสเชื้อ | แหล่งถูกแป้ง | ประสิทธิภาพการหมักในภาวะ ที่มีแอลกอฮอล์ 15 % |
|-----------|---------------------------|---|
| LY1 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | + |
| LY2 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY3 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY4 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY5 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY6 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | +++ |
| LY7 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.1 | + |
| LY8 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY9 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY10 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY11 | อ.ลาดยาว จ.นครสวรรค์ No.1 | - |

ตารางที่ 10 (ต่อ) ประสิทธิภาพในการหมักสารละลายน้ำตาลที่มีแอลกอฮอล์ 15 เปอร์เซ็นต์ ของ
ยีสต์ที่แยกได้จากถูกแปรงแหล่งต่าง ๆ

| รหัสชื่อ | แหล่งถูกแปรง | ประสิทธิภาพการหมักในภาวะ ที่มีแอลกอฮอล์ 15 % |
|----------|-----------------------------|---|
| LY12 | อ.ไพศาลี จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY13 | อ.ไพศาลี จ.นครสวรรค์ No.1 | - |
| LY14 | อ.สอง จ.แพร่ | ++ |
| LY15 | อ.สอง จ.แพร่ | +++ |
| LY16 | อ.สอง จ.แพร่ | ++ |
| LY17 | อ.สอง จ.แพร่ | ++++ |
| LY19 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | - |
| LY20 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | - |
| LY21 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | ++ |
| LY22 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | + |
| LY23 | อ.สูงเม่น จ.แพร่ | - |
| LY24 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | - |
| LY25 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | + |
| LY26 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.1 | + |
| LY27 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | - |
| LY28 | ค.ทุ่งขี้ จ.อุตรดิตถ์ No.11 | - |
| LY29 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | - |
| LY30 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | - |
| LY31 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | - |
| LY32 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | + |
| LY33 | อ.เมือง จ.อุตรดิตถ์ | - |
| LY34 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | +++ |
| LY35 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | + |
| LY36 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | + |

ตารางที่ 10 (ต่อ) ประสิทธิภาพในการหมักสารละลายน้ำตาลที่มีแอลกอฮอล์ 15 เปอร์เซ็นต์ ของ
ฮีสต์ที่แยกได้จากอุกแบ็งแหล่งต่าง ๆ

| รหัสเชื้อ | แหล่งอุกแบ็ง | ประสิทธิภาพการหมักในภาวะ ที่มีแอลกอฮอล์ 15 % |
|-----------|---------------------------|---|
| LY37 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | + |
| LY38 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | - |
| LY39 | ค.เมืองเก่า จ.สุโขทัย | - |
| LY40 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | - |
| LY41 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | - |
| LY42 | อ.เมือง จ.สุโขทัย | - |
| LY43 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | - |
| LY45 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | - |
| LY46 | อ.พรานกระต่าย จ.กำแพงเพชร | - |
| LY47 | อ.ลานกระบือ จ.กำแพงเพชร | - |
| LY48 | อ.ลานกระบือ จ.กำแพงเพชร | - |
| LY49 | อ.เมือง จ.ตาก | - |
| LY50 | อ.เมือง จ.ตาก | - |
| LY51 | อ.เมือง จ.ตาก | - |
| LY52 | อ.เมือง จ.ตาก | - |
| LY53 | อ.เมือง จ.ลำปาง | + |
| LY54 | อ.เมือง จ.ลำปาง | - |
| LY55 | อ.เมือง จ.ลำปาง | - |
| LY56 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | - |
| LY58 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | - |
| LY59 | อ.เมือง จ.เชียงใหม่ | - |
| LY60 | อ.คอกตะก่ จ.เชียงใหม่ | + |
| LY61 | อ.คอกตะก่ จ.เชียงใหม่ | - |
| LY62 | อ.คอกตะก่ จ.เชียงใหม่ | + |

ตารางที่ 10 (ต่อ) ประสิทธิภาพในการหมักสารละลายน้ำตาลที่มีแอลกอฮอล์ 15 เปอร์เซ็นต์ ของ
 อีستที่แยกได้จากลูกแป้งแหล่งต่าง ๆ

| รหัสเชื้อ | แหล่งลูกแป้ง | ประสิทธิภาพการหมักในภาวะ ที่มีแอลกอฮอล์ 15 % |
|-----------|---------------------------|---|
| LY63 | อ.เมือง จ.ลำพูน | - |
| LY64 | อ.เมือง จ.ลำพูน | - |
| LY65 | อ.เมือง จ.ลำพูน | - |
| LY66 | อ.เมือง จ.ลำพูน | - |
| LY67 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.1 | - |
| LY68 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.1 | - |
| LY69 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.1 | - |
| LY70 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.1 | - |
| LY71 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.11 | + |
| LY72 | อ.เมือง จ.เชียงราย No.11 | - |
| LY73 | ค.ขุนกรณ์ จ.เชียงราย | - |
| LY74 | ค.ขุนกรณ์ จ.เชียงราย | - |
| LY75 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย | - |
| LY76 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย | - |
| LY78 | อ.เวียงป่าเป้า จ.เชียงราย | - |
| LY79 | อ.เมือง จ.พิจิตร | - |
| LY80 | อ.เมือง จ.พิจิตร | - |
| LY82 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | - |
| LY83 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | - |
| LY85 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.1 | - |
| LY86 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.11 | - |
| LY87 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.11 | + |
| LY88 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.11 | - |
| LY89 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.11 | + |

ตารางที่ 10 (ต่อ) ประสิทธิภาพในการหมักสารละลายน้ำตาลที่มีแอลกอฮอล์ 15 เปอร์เซ็นต์ ของ
ยีสต์ที่แยกได้จากถูกแป้งแหล่งต่าง ๆ

| รหัสชื่อ | แหล่งถูกแป้ง | ประสิทธิภาพการหมักในภาวะ ที่มีแอลกอฮอล์ 15 % |
|----------|---------------------------|---|
| LY90 | อ.เมือง จ.พิษณุโลก No.11 | - |
| LY91 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | - |
| LY92 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | - |
| LY93 | อ.เมือง จ.เพชรบูรณ์ | - |
| LY94 | อ.วังชมภู จ.เพชรบูรณ์ | - |
| LY95 | อ.วังชมภู จ.เพชรบูรณ์ | - |
| LY96 | อ.วังชมภู จ.เพชรบูรณ์ | - |
| LY98 | อ.วังชมภู จ.เพชรบูรณ์ | - |
| LY99 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | - |
| LY100 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | - |
| LY101 | อ.เมือง จ.อุทัยธานี | - |
| LY102 | อ.เมือง จ.สกลนคร | - |
| LY103 | อ.เมือง จ.สกลนคร | - |
| LY104 | อ.เมือง จ.สกลนคร | ++ |
| LY105 | อ.เมือง จ.สกลนคร | + |
| LY106 | อ.เมือง จ.สกลนคร | ++ |
| LY107 | อ.เมือง จ.สกลนคร | - |
| LY108 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | - |
| LY109 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | - |
| LY110 | อ.เมือง จ.นครสวรรค์ No.11 | - |
| LY111 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | - |
| LY112 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | - |
| LY113 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | + |
| LY114 | อ.เมือง จ.อุบลราชธานี | - |

- หมายเหตุ ++++ หมายถึง ประสิทธิภาพการหมักดีมากคือมีฟองอากาศใน durham tube 1 ใน 3 ส่วน
 +++ หมายถึง ประสิทธิภาพการหมักดีคือมีฟองอากาศใน durham tube 1 ใน 4 ส่วน
 ++ หมายถึง ประสิทธิภาพการหมักพอใช้คือมีฟองอากาศใน durham tube 1 ใน 5 ส่วน
 + หมายถึง ประสิทธิภาพการหมักน้อยคือมีฟองอากาศใน durham tube 1 ใน 6 ส่วน
 - หมายถึง ไม่มีประสิทธิภาพในการหมักคือไม่มีฟองอากาศใน durham tube

ตารางที่ 11 องค์ประกอบทางเคมีของไวน์ข้าวที่หมักด้วยยีสต์ LY6, LY15, LY17, LY34 ร่วมกับรา LM18

| รหัสไอโซทอป | ค่าเฉลี่ย± ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | |
|-------------|---------------------------------|-------------------------|-----------------|------------------------|
| | Total soluble solid (Brix) | Alcohol(%) | pH ^m | Total acidity (%) |
| LY6 | 7.70±0.17 ^{ab} | 15.20±0.14 ^c | 3.38±0.13 | 0.77±0.04 ^b |
| LY15 | 7.50±0.11 ^{ab} | 15.80±0.06 ^b | 3.47±0.11 | 0.61±0.03 ^c |
| LY17 | 6.20±0.06 ^b | 17.00±0.13 ^a | 3.45±0.10 | 0.62±0.06 ^c |
| LY34 | 8.40±0.21 ^a | 15.16±0.42 ^c | 3.30±0.04 | 0.92±0.02 ^a |

*ตัวอักษรที่ต่างกันแสดงว่าค่าเฉลี่ยนั้นมีความแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P \leq 0.05$)

สถาบันวิทยบริการ
 จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

5. การหมักไวน์ข้าวเหนียวดำด้วยเชื้อบริสุทธิ์เปรียบเทียบกับหมักด้วยลูกแป้งเห็ด

จากการศึกษาคัดเลือกเชื้อราและยีสต์จากลูกแป้งเห็ดและทดสอบประสิทธิภาพพบว่าเชื้อรา LM18 และเชื้อยีสต์ LY17 มีประสิทธิภาพดี จึงนำมาศึกษาในขั้นตอนนี้เพื่อหมักไวน์ข้าวเหนียวดำ เปรียบเทียบกับการหมักด้วยลูกแป้งเห็ดโดยลูกแป้งเห็ดที่นำมาใช้คือลูกแป้งเห็ดจาก อ.สอง จ.แพร่ เพราะเป็นแหล่งที่คัดแยกได้ของเชื้อทั้งสอง

ผลการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์แสดงในตารางที่ 12 พบว่าในระยะ 3 วันแรกของการหมักเชื้อมีกิจกรรมไฮโดรไลซ์แป้งในข้าวได้ดี ตั้งเกิดจากปริมาณ total soluble solid มีค่าสูงขึ้นจากวันที่ 1 ของการหมัก คือ 11.90°Brix เป็น 24.75°Brix ในวันที่ 3 ของการหมัก จากนั้นจะค่อย ๆ ลดปริมาณลง ขณะที่ปริมาณแอลกอฮอล์จะค่อย ๆ เพิ่มขึ้น และการหมักด้วยลูกแป้งแสดงในตารางที่ 13 ปรากฏผลการทดลองดังนี้

5.1 ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ (total soluble solid) ในการหมักข้าวเหนียวดำด้วยเชื้อบริสุทธิ์และลูกแป้งมีการเปลี่ยนแปลงของปริมาณของแข็งที่ละลายได้ในรูปแบบเดียวกัน คือ ระยะ 4 วันแรกมีปริมาณเพิ่มสูงขึ้นเรื่อย ๆ โดยการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์จะมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ 24.75 ในวันที่ 3 ของการหมัก หลังจากนั้นค่าก็จะลดลง เมื่อการหมักสิ้นสุดปริมาณของแข็งที่ละลายได้ของเชื้อบริสุทธิ์มีค่าต่ำกว่าการหมักด้วยลูกแป้งเล็กน้อยคือ 7.10°Brix และ 10.10°Brix ตามลำดับ ปริมาณของแข็งที่เพิ่มขึ้นเนื่องมาจากกิจกรรมของราและจุลินทรีย์อื่นในลูกแป้งที่ช่วยแป้งข้าวเหนียวให้มีโมเลกุลเล็กลงจนละลายในน้ำไวน์ข้าวได้รวมทั้งกรดที่จุลินทรีย์ผลิตขึ้นทำให้วัดปริมาณได้สูงในช่วงแรก จากนั้นของแข็งที่ละลายได้บางส่วน ได้แก่พวกน้ำตาลจะถูกยีสต์ใช้ในกิจกรรมการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ จึงมีปริมาณของแข็งที่ละลายได้ลดลง ในการผลิตสาเกก็ให้ผลเช่นเดียวกัน (Amerine และ Ough, 1974) Ueda และคณะ (1990) กล่าวว่าปริมาณของแข็งที่ละลายได้ ส่วนใหญ่ที่ลดลงนั้นเนื่องจากถูกใช้ในกิจกรรมการหมักให้เกิดแอลกอฮอล์ ของยีสต์

5.2 ปริมาณแอลกอฮอล์ ในวันที่ 2 ของการหมักตรวจพบปริมาณแอลกอฮอล์ในไวน์ข้าวที่หมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์มีปริมาณสูงกว่าการหมักด้วยลูกแป้ง คือ 6.35% และ 2.45% ตามลำดับ อาจเนื่องเชื้อยีสต์สามารถทำกิจกรรมใช้น้ำตาลเป็นแอลกอฮอล์ได้ทันที แต่อย่างไรก็ตามรูปแบบการเปลี่ยนแปลงของปริมาณแอลกอฮอล์ในตัวอย่างทั้งสองคล้ายคลึงกัน โดยมีปริมาณเพิ่ม

ขึ้นเรื่อย ๆ ซึ่งในกรณีของการหมักเชื้อบริสุทธิ์ปริมาณแอลกอฮอล์จะเพิ่มจาก 6.35 % เป็น 16.90 % ในวันหมักสุดท้ายคือวันที่ 14 เช่นเดียวกับการหมักด้วยลูกแป้งเห็ดจะเพิ่มจาก 2.45 เป็น 12.75 % การที่แอลกอฮอล์ในไวน์ข้าวจากการหมักด้วยลูกแป้งมีแอลกอฮอล์ต่ำกว่า อาจเนื่องจากในลูกแป้งมีอิทธิพลหลายสายพันธุ์และบางสายพันธุ์อาจเป็นสายพันธุ์ที่ไม่ทนต่อแอลกอฮอล์ และกรดที่เกิดขึ้น จึงผลิตแอลกอฮอล์ได้ต่ำ ปริมาณของแข็งที่ละลายได้ จึงเหลือสูงกว่า (Amerine และ Ough, 1974 ; Phaff และคณะ, 1968)

5.3 ความเป็นกรด-ค่าง (พีเอช) การเปลี่ยนแปลงพีเอชของไวน์ข้าวทั้งสองตัวอย่างมีค่าค่อนข้างคงที่ คือ ระหว่าง 3.41-3.79 ในไวน์ที่หมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์ และ 3.41-4.38 ในไวน์ที่หมักด้วยลูกแป้งซึ่งพีเอชดังกล่าวไม่เป็นอันตรายต่อยีสต์ แต่เป็นประโยชน์ในการจำกัดการเจริญของจุลินทรีย์ที่อาจปนเปื้อนในการหมักได้ แต่ถ้าพีเอชต่ำมากประมาณ 3.0 หรือน้อยกว่า จะทำให้การหมักเกิดช้าลงโดยจะไปยับยั้งการทำงานของเซลล์ยีสต์ (Amerine, 1979)

5.4 ค่าความเป็นกรด ในไวน์ข้าวทั้งสองตัวอย่างมีการเพิ่มขึ้นของกรดปริมาณเล็กน้อยจนถึงวันที่ 3-6 ของการหมักจากนั้นจะลดลงเล็กน้อยค่อนข้างคงที่ โดยไวน์ที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์มีค่าระหว่าง 0.54 - 0.58 % และการหมักด้วยลูกแป้งมีปริมาณกรด 0.16 - 0.92 % ความเป็นกรดที่เกิดขึ้นนั้นเนื่องจากกระบวนการหมัก นอกจากได้แอลกอฮอล์แล้วยังเกิดกรดอะซิติกและกรดแลกติก รวมทั้งอาจมีกรดฟอร์มิก, กรดโพรพิโอนิก และกรดไขมันอื่น ๆ ด้วย (Amerine, 1979) ปริมาณกรดที่ลดลงและค่อนข้างคงที่ในช่วงวันท้าย ๆ ของการหมัก อาจเนื่องมาจากการทำงานของยีสต์ถูกยับยั้งโดยแอลกอฮอล์ที่เกิดขึ้น กรดซึ่งเป็นผลิตภัณฑ์ได้ในกระบวนการหมักจึงลดลงหรือค่อนข้างคงที่

ไวน์ข้าวทั้งสองตัวอย่างถูกนำไปแช่เย็นที่ 10°C ก่อนนำไปทดสอบทางประสาทสัมผัส โดยผู้ทดสอบชิมที่มีความคุ้นเคยกับผลิตภัณฑ์ โดยใช้แบบทดสอบแบบ scaling test (ไพโรจน์ วิริยะจารี, 2535) แบบทดสอบแสดงดังภาคผนวก ง. เมื่อวิเคราะห์ความแปรปรวนด้วยโปรแกรมสำเร็จรูป MSTAT และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วย Duncan' new multiple rang test (สมบุญ สุขพงษ์ และ เปรมใจ ตรีสรานุวัฒนา, 2527 ; สุรพล อุปลิตตฤฎ, 2523) ได้ผลดังตารางที่ 14 พบว่าไวน์ข้าวเหนียวค่าที่ได้จากการหมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์ LM18 และ LY17 ไม่มีความแตกต่างอย่างมีนัยสำคัญทางสถิติ ($P > 0.05$) กับไวน์ข้าวที่หมักด้วยลูกแป้งเห็ด โดยผู้ทดสอบให้การยอมรับไวน์ทั้งสองตัวอย่างคือจากเชื้อบริสุทธิ์และลูกแป้งเห็ด โดยในด้านสีของไวน์มีคะแนนเฉลี่ยสูงถึง 8.48 และ 8.50 ตามลำดับ ซึ่งผู้ทดสอบให้ความเห็นว่าไวน์มีสีแดงค่อนข้างเข้มอันเป็นเป็นสีของ

ข้าวเหนียวดำ ในด้านกลิ่นรสมีคะแนนความชอบระหว่าง 7.70 และ 7.90 ตามลำดับ โดยไวน์ที่ได้มีกลิ่นรสหอม ซึ่งกลิ่นหอมของไวน์อาจเป็นสารพวก pyruvic acid, n-butyric, กรดแลกติก และ aromatic acid ต่าง ๆ (Kodama, 1970 ; Ainsworth, Separow และ Sussman, 1973) ในด้านความหวานได้คะแนน 4.55 และ 4.25 คือหวานน้อย ซึ่งเป็นลักษณะที่ดีของไวน์ข้าวไทย ในด้านความเปรี้ยวได้คะแนน 2.90 และ 2.81 ตามลำดับ แสดงว่ามีความเปรี้ยวไม่มาก ในด้านความขุ่นสังเกตเห็นลักษณะค่อนข้างใสแต่มีความขุ่นบ้างอาจเป็นความขุ่นเนื่องจากเซลล์จุลินทรีย์ (Yoshizawa, 1985) โดยมีคะแนน 7.96 และ 7.86 ตามลำดับ และคะแนนการยอมรับมีค่า 8.35 และ 8.05 แสดงว่าผู้ทดสอบให้การยอมรับไวน์ทั้งสองตัวอย่าง โดยไม่สามารถแยกความแตกต่างของไวน์ทั้งสองชนิดได้ ลักษณะของไวน์ที่หมักได้มีสีแดง กลิ่นหอม เปรอร์แซนด์ แอลกอฮอล์สูง และจัดเป็นลักษณะที่ดีของไวน์ข้าว (Yoshizawa, 1985)



สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 12 องค์ประกอบทางเคมีของไวน์ข้าวที่หมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์ LM18+LY17

| วันที่หมัก | ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | |
|------------|--------------------------------|-------------|-----------|------------------|
| | Total soluble solid (°Brix) | Alcohol (%) | pH | Total acidity(%) |
| 1 | 11.90±0.98 | 1.90±0.14 | 3.44±0.06 | 0.54±0.02 |
| 2 | 16.05±1.05 | 6.35±0.07 | 3.41±0.01 | 1.01±0.01 |
| 3 | 24.75±1.25 | 8.22±0.04 | 3.43±0.01 | 1.12±0.00 |
| 4 | 20.00±0.82 | 12.53±0.25 | 3.45±0.01 | 0.99±0.01 |
| 5 | 16.90±0.1 | 14.50±0.14 | 3.47±0.03 | 0.78±0.01 |
| 6 | 13.60±0.10 | 15.15±0.07 | 3.43±0.04 | 0.63±0.01 |
| 7 | 11.40±0.56 | 15.70±1.14 | 3.46±0.03 | 0.60±0.00 |
| 14 | 7.10±0.21 | 16.90±0.87 | 3.79±0.08 | 0.58±0.00 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 13 องค์ประกอบทางเคมีของไวน์ข้าวที่หมักด้วยลูกแป้งจากแหล่ง อ.สอง จ.แพร่

| วันที่หมัก | ค่าเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | |
|------------|--------------------------------|-------------|-----------|------------------|
| | Total soluble solid (°Brix) | Alcohol (%) | pH | Total acidity(%) |
| 1 | 6.60±0.14 | 1.80±0.12 | 4.38±0.12 | 0.16±0.00 |
| 2 | 8.50±0.14 | 2.45±0.21 | 3.72±0.18 | 0.35±0.04 |
| 3 | 14.50±0.82 | 3.77±0.19 | 3.65±0.15 | 0.81±0.06 |
| 4 | 19.05±1.49 | 6.44±0.22 | 3.41±0.16 | 0.94±0.06 |
| 5 | 21.60±1.57 | 9.70±0.42 | 3.42±0.12 | 1.15±0.04 |
| 6 | 16.23±0.78 | 11.30±0.42 | 3.51±0.13 | 1.05±0.03 |
| 7 | 11.65±0.49 | 11.65±0.49 | 3.53±0.15 | 0.91±0.02 |
| 14 | 10.10±0.42 | 12.75±0.35 | 3.55±0.15 | 0.92±0.08 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ตารางที่ 14 ผลการทดสอบทางประสาทสัมผัสไวน์ข้าวที่หมักด้วยเชื้อบริสุทธิ์เปรียบเทียบกับ
กับการหมักด้วยลูกแป้ง

| แหล่งที่มา ของเชื้อที่ใช้หมัก | คะแนนเฉลี่ย±ส่วนเบี่ยงเบนมาตรฐาน | | | | | |
|----------------------------------|----------------------------------|----------------------|---------------------------|------------------------------|-----------------------------|----------------------------|
| | สี ^m | กลิ่นรส ^m | ความ หวาน ^m | ความ เปรี้ยว ^m | ความขุ่น ใส ^m | ยอมรับ รวม ^m |
| เชื้อบริสุทธิ์ LM18+LY17 | 8.48±0.31 | 7.70±0.50 | 4.55±0.73 | 2.90±0.32 | 7.96±0.54 | 8.35±0.81 |
| ลูกแป้งเห็ด อ.สอง จ.แพร่ | 8.50±0.57 | 7.90±0.74 | 4.25±0.5 | 2.81±0.50 | 7.86±0.67 | 8.05±0.74 |

สถาบันวิทยบริการ
จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย