

การทำใสและยืดอายุการเก็บรักษาของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารด้วยการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชัน



วิทยานิพนธ์นี้เป็นส่วนหนึ่งของการศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

สาขาวิชาเทคโนโลยีทางอาหาร ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

ปีการศึกษา 2561

ลิขสิทธิ์ของจุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

CLARIFICATION AND SHELF LIFE EXTENSION OF COOKING SWEET RICE WINE BY
ULTRAFILTRATION



A Thesis Submitted in Partial Fulfillment of the Requirements
for the Degree of Master of Science in Food Technology
Department of Food Technology
Faculty of Science
Chulalongkorn University
Academic Year 2018
Copyright of Chulalongkorn University

หัวข้อวิทยานิพนธ์	การทำไอและยืดอายุการเก็บรักษาของไวน์ข้าวหวานปรุง อาหารด้วยการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชัน
โดย	น.ส.อรรวี คำประสงค์
สาขาวิชา	เทคโนโลยีทางอาหาร
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก	ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ
อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม	รองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประภคิตชัยวัฒนา

คณะวิทยาศาสตร์ จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย อนุมัติให้หัวข้อวิทยานิพนธ์ฉบับนี้เป็นส่วนหนึ่งของ
การศึกษาตามหลักสูตรปริญญาวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต

..... คณบดีคณะวิทยาศาสตร์
(ศาสตราจารย์ ดร.พลกฤษณ์ แสงวณิช)

คณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์

..... ประธานกรรมการ
(รองศาสตราจารย์ ดร.จิรรัตน์ อนันตกุล)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์หลัก
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ)

..... อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ร่วม
(รองศาสตราจารย์ ดร.ชื่นจิต ประภคิตชัยวัฒนา)

..... กรรมการ
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.ศศิกานต์ กุ้งษ์ศักดิ์)

..... กรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย
(ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร.อรอง จันทร์ประสาทสุข)

อรรถวิ คำประสงศ์ : การทำใสและยืดอายุการเก็บรักษาของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารด้วยการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชัน. (CLARIFICATION AND SHELF LIFE EXTENSION OF COOKING SWEET RICE WINE BY ULTRAFILTRATION) อ.ที่ปรึกษาหลัก : ผศ. ดร.ชิตพงษ์ ประดิษฐสุวรรณ, อ.ที่ปรึกษาร่วม : รศ. ดร.ชื่นจิต ประกิตชัยวัฒนา

มิรินเป็นหนึ่งในเครื่องปรุงรสที่สำคัญสำหรับอาหารญี่ปุ่น ผลิดจากข้าว และแอลกอฮอล์ โดยแบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่ Hon mirin, Blended mirin และ Cooking sweet rice wine (ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร) โดยไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารเป็นมิรินที่มีราคาถูก นิยมใช้ทั่วไป ซึ่งได้จากการหมักแป้ง และโปรตีนในข้าวให้เป็นน้ำตาล และกรดอะมิโน แล้วเติมแอลกอฮอล์ให้มีปริมาณร้อยละ 14 ในงานวิจัยนี้จะผลิตมิรินด้วยวิธีดังกล่าวด้วยข้าวเหนียวไทย สายพันธุ์ กข 6 นำมาผ่านกระบวนการหมักโดยเชื้อราที่เหมาะสมที่สุดจาก 2 สายพันธุ์ ได้แก่ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้จะต้องมีสีเหลืองอ่อนใสและสามารถเก็บรักษาได้ในอุณหภูมิห้องโดยไม่เกิดการตกตะกอนหรือเน่าเสีย ดังนั้นจึงใช้กระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration, UF) เพื่อลดจำนวนจุลินทรีย์ที่ทำให้เกิดการเน่าเสียและกำจัดโปรตีนบางส่วนที่ทำให้เกิดความขุ่น (Haze) โดยเลือกใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุล (Molecular weight cut off, MWCO) ที่ 10 kDa และ 100 kDa จากผลการทดลองพบว่า *Aspergillus oryzae* เป็นสายพันธุ์เชื้อราที่มีความเหมาะสมในการผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร เนื่องจากน้ำคั่งที่ได้จากการหมักมีปริมาณโปรตีนสูงกว่า มีค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนสูงกว่า มีร้อยละผลผลิตสูงกว่าและใช้เวลาในการหมักน้อยกว่าการหมักโดยใช้ *Amylomyces rouxii* ดังนั้นจึงเลือกใช้ *Aspergillus oryzae* เป็นเชื้อราในการทำกล้าเชื้อ ในกระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันพบว่ามีความจำเป็นที่ต้องนำน้ำคั่งที่ได้มาผ่านกระบวนการจัดการเบื้องต้นด้วยการกรองหยาบด้วยผ้าขาวบางแล้วทิ้งให้ตกตะกอนตามธรรมชาติเป็นเวลา 24 ชั่วโมงก่อนนำไปกรองด้วยเยื่อแผ่นเพื่อลดความต้านทานที่มีต่อการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชัน การกรองของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารผ่านเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa พบว่าช่วงแรกของการกรอง อัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นมีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa สูงกว่าอัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นมีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa แต่อัตราการลดลงของอัตราเร็วการกรองมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจน โดยที่อัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa จะลดลงเร็วกว่าอัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นมีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และจะลดลงจนมีอัตราเร็วการกรองที่ใกล้เคียงกับอัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นมีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa ในช่วงเวลาต่อไป เมื่อพิจารณา รูปแบบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างพารามิเตอร์ 2 ตัวใน อัตราเร็วการกรอง (q) ปริมาตรฟิลเตรต (v) และระยะเวลาในการกรอง (t) ของโมเดลจุดตันการกรองในรูปแบบต่างๆ กระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันโดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa มีกลไกการกรองแบบเกิดเค้ก ร่วมกับกลไกการกำจัดการอุดตันหรือเค้กกรองนั้นๆด้วยแรงเฉือนอันเนื่องมาจากการไหลขวาง แต่เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100kDa มีการอุดตันภายในเกิดขึ้นร่วมอยู่ด้วยอย่างชัดเจน และเมื่อเปรียบเทียบจำนวนยีสต์และราในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองกับก่อนกรอง พบว่าการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลทั้ง 2 ชนิดสามารถลดปริมาณยีสต์และราได้ถึง $5 \log$ CFU/ml เมื่อพิจารณาสมบัติทางกายภาพด้านสี และความขุ่น พบว่าไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรองด้วยเยื่อแผ่นมีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa มีสีที่แตกต่างกับมิรินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) แต่ในกรณีที่ใช้เยื่อแผ่นมีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa พบว่าไม่มีความแตกต่างกับมิรินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ขณะที่ความขุ่นของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรองด้วยเยื่อแผ่นเยื่อแผ่นมีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa ไม่มีความแตกต่างกับมิรินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) นอกจากนี้เมื่อเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1, 3 และ 5 เดือน ไม่พบเชื้อจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงของสีและความขุ่นในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรอง

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

สาขาวิชา เทคโนโลยีทางอาหาร
ปีการศึกษา 2561

ลายมือชื่อนิสิต
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาหลัก
ลายมือชื่อ อ.ที่ปรึกษาร่วม

5872154023 : MAJOR FOOD TECHNOLOGY

KEYWORD: ULTRAFILTRATION/COOKING SWEET RICE WINE/MOLECULAR WEIGHT CUT OFF/BLOCKING MODEL

Ornrawee Khamprasong : CLARIFICATION AND SHELF LIFE EXTENSION OF COOKING SWEET RICE WINE BY ULTRAFILTRATION. Advisor: Asst. Prof. Chidphong Pradistsuwana, Ph.D. Co-advisor: Assoc. Prof. Cheunjit Prakitchaiwattana, Ph.D.

Mirin is one of the major Japanese seasonings. It is made from rice and alcohol and can be divided into 3 types, comprising Hon mirin, blended mirin, and cooking sweet rice wine. Out of these 3 types of mirin, cooking sweet rice wine is widely used and inexpensive. It can be obtained from the fermentation of rice, in which starch and protein in rice is transformed into sugar and amino acid. Alcohol was subsequently added to the resulting sugar and amino acid to obtain the alcohol content up to 14%. In this research, to produce cooking sweet rice wine, Thai glutinous rice, RD6, was fermented using either *Aspergillus Oryzae* or *Amylomyces Rouxii* by the method described above. In order to obtain cooking sweet rice wine with a clearly light yellow color and a long shelf life at a room temperature without the formation of turbidity (haze) and spoiling, an ultrafiltration (UF) with the 10-kDa or 100-kDa molecular weight cut-off (MWCO) membrane was employed to eliminate microorganisms and haze protein. The results revealed that *Aspergillus Oryzae* was more suitable than *Amylomyces rouxii*, as it was found that, for a short period of fermentation, *Aspergillus oryzae* gave higher protein content, degree of hydrolysis, and yield in the hydrolysate solution, called Nam-toi, than did *Amylomyces rouxii*. Accordingly, in this research, *Aspergillus oryzae* was chosen to produce Koji, which is a starter for the production to cooking sweet rice wine. In the UF process, the pre-treatment of Nam-toi by sieving through cheesecloth and allowing impurities in Nam-toi to get settled by sedimentation for 24 hour is necessary in order to decrease the filtration resistance. It was found that, during the initial stage of the UF, the 100-kDa membrane yielded a higher filtration flux than did the 10-kDa one. However, the decreasing rate in the filtration flux of the 100-kDa membrane was higher than that of the 10-kDa one. Thus, eventually, the filtration flux of these 2 sizes of membrane approached almost the same level. According to linear relationship of the combination of 2 out of 3 parameters, which include the filtration rate (q), the filtration volume (v), and the filtration time (t), that described the membrane blocking models and the cake filtration model, it was found that the filtration with both 100-kDa and 10- kDa membranes were co-dominated by the cake filtration and the cross-flow thin cake filtration. However, the findings from the additional experiments, which revealed that the filtration rates of the filtration of pure water before and after the filtration of cooking sweet rice wine for the 100-kDa membrane were remarkably different, whereas those for the 10-kDa membrane were not, indicated that the filtration through the 100-kDa membrane was also dominated by the internal blocking. The UF by both MWCO membranes could eliminate yeast and mold by 5 log CFU/ml. The turbidity of the resulting cooking sweet rice wine obtained from both sizes of membranes were not found to be significantly different ($p>0.05$) from that of the commercial mirin. However, the color of the cooking sweet rice wine obtained from 10-kDa membrane was significantly different ($p\leq 0.05$) from that of the commercial mirin, whereas that obtained from 100-kDa one was not ($p>0.05$). Moreover, the changes in color, turbidity, and the amount of microorganisms of the cooking sweet rice wine obtained in this research after 1, 3, and 5 months of shelf life at the room temperature were hardly detected.

Field of Study: Food Technology

Academic Year: 2018

Student's Signature

Advisor's Signature

Co-advisor's Signature

กิตติกรรมประกาศ

วิทยานิพนธ์นี้สำเร็จลงด้วยการสนับสนุนจากทุนอุดหนุนการศึกษาาระดับบัณฑิตศึกษา บัณฑิตวิทยาลัย จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เพื่อเฉลิมฉลองวโรกาสที่พระบาทสมเด็จพระเจ้าอยู่หัวภูมิพลอดุลยเดชทรงเจริญพระชนมายุครบ 72 พรรษา และทุนอุดหนุนวิทยานิพนธ์สำหรับนิสิต

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ชิตพงศ์ ประดิษฐ์สุวรรณ ที่อาจารย์ที่ปรึกษาวิทยานิพนธ์ที่ให้คำแนะนำในการทำวิจัยมาโดยตลอด

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. ชื่นจิต ประภิตชัยวัฒนา ที่กรุณารับเป็นที่ปรึกษา ร่วม ที่ให้แนวคิด ความรู้ และ คำปรึกษาในด้านจุลินทรีย์ รวมถึงเทคนิคการบ่ม หมัก และการวิเคราะห์ต่างด้านทางจุลินทรีย์ที่จำเป็นอย่างยิ่งในงานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณ รองศาสตราจารย์ ดร. จิราวัฒน์ อนันตกุล และ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. ศศิกานต์ กุ้พงษ์ศักดิ์ ที่กรุณาเมตตาได้รับเป็นคณะกรรมการสอบวิทยานิพนธ์ที่ได้ให้ข้อชี้แนะในการดำเนินงานวิจัยมาตลอดเวลา

ขอกราบขอบพระคุณ ผู้ช่วยศาสตราจารย์ ดร. อรอน จันทรประสาทสุข ที่ได้กรุณาได้รับเป็นกรรมการภายนอกมหาวิทยาลัย ที่ได้ให้คำแนะนำในเรื่องการหมักในการสอบโครงร่างวิทยานิพนธ์ที่เป็นประโยชน์ต่องานวิจัยนี้

ขอกราบขอบพระคุณคณาจารย์ของภาควิชาทุกท่านที่ได้ให้ประสิทธิประสาทความรู้ให้เพียงพอแก่การทำงานวิจัยนี้

ขอขอบคุณพี่ๆ ห้องปฏิบัติการได้แก่ พี่ทอม พี่แมวและพี่น้อง ที่ได้กรุณาสนับสนุนอำนวยความสะดวกในการทำงานวิจัยมาโดยตลอด

ขอขอบคุณเพื่อนๆ พี่ๆ และน้องๆ ที่ช่วยให้กำลังใจ ท้ายสุดนี้ กราบขอบพระคุณบิดา มารดา ที่คอยให้กำลังใจ ส่งเสริม และสนับสนุนด้วยความรักที่ช่วยให้ผู้เขียนมีกำลังใจในยามท้อแท้จนมุมานะสำเร็จการศึกษาจนได้

อรรวี คำประสงค์

สารบัญ

	หน้า
บทคัดย่อภาษาไทย.....	ค
บทคัดย่อภาษาอังกฤษ.....	ง
กิตติกรรมประกาศ.....	จ
สารบัญ.....	ฉ
สารบัญตาราง.....	ญ
สารบัญรูปภาพ.....	ฎ
สัญลักษณ์.....	ฐ
บทที่ 1 บทนำ	1
บทที่ 2 วารสารปริทัศน์.....	2
2.1 ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร.....	2
2.1.1 ประเภทของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร.....	2
ก. True mirin (Hon mirin).....	2
ข. Blended mirin (Mirin like seasoning).....	3
ค. Fermented seasoning mirin (Cooking wine).....	3
2.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อกลิ่นรสของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร.....	3
ก. จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก	3
ข. สายพันธุ์ข้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการหมัก.....	4
ค. ระยะเวลาในการหมัก	4
ง. อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก	4
2.1.3 การเกิดความขุ่นในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร.....	5
2.2 ข้าวเหนียว กข6.....	5

2.3	สารโโทษ.....	6
2.4	กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น (Membrane separation)	6
2.4.1	ประเภทของเยื่อแผ่น	7
2.4.2	รูปแบบของการแยกสารด้วยเยื่อแผ่น	8
2.4.3	การยืดอายุการเก็บรักษาสลิตภัณฑ์โดยใช้เยื่อแผ่นในอุตสาหกรรมอาหาร.....	9
2.4.4	ทฤษฎีการกรอง.....	10
2.4.4.1	ทฤษฎีการกรองแบบเกิดเค้กด้วยความดันคงที่	11
2.4.4.2	การทำให้ความสัมพันธ์เป็นสัมพันธ์เชิงเส้น	13
2.4.4.3	โมเดลการอุดตันในการกรอง	16
บทที่ 3	วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง.....	27
3.1	วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์	27
3.1.1	วัตถุดิบ	27
3.1.2	สารเคมี.....	27
3.1.3	เครื่องมือ และอุปกรณ์.....	28
3.2	ขั้นตอน และวิธีการดำเนินงานวิจัย	31
3.2.1	วิเคราะห์สมบัติทางเคมี และกายภาพของมิรินทางการค้า.....	31
3.2.2	การขยายเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ.....	32
3.2.3	การหาปริมาณน้ำที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อรา	32
3.2.4	การเตรียมกล้าเชื้อ.....	32
3.2.5	การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการหมักข้าวเหนียว กข6 ด้วยกล้าเชื้อจากเชื้อราทั้ง 2 ชนิด	33
3.2.6	การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำต้อย	34
3.2.6.1	วิเคราะห์สมบัติของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อ 2 ชนิด.....	34

3.2.6.2 วิเคราะห์สมบัติของมิรินทางการค้า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ก่อนและหลังกรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa.....	34
3.2.7 ปรับเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ให้เป็นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร.....	35
3.2.8 การกรองกำจัดเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อนและทำใสโดยอัลตราฟิลเทรชัน	36
3.2.8.1 ศึกษาอิทธิพลของการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองก่อนทำการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน.....	36
3.2.8.2 ศึกษาผลของความดันและเยื่อแผ่นที่เหมาะสมต่อการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน	37
3.2.9 ศึกษาผลของการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชันต่ออายุการเก็บของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร.....	38
บทที่ 4 ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง.....	39
4.1 สมบัติทางเคมี และกายภาพของมิรินทางการค้า	39
4.2 การหาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับข้าวเหนียวที่ใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อ.....	40
4.3 การเตรียมกล้าเชื้อ (Koji).....	40
4.4 ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการหมัก	41
4.5 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำด้อย	44
4.6 การปรับเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำด้อยให้เป็นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร	48
4.7 การกรองกำจัดเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อนและการทำใสโดยอัลตราฟิลเทรชัน.....	48
4.7.1 อิทธิพลของการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติของ ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองก่อนทำการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน.....	48
4.7.2 ผลของการเลือกความดันและเยื่อแผ่นที่เหมาะสมต่อการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน	50
ก. ความดันที่ใช้ในการกรอง	50
ข. ค่าการกักโมเลกุล (Molecular weight cut off: MWCO) ของเยื่อแผ่น	51
4.8 ผลของการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชันต่ออายุการเก็บของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร	56

4.8.1 จำนวนจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร ก. จำนวนยีสต์ และรา	56
.....	
ข. จำนวน Acetobacter aceti	57
4.8.2 ความขุ่น (Turbidity)	58
4.8.3 สี (Color)	59
บทที่ 5 สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ	62
5.1 สรุปผลการทดลอง	62
5.2 ข้อเสนอแนะ	63
ภาคผนวก.....	65
ภาคผนวก ก วิธีวิเคราะห์.....	66
ภาคผนวก ข ข้อมูลการทดลองเพิ่มเติม	71
ภาคผนวก ค การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ.....	76
บรรณานุกรม.....	82
ประวัติผู้เขียน.....	85



สารบัญตาราง

	หน้า
ตารางที่ 2.1 ประเภทของเยื่อแผ่นในกระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น.....	8
ตารางที่ 2.2 แบบจำลองต่างๆของการกรอง.....	16
ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมี และกายภาพของมิรินทางการค้า	39
ตารางที่ 4.2 สมบัติของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักโดยกล้าเชื้อ 2 ชนิด.....	45
ตารางที่ 4.3 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนของมิรินทางการค้า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ก่อนและหลังกรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันที่ใช้เยื่อแผ่น ที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa	46
ตารางที่ 4.4 สมบัติของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง	48
ตารางที่ 4.5 สมการแสดงความสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) ของสมการเชิงเส้นในการ ถอดต้นโมเดลต่างๆของการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa.....	53
ตารางที่ 4.6 สมการแสดงความสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) ของสมการเชิงเส้นในการ ถอดต้นโมเดลต่างๆของการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa	54
ตารางที่ 4.7 จำนวนยีสต์และราระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 3 และ 5 เดือน	56
ตารางที่ 4.8 จำนวน <i>Acetobacter aceti</i> ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 3 และ 5 เดือน	57

สารบัญรูปภาพ

	หน้า
รูปที่ 2.1 กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น.....	7
รูปที่ 2.2 กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นแบบปิดตาย.....	8
รูปที่ 2.3 กระบวนการแยกสารด้วยเยื่อแผ่นแบบไหลขวาง.....	9
รูปที่ 2.4 สัดส่วนความต้านทานของเค้กกรอง และความต้านทานของตัวกลางกรอง.....	15
รูปที่ 2.5 ลักษณะของกราฟ $dt dv$ vs v ในการกรองแบบไหลขวาง.....	15
รูปที่ 2.6 รูปแบบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างพารามิเตอร์ 2 ตัวใน $q v$ และ t	17
รูปที่ 2.7 โมเดลเปรียบเทียบตัวกลางกรองประกอบด้วยท่อขนาดเล็กรวมหลายเส้น.....	18
รูปที่ 2.8 โมเดลแสดงการอุดตันของตัวกลางกรองแบบ Complete blocking.....	19
รูปที่ 2.9 โมเดลแสดงการอุดตันของตัวกลางกรองแบบ Standard blocking.....	21
รูปที่ 2.10 โมเดลแสดงการอุดตันของตัวกลางกรองแบบ Intermediate blocking.....	23
รูปที่ 2.11 โมเดลการสะสมของชั้นเค้กที่ทำหน้าที่เป็นตัวการกรอง.....	25
รูปที่ 3.1 ส่วนประกอบต่างๆในระบบการกรอง.....	29
รูปที่ 3.2 รูปถ่ายห้องกรอง.....	30
รูปที่ 4.1 ความหนาแน่นของสปอร์ของ <i>Aspergillus oryzae</i> และ <i>Amylomyces rouxii</i> ในช่วงระยะเวลาในการบ่ม (วัน).....	41
รูปที่ 4.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำด้อยที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจาก <i>Aspergillus oryzae</i> และ <i>Amylomyces rouxii</i> ที่อุณหภูมิการหมัก 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส.....	42
รูปที่ 4.3 ค่าร้อยละผลได้ของน้ำด้อยที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจาก <i>Aspergillus oryzae</i> และ <i>Amylomyces rouxii</i> ที่อุณหภูมิการหมัก 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส.....	43
รูปที่ 4.4 SDS-PAGE ของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนและหลังกรองด้วยอัลตาฟิลเทรชันด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุล 10 kDa และ 100 kDa.....	47

รูปที่ 4.5 อัตราเร็วการกรอง ณ เวลาต่างๆ ของการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านและไม่ผ่าน การจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติ โดยใช้เยื่อแผ่นขนาด 10 kDa..... 49

รูปที่ 4.6 อัตราเร็วการกรอง ณ เวลาต่างๆ ของการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านและไม่ผ่าน การจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติ โดยใช้เยื่อแผ่นขนาด 100 kDa..... 49

รูปที่ 4.7 อัตราเร็วการกรอง ณ เวลาต่างๆ ของการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่ผ่าน การตั้งทิ้งให้ตกตะกอน โดยใช้เยื่อแผ่นขนาด 10 kDa และ 100 kDa ที่ความดัน 3 บาร์..... 51

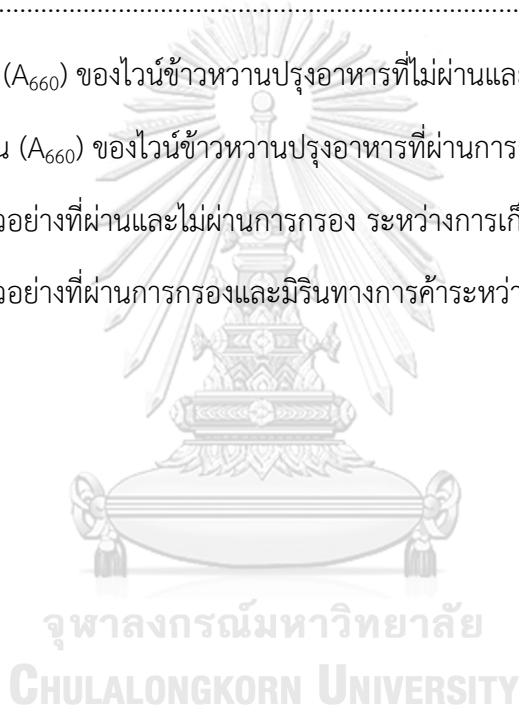
รูปที่ 4.8 อัตราเร็วการกรองของน้ำปลอดเชื้อผ่านเยื่อแผ่นก่อนและหลังการกรองที่ความดัน 3 บาร์ 55

รูปที่ 4.9 ค่าความขุ่น (A_{660}) ของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ไม่ผ่านและผ่านการกรอง ระหว่างการ 58

รูปที่ 4.10 ค่าความขุ่น (A_{660}) ของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรองและมิรินทางการค้า..... 59

รูปที่ 4.11 ค่าสีของตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านการกรอง ระหว่างการเก็บรักษาที่เวลาต่างๆ..... 60

รูปที่ 4.12 ค่าสีของตัวอย่างที่ผ่านการกรองและมิรินทางการค้าระหว่างการเก็บรักษาที่เวลาต่างๆ . 61



สัญลักษณ์

		หน่วย
α_{av}	ค่าเฉลี่ยความต้านทานจำเพาะต่อการกรอง	$[\text{m} \cdot \text{kg}^{-1}]$
α_b	ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ในสมการที่ (2.17) (Complete blocking model)	$[\text{kg}^{-1}]$
α_c	ค่าสัมประสิทธิ์การกรองแบบเกิดเค้กในสมการที่ (2.36) (Cake filtration model)	$[\text{m}^3 \cdot \text{kg}^{-1}]$
α_i	ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ในสมการที่ (2.29) (Intermediate blocking model)	$[\text{m}^2 \cdot \text{kg}^{-1}]$
α_s	ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ในสมการที่ (2.22) (Standard blocking model)	$[\text{m} \cdot \text{kg}^{-1}]$
μ	ค่าความหนืดของฟิลเทรต	$[\text{Pa} \cdot \text{s}]$
ρ	ค่าความหนาแน่นของฟิลเทรต	$[\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}]$
A	พื้นที่การกรอง	$[\text{m}^2]$
C	ความเข้มข้นของของเหลวที่ต้องการกรอง	$[\text{kg} \cdot \text{m}^{-3}]$
d	เส้นผ่านศูนย์กลางของท่อเล็กๆที่ประกอบเป็นเยื่อแผ่นตามโมเดลการอุดตัน	$[\text{m}]$
d_0	เส้นผ่านศูนย์กลางของท่อเล็กๆที่ประกอบเป็นเยื่อแผ่นตามโมเดลการอุดตันที่เวลาเริ่มต้นการกรอง (ยังไม่มี การอุดตัน)	$[\text{m}]$
K_b	สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ complete blocking	$[\text{s}^{-1}]$
K_s	สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ standard blocking	$[\text{m}^{-1}]$
K_i	สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ intermediate blocking	$[\text{m}^{-1}]$
K'_c	ค่าสัมประสิทธิ์การกรองด้วยความดันคงที่ของ Ruth $= \frac{2\Delta P(1-mS)}{\alpha_{av}\mu\rho S}$	$[\text{m}^2 \cdot \text{s}^{-1}]$
L	ความยาวของท่อเล็กๆที่ประกอบเป็นเยื่อแผ่นตามโมเดลการอุดตัน	$[\text{m}]$
L_c	ความยาวของท่อที่เทียบเท่าชั้นเค้กกรอง	$[\text{m}]$
L_m	ความยาวท่อที่เทียบเท่าตัวกลางกรอง	$[\text{m}]$

m	สัดส่วนน้ำหนักเค็กรองเปียกต่อน้ำหนักเค็กรองแห้ง	[-]
N	จำนวนท่อต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรอง ¹	[m ⁻²]
n	เลขดัชนี ในสมการที่ (2.14) สำหรับแสดงโมเดลรูปแบบต่างๆของการกรอง	[-]
ΔP	ความดันในการกรอง	[Pa]
ΔP_c	ความดันลดของฟิลเทรตที่ผ่านชั้นเค้ก	[Pa]
ΔP_m	ความดันลดของฟิลเทรตที่ผ่านตัวกลางกรอง	Pa
Q	อัตราการไหลของฟิลเทรต	[m ³ ·s ⁻¹]
q	อัตราการเร็วการกรอง	[m·s ⁻¹]
q_0	อัตราการเร็วการกรองเริ่มต้น	
R_c	ความต้านทานของชั้นเค้ก	[m ⁻¹]
R_m	ความต้านทานของตัวกลางกรอง	[m ⁻¹]
S	ความเข้มข้นของของแข็งในของเหลวที่ต้องการกรอง	[-]
t	ระยะเวลาในการกรอง	[s]
t_m	ระยะเวลาในการกรองสมมติที่ทำให้ได้ v_m	[s]
V	ปริมาตรฟิลเทรต	[m ³]
v	ปริมาตรฟิลเทรตต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่การกรอง	[m]
v_m	ปริมาตรสมมติของฟิลเทรตต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่การกรองที่จะทำให้เกิดเค้กกรองที่มีของแข็งหนัก W_m	[m]
W	น้ำหนักของแข็งที่อยู่ในชั้นเค้ก	[kg]
w	น้ำหนักของแข็งที่อยู่ในชั้นเค้กต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่การกรอง	[kg m ⁻³]
W_m	น้ำหนักสมมติของของแข็งต่อหนึ่งหน่วยพื้นที่การกรองที่เมื่อก่อตัวเป็นเค้กแล้วให้ความต้านทานที่เทียบเท่าความต้านทานตัวกลางกรอง	[kg m ⁻³]

บทที่ 1

บทนำ

ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผลิตมาจากกระบวนการหมักด้วยเชื้อราจะให้กลิ่น และรสชาติที่ดีกว่าไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารแบบผสม เนื่องจากการหมักโดยเชื้อราจะทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงในข้าวให้เป็นน้ำตาลโดยเอนไซม์แอมิเลส นอกจากนี้ยังเกิดการอะมิโนโดยเอนไซม์โปรติเอสที่ทำให้เกิดกลิ่นรสที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัว มีความกลมกล่อม อันเป็นที่พึงประสงค์ในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร (Amatayakul et al., 2012, Shen et al., 2012) แต่โปรตีนที่เกิดขึ้นนั้นทำให้เกิดความขุ่นหรือที่เรียกว่า Haze ระหว่างการเก็บรักษาหรือได้รับความร้อน (Inoue and Uchida, 1964) โดยทั่วไปแล้วโปรตีนที่ทำให้เกิดความขุ่นนี้จะถูกกำจัดได้จากกระบวนการฆ่าเชื้อโดยให้ความร้อน ซึ่งจะทำให้โปรตีนเสียสภาพ และตกตะกอน (Sedimentation) ลงมา หลังจากนั้นจึงทำการกรองเพื่อกำจัดตะกอนนี้ออกไป (Yamashita et al., 1981) ถึงแม้ว่ากระบวนการฆ่าเชื้อโดยให้ความร้อนนั้นนอกจากจะเป็นการลดจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกระบวนการหมักแล้วยังการเสื่อมเสียยืดอายุการเก็บรักษาและป้องกันการเกิดความขุ่นก็ตามแต่การให้ความร้อนนี้อาจมีผลให้โปรตีนตัวอื่นที่เป็นกลิ่นรสสำคัญในไวน์ข้าวหวานเกิดการเสียสภาพและตกตะกอนออกมาด้วยได้เช่นกัน ทำให้ไวน์ข้าวหวานมีกลิ่นรสที่ไม่ดี รวมถึงยังไปเร่งให้เกิดสีน้ำตาลอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาแบบไม่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้อง (Kanlayakrit and Mawiang, 2006)

การกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน (Ultrafiltration) เป็นกระบวนการที่ใช้อย่างแพร่หลายในการทำให้ปลอดเชื้อแบบเย็น (Cold sterilization) เพื่อยืดอายุการเก็บรักษาของผลิตภัณฑ์อาหารเหลว การกรองประเภทนี้สามารถในการกรองอนุภาคของสารอยู่ในช่วง 0.001-3 ไมโครเมตรได้ ซึ่งสามารถกรองจุลินทรีย์ที่โดยทั่วไปมีขนาดประมาณ 0.5 ไมโครเมตรได้ (Cheryan, 1986) และสามารถแยกสารประกอบที่มีขนาดแตกต่างกันในสารละลายได้เมื่อเลือกเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักที่โมเลกุล (Molecular weight cut off) ที่เหมาะสม

ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงได้ใช้การกรองแบบอัลตราฟิลเทรชันแยกโปรตีนที่ก่อให้เกิดความขุ่น และจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสื่อมเสียของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ใช้ข้าวไทยเป็นวัตถุดิบเพื่อทำใสและยืดอายุการเก็บรักษา

บทที่ 2

วารสารปริทัศน์

2.1 ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

ปัจจุบันอาหารญี่ปุ่นได้รับความนิยมอย่างกว้างขวางในประเทศ ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหรือมิรินเป็นหนึ่งในเครื่องปรุงรสที่สำคัญสำหรับใช้ในการปรุงรสอาหารญี่ปุ่น โดยการบริโภคไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารในประเทศไทยก็มีความแพร่หลายมากขึ้น เนื่องจากมีความนิยมนำใช้ประกอบอาหาร ซึ่งไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ใช้ในประเทศไทยนั้นจะนำเข้ามาจากประเทศญี่ปุ่นซึ่งมีราคาค่อนข้างสูง เป็นผลมาจากภาษีจากการนำเข้า และภาษีแอลกอฮอล์ เนื่องจากไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารเป็นเครื่องปรุงรสที่มีแอลกอฮอล์

2.1.1 ประเภทของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารเป็นผลิตภัณฑ์ที่ทำจากข้าว และแอลกอฮอล์ แบ่งออกเป็น 3 ประเภท ได้แก่

ก. *True mirin (Hon mirin)* เป็นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผลิตจากการหมักที่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงเป็นน้ำตาลในสถานะที่มีแอลกอฮอล์ แล้วบ่มด้วยระยะเวลาอันยาวนาน จะมีรสชาติดี กลมกล่อม โดยมีปริมาณแอลกอฮอล์ประมาณร้อยละ 14 แต่มีราคาแพง โดยมีขั้นตอนในการผลิตดังนี้ นำข้าวเหนียวมาหนึ่งโดยใช้อุณหภูมิ 120 องศาเซลเซียส เตรียมกล้าเชื้อหรือเรียกว่า โคจิ ซึ่งได้จากการหมักเชื้อรา *Aspergillus oryzae* กับข้าวเจ้าหนึ่ง เชื้อราจะผลิตเอนไซม์ที่สำคัญ ได้แก่ แอมิเลส โปรติเอส และเพปไทเดส เมื่อนำข้าวเหนียวหนึ่งมาผสมกับโคจิ หมักในสารละลายแอลกอฮอล์ ข้าวเหนียวหนึ่งจะเกิดการบวมเนื่องจากการดูดซับแอลกอฮอล์ ทำให้เอนไซม์จากโคจิสามารถย่อยแป้ง และโปรตีนในข้าวเหนียวหนึ่งให้กลายเป็นกลูโคส และกรดอะมิโน (Uchida and Oka, 1983) เกิดเป็นสารละลายน้ำตาลที่ได้จากการย่อยแป้งของเชื้อรา เรียกว่า น้ำต้อย ทำการหมักเป็นระยะเวลา 60 วัน แล้วบีบเอาส่วนที่เป็นของเหลวออก จะได้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่เป็นของเหลวสีอ่อนใสประมาณ 62-67% และส่วนที่เหลือจะเป็นกาก

ข. *Blended mirin (Mirin like seasoning)* เป็นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากการกรองสารละลายน้ำตาล และแอลกอฮอล์ที่มีข้าว โคจิ น้ำตาล และสารปรุงรสเป็นส่วนประกอบ มีราคาค่อนข้างถูก เนื่องจากไม่ผ่านกระบวนการหมักและมีปริมาณแอลกอฮอล์ต่ำ โดยจะเป็นการผลิตที่มุ่งเน้นให้มีกลิ่นรสที่คล้ายคลึงไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารประเภท True mirin เพียงเท่านั้น

ค. *Fermented seasoning mirin (Cooking wine)* เป็นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้จากการหมักโดยใช้เชื้อราเพื่อให้เกิดการสร้างเอนไซม์ไปย่อยแป้ง และโปรตีนในข้าวให้เป็นน้ำตาล และกรดอะมิโนเช่นเดียวกับไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารประเภท True mirin แต่จะใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นกว่า จึงเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์โดยการเติมแอลกอฮอล์ลงไปให้มีปริมาณแอลกอฮอล์ตามต้องการ (ประมาณ 14%) ซึ่งมีผลทำให้ Fermented seasoning mirin มีกลิ่นรสไม่ดีเท่ากับ True mirin แต่ดีกว่า Blended mirin ในประเทศญี่ปุ่นจะมีการเติมเกลือให้มีความเข้มข้นมากกว่า 1.5% (w/v) เพื่อให้ถูกจัดอยู่ในกลุ่มพิกัดภาชีสุรา

2.1.2 ปัจจัยที่มีผลต่อกลิ่นรสของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

กลิ่นรสที่สำคัญของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารเกิดในระหว่างกระบวนการหมักข้าวด้วยเชื้อรา (Amatayakul et al., 2012) โดยกระบวนการหมักจะทำให้เกิดการย่อยข้าวด้วยเอนไซม์ที่ได้จากการผลิตของเชื้อรา ซึ่งจะก่อให้เกิดสารประกอบหลายชนิด อันได้แก่ แอลกอฮอล์ กรด แอลดีไฮด์ เอสเทอร์ โดยเฉพาะอย่างยิ่งโปรตีนขนาดเล็ก และกรดอะมิโน (Sirisantimethakom et al., 2008, Amatayakul et al., 2012, Shen et al., 2012) ซึ่งปัจจัยที่มีผลต่อการสร้างกลิ่นรสที่ได้เหล่านี้ได้แก่

ก. จุลินทรีย์ที่ใช้ในกระบวนการหมัก

จุลินทรีย์ที่ต่างสายพันธุ์กันจะมีความสามารถในการผลิตเอนไซม์ในระหว่างกระบวนการหมักที่แตกต่างกัน โดยเอนไซม์ที่มีความสำคัญต่อการผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารนั้น ได้แก่ แอมิเลส กลูโคแอมิเลส และโปรติเอส ซึ่งจุลินทรีย์ที่ใช้ในการหมักจะเป็นเชื้อราในกลุ่ม *Aspergillus* spp. ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์แอมิเลส และโปรติเอสได้ (Uchida and Oka, 1983, Negi and Banerjee, 2010, Amatayakul et al., 2012) นอกจากนั้นยังมี *Amylomyces rouxii* ซึ่งสามารถผลิตเอนไซม์และเชื้อราในกลุ่ม *Rhizopus* spp. (Dung et al., 2006, 2007)

ข. สายพันธุ์ข้าวที่ใช้เป็นวัตถุดิบในการหมัก

ข้าวเป็นวัตถุดิบหลักที่ใช้ในการหมักเพื่อผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร โดยข้าวต่างประเภทและสายพันธุ์กันจะมีองค์ประกอบทางเคมีของข้าวที่แตกต่างกัน ซึ่งส่งผลต่อกระบวนการหมักและสมบัติของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผลิตได้ โดยมีองค์ประกอบทางเคมีของข้าวที่เป็นปัจจัยสำคัญ กล่าวคือ

1) ปริมาณไนโตรเจน จากที่ได้กล่าวมาในข้างต้น กลิ่น รส ที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารเกิดจากองค์ประกอบที่สำคัญคือ สารประกอบไนโตรเจนที่เป็นโปรตีนขนาดเล็กหรือกรดอะมิโนที่ผลิตโดยเชื้อราระหว่างกระบวนการหมัก ซึ่งปริมาณโปรตีนหรือปริมาณไนโตรเจนของข้าวที่แตกต่างกันจะมีผลต่อปริมาณสารประกอบไนโตรเจนที่เกิดขึ้น (Okuda et al., 2016)

2) ปริมาณอะไมโลเพกติน เมื่อเปรียบเทียบข้าวระหว่างกลุ่มข้าวเหนียว และข้าวเจ้า พบว่า การหมักที่ใช้ข้าวเหนียวเป็นวัตถุดิบจะให้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ($^{\circ}$ Brix) สูงกว่าการใช้ข้าวเจ้า ซึ่งเป็นผลมาจากข้าวเหนียวมีปริมาณอะไมโลเพกตินที่มากกว่าข้าวเจ้า (Yoshizawa, 1999)

3) ปริมาณอะไมโลส พบว่าข้าวเจ้าซึ่งเป็นข้าวที่มีปริมาณอะไมโลสมากกว่าข้าวเหนียว เมื่อข้าวสุกจะมีลักษณะแข็ง จึงมีผลทำให้เชื้อราไม่สามารถแทงเส้นใยเข้าไปได้ ทำให้ประสิทธิภาพในการย่อยข้าวของเชื้อราลดลง (Kanlayakrit and Mawean, 2006)

ค. ระยะเวลาในการหมัก

หากใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นเกินไปจะมีผลทำให้เอนไซม์ที่ได้จากเชื้อราไม่เพียงพอต่อการย่อยสลายแป้ง และโปรตีนในข้าว แต่หากใช้ระยะเวลาในการหมักนานเกินไป เชื้อราจะทำให้สีของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารเปลี่ยนแปลงไปและมีการปลดปล่อยแอมโมเนียออกมา ซึ่งมีผลให้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารมี สี กลิ่น และรสที่ไม่ดี (Steinkraus, 1983)

ง. อุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก

อุณหภูมิที่ใช้ในการหมักมีผลต่อความสามารถในการผลิตเอนไซม์และประสิทธิภาพในการทำงานของเอนไซม์ที่ผลิตได้ เช่น *Aspergillus oryzae* จะผลิตเอนไซม์แอมิเลสได้ในกระบวนการหมักในช่วงอุณหภูมิ 20 ถึง 45 องศาเซลเซียส (Ahmed, 2011) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงาน

ของเอนไซม์แอมิเลสที่ได้จากการหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* จะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 35 ถึง 50 องศาเซลเซียส (Aliyah et al., 2017) นอกจากนั้นเอนไซม์โปรติเอสมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานที่อุณหภูมิในช่วง 25 ถึง 40 องศาเซลเซียส (Pei-Jing and Chou, 2005)

2.1.3 การเกิดความขุ่นในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

โปรตีนขนาดเล็กหรือกรดอะมิโนที่ได้จากการย่อยโดยเอนไซม์โปรติเอสที่ผลิตโดยเชื้อรา ระหว่างกระบวนการหมักไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจะทำให้เกิดกลิ่น รส ที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร แต่โปรตีนที่เกิดขึ้นนั้นทำให้เกิดความขุ่นหรือที่เรียกว่า Haze ระหว่างการเก็บรักษาหรือได้รับความร้อน (Inoue and Uchida, 1964) ซึ่งโปรตีนที่ทำให้เกิดความขุ่น หรือ Haze ในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร เป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ระหว่าง 18 kDa ถึง 126 kDa (Takayama et al., 1989, Esteruelas et al., 2009) โดยทั่วไปแล้วโปรตีนที่ทำให้เกิด Haze นี้จะถูกกำจัดได้จากกระบวนการฆ่าเชื้อโดยให้ความร้อน ซึ่งจะทำให้โปรตีนเสียสภาพและตกตะกอน (Sedimentation) ลงมา หลังจากนั้นจึงทำการกรองเพื่อกำจัดตะกอนนี้ออกไป (Yamashita et al., 1981) ถึงแม้ว่ากระบวนการฆ่าเชื้อโดยให้ความร้อนนั้นนอกจากจะเป็นการลดจำนวนจุลินทรีย์ที่มีอยู่ในกระบวนการหมักแล้วยังการเสื่อมเสียยืดอายุการเก็บรักษาและป้องกันการเกิด Haze ก็ตามแต่การให้ความร้อนนี้อาจมีผลให้โปรตีนตัวอื่นที่เป็นกลิ่นรสสำคัญในไวน์ข้าวหวานเกิดการเสียสภาพและตกตะกอนออกมาด้วยได้เช่นกัน ทำให้ไวน์ข้าวหวานมีกลิ่นรสที่ไม่ดี รวมถึงยังไปเร่งให้เกิดสีน้ำตาลอันเนื่องมาจากปฏิกิริยาแบบไม่มีเอนไซม์มาเกี่ยวข้อง (Kanlayakrit and Maweng, 2006)

2.2 ข้าวเหนียว กข6

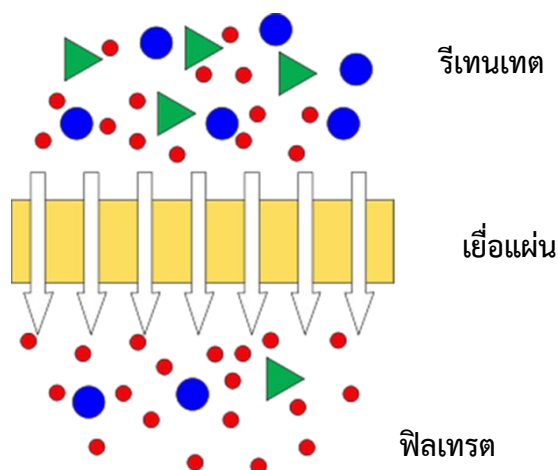
ข้าวเหนียว กข6 เป็นข้าวที่ได้รับการปรับปรุงพันธุ์จากข้าวขาวดอกมะลิ 105 ซึ่งข้าวเหนียว กข6 เป็นข้าวเหนียวที่นิยมบริโภคกันอย่างแพร่หลาย เนื่องจากให้ผลผลิตสูง จึงทำให้มีราคาถูก อีกทั้งเมื่อนำมาหุงสุกจะมีลักษณะเหนียวนุ่มและมีกลิ่นหอม โดยข้าวเหนียว กข6 จะประกอบด้วยสตาร์ชประเภทอะไมโลเพกตินเป็นหลักถึงร้อยละ 93.68 (Amatayakul et al., 2012) ซึ่งลักษณะดังกล่าวข้างต้นทำให้ข้าวเหนียว กข6 สามารถใช้เป็นวัตถุดิบในการผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารด้วยวิธีการหมักโดยใช้กล้าเชื้อราได้ อีกทั้งเป็นการเพิ่มมูลค่าให้ข้าวเหนียว กข 6 อีกด้วย

2.3 สาโท

สาโทเป็นสุราพื้นบ้านของประเทศไทย มีข้าวเป็นวัตถุดิบหลัก โดยจะนำข้าวเหนียวหนึ่งมาหมักร่วมกับลูกแป้งซึ่งเป็นกล้าเชื้อในการหมัก ในลูกแป้งประกอบด้วยเชื้อรา และยีสต์ ในช่วงแรกของการหมักเชื้อราเจริญเติบโตและมีการผลิตเอนไซม์โปรติเอส ย่อยโปรตีนในข้าวให้เป็นกรดอะมิโนและเอนไซม์แอมิเลส ย่อยแป้งให้กลายเป็นน้ำตาล ได้สารละลายที่มีความหวานที่เรียกว่า น้ำต้อย โดยพบว่าน้ำต้อยมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ 37-47 °Brix ซึ่งขึ้นอยู่กับชนิดของข้าวที่นำมาใช้ จากนั้นเติมน้ำที่ผ่านการฆ่าเชื้อและมีคุณภาพน้ำบริโภค เพื่อไปเจือจางความหวานหรือเพื่อปรับให้มีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ประมาณ 20-22 °Brix ส่วนการหมักในช่วงหลัง ยีสต์เปลี่ยนน้ำตาลให้เป็นแอลกอฮอล์ และก๊าซคาร์บอนไดออกไซด์ และปล่อยให้กระบวนการหมักดำเนินต่อไปอีก 4 ถึง 7 วัน หรือเมื่อวัดระดับแอลกอฮอล์ได้ประมาณ 10-12 % (Amatayakul et al., 2012) แล้วทำใสและฆ่าเชื้อตามลำดับ

2.4 กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น (Membrane separation)

การแยกด้วยเยื่อแผ่นเป็นกระบวนการที่ใช้แยกสารหรือตัวถูกละลายออกจากสารละลายโดยให้ความดันแก่ชั้นที่เป็นแผ่นบางมีรูพรุนขนาดเล็ก ซึ่งแผ่นนี้เรียกว่า เยื่อแผ่น (Membrane) สารประกอบที่มีขนาดใหญ่กว่าขนาดรูพรุนของเยื่อแผ่นจะไม่สามารถผ่านทะลุเยื่อแผ่นมาได้และจะสะสมอยู่บริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่น ของเหลวที่สามารถผ่านเยื่อแผ่นได้จะเรียกว่า ฟิลเทรต (Filtrate) หรือ เพอมีเอต (Permeate) และส่วนที่ไม่สามารถผ่านเยื่อแผ่นได้ เรียก รีเทนเตต (Retentate) ดังแสดงในรูปที่ 2.1 (Clark et al., 2014)



รูปที่ 2.1 กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น

กระบวนการแยกสารด้วยเยื่อแผ่นถูกนำมาใช้อย่างแพร่หลายในกระบวนการผลิต และแปรรูปอาหาร เนื่องจากเป็นกระบวนการที่มีค่าใช้จ่ายต่ำ ประหยัดพลังงานและไม่จำเป็นต้องใช้พื้นที่ในการติดตั้งอุปกรณ์มาก นอกจากนั้นแล้วยังไม่ทำให้เกิดการเปลี่ยนแปลงทางกายภาพ และทางเคมีของผลิตภัณฑ์สุดท้าย (Kumar et al., 2013)

2.4.1 ประเภทของเยื่อแผ่น

เยื่อแผ่นสามารถแบ่งได้เป็น 4 กลุ่มหลัก ได้แก่ ไมโครฟิลเตรชัน (Microfiltration) อัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) นาโนฟิลเตรชัน (Nanofiltration) และรีเวิร์สออสโมซิส (Reverse osmosis) ดังแสดงรายละเอียดในตารางที่ 2.1 (Cui and Muralidhara, 2010)

ตารางที่ 2.1 ประเภทของเยื่อแผ่นในกระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น

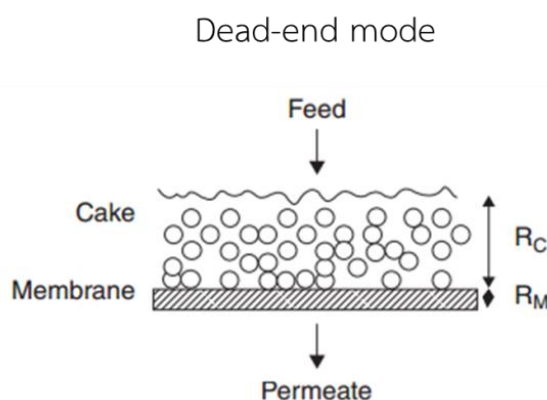
Membrane type	Pore size	Smallest particles removed
Microfiltration (MF)	0.1 - 5 μm	Colloid, Bacteria
Ultrafiltration (UF)	1 - 100 nm	Large organic molecule, Virus
Nanofiltration (NF)	0.5 - 10 nm	Small organic molecule, Divalent ion
Reverse osmosis (RO)	< 0.5 nm	All dissolved species

2.4.2 รูปแบบของการแยกสารด้วยเยื่อแผ่น

กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นสามารถแบ่งตามรูปแบบการดำเนินการ และทิศทางการไหลเข้าของของเหลว ได้ 2 รูปแบบ ได้แก่ แบบปิดตาย (Dead-end mode) และแบบไหลขวาง (Cross flow mode) (Cui and Muralidhara, 2010)

ก. แบบปิดตาย (Dead-end mode)

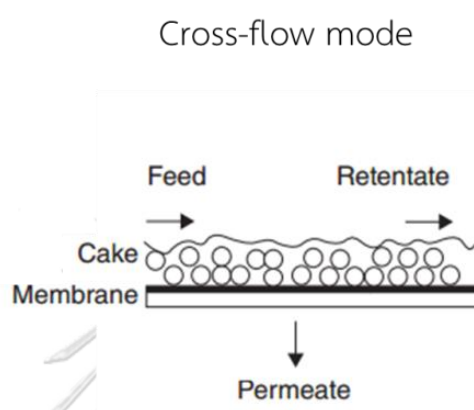
ของไหลจะถูกกรองโดยจะไหลในทิศตั้งฉากกับผิวหน้าของเยื่อแผ่น ซึ่งเยื่อแผ่นจะดักจับอนุภาคที่มีขนาดเล็กกว่าขนาดรูพรุนทำให้เกิดชั้นเค้ก (Filter cake) หรือชั้นเจล (Gel layer) ที่จะมีผลทำให้อัตราเร็วการกรองลดลง ดังแสดงในรูปที่ 2.2



รูปที่ 2.2 กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นแบบปิดตาย

ข. แบบไหลขวาง (Tangential flow mode / Cross flow mode)

ของไหลจะถูกป้อนให้ไหลเข้าในทิศทางตั้งฉากกับผิวหน้าของเยื่อแผ่น ซึ่งจะทำให้อนุภาคที่ไม่สามารถผ่านเยื่อแผ่นได้นั้นยังคงเกิดการไหลอย่างต่อเนื่อง ป้องกันการเกิดชั้นเค้กที่หน้าบริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่น อันมีผลทำให้ค่าฟลักซ์ (Flux) ของเพอเมเตตมีค่าคงที่ ดังแสดงในรูปที่ 2.3



รูปที่ 2.3 กระบวนการแยกสารด้วยเยื่อแผ่นแบบไหลขวาง

2.4.3 การยืดอายุการเก็บรักษาผลิตภัณฑ์โดยใช้เยื่อแผ่นในอุตสาหกรรมอาหาร

เมื่อพิจารณาถึงการยืดอายุการเก็บของอาหารเหลวด้วยกระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่น เยื่อแผ่นชนิดไมโครฟิลเตรชันจะถูกใช้เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ต่างๆ ส่วนเยื่อแผ่นชนิดอื่น ได้แก่ เยื่อแผ่นชนิดอัลตราฟิลเตรชัน และรีเวอร์สออสโมซิส นอกจากจะใช้เพื่อกำจัดเชื้อจุลินทรีย์แล้ว ยังสามารถใช้แยกสารออกจากอาหาร เช่น สารโมเลกุลใหญ่ (Macromolecule) อันได้แก่ โปรตีน ไขมัน น้ำตาล รวมไปถึงเกลือแร่ และไอออนชนิดต่างๆ (Van Alfen, 2015)

ก. การใช้กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์

การเสื่อมเสียเนื่องจากจุลินทรีย์เป็นสาเหตุสำคัญสาเหตุหนึ่งที่ทำให้อาหารเหลวมีอายุการเก็บรักษาสั้น รวมถึงการมีอยู่ของจุลินทรีย์บางชนิดสามารถใช้ในการชี้บ่งถึงความปลอดภัยและความสะอาดของอาหาร ทำให้การกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ที่ไม่เป็นที่ต้องการในอาหารนั้นมีความจำเป็นอย่างยิ่ง โดยส่วนมากนั้นอาจใช้กระบวนการให้ความร้อนหรือการใส่สารเคมีเพื่อทำการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ แต่กระบวนการแยกสารด้วยเยื่อแผ่น โดยเฉพาะการใช้เยื่อแผ่นแบบไมโครฟิลเตรชันเป็นทางเลือกหนึ่ง

ได้รับความนิยมในการนำมาใช้กำจัดเชื้อจุลินทรีย์ในอาหารเหลว เช่น กระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบเย็นและสเตอริไลส์แบบเย็นของผลิตภัณฑ์นม (Olesen and Jensen, 1989, Kosikowski and Mistry, 1990, Kumar et al., 2013) กระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบเย็น และสเตอริไลส์แบบเย็นน้ำผัก และน้ำผลไม้ (Laorko et al., 2013) และกระบวนการพาสเจอร์ไรส์แบบเย็น และสเตอริไลส์แบบเย็นเปียร์ และไวน์ (Ortega-Rivas, 2012)

ข. การใช้กระบวนการแยกด้วยเยื่อแผ่นในการกำจัดสารโมเลกุลใหญ่

จากที่กล่าวมาข้างต้น เยื่อแผ่นชนิดไมโครฟิลเตรชันสามารถใช้ในการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ แต่สารโมเลกุลใหญ่ เช่น โพลีเมอร์ อนุภาคคอลลอยด์ ไขมัน และโปรตีนจะถูกกำจัดได้ด้วยเยื่อแผ่นชนิดอัลตราฟิลเตรชัน โดยเยื่อแผ่นชนิดอัลตราฟิลเตรชันจะมีรูพรุนเล็กกว่าเยื่อแผ่นชนิดไมโครฟิลเตรชัน จึงทำให้เยื่อแผ่นชนิดอัลตราฟิลเตรชันสามารถกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ได้เช่นกัน (Porter, 1990) เช่น การทำใสและยืดอายุการเก็บรักษาของน้ำน้ำเต้า ซึ่งอนุภาคคอลลอยด์ และโปรตีนถูกกำจัดออกจากน้ำน้ำเต้าโดยเยื่อแผ่นแบบอัลตราฟิลเตรชัน (Mondal et al., 2016) รวมถึงการกำจัดสารประกอบฟีนอลในน้ำทับทิมโดยกระบวนการอัลตราฟิลเตรชัน (Baklouti et al., 2012)

2.4.4 ทฤษฎีการกรอง

การกรอง คือ กระบวนการแยกของแข็ง และของเหลวออกจากกัน โดยอาศัยวัสดุที่มีรูพรุนเป็นตัวกลางกรอง (Filter media) การกรองของระบบอนุภาคของแข็ง และของเหลว แบ่งออกตามกลไกของปรากฏการณ์ที่เกิดขึ้นได้เป็น 2 ประเภทใหญ่ๆ คือ ในกรณีที่มีอนุภาคมีขนาดใหญ่เมื่อเทียบกับรูพรุนของตัวกลางกรอง หรือสเลอรี่ที่มีความเข้มข้นเกินกว่าประมาณร้อยละ 1 โดยปริมาตรอนุภาคของแข็งจะก่อตัวเป็นชั้นเค้กกรอง (Filtration cake) บนผิวหน้าตัวกลางกรองเพิ่มขึ้นเรื่อยๆ ตลอดเวลาการกรอง ซึ่งเค้กกรองที่เกิดขึ้นนี้จะทำหน้าที่เสมือนตัวกลางกรอง เรียกการกรองแบบนี้ว่าการกรองแบบเกิดเค้ก (Cake filtration) และในกรณีที่มีอนุภาคมีขนาดเล็กกว่ารูพรุนตัวกลางกรอง และสเลอรี่มีความเข้มข้นต่ำกว่าประมาณร้อยละ 0.1 อนุภาคของแข็งจะถูกดักจับอยู่ภายในชั้นตัวกลางกรองที่มีความหนาแน่นที่ เช่น ชั้นตัวกลางกรองที่เป็นทราย แก้ว หรือเส้นใยต่างๆ ซึ่งกลไกการกรองลักษณะนี้ เรียกกันว่า การกรองแบบเบตลิก (Depth filtration หรือ Deep bed filtration หรือ Clarification filtration) โดยทั่วไปประสิทธิภาพของการกรองแบบเบตลิกในเชิงความแน่นอน

ของการดักจับอนุภาคจะไม่ดีเท่ากับการกรองแบบเกิดเค้ก แต่จะดักเก็บอนุภาคของแข็งได้ในปริมาณที่มากกว่า

2.4.4.1 ทฤษฎีการกรองแบบเกิดเค้กด้วยความดันคงที่

การกรองด้วยความดันคงที่ คือ วิธีการกรองที่ควบคุมความแตกต่างของความดันที่ใช้เป็นแรงขับเคลื่อนให้คงที่ตลอดเวลาการกรอง ดังนั้นเมื่อเวลาในการกรองเพิ่มขึ้นชั้นเค้กที่เกิดบนผิวหน้าตัวกลางกรองจะหนาขึ้น ความต้านของชั้นเค้กจะเพิ่มขึ้น ทำให้อัตราเร็วในการกรองลดต่ำลงเรื่อยๆ

ในช่วงปี 1930 Ruth (Iritani and Katagiri, 2016) ได้เปรียบอัตราการไหลของฟิลเทรตในการกรองเลียนแบบกฎของโอห์ม โดยให้อัตราเร็วการกรอง; q (m/s) ซึ่งเท่ากับอัตราการไหลของฟิลเทรตต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรองเป็นสัดส่วนโดยตรงกับความดันในการกรอง; ΔP (Pa) ซึ่งความดันในการกรองนี้เท่ากับผลรวมของความดันลดของฟิลเทรตที่ผ่านชั้นเค้ก; ΔP_c (Pa) และตัวกลางกรอง; ΔP_m (Pa) และให้อัตราเร็วการกรองเป็นสัดส่วนผกผันกับความต้านทานที่เกิดในขณะผ่านชั้นเค้ก; R_c (1/m) และตัวกลางกรอง; R_m (1/m) ซึ่งเป็นการเรียงตัวแบบอนุกรม และโดยปกติแล้วอัตราเร็วของการไหลของฟิลเทรตภายในเค้กกรองจะช้ามาก กล่าวคือเป็นกระแสราบเรียบ (Laminar flow) ดังนั้นอัตราเร็วการกรองจึงเป็นสัดส่วนผกผันกับความหนืด; μ (Pa·s) ของฟิลเทรต อัตราเร็วการกรองจะแสดงได้ดังสมการที่ (2.1)

$$q \equiv \frac{dV}{Adt} \equiv \frac{dv}{dt} = \frac{\Delta P}{\mu(R_c + R_m)} = \frac{\Delta P_c + \Delta P_m}{\mu(R_c + R_m)} \quad (2.1)$$

Ruth ยังได้พิจารณาต่อไปอีกว่า R_c ที่มีความต้านทานของชั้นเค้กที่เกิดจากอนุภาคที่ถูกดักไว้เหนือตัวกลางกรอง จะมีค่าเพิ่มขึ้นเป็นสัดส่วนโดยตรงกับปริมาณมวลของแข็งที่อยู่ในเค้กกรองขณะนั้น; w (kg/m²)

$$R_c = \alpha_{av} w \quad (2.2)$$

ค่าสัมประสิทธิ์ α_{av} (m/kg) ในสมการที่ (2.2) เรียกกันว่า “ค่าเฉลี่ยความต้านทานจำเพาะต่อการกรอง” (Average specific filtration resistance) เป็นค่าจำเพาะที่ขึ้นอยู่กับคุณสมบัติของเค้กกรอง และความดันในการกรอง เป็นดัชนีที่แสดงความยากง่ายที่มีต่อการกรองของเค้กกรอง

ดังนั้น

$$q \equiv \frac{dv}{dt} = \frac{\Delta P}{\mu(\alpha_{av}w + \alpha_{av}w_m)} \quad (2.3)$$

ในที่นี้ w_m (kg/m²) คือน้ำหนักสมมติของของแข็งต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรองที่เมื่อก่อตัวเป็นเค้กแล้ว ให้ความต้านทานที่เทียบเท่าความต้านทานตัวกลางกรอง (R_m)

และเมื่อกำหนดให้ S (kg-solid/kg-slurry) เป็นความเข้มข้นของของแข็งในของเหลวที่ต้องการกรอง ρ (kg/m³) เป็นความหนาแน่นของฟิลเทรต และ m (-) เป็นสัดส่วนน้ำหนักเค้กกรองเปียกต่อน้ำหนักเค้กกรองแห้ง จากสมการมวลสารจะได้ความสัมพันธ์ระหว่างปริมาตรฟิลเทรตที่กรองได้ต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรอง; v (m³/m²) กับปริมาณน้ำหนักรวมของแข็งในเค้กกรอง; w (kg/m²) ดังนี้

$$w = \frac{\rho S}{(1-mS)} v \quad (2.4)$$

ดังนั้น

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

$$q \equiv \frac{dv}{dt} = \frac{\Delta P(1-mS)}{\alpha_{av}\mu\rho S(v+v_m)} \quad (2.5)$$

ในที่นี้ v_m (m³/m²) คือปริมาตรสมมติของฟิลเทรตต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรองที่จะทำให้ได้เค้กกรองที่มีของแข็งหนัก w_m ที่มีความต้านทานเทียบเท่าความต้านทานตัวกลางกรอง (R_m)

สำหรับการกรองแบบเกิดเค้กด้วยความดันคงที่ โดยทั่วไปค่า α_{av} และ m จะไม่เปลี่ยนแปลงมากนักตลอดระยะเวลาการกรองสามารถพิจารณาให้เป็นค่าคงที่ได้ เมื่ออินทิเกรตสมการที่ (2.5) จะได้สมการกรองด้วยความดันคงที่ของ Ruth

$$\int_{-v_m}^v (v + v_m) dv = \int_{-t_m}^t \frac{\Delta P(1-mS)}{\alpha_{av}\mu\rho S} dt \quad (2.6)$$

$$(v + v_m)^2 = \frac{2\Delta P(1-mS)}{\alpha_{av}\mu\rho S} (t - t_m) = K'_c(t - t_m) \quad (2.7)$$

ในที่นี้ t_m (s) คือ เวลาการกรองสมมติที่ทำให้ได้ v_m และ K'_c (m^2/s) คือค่าสัมประสิทธิ์การกรอง ด้วยความดันคงที่ของ Ruth มีค่าเท่ากับ $\frac{2\Delta P(1-mS)}{\alpha_{av}\mu\rho S}$

2.4.4.2 การทำให้ความสัมพันธ์เป็นสัมพันธ์เชิงเส้น

สมการกรองด้วยความดันคงที่ของ Ruth สามารถทำให้เป็นสมการเชิงเส้นเพื่อให้สามารถนำมาหาค่าสัมประสิทธิ์การกรองด้วยความดันคงที่ของ Ruth และค่าเฉลี่ยความต้านทานจำเพาะต่อการกรองที่สภาวะการกรองต่างๆได้ซึ่งเป็นดัชนีที่สำคัญในการออกแบบ และดำเนินการการกรอง ได้ดังต่อไปนี้

ก. $\frac{t}{v}$ และ v

เนื่องจาก $t = 0$; $v = 0$ ดังนั้น จากสมการที่ (2.7)

$$v_m^2 = K'_c t_m \quad (2.8)$$

สมการที่ (2.7) จะเป็น

$$v^2 + vv_m = K'_c t \quad (2.9)$$

ดังนั้น

$$\frac{t}{v} = \frac{1}{K'_c} v + \frac{v_m}{K'_c} \quad (2.10)$$

จะได้ความสัมพันธ์เส้นตรงระหว่าง $\frac{t}{v}$ และ v ที่จะสามารถนำไปหาค่าสัมประสิทธิ์การกรอง ด้วยความดันคงที่ของ Ruth (K'_c) และค่าเฉลี่ยความต้านทานจำเพาะต่อการกรอง (α_{av})

ข. $\frac{dt}{dv}$ และ v

หาอนุพันธ์ต่อเวลาของสมการที่ (2.7) จะได้

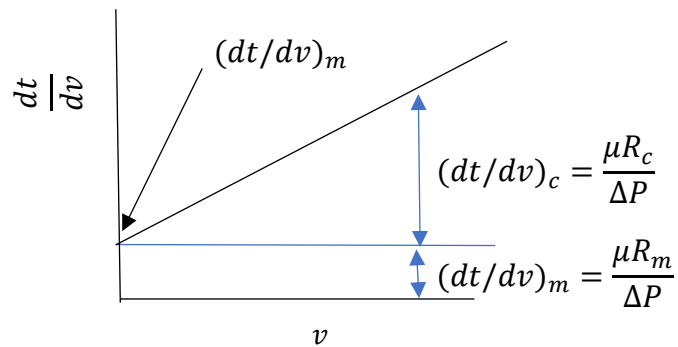
$$2(v + v_m) \frac{dv}{dt} = K'_c \quad (2.11)$$

$$\frac{dt}{dv} = \frac{1}{q} = \frac{2}{K'_c} (v + v_m) \quad (2.12)$$

ดังนั้นเมื่อพล็อตข้อมูลจากการกรองด้วยความดันคงที่ในรูปของ $\frac{dt}{dv}$ กับ v จะได้เส้นตรงที่จะสามารถนำไปหาค่าสัมประสิทธิ์การกรองด้วยความดันคงที่ของ Ruth (K'_c) และค่าเฉลี่ยความต้านทานจำเพาะต่อการกรอง (α_{av})

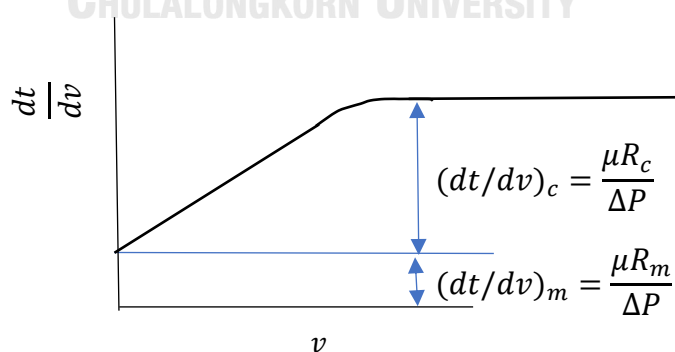
ในการใช้กราฟที่พล็อตระหว่าง $\frac{dt}{dv}$ กับ v ดังรูปที่ 2.4 ต่อไปนี้ สำหรับกรณีการกรองแบบ เกิดเค้กอย่างอุดมคติจะสามารถแสดงความต้านทานของแผ่นกรอง; $\left(\frac{dt}{dv}\right)_m$ และความต้านทานที่เกิดจากเค้กรอง; $\left(\frac{dt}{dv}\right)_c$ ได้จากค่าที่จุดตัดแกนตั้งและค่าของแกนตั้งที่เพิ่มขึ้นจากจุดตัดแกนตั้งตามลำดับ ดังที่แสดงในสมการที่ (2.13)

$$\frac{dt}{dv} = \frac{2}{K'_c} (v + v_m) = \left(\frac{dt}{dv}\right)_c + \left(\frac{dt}{dv}\right)_m = \frac{\mu R_c}{\Delta P} + \frac{\mu R_m}{\Delta P} \quad (2.13)$$



รูปที่ 2.4 สัดส่วนความต้านทานของเค้กกรอง และความต้านทานของตัวกลางกรอง

ในปัจจุบันได้มีการพัฒนาวิธีการกรองที่เรียกกันว่า “การกรองแบบไหลขวาง” (Crossflow filtration) หรือการกรองแบบเค้กบาง (Thin cake filtration) เพื่อนำไปใช้กับการกรองแบบไมโครฟิลเตรชัน (Microfiltration) หรือ อัลตราฟิลเตรชัน (Ultrafiltration) รวมถึงการนำไปใช้กับการกรองที่เกิดเค้กที่มีความต้านทานต่อการกรองสูงๆ ซึ่งเป็นวิธีการกรองที่แตกต่างไปจากวิธีดั้งเดิม กล่าวคือ ให้สเลอรี่ไหลขนานผ่านหน้าตัวกลางกรองด้วยความเร็วสูงตลอดเวลากรอง และในขณะเดียวกันนั้น ของเหลวส่วนหนึ่งที่ถูกกรองจะไหลผ่านตัวกลางกรองออกไปเป็นฟิลเตรต ดังนั้นชั้นเค้กที่เกิดขึ้นจะถูกกระแสสเลอรี่ที่ไหลผ่านผิวหน้าตัวกลางกรองพัดพาไปตามกระแสทำให้ไม่ก่อตัวหนาขึ้นเรื่อยๆ การกรองจึงสามารถดำเนินได้อย่างต่อเนื่อง คงอัตราเร็วการกรองที่สูงเป็นระยะเวลาที่ยาวนานขึ้น กราฟที่ได้ระหว่าง $\frac{dt}{dv}$ กับ v จะอยู่ในรูปแบบดังรูปที่ 2.5 ต่อไปนี้



รูปที่ 2.5 ลักษณะของกราฟ $\frac{dt}{dv}$ vs v ในการกรองแบบไหลขวาง

นอกจากนี้ยังมีโมเดลอื่นๆ ที่อธิบายกลไกการกรองโดยอาศัยหลักการอุดตันของทางไหลผ่านของฟิลเทรตที่เป็นองค์ประกอบของแผ่นกรองหรือเยื่อแผ่น

2.4.4.3 โมเดลการอุดตันในการกรอง

Hermans และ Bredee (Shirato et al., 1979, Iritani and Katagiri, 2016) ได้กำหนดให้อัตราการเปลี่ยนแปลงความต้านทานการกรอง $\left(\frac{dt}{dv}\right)$ ที่มีต่อการเปลี่ยนแปลงปริมาตรฟิลเทรต (dv) ซึ่งแสดงได้ด้วย $\frac{d^2t}{dv^2}$ ซึ่งแปรผันโดยตรงกับ $\left(\frac{dt}{dv}\right)^n$ โดยให้สัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์นั้นเป็นสัมประสิทธิ์การอุดตัน (Blocking coefficient); K ดังสมการต่อไปนี้

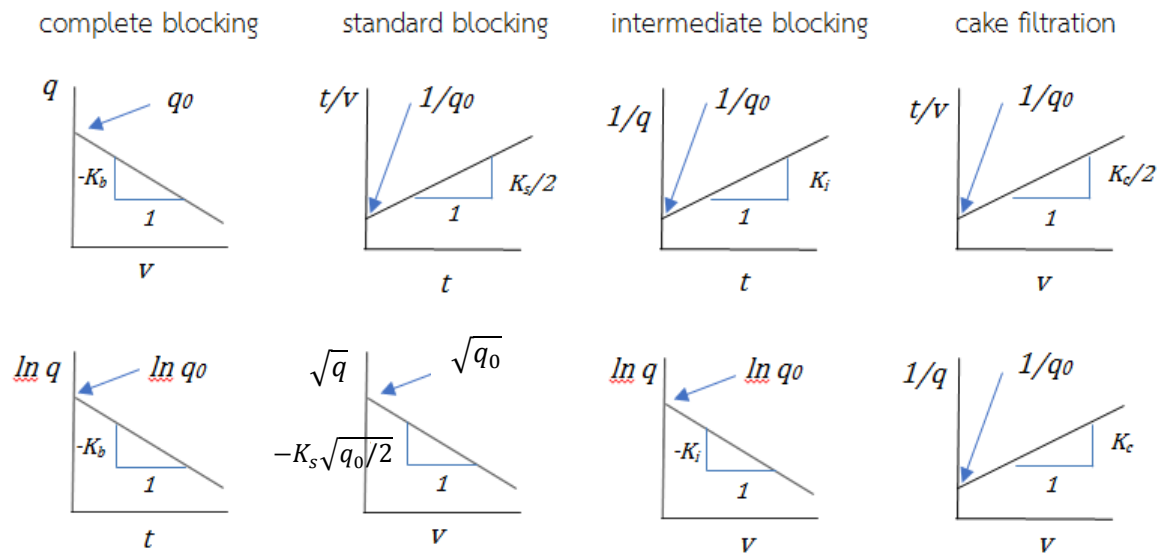
$$\frac{d^2t}{dv^2} = K \left(\frac{dt}{dv}\right)^n = K \left(\frac{1}{q}\right)^n \quad (2.14)$$

และได้กำหนดให้ตัวเลขดัชนี; n สำหรับโมเดลรูปแบบต่างๆของการกรองได้แก่ Complete blocking, Standard blocking, Intermediate blocking และรวมถึงการกรองแบบเกิดเค้ก (Cake filtration) สำหรับการกรองของเหลวแบบนิวโตเนียนด้วยความดันคงที่ดังตารางที่ 2.2 ต่อไปนี้

ตารางที่ 2.2 แบบจำลองต่างๆของการกรอง

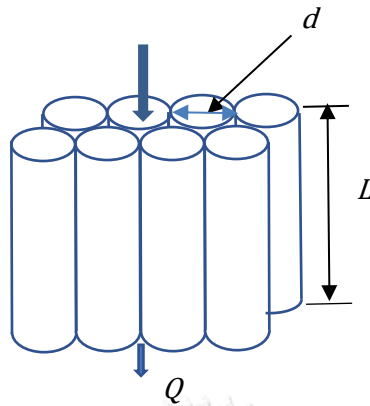
model	$\frac{d^2t}{dv^2} = K \left(\frac{dt}{dv}\right)^n$	$v = f(t)$	$q = f(t)$	$q = f(v)$
complete blocking	$n=2$	$v = \frac{q_0}{K_b} \{1 - \exp(-K_b t)\}$	$q = q_0 \exp(-K_b t)$	$K_b v = q_0 - q$
standard blocking	$n=1.5$	$\frac{t}{v} = \frac{K_s}{2} t + \frac{1}{q_0}$	$q = \frac{q_0}{\left(\frac{K_s q_0}{2} t + 1\right)^2}$	$q = q_0 \left(1 - \frac{K_s}{2} v\right)^2$
intermediate blocking	$n=1$	$K_i v = \ln(1 + K_i q_0 t)$	$K_i t = \frac{1}{q} - \frac{1}{q_0}$	$q = q_0 \exp(-K_i v)$
cake filtration	$n=0$	$\frac{t}{v} = \frac{K_c}{2} v + \frac{1}{q_0}$	$q = \frac{q_0}{(1 + 2K_c q_0^2 t)^{1/2}}$	$K_c v = \frac{1}{q} - \frac{1}{q_0}$

และสามารถแสดงรูปแบบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างพารามิเตอร์ 2 ตัวใน q v และ t ของโมเดลรูปแบบต่างๆของการกรองได้ดังรูปที่ 2.6



รูปที่ 2.6 รูปแบบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างพารามิเตอร์ 2 ตัวใน q v และ t

ในที่นี้ v (m^3/m^2) คือปริมาตรฟิลเทรตต่อพื้นที่การกรอง t (s) คือ ระยะเวลาในการกรอง q ($\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{s}$) คือ อัตราเร็วการกรอง หรือฟลักซ์ (Flux) ของฟิลเทรต q_0 ($\text{m}^3/\text{m}^2 \cdot \text{s}$) คือ อัตราเร็วการกรองเริ่มต้น K_b (1/s) คือ สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ Complete blocking K_s (1/m) คือ สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ Standard blocking K_i (1/m) คือ สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ Intermediate blocking K'_c (s/m^2) คือ สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบการกรองแบบเกิดเค้ก โดยทั้ง 4 โมเดลนั้นสามารถพิสูจน์ได้จากการเปรียบเทียบให้ตัวกลางกรองเสมือนเป็นสิ่งที่ประกอบด้วยท่อเล็กๆที่มีเส้นผ่านศูนย์กลาง; d (m) และมีความยาว; L (m) จำนวนหลายท่อเรียงขนานกันดังรูปที่ 2.7 และให้ฟิลเทรตเป็นของไหลที่ผ่านท่อเล็กๆเหล่านี้ จากสมการของ Poiseuille จะสามารถแสดงความสัมพันธ์ระหว่างอัตราการไหล Q (m^3/s) ของฟิลเทรตที่ไหลผ่านท่อ 1 เส้น เส้นผ่านศูนย์กลาง d (m) ความยาวท่อ L (m) ความหนืด μ ($\text{Pa} \cdot \text{s}$) ของของไหลที่ไหลผ่านซึ่งในที่นี้คือฟิลเทรต และความดันลด ΔP (Pa) ได้ดังสมการที่ (2.15)



รูปที่ 2.7 โมเดลเปรียบเทียบตัวกลางกรองประกอบรวมด้วยท่อขนาดเล็กจำนวนมาก

$$Q = \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu L} \quad (2.15)$$

ถ้าให้ตัวกลางกรอง (เยื่อแผ่น) มีจำนวนท่อต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรองเป็น N เส้น ($1/m^2$) ดังนั้นอัตราเร็วการกรองต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรอง (อัตราเร็วการกรอง หรือ ฟลักซ์ของฟิลเทรต) q ($m^3/m^2 \cdot s$) จะเป็น

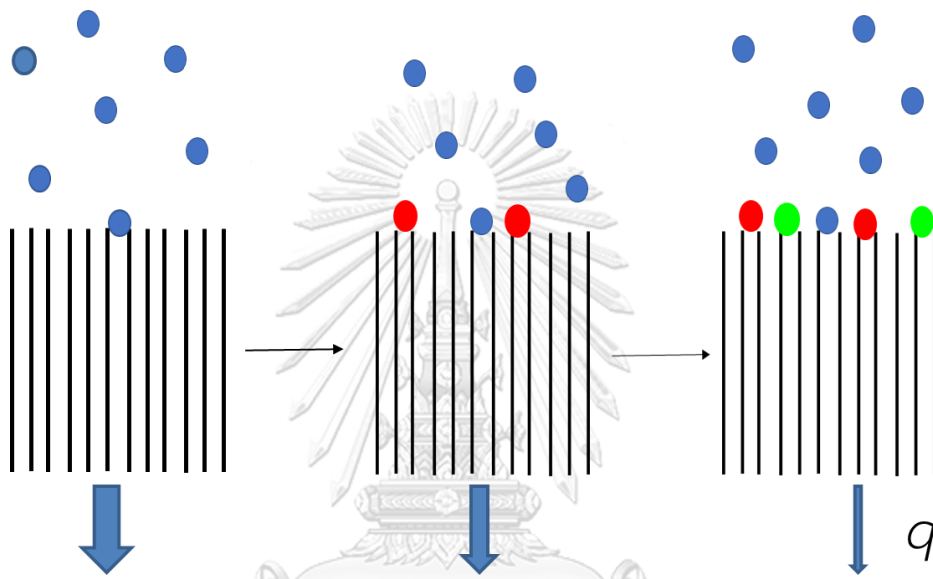
$$Q \cdot N = q = N \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu L} \quad (2.16)$$

สำหรับโมเดลของการเกิดการอุดตัน (Blocking) ตัวกลางกรอง (เยื่อแผ่น) ที่แตกต่างกันทำให้เกิดการลดลงของอัตราเร็วการกรองในการกรองที่ให้ความดันคงที่ให้มีพฤติกรรมของการเกิดการอุดตันที่แตกต่างกันดังต่อไปนี้

ก. Complete blocking model

เป็นโมเดลสำหรับกรณีที่อนุภาคที่อยู่ในของเหลวที่ต้องการกรองมีขนาดใหญ่กว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อที่เป็นโมเดลของตัวกลางกรอง ซึ่งมีสมมุติฐานที่ให้ในระหว่างการกรอง ปากทางด้านขาเข้าฟิลเทรตของท่อจะถูกปิดโดยสมบูรณ์ด้วยอนุภาคที่ถูกกรอง ดังแสดงในรูปที่ 2.8 ดังนั้นจำนวน

ท่อที่สามารถทำหน้าที่กรองได้จะลดลงตามจำนวนอนุภาคที่เข้ามาอุดตัน อัตราเร็วของการลดลงของจำนวนท่อ (dN/dt) จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของอนุภาคที่สะสมตัวบนผิวหน้าเยื่อแผ่น กล่าวคือ ผลคูณของอัตราเร็วการกรองกับความเข้มข้นของของเหลวที่ต้องการกรอง ($q \cdot C$) ในที่นี้ C (kg/m^3) คือ ความเข้มข้นของของแข็งในของเหลวที่ต้องการกรอง ถ้าให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้เป็น α_b ($1/\text{kg}$) จะได้สมการที่ (2.17)



รูปที่ 2.8 โมเดลแสดงการอุดตันของตัวกลางกรองแบบ Complete blocking

$$\frac{dN}{dt} = -\alpha_b q C \quad (2.17)$$

จากการแก้สมการเกี่ยวเนื่องระหว่างสมการข้างต้นนี้ และสมการของ Poiseuille (สมการที่ 2.16) จะได้ความสัมพันธ์ ระหว่าง v และ t q และ t และ q และ v ดังที่แสดงในตารางที่ 2.2 ในที่นี้จะแสดงตัวอย่างการได้มาของความสัมพันธ์ระหว่าง q และ v

$$\text{เนื่องจาก } q \equiv dv/dt$$

$$\text{ดังนั้น สมการที่ (2.17)}$$

$$\int_{N_0}^N dN = -\alpha_b C \int_0^v dv \quad (2.18)$$

ในที่นี้ N_0 คือ จำนวนท่อเริ่มต้นต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรอง ($1/m^2$) และ N คือ จำนวนท่อต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรองเมื่อกรองได้ฟิลเทรต v (m)

$$N - N_0 = -\alpha_b C v \quad (2.19)$$

แทน $N = \frac{128\mu L}{\pi d^4 \Delta P} q$ และ $N_0 = \frac{128\mu L}{\pi d^4 \Delta P} q_0$ ที่ได้จากสมการที่ (2.16) ลงในสมการที่ (2.19) จะได้

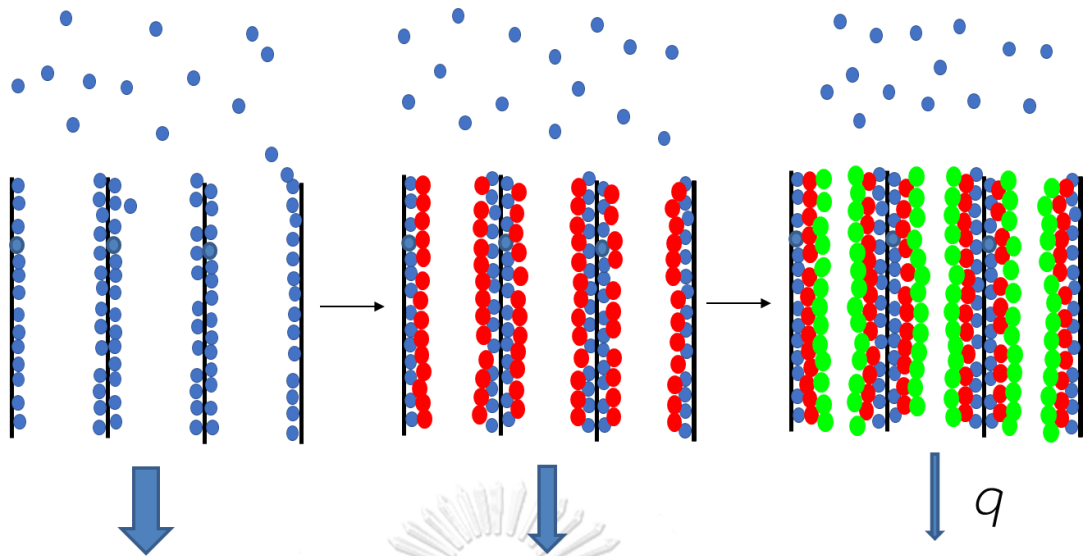
$$\frac{128\mu L}{\pi d^4 \Delta P} q - \frac{128\mu L}{\pi d^4 \Delta P} q_0 = -\alpha_b C v \quad (2.20)$$

$$\therefore q = q_0 - \frac{\pi d^4 \Delta P \alpha_b C}{128\mu L} v = q_0 - K_b v \quad (2.21)$$

ในที่นี้ สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ Complete blocking; $K_b = \frac{\pi d^4 \Delta P \alpha_b C}{128\mu L}$ (1/s) สามารถหาได้จากค่าลบของความชันของกราฟที่พล็อตระหว่าง q กับ v

ข. Standard blocking model

เป็นโมเดลสำหรับกรณีที่อนุภาคมีขนาดเล็กกว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อซึ่งมีสมมุติฐานที่ให้ในระหว่างการกรอง เส้นผ่านศูนย์กลางของท่อจะเล็กลงเรื่อยๆ ดังรูปที่ 2.9 ดังนั้นเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อจะเล็กลงตามจำนวนอนุภาคที่เข้ามาเกาะที่ผนังท่อภายใน อัตราเร็วของการลดลงของปริมาตรท่อ ($dN \frac{\pi d^2}{4} L / dt$) จะแปรผันโดยตรงกับ ปริมาณของอนุภาคที่สะสมตัวบนผิวหน้าเยื่อแผ่น กล่าวคือ ผลคูณของอัตราเร็วการกรองกับความเข้มข้นของของเหลวที่ต้องการกรอง ($q \cdot C$) ในที่นี้ C (kg/m^3) เป็นความเข้มข้นของของแข็งในของเหลวที่ต้องการกรอง ถ้าให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพัทธ์ดังกล่าวนี้เป็น α_s (m^3/kg) จะได้ตั้งสมการที่ (2.22)



รูปที่ 2.9 โมเดลแสดงการอุดตันของตัวกลางทรงแบบ Standard blocking

$$\frac{dNL\pi d^2/4}{dt} = -\alpha_s q C = -\alpha_s C \frac{dv}{dt} \quad (2.22)$$

$$\frac{NL\pi d(d^2)}{4dt} = -\alpha_s C \frac{dv}{dt} \quad (2.23)$$

$$\frac{NL\pi(2d)dd}{4dt} = -\alpha_s C \frac{dv}{dt} \quad (2.24)$$

$$\int_{d_0}^d (2d) dd = - \int_0^v \frac{4\alpha_s C}{NL\pi} dv \quad (2.25)$$

ในที่นี้ d_0 (m) คือ เส้นผ่านศูนย์กลางท่อเริ่มต้น (ที่ $t=0$ หรือ $v=0$) และ d (m) คือ เส้นผ่านศูนย์กลางของท่อที่กรองได้ฟิลเทรต v (m) ใดๆ

$$\frac{2d^2}{2} \Big|_{d_0}^d = - \frac{4\alpha_s C}{NL\pi} v \quad (2.26)$$

$$\therefore d^2 = d_0^2 - \frac{4\alpha_s C}{NL\pi} v \quad (2.27)$$

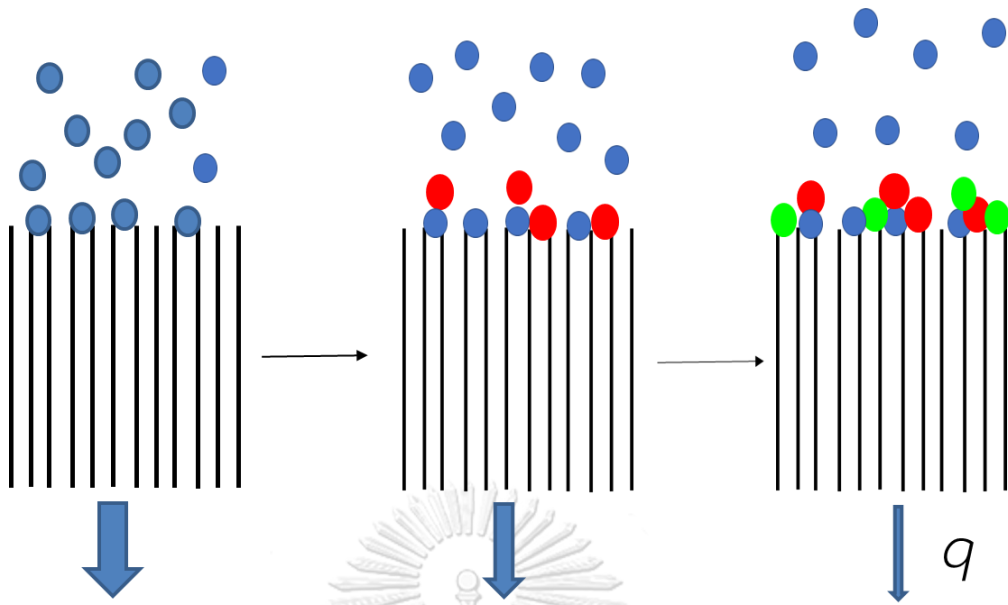
นำไปแทนใน $q = N \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu L}$ จากสมการที่ (2.16) จะได้

$$q = \frac{N\pi\Delta P(d_0^2 - \frac{4\alpha_s C}{NL\pi}v)^2}{128\mu L} = \frac{N\pi\Delta P d_0^4 \left(1 - \frac{4\alpha_s C}{NL\pi d_0^2}v\right)^2}{128\mu L} = q_0 \left(1 - \frac{K_s}{2}v\right)^2 \quad (2.28)$$

ในที่นี้ สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ Standard blocking; $K_s = \frac{8\alpha_s C}{NL\pi d_0^2}$ (1/m) สามารถหาได้จากค่าความชันของกราฟที่พล็อตระหว่าง \sqrt{q} กับ v ซึ่งค่าความชันนี้จะมีค่าเท่ากับ $-\frac{K_s\sqrt{q}}{2}$

ค. Intermediate blocking model

เป็นโมเดลสำหรับกรณีที่อนุภาคมีขนาดใหญ่กว่าเส้นผ่านศูนย์กลางของท่อซึ่งมีสมมุติฐานที่ให้ในระหว่างการกรอง อนุภาคจะถูกกักที่ปากทางด้านขาเข้าฟิลเทรตของท่อในขณะที่เดียวกันก็ถูกกักอยู่บนอนุภาคที่ได้ถูกกักอยู่ก่อนหน้าแล้ว จะเห็นได้ว่าอนุภาคที่ถูกกักจะแบ่งออกเป็นสองส่วนที่ปิดลงบนปากท่อที่เปิดอยู่ และปิดลงบนส่วนที่เป็นปากท่อที่ถูกปิดไปแล้ว ดังนั้น อัตราเร็ว (สัดส่วน) ของท่อที่ปลายปากเปิดอยู่จะถูกปิดด้วยอนุภาค (dN/dt) นั้นจะลดลงเป็นสัดส่วนโดยตรงกับจำนวนท่อที่ปลายปากเปิดอยู่ รูปแบบจำลองแสดงได้ด้วยรูปต่อไปนี้ ถ้าให้อัตราเร็วของการลดลงของจำนวนท่อ (dN/dt) แปรผันโดยตรงกับ อัตราเร็วการกรอง (q) ความเข้มข้นของของเหลวที่ต้องการกรอง (C) และจำนวนท่อ (N) และถ้าให้ค่าสัมประสิทธิ์ของความสัมพันธ์ดังกล่าวนี้เป็น α_i (m^2/kg) จะได้สมการที่ (2.29)



รูปที่ 2.10 โมเดลแสดงการอุดตันของตัวกลางกรองแบบ Intermediate blocking

$$\frac{dN}{dt} = -\alpha_1 q C N \quad (2.29)$$

$$\frac{dN}{N} = -\alpha_1 C \frac{dv}{dt} dt \quad (2.30)$$

$$\int_{N_0}^N \frac{dN}{N} = -\int_0^v \alpha_1 \cdot C \, dv \quad (2.31)$$

$$\ln N \Big|_{N_0}^N = -\alpha_1 C v \Big|_0^v \quad (2.32)$$

ในที่นี้ N_0 ($1/m^2$) คือ จำนวนท่อเริ่มต้นต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรอง และ N ($1/m^2$) คือ จำนวนท่อต่อ 1 หน่วยพื้นที่การกรองเมื่อกรองได้ฟิลเทรต v (m)

$$\ln \frac{N}{N_0} = -\alpha_1 C v \quad (2.33)$$

$$N = N_0 \exp(-\alpha_1 C v) \quad (2.34)$$

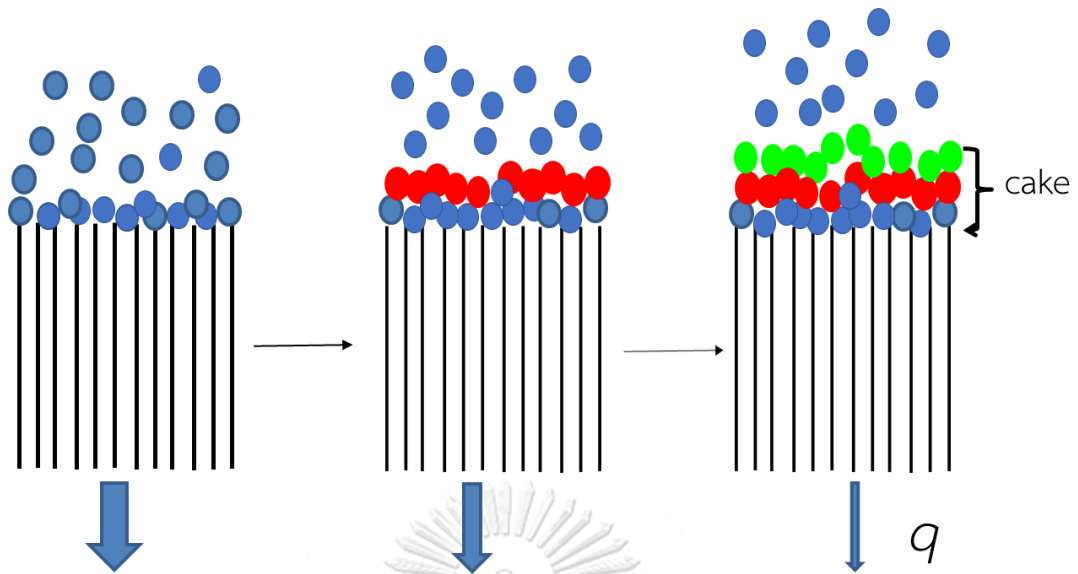
นำไปแทนใน $q = N \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu L}$ (2.16) จะได้

$$\begin{aligned} q &= N_0 \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu L} \exp(-\alpha_i C v) = q_0 \exp(-\alpha_i C v) \\ &= q_0 \exp(-K_i v) \quad (2.35) \end{aligned}$$

ในที่นี้ สัมประสิทธิ์การอุดตันแบบ Standard blocking; $K_i = \alpha_i C = K_b q_0$ (1/m) สามารถหาได้จากค่าลบของความชันของกราฟที่พล็อตระหว่าง $\ln q$ กับ v

ง. การกรองแบบเกิดเค้ก

ในกรณีของการกรองแบบเกิดเค้กนอกจากการได้มาของสมการการกรองของ Ruth ที่ได้ อธิบายไปแล้วข้างต้นยังสามารถแสดงพฤติกรรมที่ของแข็งก่อตัวเป็นเค้กและผิวหน้าของชั้นเค้กเค้กที่เกิดขึ้นทำหน้าที่เป็นตัวกลางกรองดังรูปที่ 2.11 ด้วยสมการของ Poiseuille ได้โดยให้ความยาวของช่องทางที่ฟิลเทรตไหลผ่านในขณะกรองเท่ากับผลรวมของความยาวท่อที่เทียบเท่าตัวกลางกรอง (เยื่อแผ่น) L_m (m) ที่คงที่ตลอดการกรอง และความยาวของท่อที่เทียบเท่าชั้นเค้กกรอง L_c (m) ที่เปลี่ยนแปลงเพิ่มสูงขึ้นตลอดระยะเวลากรอง ดังสมการที่ (2.36) ต่อไปนี้



รูปที่ 2.11 โมเดลการสะสมของชั้นเค้กที่ทำหน้าที่เป็นตัวการกรอง

$$q = N \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu (L_m + L_c)} \quad (2.36)$$

ความยาวของท่อที่เทียบเท่าชั้นเค้กกรอง L_c (m) จะแปรผันโดยตรงกับปริมาณของแข็งที่กรองได้ ($C \cdot v$) ดังนั้น L_c (m) จะแสดงได้ดังนี้

$$L_c = \alpha_c C v \quad (2.37)$$

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย
CHULALONGKORN UNIVERSITY

ในที่นี้ α_c (m^3/kg) คือ ค่าสัมประสิทธิ์การกรองแบบเกิดเค้ก
ดังนั้น

$$q = N \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu (L_m + \alpha_c C v)} = q_0 \frac{1}{\left(1 + \frac{\alpha_c C v}{L_m}\right)} \quad (2.38)$$

ในที่นี้ $q_0 = N \frac{\pi d^4 \Delta P}{128 \mu L_m}$

$$\frac{1}{q} = \frac{1}{q_0} + \frac{\alpha_c C v}{q_0 L_m} = \frac{1}{q_0} + K_c v \quad (2.39)$$

$$\therefore \frac{1}{q} = K_c v + \frac{1}{q_0} \quad (2.40)$$

ในที่นี้ สัมประสิทธิ์การกรองแบบเกิดเค้ก; $K_c = \frac{\alpha_c C}{q_0 L_m}$ (s/m²) สามารถหาได้จากค่าความชันของกราฟที่พล็อตระหว่าง $\frac{1}{q}$ กับ v



บทที่ 3

วัสดุ อุปกรณ์ และวิธีการทดลอง

3.1 วัตถุดิบ สารเคมี และอุปกรณ์

3.1.1 วัตถุดิบ

- ก. ข้าวเหนียวพันธุ์ กข6
- ข. *Aspergillus oryzae* TISTR 3065 (ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ซึ่งในงานวิจัยนี้จะแทนด้วย A.O.
- ค. *Amylomyces rouxii* TISTR 3182 (ศูนย์ความหลากหลายทางชีวภาพ สถาบันวิจัยวิทยาศาสตร์และเทคโนโลยีแห่งประเทศไทย) ซึ่งในงานวิจัยนี้จะแทนด้วย A.R.

3.1.2 สารเคมี

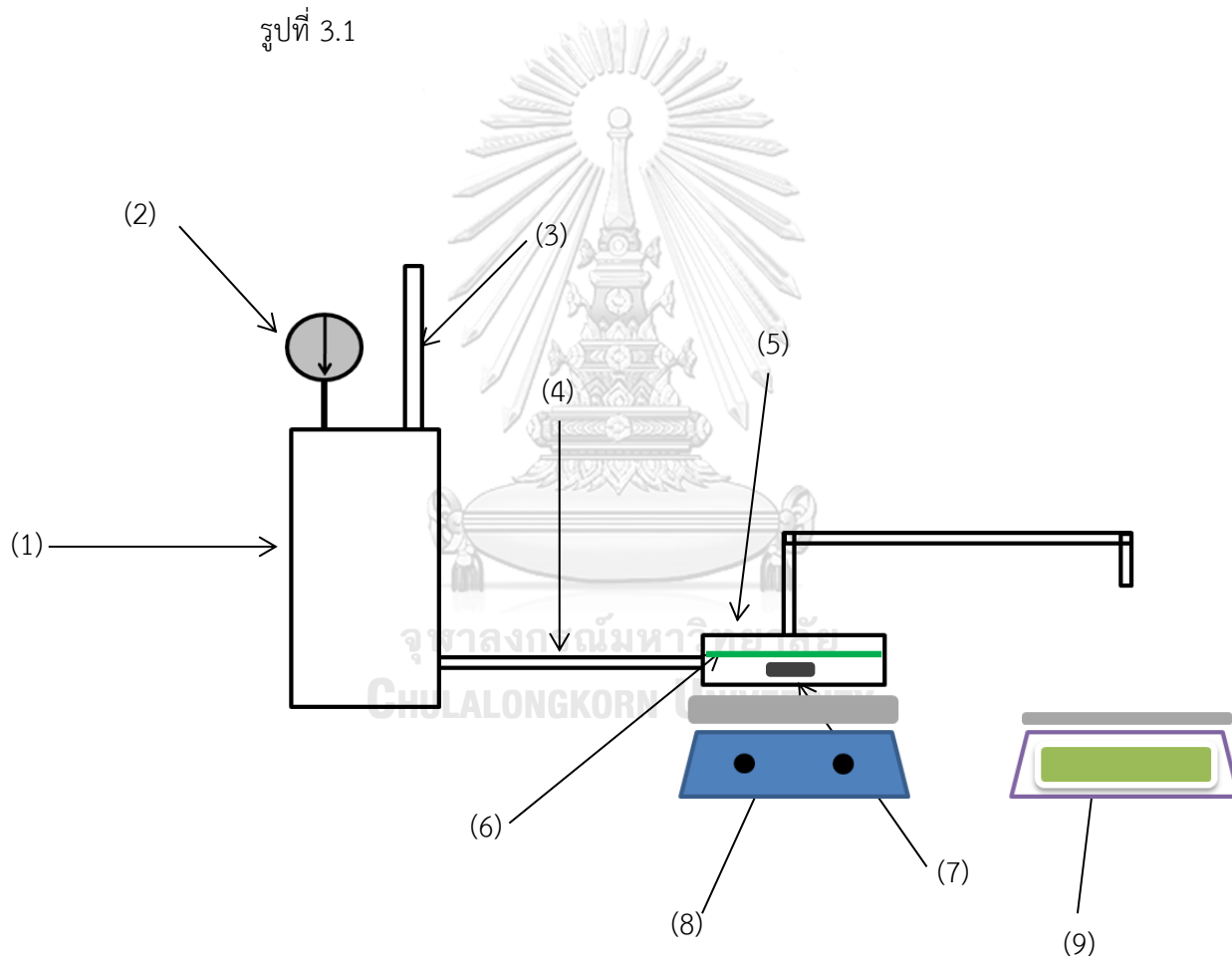
- ก. สุรากลั่น ที่มีความเข้มข้นแอลกอฮอล์ 35%
- ข. สารละลายกลูโคสไซรัป (แบะแซ)
- ค. Potato dextrose agar
- ง. Acetobacter agar
- จ. 98% Sulfuric acid (A.R. grade, QRèC, New Zealand)
- ฉ. 0.1 M Hydrochloric acid (A.R. grade, QRèC, New Zealand)
- ช. 50% (w/v) Sodium hydroxide (A.R. grade, Loba Chemie, India)
- ซ. 4% (w/v) Boric acid (A.R. grade, Merck, Germany)
- ฌ. Selenium mixture (A.R. grade, Merck, Germany)
- ญ. Methyl red
- ฎ. Methylene blue
- ฏ. Ethanol 95%
- ฐ. Acrylamide stock solution เข้มข้น 30%

- ๗. Sodium dodecyl sulfate
- ๘. Tetramethyl-ethylenediamie (TEMED)
- ๙. Ammonium persulfate
- ๑๐. Tris
- ๑๑. Glycine
- ๑๒. Coomassie brilliant blue R-250
- ๑๓. Glacial acetic acid
- ๑๔. Trichloroacetic acid

3.1.3 เครื่องมือ และอุปกรณ์

- ก. Hand refractrometer
- ข. Spectrophotometer
- ค. Incubator
- ง. Needle
- จ. Loop
- ฉ. Refrigerator
- ช. เครื่องชั่งตวงวัด 4 ตำแหน่ง
- ซ. Auto pipette
- ฌ. Erlenmeyer flask 250 mL
- ญ. สำลี
- ฎ. อลูมิเนียมฟอยล์
- ฏ. หม้อนึ่งไอน้ำ (Autoclave)
- ฐ. Hemocytometer
- ฑ. ชั่ง
- ฒ. กระบอกตวง (Cylinder)
- ณ. ถัง Polypropylene ขนาด 254 มิลลิเมตร x 381 มิลลิเมตรและมีความหนา 0.035 มิลลิเมตร

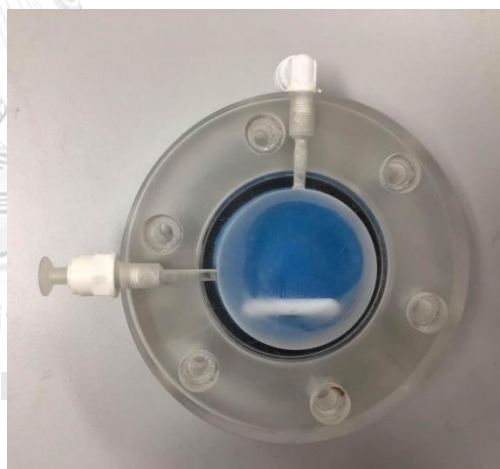
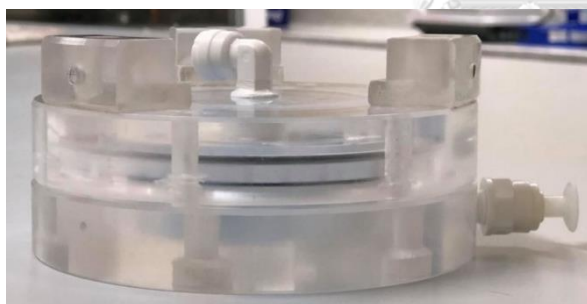
- ด. ผ้าขาวบาง
- ต. ขวดแก้วสีชา ขนาด 15 มิลลิลิตร
- ถ. เครื่องย่อยโปรตีน (Digester, BÜCHI รุ่น K-424, Switzerland)
- ท. เครื่องดักจับไอกรด (Scrubber, BÜCHI รุ่น B-414, Switzerland)
- ธ. เครื่องกลั่นไนโตรเจน (Distillation unit, BÜCHI รุ่น B-324, Switzerland)
- น. Magnetic stirrer (IKA รุ่น C-MAG HS7, Germany)
- บ. อุปกรณ์การกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันประกอบด้วยส่วนประกอบต่างๆดังแสดงในรูปที่ 3.1



- (1) ถังบรรจุของเหลวที่ต้องการกรอง (2) มาตรวัดความดัน (3) ท่อลม
- (4) สายยาง (5) ห้องกรอง (6) เชื้อแผ่น (7) แท่งแม่เหล็ก (8) Magnetic stirrer
- (9) เครื่องชั่งตวงวัด 2 ตำแหน่ง

รูปที่ 3.1 ส่วนประกอบต่างๆในระบบการกรอง

สำหรับห้องกรอง (5) นั้น ทำด้วยอะคริลิกเรซิน สามารถบรรจุเยื่อแผ่นแบบแผ่นเรียบมีพื้นที่การกรองเป็น 4534 ตารางมิลลิเมตร ความสูงห้องกรอง 17 มิลลิเมตรซึ่งภายในบรรจุแท่งแม่เหล็ก (7) ที่ใช้กวนของเหลวที่ต้องการกรองที่อยู่ภายในห้องกรองเพื่อให้เกิดแรงเฉือนที่ทำให้การกรองเป็นแบบไหลขวาง โดยแท่งแม่เหล็กจะหมุนในระดับความเร็ว 7 เมื่อใช้ Magnetic stirrer (IKA รุ่น C-MAG HS7, Germany) ดังแสดงรูปแบบของห้องกรองด้วยรูปที่ 3.2 การกรองจะเป็นการกรองที่ฟิลเตรตไหลขึ้นผ่านเยื่อกรองออกสู่ภายนอก ดังนั้นของเหลวที่ต้องการกรองจะถูกป้อนอย่างต่อเนื่องจากถังบรรจุของเหลว (1) ที่ต้องการกรองผ่านสายยาง (4) เข้าสู่ห้องกรอง (5) ด้วยความดันที่ได้จากอากาศอัดจากเครื่องอัดอากาศ (Compressor) ผ่านทางท่อลม ควบคุมความดันที่ใช้ในการกรองโดยอ่านมาตรวัดความดัน (2) ติดตั้งไว้ที่ถังบรรจุของเหลวที่ต้องการกรอง (1) และปรับความดันด้วยวาล์วปรับความดันที่ติดตั้งไว้ที่ท่อลม (3) ก่อนเข้าถังบรรจุของเหลวที่ต้องการกรอง ติดตามน้ำหนักของฟิลเตรตที่กรองได้ต่อเวลาด้วยเครื่องชั่ง (9) ละเอียดยระดับทศนิยม 2 ตำแหน่ง



รูปที่ 3.2 รูปถ่ายห้องกรอง

ในการใช้งานอุปกรณ์การกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันนั้น ต้องมีการทำความสะอาดเพื่อเป็นการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์ โดยในส่วนของถังบรรจุของเหลว (1) และสายยาง (4) จะทำความสะอาดโดยการให้ความร้อนภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที แล้วนำไปอบแห้งด้วยตู้อบลมร้อนที่อุณหภูมิ 60 องศาเซลเซียส นอกจากนั้นห้องกรอง (5) และแท่งแม่เหล็ก (7)

จะได้รับการกำจัดเชื้อโดยการแช่ในแอลกอฮอล์ที่มีความเข้มข้นร้อยละ 70 เป็นเวลา 1 ชั่วโมง แล้วนำมาแช่ในน้ำกลั่นปลอดเชื้อที่ผ่านการให้ความร้อนภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที นาน 1 ชั่วโมง และนำไปฆ่าเชื้อด้วยแสงยูวี เป็นเวลา 20 นาที

3.2 ขั้นตอน และวิธีการดำเนินงานวิจัย

3.2.1 วิเคราะห์สมบัติทางเคมี และกายภาพของมิรินทางการค้า

จัดหามิรินทางการค้าที่จำหน่ายทั่วไปในท้องตลาด อันได้แก่

- ก. *Mirin A* เป็นมิรินประเภท True mirin (Hon mirin) ที่ผ่านกระบวนการหมักแบบ 2 รอบ
- ข. *Mirin B* เป็นมิรินประเภท True mirin เช่นเดียวกับ *Mirin A* แต่ผ่านกระบวนการหมักเพียง 1 รอบ
- ค. *Mirin C* เป็นมิรินประเภท Fermented seasoning mirin (Cooking wine)

นำมิรินทางการค้าทั้ง 3 ยี่ห้อ มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี และกายภาพ ดังนี้

- ก. ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ($^{\circ}$ Brix) โดยใช้ เครื่อง Hand refractometer
- ข. ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีน (Degree of protein hydrolysis: DH) โดยวิธีของ Hoyle และ Merrit (1994) (ภาคผนวก ก.1)
- ค. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) โดยวิธี Kjeldahl method (Association of Official Analytical and Helrich, 1990) (ภาคผนวก ก.2)
- ง. สี และความขุ่น ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 และ 660 นาโนเมตร ตามลำดับ (Charalambous, 1993)

โดยมีการวางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics version 22

3.2.2 การขยายเชื้อราบนอาหารเลี้ยงเชื้อ

เพาะเลี้ยง *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ลงในอาหาร Potato dextrose agar (PDA) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียสเป็นเวลา 5 วัน เพื่อให้เชื้อราเจริญ และสร้างสปอร์ ตัดปลายเส้นใยของเชื้อราที่ได้มาเพาะเลี้ยงต่อในอาหารวุ้นเอียง (PDA slant) บ่มที่อุณหภูมิ 30 องศาเซลเซียส เก็บที่อุณหภูมิ 4 องศาเซลเซียสเพื่อใช้ในการทดลองต่อไป

3.2.3 การหาปริมาณน้ำที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อรา

ซังข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 หนัก 50 กรัม และเติมน้ำในสัดส่วน 0, 10, 15, 25 และ 35% (v/w) ใส่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี และอะลูมิเนียมฟอยล์ นำเข้าหม้อนึ่งไอน้ำนิ่งภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง สังเกตลักษณะปรากฏโดยสายตาของข้าว ได้แก่ สี การจับตัว และการกระจายตัว

3.2.4 การเตรียมกล้าเชื้อ

ซังข้าวเหนียวพันธุ์ กข 6 หนัก 50 กรัมและเติมน้ำในปริมาตรที่เหมาะสมตามขั้นตอนที่ 3.2.2 ใส่ในพลาสติกขนาด 250 มิลลิลิตร ปิดจุกด้วยสำลี และอะลูมิเนียมฟอยล์ นำเข้าหม้อนึ่งไอน้ำนิ่งภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 15 นาที ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง จากนั้นถ่ายโอนสปอร์จำนวน 1 loop จากอาหารวุ้นเอียงในข้อ 3.2.1 ลงในข้าว คลุกให้ข้าวและสปอร์ของเชื้อราผสมกัน นำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส จนกว่ากล้าเชื่อนั้นจะมีความหนาแน่นสปอร์มากกว่าหรือเท่ากับ 8 log spores ต่อข้าว 1 กรัม โดยหาความหนาแน่นสปอร์ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดในระหว่างกระบวนการเตรียมกล้าเชื้อด้วย Hemocytometer และคำนวณอัตราการเพิ่มของความหนาแน่นสปอร์ โดยมีการวางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ Completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics version 22

3.2.5 การหาอุณหภูมิที่เหมาะสมในกระบวนการหมักข้าวเหนียว กข6 ด้วยกล้าเชื้อจากเชื้อราทั้ง 2 ชนิด

เตรียมน้ำต้อยจากเชื้อราทั้ง 2 ชนิด โดยนำข้าวเหนียวพันธุ์ กข6 มาแช่ในน้ำปราศจากอ็อกซิเจนในอัตราส่วนข้าวเหนียวต่อน้ำ เท่ากับ 1:2 เป็นเวลา 1 คืน ที่อุณหภูมิห้อง หลังจากนั้นจึงนำมานึ่งที่อุณหภูมิ 100 องศาเซลเซียส เป็นเวลา 30 นาที พักไว้ให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง แล้วจึงนำกล้าเชื้อที่เตรียมไว้ล่วงหน้าในขั้นตอนที่ 3.2.3 ปริมาณ 100 กรัม มาผสมกับข้าวเหนียวที่ได้ปริมาณ 800 กรัม โดยกล้าเชื้อที่เติมต้องมีความหนาแน่นสปอร์มากกว่าหรือเท่ากับ $8 \log \text{ spores}$ ต่อข้าว 1 กรัม (Kanlayakrit and Mawiang, 2006) แล้วบรรจุลงในถุงชนิด Polypropylene อุณหภูมิในการหมัก 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียสในตู้บ่มเชื้อ ในกระบวนการหมักข้าวด้วยกล้าเชื้อจากเชื้อราจะทำให้เกิดสารละลายที่มีรสหวาน เรียกว่า น้ำต้อย โดยนำน้ำต้อยที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจากเชื้อราทั้ง 2 ชนิดมาวิเคราะห์ค่า ดังต่อไปนี้

- ก. ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ($^{\circ}\text{Brix}$) โดยใช้ เครื่อง Hand refractometer
- ข. ร้อยละผลได้ (%yield) ซึ่งคำนวณได้จาก

$$\text{ร้อยละผลได้ (\%yield)} = \frac{\text{ปริมาตรน้ำต้อย (มิลลิลิตร)}}{\text{น้ำหนักข้าวเหนียว กข6 (กรัม)}} \times 100 \quad (3.1)$$

วิเคราะห์น้ำต้อยทุกวันระหว่างกระบวนการหมัก จนกว่าจะมีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ มากกว่าหรือเท่ากับ 40°Brix โดยมีการวางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics version 22

3.2.6 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำต้อย

3.2.6.1 วิเคราะห์สมบัติของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อ 2 ชนิด

นำน้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* (A.O.) และ *Amylomyces rouxii* (A.R.) ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามผลที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.2.5 จนมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มากกว่าหรือเท่ากับ 40 °Brix วิเคราะห์ค่าดังต่อไปนี้ โดยมีการวางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Student's t-test ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics version 22

- ก. ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีน (Degree of protein hydrolysis: DH) โดยวิธีของ Hoyle และ Merritt (Hoyle and Merritt, 1994)
- ข. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) โดยวิธี Kjeldahl method (Association of Official Analytical and Helrich, 1990)
- ค. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix) โดยใช้ Hand refractometer
- ง. ร้อยละผลได้ (%yield)

3.2.6.2 วิเคราะห์สมบัติของมิรินทางการค้า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด

ก่อนและหลังกรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa

เตรียมตัวอย่างเพื่อนำมาวิเคราะห์สมบัติ ได้แก่

- 1) น้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* (A.O.) และ *Amylomyces rouxii* (A.R.) ที่อุณหภูมิที่เหมาะสมตามผลที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.2.5 จนมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มากกว่าหรือเท่ากับ 40 °Brix
- 2) น้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อ A.O. และ A.R. มาเติมแอลกอฮอล์กลั่นที่มีความเข้มข้น 35% (v/v) และสารละลายกลูโคสไซรัป ในอัตราส่วนที่ทำให้ได้สารละลายที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ เป็นร้อยละ 40 และมีปริมาณแอลกอฮอล์เป็นร้อยละ 14 ซึ่งจะเรียกว่า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง

- 3) นำไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองมากรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันแบบไหลขวาง ด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa โดยใช้ความดันในการกรองที่ 3 บาร์ ซึ่งจะได้สารละลายที่เรียกว่า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองด้วยเยื่อแผ่นขนาด 10 kDa (A.O.- 10 kDa และ A.R.- 10 kDa) และไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองด้วยเยื่อแผ่นขนาด 100 kDa (A.O.- 100 kDa และ A.R.- 100 kDa)

โดยนำมาวิเคราะห์ค่าดังต่อไปนี้ โดยมีการวางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ โดยมีการวางแผนการทดลองแบบ 2x3 factorial in CRD วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics version 22

- ก. ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีน (Degree of protein hydrolysis: DH) โดยวิธีของ Hoyle และ Merritt (Hoyle and Merritt, 1994)
- ข. ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (Total Nitrogen) โดยวิธี Kjeldahl method (Association of Official Analytical and Helrich, 1990)
- ค. วิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนโดย SDS PAGE ดัดแปลงจากวิธีของ Laemmli (1970) (ภาคผนวก ก.3)

คัดเลือกพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำด้อยจากปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีน โดยพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมน้ำด้อยควรมีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนสูงที่สุด เพื่อให้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้มีกลิ่นรสที่ดี

3.2.7 ปรับเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ให้เป็นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

นำน้ำด้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อที่คัดเลือกได้จากขั้นตอนที่ 3.2.6 มากรองด้วยผ้าขาวบางปราศจากเชื้อ เพื่อเป็นการกรองอย่างหยาบ แล้วทำการปรับเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์โดยการเติมแอลกอฮอล์กลั่นที่มีความเข้มข้น 35% (v/v) และสารละลายกลูโคสไซรับ ในอัตราส่วนที่ทำให้ได้สารละลายที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ เป็นร้อยละ 40 และมีปริมาณแอลกอฮอล์เป็นร้อยละ

14 ที่เรียกสารละลายนี้ว่า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง โดยจะนำไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองมาแบ่งเป็น 2 ส่วน เพื่อนำไปวิเคราะห์อายุการเก็บรักษาและวิเคราะห์ค่าต่างๆ ดังต่อไปนี้ ทดลอง 3 ซ้ำ

- ก. ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ ($^{\circ}$ Brix) โดยใช้ Hand refractometer
- ข. สี และความขุ่น ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 และ 660 นาโนเมตร ตามลำดับ (Charalambous, 1993)
- ค. จำนวนจุลินทรีย์ โดยตรวจนับจำนวนยีสต์ และรา และ *Acetobacter aceti* (Ashtavinayak and Elizabeth, 2016)

3.2.8 การกรองกำจัดเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อนและทำใสโดยอัลตราฟิลเทรชัน

ในการทดลองนี้ใช้อุปกรณ์การกรองที่ได้อธิบายในขั้นตอนที่ 3.1.3 (รูปที่ 3.1) โดยก่อนทดลองกรอง จะกรองน้ำกลั่นปลอดเชื้อผ่านเยื่อแผ่นที่ความ 2 2.5 และ 3 บาร์ ทุกครั้ง เพื่อเป็นการตรวจสอบสภาพของเยื่อแผ่นว่ามีการฉีกขาด ร้าว หรือมีการอุดตันอันเนื่องจากการทำความสะอาดที่ไม่เพียงพอ โดยพิจารณาเปรียบเทียบกับอัตราเร็วการกรองน้ำกลั่นในแต่ละครั้งของการทดลอง ซึ่งหากเยื่อแผ่นที่ยังคงสามารถใช้งานได้ ควรใช้อัตราเร็วการกรองที่ของน้ำกลั่นที่ความดันในการกรองเท่ากันไม่แตกต่างกันมากนักโดยเปรียบเทียบกับข้อมูลอัตราเร็วการกรองน้ำกลั่นของการทดลองก่อนหน้า

3.2.8.1 ศึกษาอิทธิพลของการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติของไวน์ข้าว

หวานปรุงอาหารก่อนกรองก่อนทำการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน

ตัวอย่างของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารสำหรับการศึกษาในหัวข้อนี้เป็นดังต่อไปนี้

- 1) ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารได้จากขั้นตอนที่ 3.2.7
- 2) ส่วนน้ำใสที่ได้แยกเอาส่วนตะกอนออกของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้จากขั้นตอนที่

3.2.7 หลังตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนตามธรรมชาติเป็นเวลา 24 ชั่วโมง

นำตัวอย่างที่เตรียมได้จากข้างต้นนำมาผ่านกระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน โดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุล (MWCO) 10 kDa และ 100 kDa โดยใช้ความดันในการกรองที่ 3 บาร์ โดยการใช้แท่งแม่เหล็กหมุนภายในห้องกรอง ซึ่งน้ำหนักของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองที่

กรองได้ ณ เวลาต่างๆในขณะดำเนินการกระบวนการกรอง เพื่อศึกษาถึงผลของการตกตะกอนตามธรรมชาติที่มีต่อประสิทธิภาพในการกรองซึ่งจะนำไปใช้เพื่อจัดการเบื้องต้นกับไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่จะนำไปก่อนด้วยอัลตราฟิลเทรชันในขั้นตอนที่ 3.2.8.2

3.2.8.2 ศึกษาผลของความดันและเยื่อแผ่นที่เหมาะสมต่อการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน

เลือกว่าจะทำการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองก่อนทำการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชันหรือไม่จากผลการทดลองจากขั้นตอนที่ 3.2.7.1 โดยใช้อุปกรณ์กรองดังที่อธิบายไว้ใน 3.1.3 ซึ่งศึกษาปัจจัยที่มีผลต่อการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน ดังต่อไปนี้

ก. ความดันที่ใช้ในการกรอง

แปรความดันที่ใช้ในการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชันที่ระดับความดัน 1, 2, 2.5 และ 3 บาร์ โดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa ซึ่งน้ำหนักของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองที่กรองได้ ณ เวลาต่างๆในขณะดำเนินการกระบวนการกรอง

ข. ค่าการกักโมเลกุล (Molecular weight cut off: MWCO) ของเยื่อแผ่น

เปรียบเทียบการกรองด้วยเยื่อแผ่นแบบอัลตราฟิลเทรชัน ชนิด Regenerated cellulose ที่มีค่าการกักโมเลกุลต่างกัน 2 ขนาด คือ 10 kDa และ 100 kDa โดยใช้ความดันที่เหมาะสมในการกรองตามขั้นตอน ก. ซึ่งน้ำหนักของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองที่กรองได้ ณ เวลาต่างๆในขณะดำเนินการกระบวนการกรอง โดยไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่กรองได้จะเก็บในขวดแก้วสีชา ขนาด 15 มิลลิลิตร ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองที่ได้แบ่งเป็น 2 ส่วน นำไปวิเคราะห์หาค่าการเก็บรักษา ดังอธิบายในขั้นตอนที่ 3.2.8

นอกจากนั้นกรองน้ำกลั่นปลอดเชื้อด้วยอัลตราฟิลเทรชันด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุล ทั้ง 10 kDa และ 100 kDa ก่อนและหลังการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารทุกครั้ง สำหรับการทดสอบกรองน้ำกลั่นหลังการกรองนั้น กระทำเพื่อจุดประสงค์ศึกษาการอุดตันภายในเยื่อแผ่นที่เกิดขึ้นระหว่างการกรอง โดยหลังดำเนินการทดลองกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารเสร็จสิ้นลงจะนำเยื่อแผ่นมาชะด้วยน้ำกลั่นผ่านที่ผิวหน้าเยื่อแผ่น 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเจลหรือชั้นเค้กที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของ

เยื่อแผ่น แล้วใส่กลับลงในห้องกรองจากนั้นกรองน้ำกลั่นโดยใช้ความดันในการกรอง 3 บาร์ และซั่งน้ำหนักของน้ำกลั่นที่กรองได้ที่เปลี่ยนไปต่อระยะเวลาการกรอง เพื่อศึกษาการกลไกการอุดตันที่เกิดขึ้นของเยื่อแผ่นระหว่างกระบวนการกรอง

3.2.9 ศึกษาผลของการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชันต่ออายุการเก็บของไวน์ข้าวหวานปรุง

อาหาร

นำไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่ได้จากขั้นตอนที่ 3.2.7 และไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองที่ได้ในขั้นตอนที่ 3.2.8.2 (ข.) ซึ่งบรรจุในขวดเก็บตัวอย่างปลอดเชื้อ เก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นเวลา 1, 3 และ 5 เดือน แล้วนำไปวิเคราะห์ค่าดังต่อไปนี้ โดยเปรียบเทียบกับไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่กำหนดทั่วไปตามท้องตลาด

- ก. สี และความขุ่น ด้วยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 และ 660 นาโนเมตร ตามลำดับ (Charalambous, 1993)
- ข. จำนวนจุลินทรีย์ โดยตรวจนับจำนวนยีสต์และรา และ *Acetobacter aceti* (Ashtavinayak and Elizabeth, 2016)

โดยมีการวางแผนและวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติแบบ completely randomized design (CRD) วิเคราะห์ความแปรปรวน (ANOVA) และเปรียบเทียบค่าเฉลี่ยด้วยวิธี Duncan's New Multiple Range Test (DNMRT) ที่ระดับความเชื่อมั่น 95% ทดลอง 3 ซ้ำ โดยใช้โปรแกรม SPSS Statistics version 22

บทที่ 4

ผล และวิจารณ์ผลการทดลอง

4.1 สมบัติทางเคมี และกายภาพของมิรินทางการค้า

เมื่อนำตัวอย่างมิรินทางการค้า อันได้แก่ Mirin A Mirin B และ Mirin C มาวิเคราะห์สมบัติทางเคมี และกายภาพ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.1

ตารางที่ 4.1 สมบัติทางเคมี และกายภาพของมิรินทางการค้า

สมบัติ	Mirin A	Mirin B	Mirin C
ของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix)	44.6±0.2 ^a	44.1±0.1 ^b	42.1±0.1 ^c
สี (A ₄₄₀)	0.416±0.002 ^a	0.221±0.003 ^b	0.066±0.002 ^c
ความขุ่น (A ₆₆₀)	0.023±0.002 ^a	0.015±0.002 ^b	0.005±0.005 ^c
ไนโตรเจนทั้งหมด (% w/v)	0.21±0.02 ^a	0.16±0.01 ^b	0.07±0.01 ^c
ค่าระดับการย่อยสลาย (%)	21.43±0.35 ^a	20.27±0.43 ^b	19.63±0.23 ^b

ค่าในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± SD จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ (p ≤ 0.05)

จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Mirin A เป็น True mirin ที่ผ่านกระบวนการหมักถึง 2 รอบ ซึ่งใช้ระยะเวลาในการหมักนาน จึงทำให้ได้มิรินที่มีคุณภาพสูง มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและค่าระดับการย่อยสลายที่สูงกว่าเมื่อเปรียบเทียบกับ Mirin B และ Mirin C เนื่องจากเอนไซม์ที่ได้จากกระบวนการหมักด้วยเชื้อรามีมากเพียงพอจึงทำให้เกิดการย่อยโปรตีนในข้าวในกลายเป็นโปรตีนขนาดเล็ก และกรดอะมิโน ซึ่งเป็นผลทำให้ Mirin A มีค่าสี และความขุ่นสูงกว่า Mirin B และ Mirin C ดังที่เห็นได้จากผลการวิเคราะห์ในตารางที่ 4.1 โดย Mirin C เป็นมิรินประเภท Fermented seasoning mirin หรือเรียกว่า Cooking wine ซึ่งจัดเป็นประเภทเดียวกับไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้จากงานวิจัย ดังนั้นในงานวิจัยนี้จะใช้ Mirin C เป็นมิรินทางการค้าที่ใช้เป็นมาตรฐานเปรียบเทียบในด้านคุณสมบัติทางเคมี และกายภาพ

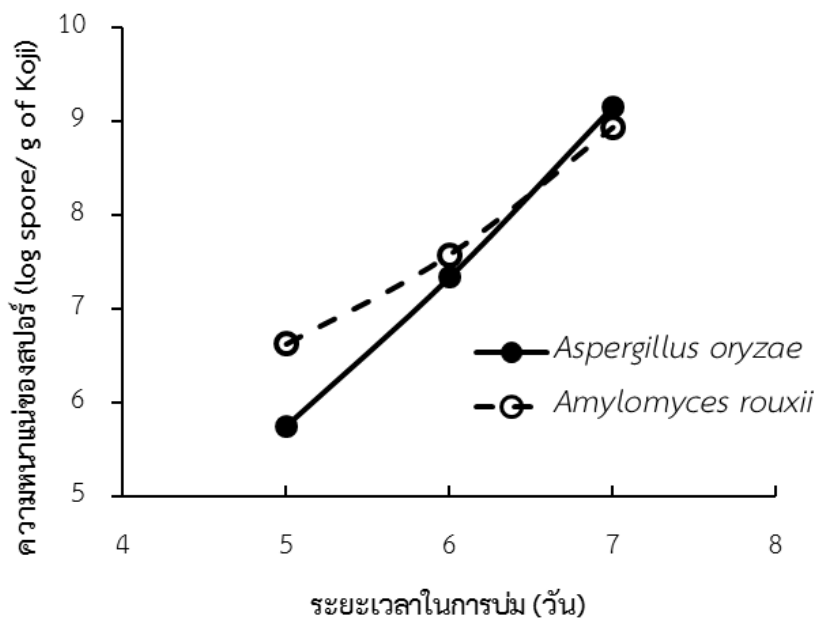
4.2 การหาปริมาณน้ำที่เหมาะสมสำหรับข้าวเหนียวที่ใช้ในการเตรียมกล้าเชื้อ

ลักษณะภายนอกของข้าวเหนียว กข6 ซึ่งเป็นวัสดุในการเตรียมกล้าเชื้อที่เติมน้ำด้วยสัดส่วน 0, 10, 15, 25 และ 35% (v/w) แล้วผ่านการให้ความร้อนด้วยการนึ่งภายใต้ความดันที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ เป็นเวลา 15 นาที เป็นดังต่อไปนี้ ข้าวเหนียว กข6 ที่มีน้ำผสมด้วย สัดส่วน 0 และ 10% (v/w) ไม่จับตัวกันเป็นก้อน แต่สีที่ปรากฏมีลักษณะเป็นสีดำ เนื่องจากเกิดการไหม้ของข้าวเหนียว กข6 ระหว่างการให้ความร้อน ส่วนข้าวเหนียว กข6 ที่เติมน้ำปริมาณ 15% (v/w) ก็ไม่เกิดการจับตัวเป็นก้อนเช่นกัน และสีของข้าวเหนียว กข6 นั้นยังคงเป็นสีขาว ในขณะที่ ข้าวเหนียว กข6 ที่เติมน้ำปริมาณ 25 และ 35% (v/w) ยังคงมีสีขาว แต่เกิดการจับตัวกันเป็นก้อน มีความเหนียว ไม่สามารถทำให้กระจายตัวออกจากกันได้

ในการเตรียมกล้าเชื้อสำหรับการหมักข้าวนั้น กล้าเชื้อต้องมีลักษณะของเมล็ดข้าวที่สามารถกระจายตัวได้ดี ไม่จับตัวกันเป็นก้อน ดังนั้นจากการทดลองข้างต้นแสดงให้เห็นว่าปริมาณน้ำที่เหมาะสมในการเติมลงในข้าวเหนียว กข6 ก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ เป็นเวลา 15 นาที คือสัดส่วนที่ 15% (v/w) ซึ่งจะเป็นสัดส่วนผสมของน้ำต่อข้าวเหนียวที่ใช้การเตรียมกล้าเชื้อสำหรับงานวิจัยนี้

4.3 การเตรียมกล้าเชื้อ (Koji)

หลังถ่ายโอนสปอร์ของ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ลงในข้าวเหนียว นึ่งที่ได้เตรียมตามที่ระบุใน 3.2.4 โดยมีปริมาณน้ำในสัดส่วน 15% (v/w) ที่เป็นปริมาณน้ำที่เหมาะสมที่สุดที่ได้จากผลการทดลองใน 4.2 แล้วนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส พบว่าเมื่อบ่มเป็นเวลา 4 วัน เชื้อราทั้ง 2 ชนิดสร้างเส้นใยและสปอร์ปกคลุมทั่วเมล็ดข้าวเหนียวหนึ่ง สปอร์ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาในการบ่มนานขึ้น ดังแสดงในรูปที่ 4.1



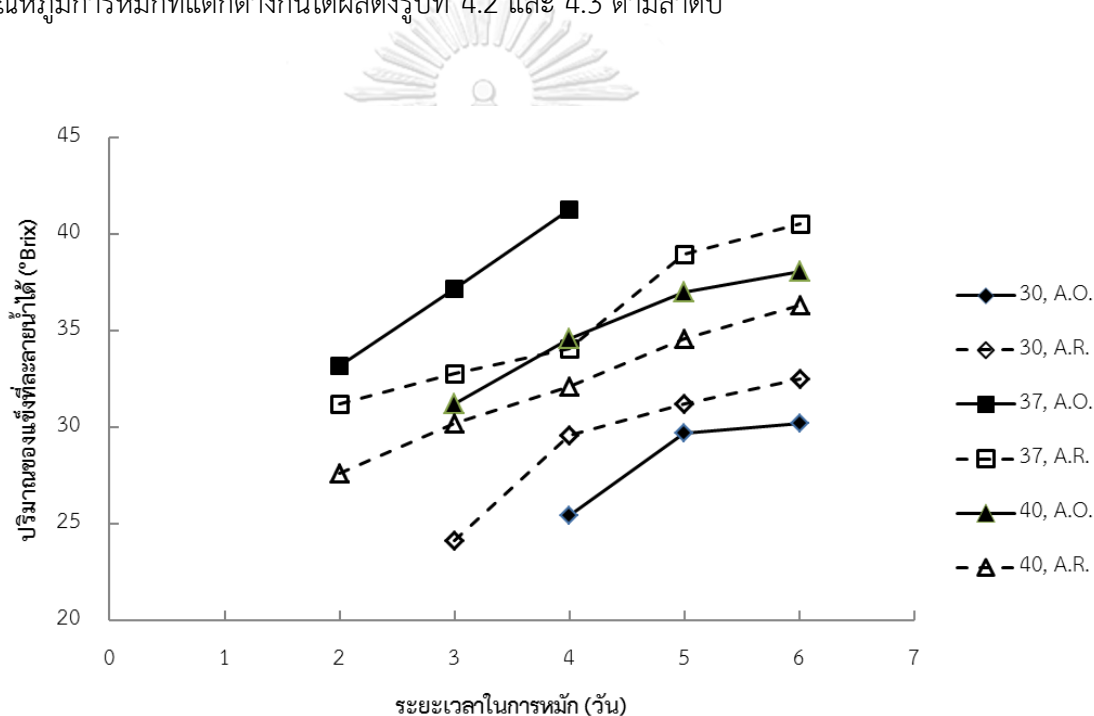
รูปที่ 4.1 ความหนาแน่นของสปอร์ของ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ในช่วงระยะเวลาในการบ่ม (วัน)

จากรูปที่ 4.1 ในระยะเวลา 2 วันสุดท้ายตั้งแต่วันที่ 5 ถึง วันที่ 7 ของการบ่ม อัตราการเพิ่มความหนาแน่นของสปอร์ของ *Aspergillus oryzae* (3.40 log spore ต่อข้าว 1 กรัม) สูงกว่าอัตราการเพิ่มขึ้นของสปอร์ของ *Amylomyces rouxii* (2.31 log spore ต่อข้าว 1 กรัม) แต่อย่างไรก็ตาม จะเห็นได้ว่าสปอร์ของเชื้อราทั้ง 2 ชนิดมีปริมาณมากกว่า 8 log spore ต่อข้าว 1 กรัมเมื่อทำการบ่มเป็นระยะเวลา 7 วัน ดังนั้นจึงสรุปได้ว่าระยะเวลาในการบ่มที่เหมาะสมในการเตรียมกล้าเชื้อจากเชื้อราทั้ง 2 ชนิด คือ การบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน

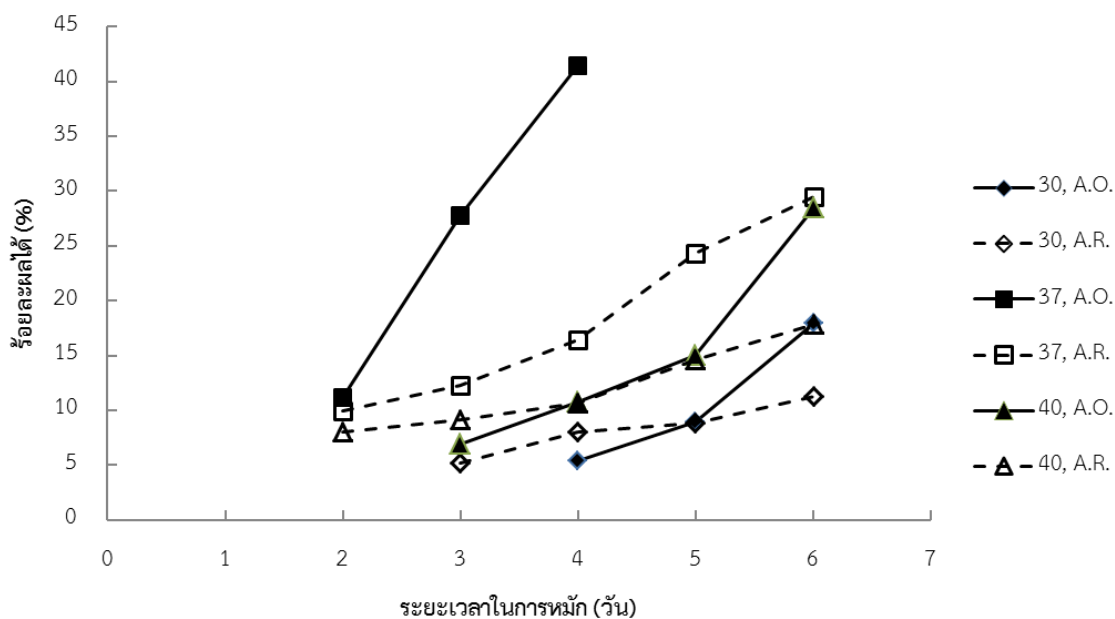
4.4 ผลของอุณหภูมิที่มีผลต่อการหมัก

เนื่องจาก *Aspergillus oryzae* จะผลิตเอนไซม์แอมิเลสได้ในกระบวนการหมักในช่วงอุณหภูมิ 20 ถึง 45 องศาเซลเซียส (Ahmed, 2011) ซึ่งอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานของเอนไซม์แอมิเลสที่ได้จากการหมักด้วย *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* จะอยู่ในช่วงอุณหภูมิ 35 ถึง 50 องศาเซลเซียส (Aliyah et al., 2017) นอกจากนี้เอนไซม์โปรติเอสมีอุณหภูมิที่เหมาะสมในการทำงานที่อุณหภูมิในช่วง 25 ถึง 40 องศาเซลเซียส (Pei-Jing and Chou, 2005) ดังนั้นในงานวิจัยนี้จึงแปรอุณหภูมิที่ใช้ในการหมัก 3 ระดับที่ 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส แก่ข้าว

เหี่ยวหนึ่งที่ได้โรยกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ที่เตรียมได้ตามวิธีที่ระบุ ใน 3.2.4 ไร่บนผิวหน้าข้าวเหี่ยวหนึ่งนั้นๆ ในที่นี้ข้าวเหี่ยวหนึ่งเป็นข้าวเหี่ยว กข6 ที่ผ่านการเจลาติไนซ์อย่างสมบูรณ์ด้วยวิธีที่ระบุในขั้นตอนที่ 3.2.5 เพื่อที่จะทำให้เอนไซม์แอมิเลส และโปรติเอสในกล้าเชื้อสามารถย่อยแป้งและโปรตีนที่เป็นองค์ประกอบในข้าวเหี่ยวได้ (Uchida and Oka, 1983) พบว่าหลังหมักเป็นระยะเวลา 1 วันจะเริ่มมีน้ำต้อยซึ่งเป็นของเหลวใสที่เกิดขึ้นจากกระบวนการหมักเกิดขึ้น และจะมีปริมาณเพิ่มขึ้นเรื่อยๆเมื่อระยะเวลาการหมักนานขึ้น เมื่อนำน้ำต้อยมาวิเคราะห์ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และร้อยละผลได้ ที่เปลี่ยนแปลงไปตลอดระยะเวลาที่หมักด้วยอุณหภูมิการหมักที่แตกต่างกันได้ผลดังรูปที่ 4.2 และ 4.3 ตามลำดับ



รูปที่ 4.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ที่อุณหภูมิการหมัก 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส



รูปที่ 4.3 ค่าร้อยละผลได้ของน้ำตาลที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ที่อุณหภูมิการหมัก 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส

จากรูปที่ 4.2 ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำตาลที่ได้จากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจากเชื้อราทั้ง 2 ชนิดที่เพิ่มขึ้นตลอดช่วงระยะเวลาในการหมักที่ใช้งานวิจัยนี้เป็นเพราะว่าเชื้อราทั้ง 2 ชนิดได้สร้างเอนไซม์แอมิเลสในระหว่างกระบวนการหมักซึ่งเอนไซม์ดังกล่าวนี้จะย่อยแป้งที่อยู่ในข้าวเหนียว กข6 ให้เป็นน้ำตาล จึงทำให้ค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เพิ่มขึ้น และจากรูปที่ 4.3 แสดงให้เห็นว่าการหมักโดยใช้กล้าเชื้อของ *Aspergillus oryzae* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีการเพิ่มขึ้นของร้อยละผลได้อย่างรวดเร็ว มีค่าร้อยละผลได้เท่ากับ 41.46 ± 0.14 % และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เป็น 41.3 ± 0.6 °Brix ภายในระยะเวลาการหมัก 4 วัน นอกจากนี้การหมักโดยใช้กล้าเชื้อของ *Amylomyces rouxii* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส มีค่าร้อยละผลได้เท่ากับ 29.46 ± 0.26 % และมีปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้เป็น 40.6 ± 0.3 °Brix ในระยะเวลาการหมัก 6 วัน แต่ในขณะที่การหมักโดยเชื้อราทั้ง 2 ชนิด ที่อุณหภูมิ 30 และ 40 องศาเซลเซียส พบว่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มีค่าต่ำกว่า 40 °Brix ภายในระยะเวลาการหมัก 6 วัน โดยการหมักด้วยกล้าเชื้อของ *Aspergillus oryzae* มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำตาลเป็น 30.2 ± 0.2 °Brix และ 38.1 ± 0.2 °Brix โดยมีร้อยละผลได้เป็น 20.66 ± 0.76 % และ 27.30 ± 0.12 % ที่อุณหภูมิการ

หมัก 30 และ 40 องศาเซลเซียส ตามลำดับ นอกจากนี้การหมักโดยใช้กล้าเชื้อของ *Amylomyces rouxii* มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำต้อยเป็น 32.5 ± 0.3 °Brix และ 36.3 ± 0.1 °Brix โดยมีร้อยละผลได้เป็น 15.84 ± 0.15 % และ 20.95 ± 0.12 % ที่อุณหภูมิการหมัก 30 และ 40 องศาเซลเซียสตามลำดับ (ภาคผนวก ข.1 และภาคผนวก ข.2)

จากผลการทดลองข้างต้นนั้นแสดงให้เห็นว่ากระบวนการหมักโดยใช้กล้าเชื้อของเชื้อราทั้ง 2 ชนิด มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ และร้อยละผลได้ของน้ำต้อยสูงที่สุดอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) ที่อุณหภูมิการหมัก 37 องศาเซลเซียส ดังนั้นอุณหภูมิที่เหมาะสมในการหมักข้าวเหนียว กข6 โดยใช้กล้าเชื้อของ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* คือ 37 องศาเซลเซียส อีกทั้งเนื่องจากการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* ใช้ระยะเวลาในการหมักสั้นกว่าเพื่อให้ได้น้ำต้อยที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้มากกว่า 40 °Brix จึงแสดงให้เห็นว่ากล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* สร้างเอนไซม์ที่มีประสิทธิภาพในการย่อยแป้งในข้าวเหนียว กข6 ได้ดีกว่ากล้าเชื้อจาก *Amylomyces rouxii* ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้ *Aspergillus oryzae* เป็นกล้าเชื้อที่ใช้ในงานวิจัยในขั้นตอนต่อไป

4.5 การคัดเลือกสายพันธุ์เชื้อราที่เหมาะสมในการเตรียมน้ำต้อย

เมื่อนำน้ำต้อยที่ได้จากการหมักโดยกล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการหมัก 4 วัน และน้ำต้อยได้จากการหมักโดยกล้าเชื้อจาก *Amylomyces rouxii* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส ระยะเวลาการหมัก 6 วัน มากรองด้วยผ้าขาวบางเพื่อแยกเอาเศษข้าวที่หลงเหลืออยู่ในน้ำต้อยออก แล้วนำไปวิเคราะห์สมบัติของน้ำต้อย ดังแสดงในตารางที่ 4.2

ตารางที่ 4.2 สมบัติของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักโดยกล้าเชื้อ 2 ชนิด

ชนิดของกล้าเชื้อ	ปริมาณ ของแข็ง ที่ละลายน้ำได้ (°Brix)	ร้อยละผลได้ (%)	ค่าระดับการ ย่อยสลายของ โปรตีน (%)	ปริมาณ ไนโตรเจน ทั้งหมด (% w/v)
<i>Aspergillus oryzae</i>	41.3±0.6 ^a	41.46±0.14 ^a	18.76±0.16 ^a	0.21±0.15 ^a
<i>Amylomyces rouxii</i>	40.6±0.3 ^a	29.46±0.26 ^b	12.54±0.18 ^b	0.13±0.12 ^b

ค่าในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± SD จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

จากตารางที่ 4.2 น้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อที่ได้จากเชื้อราทั้ง 2 ชนิดมีความแตกต่างกัน น้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อที่ได้จาก *Aspergillus oryzae* มีค่าระดับการย่อยสลาย (%DH) และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด เป็น 18.76±0.16% และ 0.21±0.15% (w/v) ตามลำดับ ในขณะที่น้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อที่ได้จาก *Amylomyces rouxii* มีค่าระดับการย่อยสลาย และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด เป็น 12.54±0.18% และ 0.13±0.12% (w/v) ตามลำดับ จากผลการทดลองข้างต้นนั้นแสดงให้เห็นว่ากล้าเชื้อที่ได้จาก *Aspergillus oryzae* สามารถผลิตเอนไซม์โปรติเอสที่มีประสิทธิภาพสูงกว่ากล้าเชื้อที่ได้จาก *Amylomyces rouxii* เนื่องจากเอนไซม์โปรติเอสที่มีประสิทธิภาพสูงกว่าจะสามารถย่อยโปรตีนในข้าวเหนียว กข6 ให้กลายเป็นโปรตีนขนาดเล็ก หรือกรดอะมิโนได้ดีกว่า ซึ่งสามารถบ่งชี้ได้จากค่าระดับการย่อยสลาย และปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด โดยโปรตีนที่มีขนาดเล็กเหล่านี้คาดว่าเป็นตัวบ่งชี้ถึงกลีโนสที่เป็นเอกลักษณ์เฉพาะตัวของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารได้ (Amatayakul et al., 2012, Shen et al., 2012) เมื่อนำผลการวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักจากกล้าเชื้อทั้งสองชนิด (A.O. และ A.R.) และไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้จากน้ำต้อยดังกล่าวไปเจือจางด้วยแอลกอฮอล์และปรับค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้แล้วนำไปผ่านการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลที่ 10kDa และ 100 kDa ไปเปรียบเทียบกับค่าที่ได้จากมิรินทางการค้า (Mirin C) ซึ่งเป็นมิรินประเภท Fermented seasoning mirin หรือ Cooking rice wine ได้ดังที่แสดงในตารางที่ 4.3

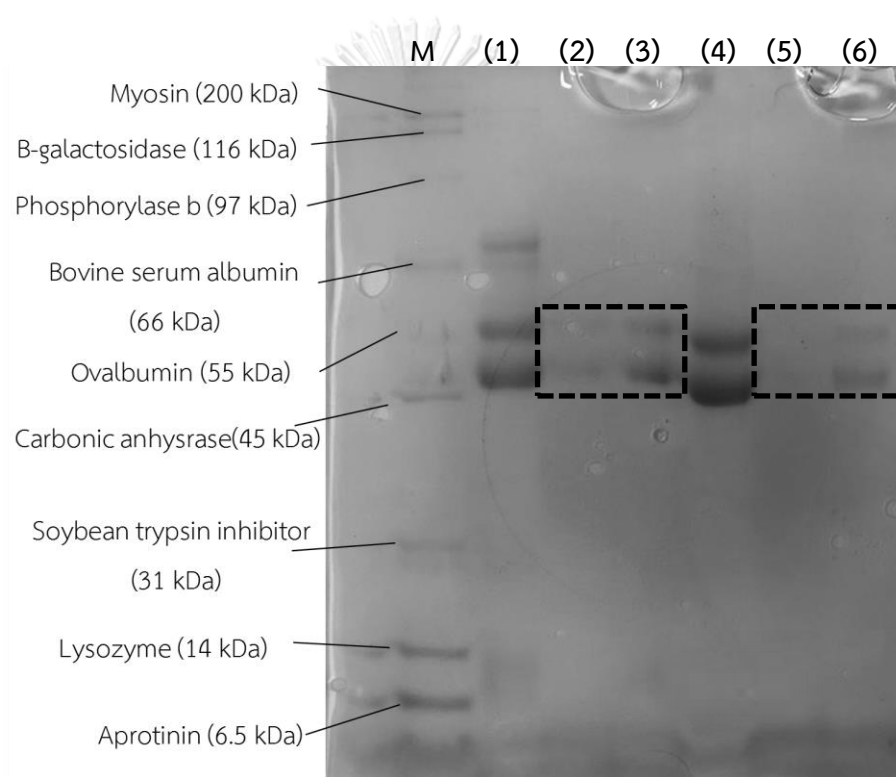
ตารางที่ 4.3 ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด และค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนของมิรินทางการค้า
 ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ก่อนและหลังกรองด้วยอัลตราฟิลเทร
 ชั้นที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa

ตัวอย่าง	ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมด (% w/v)	ค่าระดับการย่อยสลาย (%)
Mirin C	0.07±0.01	19.63±0.23
A.O.	0.21±0.02*	18.76±0.16*
A.O.- 10 kDa	0.08±0.01	16.02±0.14*
A.O.- 100 kDa	0.10±0.01*	16.83±0.13*
A.R.	0.13±0.01*	12.54±0.18*
A.R.- 10 kDa	0.03±0.01*	9.97±0.09*
A.R.- 100 kDa	0.04±0.01*	10.84±0.12*

* ค่าเฉลี่ยแตกต่างกันอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับค่าเฉลี่ยของ Mirin C

น้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด (A.O. และ A.R.) มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดมากกว่ามิรินทางการค้า (Mirin C) และเนื่องจากโดยทั่วไปแล้วโปรตีนที่ทำให้เกิดความขุ่นหรือ Haze ในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารดังที่กล่าวใน 2.1.3 จะเป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ระหว่าง 18 kDa ถึง 126 kDa (Takayama et al., 1989, Esteruelas et al., 2009) ซึ่งไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารในงานวิจัยนี้ก็เป็ผลิิตภัณท์ที่จัดอยู่ในประเภทผลิิตภัณท์ที่ได้จากการหมักข้าว ดังนั้นการกำจัดโปรตีนที่มีขนาดใหญ่ด้วยการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชันจึงเป็นวิธีหนึ่งที่น่าจะนำมาใช้ในการเพิ่มความเสถียรของลักษณะปรากฏที่ต้องใสตลอดระยะเวลาการเก็บรักษาและใช้งานของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารและประกอบกับเป็นการกำจัดเชื้อจุลินทรีย์โดยไม่ใช้ความร้อน (cold sterilization) ไปพร้อมกันด้วย จึงได้กรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้จากนำน้ำต้อยดังกล่าวด้วยเยื่อแผ่นขนาดค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa ด้วยขั้นตอนวิธีทดลองที่ระบุใน 3.2.6 พบว่า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่หมักด้วยกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* หลังกรองด้วยเยื่อแผ่นขนาด 10 kDa (A.O.- 10 kDa) มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดลดต่ำลงใกล้เคียงกับมิรินทางการค้า (Mirin C) มากที่สุด ($p > 0.05$) ส่วนไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่หมักด้วยกล้าเชื้อ *Amylomyces rouxii* หลังกรองด้วยเยื่อแผ่นทั้ง 2 ชนิด (A.R.- 10 kDa และ A.R.- 100 kDa) มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดน้อยกว่ามิรินทางการค้ามาก

($p \leq 0.05$) ซึ่งอาจทำให้มีผลต่อกลิ่นรสของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร อีกทั้งเมื่อพิจารณาค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนพบว่าน้ำต้อยและไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* มีค่าใกล้เคียงกับมิรินทางการค้ามากที่สุด โดยเมื่อพิจารณาถึงผลของการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่ากักที่โมเลกุลต่างกัน พบว่าไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่กรองโดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลที่ 10 kDa มีค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีน รวมถึงปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดลดลง เนื่องจากเยื่อแผ่นที่มีค่ากักที่โมเลกุล 10 kDa จะกำจัดโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลที่อยู่ในช่วงระหว่าง 10 kDa ถึง 100 kDa ออกจากไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรอง ดังที่จะแสดงให้เห็นในรูปที่ 4.4



(M: Marker, (1): A.R., (2): A.R.- 10 kDa, (3): A.R.- 100 kDa,
(4): A.O., (5): A.O.- 10 kDa, (6): A.O.- 100 kDa)

รูปที่ 4.4 SDS-PAGE ของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนและหลังกรองด้วยอัลตาฟิลเทรชันด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุล 10 kDa และ 100 kDa

จากผลที่กล่าวมาในข้างต้นจะพบว่า *Aspergillus oryzae* เป็นเชื้อราที่เหมาะสมในการใช้เป็นกล้าเชื้อในการเตรียมน้ำต้อยมากกว่า *Amylomyces rouxii*

4.6 การปรับเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์ของน้ำด้อยให้เป็นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

นำน้ำด้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อที่ได้จากเชื้อรา *Aspergillus oryzae* ที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลาการหมัก 4 วัน มากรองด้วยผ้าขาวบางปราศจากเชื้อ เพื่อเป็นการกรองอย่างหยาบ เพื่อกำจัดเศษข้าว และอนุภาคขนาดใหญ่ที่เหลือจากการหมัก แล้วทำการปรับเพิ่มปริมาณแอลกอฮอล์โดยการเติมแอลกอฮอล์กลั่นที่มีความเข้มข้น 35% (v/v) และสารละลายกลูโคสไซรัป ในอัตราส่วนที่ทำให้ได้สารละลายที่มีค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ เป็นร้อยละ 40 และมีปริมาณแอลกอฮอล์เป็นร้อยละ 14 เพื่อให้ค่าทั้งสองอยู่ในระดับเดียวกับมิรินทางการค้า (Mirin C) จากนั้นต่อไปเรียกสารละลายที่ได้ชื่อว่า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง และเมื่อไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองมาวิเคราะห์ค่าต่างๆ ได้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.4

ตารางที่ 4.4 สมบัติของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง

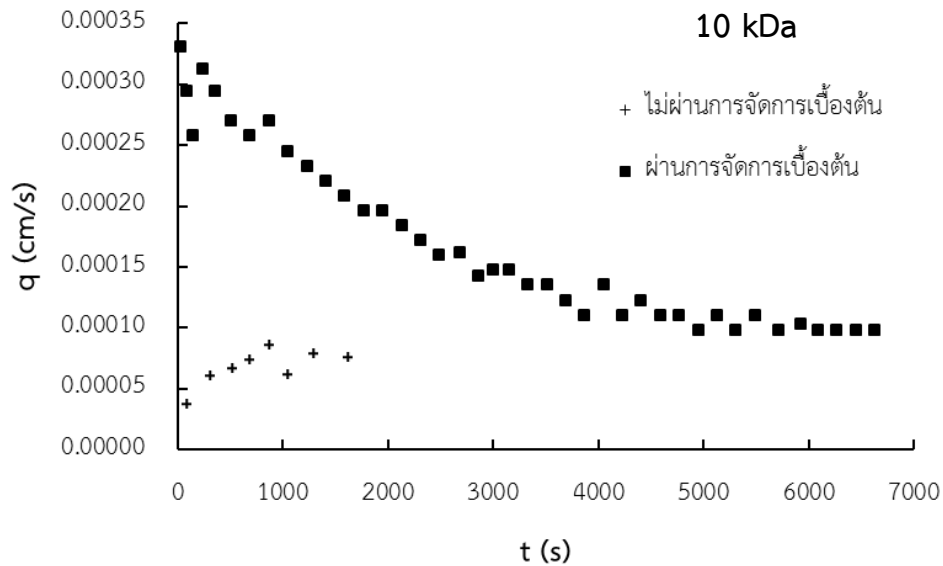
สมบัติ	ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร ก่อนกรอง
ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix)	41.3±0.2
สี (A ₄₄₀)	0.231±0.003
ความขุ่น (A ₆₆₀)	0.080±0.002
จำนวนยีสต์ และรา (CFU/ml)	1.23×10 ⁵
จำนวน <i>Acetobacter aceti</i> (CFU/ml)	<10

4.7 การกรองกำจัดเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อนและการทำใสโดยอัลตราฟิลเทรชัน

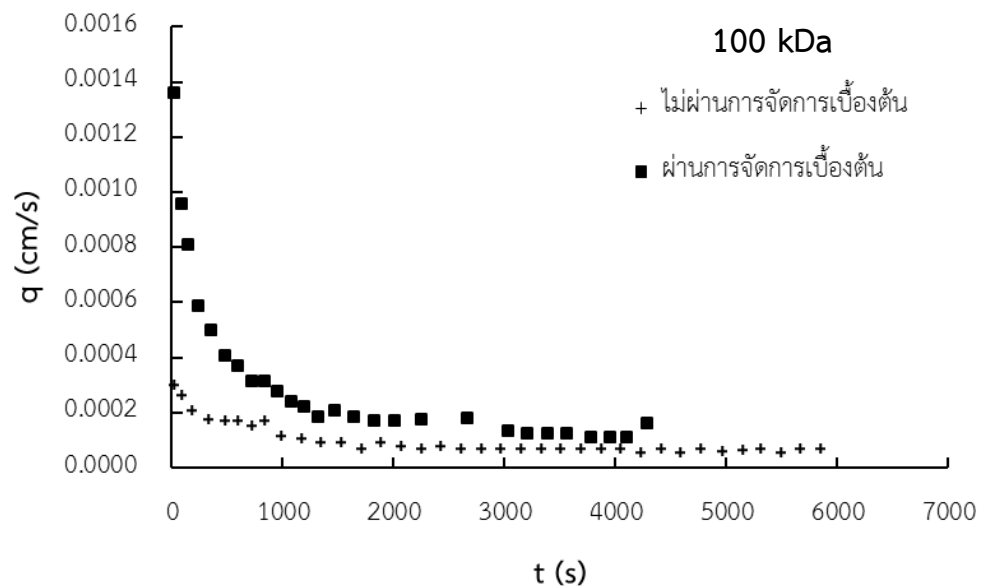
4.7.1 อิทธิพลของการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติของ ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองก่อนทำการกรองแบบอัลตราฟิลเทรชัน

เมื่อวัดอัตราเร็วการกรองเปรียบเทียบระหว่างไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่ทำการตั้งทิ้งไว้ 24 ชั่วโมงให้เกิดการตกตะกอนตามธรรมชาติกับที่ไม่ได้ทิ้งให้เกิดการตกตะกอนก่อนนำมาผ่าน

กระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันที่ความดันคงที่ 3 บาร์ ด้วยระบบการกรองที่ระบุใน 3.1.3 โดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุล 10 kDa (รูปที่ 4.5) และ 100 kDa (รูปที่ 4.6)



รูปที่ 4.5 อัตราเร็วการกรอง ณ เวลาต่างๆ ของการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านและไม่ผ่านการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติ โดยใช้เยื่อแผ่นขนาด 10 kDa



รูปที่ 4.6 อัตราเร็วการกรอง ณ เวลาต่างๆ ของการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านและไม่ผ่านการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติ โดยใช้เยื่อแผ่นขนาด 100 kDa

พบว่าตัวอย่างที่ไม่ได้ผ่านการตั้งทิ้งให้ตกตะกอนก่อนการกรองนั้น มีอัตราเร็วการกรองต่ำกว่า ทั้งในกรณีที่กรองโดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa (รูปที่ 4.5) และ 100 kDa (รูปที่ 4.6) โดยจากรูปที่ 4.5 พบว่าในการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่ไม่ได้ผ่านการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติ ไม่สามารถกรองได้เมื่อใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa เนื่องจากเกิดการอุดตันอันเป็นผลมาจากภาระ (load) ของโมเลกุลขนาดใหญ่ นอกจากนี้การกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารไม่ได้ผ่านการจัดการเบื้องต้นโดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa มีอัตราเร็วการกรองในช่วงแรกที่ดีกว่าการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการจัดการเบื้องต้น และเข้าสู่สภาวะคงที่ ดังนั้นการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติเพื่อกำจัดสารโมเลกุลใหญ่ที่สามารถตกตะกอนได้บางส่วนจึงมีความจำเป็นต่อกระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันในการผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร ซึ่งจะช่วยให้มีอัตราเร็วการกรองที่สูงขึ้น

4.7.2 ผลของการเลือกความดันและเยื่อแผ่นที่เหมาะสมต่อการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชัน

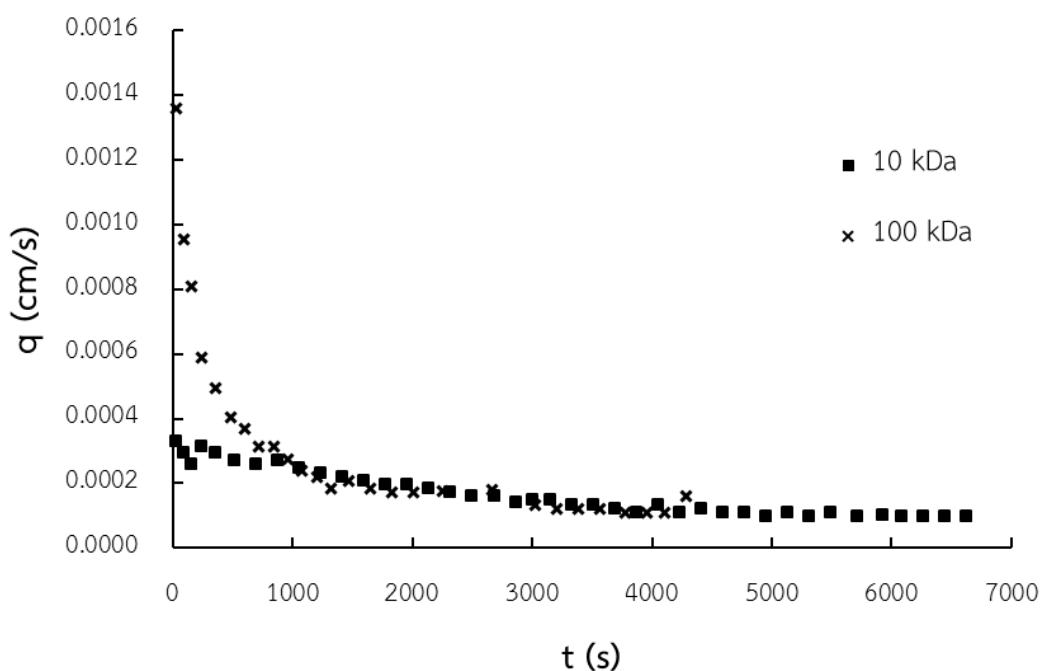
ก. ความดันที่ใช้ในการกรอง

ความดันปกติที่ใช้ในการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันจะอยู่ระหว่าง 1 ถึง 10 บาร์ (Cui and Muralidhara, 2010) แต่เนื่องจากอุปกรณ์การกรองที่จัดสร้างขึ้นทนความดันได้สูงสุดที่ 3 บาร์ จึงแปรความดันที่ใช้ในการกรองเป็น 1, 2, 2.5 และ 3 บาร์ เมื่อใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa พบว่าไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติโดยใช้ความดันที่ 1, 2 และ 2.5 บาร์ ไม่สามารถทำการกรองได้เนื่องจากอัตราเร็วการกรองต่ำมาก แต่ที่ความดันที่ 3 บาร์ ทั้งการกรองผ่านเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa สามารถกรองได้ในอัตราสมเหตุสมผลที่จะได้ปริมาณฟิลเตรตที่เพียงพอต่อการนำไปใช้ในการวิเคราะห์ในขั้นต่อไปในงานวิจัยนี้ ดังนั้นจึงได้เลือกใช้ความดันที่ 3 บาร์ในการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารสำหรับงานวิจัยนี้

ข. ค่าการกักโมเลกุล (Molecular weight cut off: MWCO) ของเยื่อแผ่น

ดังที่ได้มีงานวิจัยที่ได้ระบุไว้ว่าโดยทั่วไปแล้วโปรตีนที่ทำให้เกิดความขุ่น หรือ Haze ในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร จะเป็นโปรตีนที่มีขนาดโมเลกุลอยู่ระหว่าง 18 kDa ถึง 126 kDa (Takayama et al., 1989, Esteruelas et al., 2009) ในงานวิจัยนี้จึงเลือกใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa เพื่อเปรียบเทียบการกำจัดโปรตีนที่มีขนาดดังกล่าวออกจากไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่มีผลต่อการเกิดความขุ่นในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

เมื่อนำไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่ผ่านการตั้งทิ้งไว้ให้ตกตะกอนตามธรรมชาติ มาเปรียบเทียบอัตราการการกรองผ่านเยื่อแผ่นแบบอัลตราฟิลเตรชันระหว่างเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุล 10 kDa และ 100 kDa ได้ผลดังแสดงในรูปที่ 4.7



รูปที่ 4.7 อัตราเร็วการกรอง ณ เวลาต่างๆ ของการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่ผ่านการตั้งทิ้งให้ตกตะกอน โดยใช้เยื่อแผ่นขนาด 10 kDa และ 100 kDa ที่ความดัน 3 บาร์

จากรูปที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าในช่วงแรกของการกรอง อัตราเร็วการกรองของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารผ่านเยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลที่ 100 kDa สูงกว่าอัตราเร็วการกรองของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารผ่านเยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลที่ 10 kDa แต่อัตราการลดลงของอัตราเร็วการกรองมีความ

แตกต่างกันอย่างชัดเจนโดยที่อัตราเร็วการกรองผ่านเยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลที่ 100 kDa จะลดลงรวดเร็วกว่าอัตราเร็วการกรองผ่านเยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลที่ 10 kDa และจะลดลงจนมีอัตราเร็วการกรองที่ใกล้เคียงกับอัตราเร็วการกรองผ่านเยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลที่ 10 kDa ในช่วงเวลาต่อไป

ถึงแม้ว่าในงานวิจัยนี้การกรองจะเป็นกระบวนการกรองแบบไหลขวางแต่ในช่วงแรกของการกรองซึ่งอิทธิพลของแรงที่กระทำในทิศทางที่ตั้งฉากกับเยื่อแผ่นที่เกิดจากอัตราเร็วการกรอง (ที่ยังคงมีค่าสูงอยู่) จะมีมากเมื่อเทียบกับอิทธิพลของแรงพัดพาในทิศทางเฉือนผ่านผิวหน้าเยื่อแผ่นที่เกิดจากกระแสไหลขวาง ดังนั้นจากที่ได้แสดงในรูปที่ 2.6 (ในบทที่ 2.4.4.3) ความสัมพันธ์เชิงเส้น (ตรง) ในรูปแบบต่างๆ ระหว่างพารามิเตอร์ 2 ตัวใน อัตราเร็วการกรอง (q) ปริมาตรฟิลเตรต (V) และระยะเวลาในการกรอง (t) ซึ่งเป็นข้อมูลที่ได้จากการทดลองในช่วงเริ่มต้นของการกรองจากเยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa จะอธิบายกลไกการกรองที่เกิดขึ้นว่าเป็นการเกิดการอุดตันประเภทใด หรือเป็นการกรองแบบเกิดเค้กที่เกิดขึ้นพร้อมกับกลไกการกำจัดการอุดตันหรือเค้กกรองนั้นๆ ด้วยแรงเฉือนอันเนื่องจากการไหลขวางได้ ตารางที่ 4.5 และ 4.6 แสดงสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นของรูปแบบโมเดลการอุดตันและการกรองแบบเกิดเค้กพร้อมกับค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) ของความสัมพันธ์นั้นๆ (ตามรูปแบบในตารางที่ 2.2) ยืนยันว่ากลไกการอุดตันที่เกิดขึ้นในการกรองไวน์ข้าวหวานที่เป็นตัวอย่างในการทดลองนี้ด้วยกระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันโดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกัมโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa มีกลไกการกรองแบบเกิดเค้กร่วมอยู่ด้วย สำหรับความสัมพันธ์ที่ไม่สามารถจัดให้อยู่ในรูปแบบสมการเส้นตรงได้นั้น ได้ใช้ค่าเฉลี่ยของค่าสัมประสิทธิ์การอุดตันหรือค่าสัมประสิทธิ์การกรองแบบเกิดเค้ก และค่าเฉลี่ยของค่าอัตราเร็วการกรองเริ่มต้นที่ได้จากการสร้างสมการทำนายตัวแปรจากข้อมูลการทดลองตามรูปแบบสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงของโมเดลการกรองนั้นๆ ตามที่แสดงใน รูปที่ 2.6 เป็นค่าสัมประสิทธิ์การอุดตันหรือค่าสัมประสิทธิ์การกรองแบบเกิดเค้กและค่าอัตราเร็วการกรองเริ่มต้นที่ใช้แสดงสมการของความสัมพันธ์ดังกล่าว

ตารางที่ 4.5 สมการแสดงความสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) ของสมการเชิงเส้นในการ
 อดตันโมเดลต่างๆของการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa

model	$\frac{d^2t}{dv^2} = K \left(\frac{dt}{dv}\right)^n$	$v = f(t)$	$q = f(t)$	$q = f(v)$
complete blocking	$n=2$	$v = \frac{0.000305}{0.000200} \{1 - e^{-0.0002t}\}$	$q = 0.000309e^{-0.0002t}$ $r^2 = 0.8132$	$0.0002v = 0.0003 - q$ $r^2 = 0.7845$
standard blocking	$n=1.5$	$\frac{t}{v} = \frac{0.8596}{2} + \frac{1}{0.000316}$ $r^2 = 0.9192$	$q = \frac{0.000313}{\left(\frac{0.8389 \times 0.000313}{2} t + 1\right)^2}$	$q = 0.00031 \left(1 - \frac{0.8859}{2} v\right)^2$ $r^2 = 0.7955$
intermediate blocking	$n=1$	$0.895v = \ln(1 + 0.895 \times 0.000312t)$	$0.9049t = \frac{1}{q} - \frac{1}{0.000312}$ $r^2 = 0.8299$	$q = 0.000312e^{-0.8859v}$ $r^2 = 0.8046$
cake filtration	$n=0$	$\frac{t}{v} = \frac{3331.6}{2} + \frac{1}{0.000318}$ $r^2 = 0.9204$	$q = \frac{0.000318}{(1 + 2 \times 3331.6 \times 0.000318^2 t)^{1/2}}$	$3306.4v = \frac{1}{q} - \frac{1}{0.000318}$ $r^2 = 0.8003$

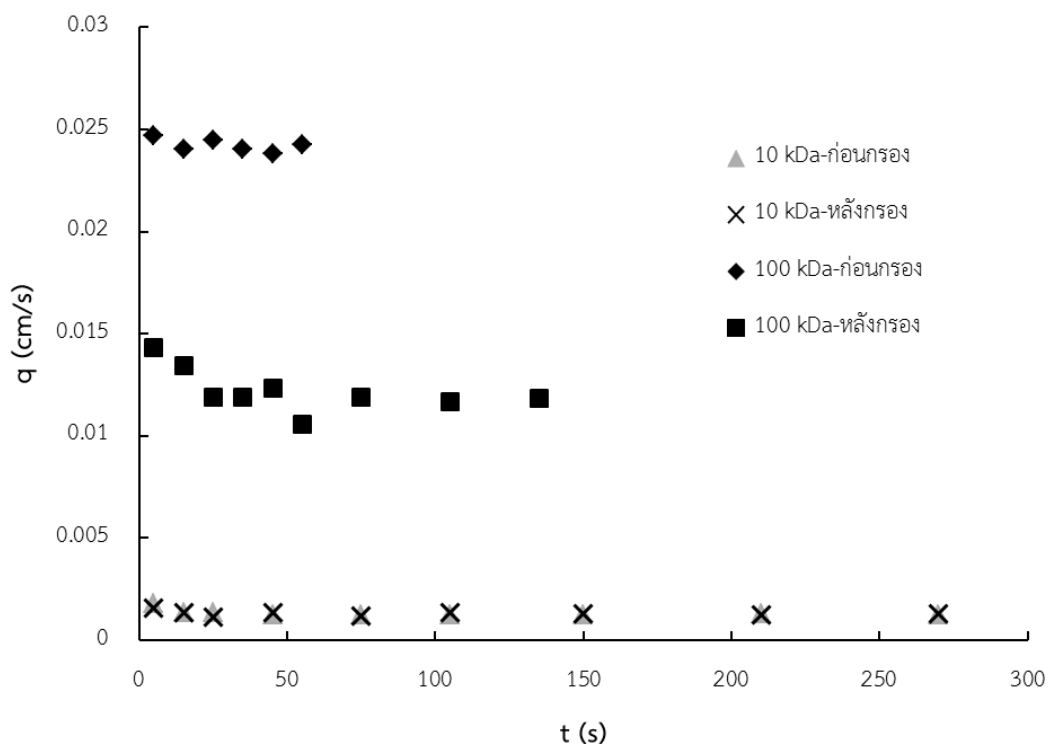
*ค่า q_0 , K_b , K_s , K_f และ K_c ที่ใช้สมการเป็นค่าเฉลี่ยของค่าต่างๆในโมเดลเดียวกันที่ได้จากการสร้างสมการ
 ทำนายตัวแปรจาก ข้อมูลการทดลองตามรูปแบบสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงตามที่แสดงใน รูปที่ 2.6

ตารางที่ 4.6 สมการแสดงความสัมพันธ์และค่าสัมประสิทธิ์สหสัมพันธ์ (r^2) ของสมการเชิงเส้นในการ
 อุดตันโมเดลต่างๆของการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa

model	$\frac{d^2t}{dv^2} = K\left(\frac{dt}{dv}\right)^n$	$v = f(t)$	$q = f(t)$	$q = f(v)$
complete blocking	$n=2$	$v = \frac{0.001217}{0.00200} \{1 - e^{-0.002t}\}$	$q = 0.001135e^{-0.0023t}$ $r^2 = 0.9265$	$0.0025v = 0.0013 - q$ $r^2 = 0.9164$
standard blocking	$n=1.5$	$\frac{t}{v} = \frac{3.0348}{2} + \frac{1}{0.001248}$ $r^2 = 0.9753$	$q = \frac{0.00130}{\left(\frac{2.8035 \times 0.00130}{2} + t + 1\right)^2}$	$q = 0.001347 \left(1 - \frac{2.572207}{2}v\right)^2$ $r^2 = 0.9614$
intermediate blocking	$n=1$	$3.578v = \ln(1 + 3.578 \times 0.00141t)$	$3.4604t = \frac{1}{q} - \frac{1}{0.001359}$ $r^2 = 0.9914$	$q = 0.00147e^{-3.6964v}$ $r^2 = 0.9894$
cake filtration	$n=0$	$\frac{t}{v} = \frac{5507.4}{2} + \frac{1}{0.002111}$ $r^2 = 0.9949$	$q = \frac{0.00646}{(1 + 2 \times 6012 \times 0.00646^2 t)^{1/2}}$	$6516.6v = \frac{1}{q} - \frac{1}{0.0108805}$ $r^2 = 0.9837$

*ค่า q_0 , K_b , K_s , K_f และ K_c ที่ใช้สมการเป็นค่าเฉลี่ยของค่าต่างๆโมเดลเดียวกันที่ได้จากการสร้างสมการ
 ทำนายตัวแปรจาก ข้อมูลการทดลองตามรูปแบบสมการความสัมพันธ์เชิงเส้นตรงตามที่แสดงใน รูปที่ 2.6

แต่อย่างไรก็ตามเมื่อพิจารณาอัตราเร็วการกรองน้ำปลอดเชื้อที่กรองผ่านเยื่อแผ่นก่อนและ
 หลังการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ความดัน 3 บาร์ดังที่แสดงในรูปที่ 4.8 เยื่อแผ่นหลังการกรอง
 ในที่นี้ หมายถึงเยื่อแผ่นที่ผ่านการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารแล้วนำไปล้างน้ำบริสุทธิ์โดยเทน้ำ
 บริสุทธิ์ผ่านที่ผิวหน้า 3 ครั้ง เพื่อกำจัดเจลหรือชั้นเค้กที่เกิดขึ้นบริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่นดังที่อธิบาย
 ใน 3.2.8 พบว่าเยื่อแผ่นที่มีขนาดค่ากักโมเลกุล 10 kDa มีอัตราเร็วการกรองน้ำปลอดเชื้อก่อนและ
 หลังของการกรองไม่ได้แตกต่างกัน แสดงให้เห็นว่าไม่เกิดการเปลี่ยนแปลงความต้านของเยื่อแผ่น ซึ่ง
 เป็นตัวบ่งชี้ว่าไม่มีการเกิดการอุดตันภายในรูพรุนของเยื่อแผ่น แต่ในขณะที่เยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลที่
 100 kDa พบว่าอัตราเร็วการกรองน้ำปลอดเชื้อของเยื่อแผ่นหลังการกรองต่ำกว่าอัตราเร็วการกรองที่
 ได้จากเยื่อแผ่นก่อนการกรองอย่างชัดเจน ซึ่งแสดงว่าเยื่อแผ่นมีความต้านสูงขึ้นอันเนื่องมาจากการอุด
 ตันภายในรูพรุนของเยื่อแผ่น



รูปที่ 4.8 อัตราเร็วการกรองของน้ำปอดเชื้อผ่านเยื่อแผ่นก่อนและหลังการกรองที่ความดัน 3 บาร์

จากผลการทดลองข้างต้นนี้แสดงให้เห็นว่ากลไกการกรองของเยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลทั้ง 2 ขนาดสำหรับใช้กรองไวรัสข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองที่ผ่านการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติมีกลไกการกรองแบบการกรองแบบเกิดเค้กร่วมกับกลไกการกำจัดการอุดตันหรือเค้กรองนั้นๆด้วยแรงเฉือนอันเนื่องมาจากการไหลขวางได้ แต่เยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลที่ 100kDa ยังมีการกลไกการอุดตันภายในเยื่อแผ่นร่วมอยู่ด้วย จากข้อมูลที่ได้จากการทดลองข้างต้นนี้เป็นข้อมูลที่จะเป็นประโยชน์ในการออกแบบระบบการกรองที่มีความเหมาะสมกับการประยุกต์ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลทั้ง 2 ขนาดนี้ โดยในกรณีที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลที่ 10 kDa ความต้านทานต่อการกรองเกิดจากชั้นเค้กของอนุภาคหรือโมเลกุลที่ผิวหน้าของเยื่อแผ่นเท่านั้น ดังนั้น ระบบการกรองที่เลือกใช้ ควรเป็นระบบที่มีกระแสไหลขวางที่มีประสิทธิภาพสูง รวมถึงควรมีกลไกในการทำให้เกิดการสะสมสิ่งที่จะก่อตัวเป็นชั้นเค้กต่ำ เช่น การจัดการเบื้องต้นก่อนการกรอง อันได้แก่ การหมุนเหวี่ยงหรือการใช้สารช่วยตกตะกอนร่วม เป็นต้น แต่ในกรณีที่จะนำเยื่อแผ่นที่มีค่ากัมโมเลกุลที่ 100 kDa มาใช้นั้น นอกจากต้องคำนึงถึงการลดความต้านทานต่อการกรองที่เกิดขึ้นจากชั้นอนุภาคหรือโมเลกุล

บริเวณผิวหน้าของเยื่อแผ่นด้วยกระแสไหลขวางที่เหมาะสมแล้ว ยังต้องคำนึงถึงการลดความต้านทานต่อการกรองที่เกิดขึ้นจากการอุดตันภายในเยื่อแผ่นด้วย ในการนี้สามารถใช้การล้างย้อน (Backwash) ตามคาบเวลาและระยะเวลาที่เหมาะสมในระหว่างการกรอง ซึ่งคาดว่าจะเส้นทางเลือกที่มีประสิทธิภาพในการลดความต้านทานการอุดตันภายในเยื่อแผ่นที่จะส่งผลให้สามารถเพิ่มอัตราเร็วการกรองที่ลดลงให้กลับสู่สภาวะใกล้เคียงอัตราเร็วการกรองเริ่มต้น ทำให้ได้อัตราเร็วการกรองเฉลี่ยที่สูงตลอดระยะเวลาดำเนินการกรอง

4.8 ผลของการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันต่ออายุการเก็บของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

4.8.1 จำนวนจุลินทรีย์ระหว่างการเก็บรักษาไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร

ก. จำนวนยีสต์ และรา

การกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันทั้งเยื่อแผ่นขนาดค่ากักโมเลกุล 10 kDa และ 100 kDa สามารถลดจำนวนยีสต์และราได้ถึง 5 log CFU/ml ทำให้มีจำนวนยีสต์และราต่ำกว่า 10 CFU/ml ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานซอสปรุงรส (มอก. 8-2549) และเมื่อทำการเก็บรักษาไวน์ข้าวหวานที่ผ่านการกรองเป็นเวลา 1 3 และ 5 เดือน ที่อุณหภูมิห้อง พบว่ายีสต์และราไม่มีการเพิ่มจำนวนขึ้นระหว่างการเก็บรักษา ดังแสดงในตารางที่ 4.7 แสดงให้เห็นว่าการใช้อัลตราฟิลเตรชันด้วยเยื่อแผ่นที่มีขนาดค่ากักโมเลกุล 10 kDa และ 100 kDa กรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารทำให้มีความเป็นไปได้ในการยืดการเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 5 เดือนโดยไม่มีการเพิ่มจำนวนของยีสต์ และรา

ตารางที่ 4.7 จำนวนยีสต์และราระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 3 และ 5 เดือน

Treatment	จำนวนยีสต์ และรา (CFU/ml)			
	ระหว่างระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน)			
	0	1	3	5
ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง	1.23×10^5	-	-	-
UF-10 kDa	<10	<10	<10	<10
UF-100 kDa	<10	<10	<10	<10
Mirin C	<10	<10	<10	<10

ข. จำนวน *Acetobacter aceti*

Acetobacter aceti เป็นจุลินทรีย์ที่บ่งชี้ถึงการเกิดกระบวนการหมักที่ทำให้เกิดกรดอะซิติก อันไม่เป็นที่พึงประสงค์ให้เกิดขึ้นในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร เนื่องจากจะก่อให้เกิดกลิ่นและรสเปรี้ยว อีกทั้งยังก่อให้เกิดความขุ่น (Ashtavinayak and Elizabeth, 2016) จึงได้ทำการตรวจวัดจำนวน *Acetobacter aceti* ระหว่างระยะเวลาการเก็บรักษา ซึ่งให้ผลดังแสดงในตารางที่ 4.8

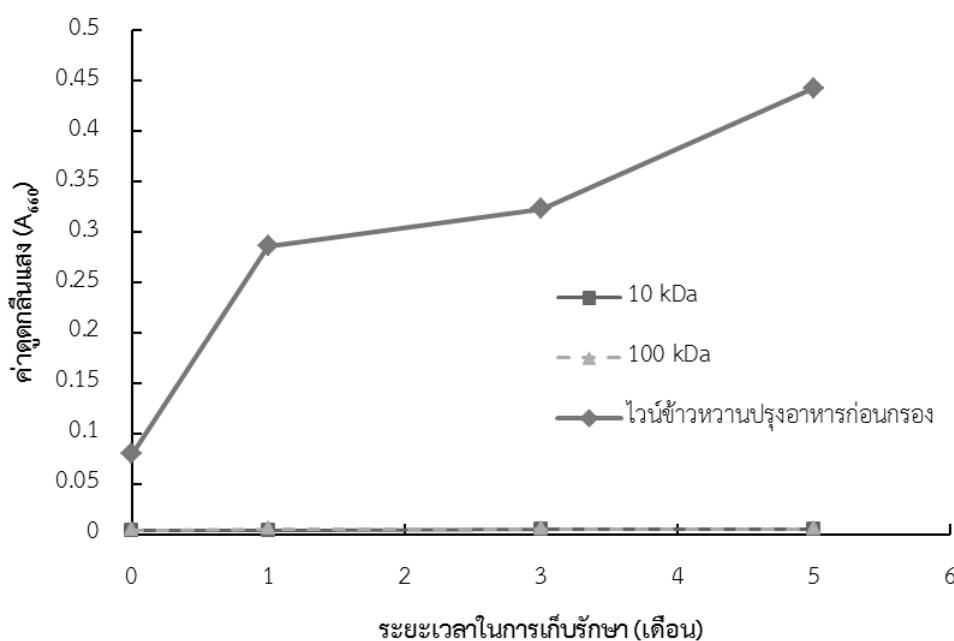
ตารางที่ 4.8 จำนวน *Acetobacter aceti* ระหว่างการเก็บรักษาเป็นเวลา 1 3 และ 5 เดือน

Treatment	จำนวน <i>Acetobacter aceti</i> (CFU/ml) ระหว่างระยะเวลาในการเก็บรักษา (เดือน)			
	0	1	3	5
ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง	<10	1.00×10^2	3.10×10^5	2.70×10^7
UF-10 kDa	<10	<10	<10	<10
UF-100 kDa	<10	<10	<10	<10
Mirin C	<10	<10	<10	<10

จากตารางที่ 4.8 จะเห็นได้ว่าที่ระยะเวลาการเก็บรักษา 0 เดือน ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารทั้งก่อน และหลังกรอง รวมถึงมิรินทางการค้า พบ *Acetobacter aceti* น้อยกว่า 10 CFU/ml แต่เมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองมีจำนวน *Acetobacter aceti* เพิ่มขึ้น ในขณะที่ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองและมิรินทางการค้าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของจำนวน *Acetobacter aceti* แสดงให้เห็นว่าการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลทั้งที่ 10 kDa และ 100 kDa ทำให้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองเก็บรักษาได้ที่อุณหภูมิห้องเป็นระยะเวลาอย่างน้อย 5 เดือน โดยไม่ทำให้เกิดกลิ่นและรสเปรี้ยวที่ไม่พึงประสงค์อันเกิดมาจาก *Acetobacter aceti* เช่นเดียวกับมิรินทางการค้า

4.8.2 ความขุ่น (Turbidity)

เมื่อทำการวัดการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 660 นาโนเมตร (A_{660}) พบว่าการกรองด้วยเยื่อแผ่นทั้ง 10 kDa และ 100 kDa ทำให้ความขุ่นลดลงอย่างมีนัยสำคัญ ($p < 0.05$) เมื่อเปรียบเทียบกับไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรอง ดังแสดงในรูปที่ 4.9

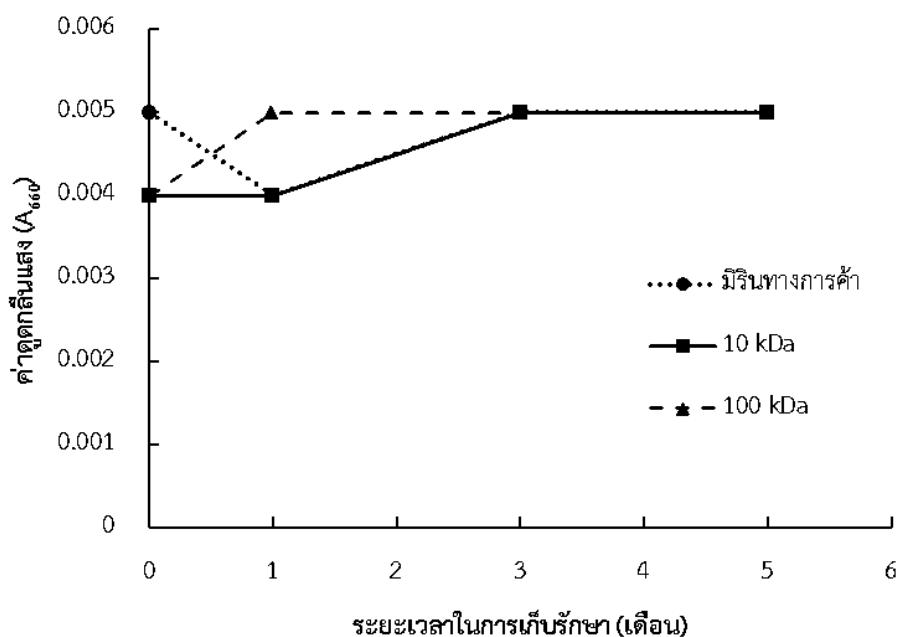


รูปที่ 4.9 ค่าความขุ่น (A_{660}) ของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ไม่ผ่านและผ่านการกรอง ระหว่างการเก็บรักษาที่เวลาต่างๆ

นอกจากนั้น ดังแสดงในรูปที่ 4.9 ตัวอย่างที่ไม่ผ่านกระบวนการกรองด้วยอัลตราฟิลเตรชัน จะมีความขุ่นเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บนานขึ้น เนื่องจากโปรตีนบางส่วนเกิดการตกตะกอน ทำให้เกิดการแยกชั้นเป็นสีขาวขุ่น รวมถึงโปรตีนบางส่วนเมื่อโดนแสงจะทำให้เกิดการจับตัวกันเกิดเป็นอนุภาคแขวนลอย หรือเรียกว่า Cloud แขวนลอยอยู่ในตัวอย่าง ทำให้ความขุ่นมีค่าสูงขึ้น

สำหรับตัวอย่างที่ผ่านการกรองทั้งที่ผ่านเยื่อแผ่น 10 kDa และ 100 kDa มีความขุ่นไม่แตกต่างกับมีรินที่จำหน่ายทางการค้า ($p > 0.05$) และไม่มีการเปลี่ยนแปลงของความขุ่น ($p > 0.05$) เมื่อทำการเก็บรักษา ดังแสดงในรูปที่ 4.10 แสดงให้เห็นว่าการกรองด้วยอัลตราฟิลเตรชันสามารถ

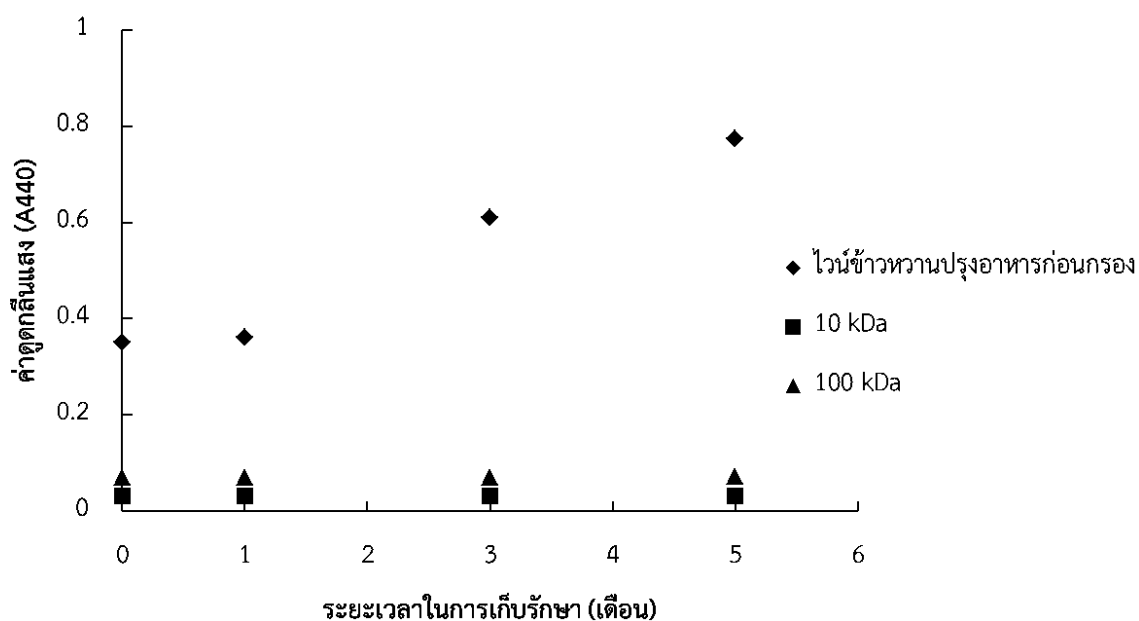
กำจัดโปรตีนที่จะตกตะกอนหรือจับตัวกันเกิดเป็น Cloud ในขณะเก็บรักษา จึงเหมาะสมกับการทำใสในการผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร



รูปที่ 4.10 ค่าความขุ่น (A_{660}) ของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรองและมิรินทางการค้า ระหว่างการเก็บรักษาที่เวลาต่างๆ

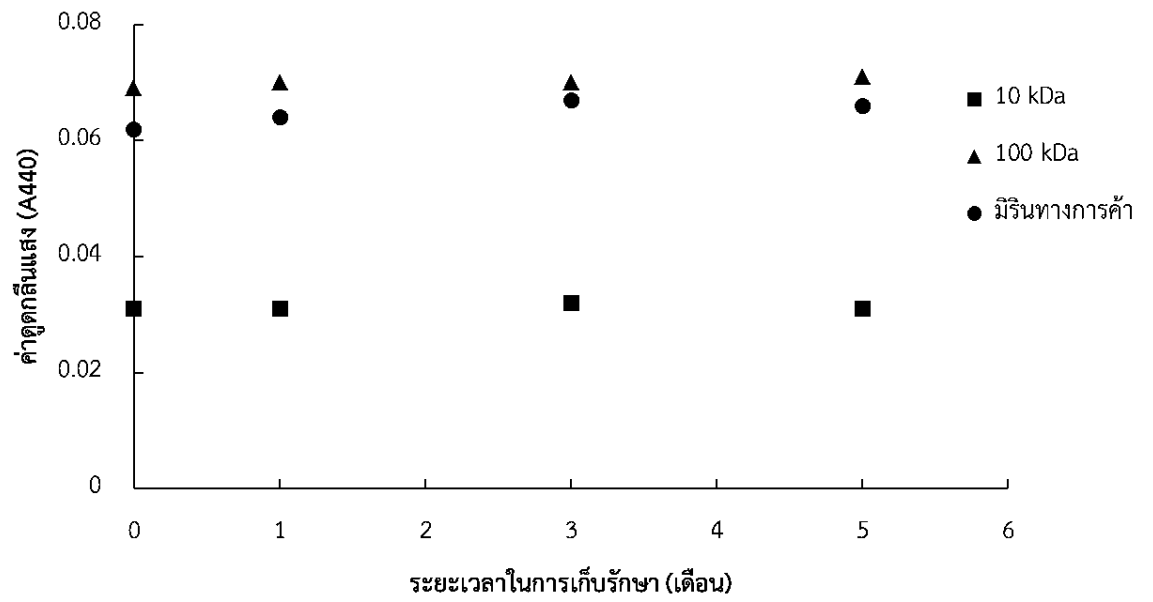
4.8.3 สี (Color) จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

การเปลี่ยนแปลงสีของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารสามารถตรวจวัดได้โดยการวัดค่าการดูดกลืนแสงที่ความยาวคลื่น 440 นาโนเมตร (A_{440}) ซึ่งเป็นตัวชี้วัดถึงการเกิดสีน้ำตาล ซึ่งจากรูปที่ 4.11 ตัวอย่างที่ไม่ผ่านการกรองด้วยอัลตราฟิลเตรชันจะมีค่าสีเพิ่มขึ้นเมื่อระยะเวลาการเก็บรักษาเพิ่มขึ้น เนื่องจากการคงอยู่ของโปรตีนและจุลินทรีย์ในสารละลาย ซึ่งทำให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาลแล้วทำให้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารมีสีเข้มขึ้น (Steinkraus, 1983) แต่ส่วนในตัวอย่างไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรองด้วยกระบวนการกรองด้วยอัลตราฟิลเตรชันและผ่านการเก็บรักษาตลอดระยะเวลา 5 เดือน ปรากฏว่าไม่มีการเปลี่ยนแปลงของสีอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) แสดงให้เห็นว่าการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันสามารถกำจัดโปรตีนและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดปฏิกิริยาสีน้ำตาล ทำให้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้มีความเสถียรในเรื่องของสีที่สูงมาก



รูปที่ 4.11 ค่าสีของตัวอย่างที่ผ่านและไม่ผ่านการกรอง ระหว่างการเก็บรักษาที่เวลาต่างๆ

นอกจากนี้เมื่อพิจารณาเปรียบเทียบค่าสีของตัวอย่างที่ผ่านการกรองและมิรินที่กำหนดทางการค้าแล้วพบว่า ไวน้ำข้าวหวานปรุงอาหารที่กรองผ่านเยื่อแผ่น 100 kDa มีค่าสีที่แตกต่างกับไวน้ำข้าวหวานปรุงอาหารที่กรองผ่านเยื่อแผ่น 10 kDa อย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ไวน้ำข้าวหวานปรุงอาหารที่กรองผ่านเยื่อแผ่น 100 kDa มีค่าสีไม่แตกต่างกับมิรินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ดังแสดงในรูปที่ 4.12 ดังนั้นเพื่อให้ได้สีที่ใกล้เคียงกับมิรินทางการค้า (Mirin C) การใช้เยื่อแผ่นที่มีขนาดค่ากักโมเลกุล 100 kDa จึงเหมาะสมกว่าเยื่อแผ่นที่มีขนาดค่ากักโมเลกุล 10 kDa



รูปที่ 4.12 ค่าสีของตัวอย่างที่ผ่านการกรองและมีรินทางการค้าระหว่างการเก็บรักษาที่เวลาต่างๆ



บทที่ 5

สรุปผลการทดลอง และข้อเสนอแนะ

5.1 สรุปผลการทดลอง

ในการผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารด้วยกระบวนการหมักโดยใช้กล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* กล้าเชื้อถูกเตรียมขึ้นด้วยการถ่ายโอนสปอร์ของเชื้อราสองชนิดข้างต้นลงบนข้าวเหนียวผ่านการนึ่งด้วยไอน้ำซึ่งข้าวเหนียวนี้จะเป็นข้าวเหนียว กข6 ที่ได้มีการเติมน้ำในสัดส่วนน้ำต่อข้าวเหนียวที่เหมาะสมที่สุดคือ 15% (v/w) ก่อนนำไปให้ความร้อนที่อุณหภูมิ 121 องศาเซลเซียส ภายใต้ความดันด้วยหม้อนึ่งไอน้ำ เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นนำไปบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เป็นระยะเวลา 7 วัน เพื่อให้สปอร์ของเชื้อราที่มีปริมาณมากกว่า 8 log spore ต่อข้าว 1 กรัม แล้วนำกล้าเชื้อที่ได้นี้ไปโรยบนข้าวเหนียว กข6 นึ่งสุก และบ่มที่อุณหภูมิ 37 องศาเซลเซียส เพื่อให้เกิดกระบวนการหมัก เมื่อเปรียบเทียบประสิทธิภาพในการหมักข้าวเหนียว กข6 ของกล้าเชื้อราทั้ง 2 ชนิด พบว่า *Aspergillus oryzae* มีความเหมาะสมในการนำมาทำกล้าเชื้อสำหรับการผลิตไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากข้าวเหนียว กข6 มากกว่า *Amylomyces rouxii* เนื่องจาก *Aspergillus oryzae* ใช้เวลาในการหมักสั้นกว่า ให้น้ำด้อยที่มีร้อยละผลได้สูงกว่า มีปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดและค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนสูงกว่า

ในการกำจัดเชื้อโดยไม่ใช้ความร้อนและการทำใสไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันโดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa นั้นไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารก่อนกรองต้องผ่านการจัดการเบื้องต้นด้วยการตกตะกอนตามธรรมชาติก่อนนำมาผ่านกระบวนการกรองที่ความดัน 3 บาร์ พบว่าช่วงแรกของการกรอง อัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa สูงกว่าอัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa แต่อัตราการลดลงของอัตราเร็วการกรองมีความแตกต่างกันอย่างชัดเจนโดยที่อัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa จะลดลงรวดเร็วกว่าอัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และจะลดลงจนมีอัตราเร็วการกรองที่ใกล้เคียงกับอัตราเร็วการกรองของเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa ในช่วงเวลาต่อไป เมื่อพิจารณารูปแบบความสัมพันธ์เชิงเส้นระหว่างพารามิเตอร์ 2 ตัวใน อัตราเร็วการกรอง (q) ปริมาตรฟิลเตรต (v) และระยะเวลาในการ

กรอง (t) ของโมเดลการกรองในรูปแบบต่างๆ กระบวนการกรองแบบอัลตราฟิลเตรชันโดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa มีกลไกการกรองแบบการกรองแบบเกิดเค้กร่วมกับกลไกการกำจัดการอุดตันหรือเค้กรองนั้นๆ ด้วยแรงเฉือนอันเนื่องมาจากการไหลขวาง แต่เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100kDa ยังมีการอุดตันภายในเกิดขึ้นร่วมอยู่ด้วยอย่างชัดเจน

เมื่อเปรียบเทียบจำนวนยีสต์และราในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองกับก่อนกรอง พบว่าการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลทั้ง 2 ขนาดลดปริมาณยีสต์และราได้ 5 log CFU/ml ทำให้มีจำนวนยีสต์และราน้อยกว่า 10 CFU/ml ซึ่งเป็นไปตามมาตรฐานซอสปรุงรส (มอก. 8-2549) เมื่อพิจารณาสมบัติทางกายภาพด้านสี และความขุ่น พบว่าไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรองด้วยเยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa มีสีที่แตกต่างกับมิรินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$) แต่ในกรณีที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa พบว่าสีของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรองไม่มีความแตกต่างกับมิรินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) ขณะที่ความขุ่นของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรองผ่านเยื่อแผ่นขนาด 10 kDa และ 100 kDa ไม่มีความแตกต่างกับมิรินทางการค้าอย่างมีนัยสำคัญ ($p > 0.05$) นอกจากนี้ยังสามารถเก็บรักษาที่อุณหภูมิห้องได้เป็นเวลาอย่างน้อย 5 เดือนโดยไม่พบการเพิ่มขึ้นของเชื้อจุลินทรีย์และการเปลี่ยนแปลงของสีและความขุ่นในไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ผ่านการกรอง ดังนั้นเยื่อแผ่นที่เหมาะสมสำหรับการกรองไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่สามารถแยกโปรตีนที่ก่อให้เกิดความขุ่นและจุลินทรีย์ที่ก่อให้เกิดความเสื่อมเสียของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ใช้ข้าวเหนียวไทยเป็นวัตถุดิบเพื่อทำใสและยืดอายุการเก็บรักษา คือ เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 100 kDa

5.2 ข้อเสนอแนะ

กลิ่นของไวน์ข้าวหวานที่ได้จากงานวิจัยนี้ มีกลิ่นที่เกิดจากสุรากลั่นที่ใช้ในการทดลองซึ่งเป็นสุราขาวที่หาซื้อได้ทั่วไปตามท้องตลาด ซึ่งไปรบกวนกลิ่นอันเป็นเอกลักษณ์ของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหาร ดังนั้นในการใช้งานจริงควรใช้สุรากลั่นชุมชนที่ได้จากกระบวนการหมักโดยใช้ข้าวเหนียวคุณภาพดีเป็นวัตถุดิบที่มีกลิ่นหอมของข้าว ช่วยทำให้ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารที่ได้มีกลิ่นที่พึงประสงค์ นอกจากนั้นแล้วในการกรองควรที่จะมีการใช้สารช่วยกรอง (Filter aid) ร่วมกับการให้กระแสไหลขวางที่สูงที่จะทำให้สามารถป้องกันการเกิดกลไกการอุดตันแบบอุดตันภายในเยื่อแผ่นให้มีแค่กลไก

การกรองแบบเกิดเค้กและกลไกการกรองแบบ thin cake ด้วยกระแสไหลขวางเท่านั้น ซึ่งจะง่ายต่อการกำจัดความหนาของชั้นเค้กกรองได้ด้วยการเพิ่มอัตราเร็วของกระแสไหลขวาง อีกทั้งควรที่จะมีการใช้สารก่อการจับกลุ่ม (Flocculant) ร่วมด้วยที่จะสามารถช่วยให้เกิดการอุดตันภายในเยื่อแผ่นน้อยลง เนื่องจากสารก่อการจับกลุ่มจะทำให้อนุภาคหรือโมเลกุลขนาดเล็กจับกลุ่มกันเป็นอนุภาคหรือโมเลกุลที่มีขนาดใหญ่ขึ้น ซึ่งจะไปอุดตันภายในเยื่อแผ่นได้น้อยลง





ภาคผนวก ก

วิธีวิเคราะห์

ภาคผนวก ก.1 วิเคราะห์ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีน (Hoyle and Merrit, 1994)

นำตัวอย่างที่ต้องการวิเคราะห์ค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนมาผสมกับกรดไฮโดรคลอโรอะซิดิกเข้มข้น 20% (โดยน้ำหนัก) ในอัตราส่วน 1:1 เขย่าให้เข้ากัน นำเข้าเครื่องหมนเหวี่ยงด้วยความเร็วรอบ 10,000 รอบต่อนาที แล้วนำส่วนของเหลวใสที่ได้ไปหาปริมาณไนโตรเจน ด้วยวิธี Kjeldahl method (AOAC, 1990)

ภาคผนวก ก.2 การวิเคราะห์ปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดโดยวิธี Kjeldahl method (AOAC, 1990)

เครื่องมือ

1. เครื่องชั่งทศนิยม 4ตำแหน่ง (Mettler Toledo รุ่น MS304S/01, Switzerland)
2. เครื่องย่อยโปรตีน (digester, BÜCHI รุ่น K-424, Switzerland)
3. เครื่องดักจับไอกรด (scrubber, BÜCHI รุ่น B-414, Switzerland)
4. เครื่องกลั่นไนโตรเจน (distillation unit, BÜCHI รุ่น B-324, Switzerland)

สารเคมี

1. 98% sulfuric acid (A.R. grade)
2. 0.1 M hydrochloric acid (A.R. grade)
3. 50% (w/v) sodium hydroxide (A.R. grade)
4. 4% (w/v) boric acid (A.R. grade)
5. selenium mixture (A.R. grade)
6. อินดิเคเตอร์ (เตรียมโดยละลาย methyl red 0.125 กรัม และ methylene blue 0.0825 กรัม ใน 90% (v/v) ethanol ปริมาตร 100 มิลลิลิตร)

วิธีวิเคราะห์

ขั้นตอนการย่อย

1. ชั่งตัวอย่างน้ำหนักแน่นอนประมาณ 5 กรัม ใส่ในหลอดย่อย
2. เติม selenium mixture 0.5 กรัม และ sulfuric acid 20 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อย
3. ทำ blank โดยใช้ น้ำกลั่น แทนตัวอย่างประมาณ 1 มิลลิลิตร แล้ววิเคราะห์ เช่นเดียวกับตัวอย่าง
4. ต่อหลอดย่อยเข้ากับเครื่องย่อยโปรตีน แล้วย่อยจนตัวอย่างมีสีน้ำตาลเข้ม (ใช้เวลาประมาณ 30-45 นาที)
5. ปิดเตา และยกออกจากเครื่องย่อย ทิ้งให้เย็นที่อุณหภูมิห้อง

ขั้นตอนการกลั่น และไทเทรต

1. กลั่นตัวอย่างที่ผ่านการย่อย โดยเติม 50% (w/v) NaOH ปริมาตร 90 มิลลิลิตร และ น้ำกลั่น 30 มิลลิลิตร ลงในหลอดย่อยโปรตีน เวลาในการกลั่นเท่ากับ 5 นาที เพื่อให้ทำปฏิกิริยาเกินพอซึ่งสังเกตได้จากสารละลายเปลี่ยนเป็นสีคล้ำ นำขวดรูปชมพู่ขนาด 250 มิลลิลิตร ที่บรรจุ 4% (w/v) boric acid ปริมาตร 25 มิลลิลิตร ผสมอินดิเคเตอร์ 2-3 หยด ไปรองรับของเหลวที่กลั่นได้ โดยให้ปลายของอุปกรณ์ควมแน่นแช่ในสารละลาย
2. กลั่นให้ได้ของเหลวอยู่ในระดับ 200 มิลลิลิตร
3. ไทเทรตสารละลายที่กลั่นได้ในขวดรูปชมพู่ด้วย 0.1 M HCl ที่ทราบความเข้มข้นที่แน่นอนจนถึงจุดยุติ (สารละลายเปลี่ยนเป็นสีชมพูอ่อน) บันทึกปริมาตร HCl ที่ใช้ และคำนวณหาปริมาณไนโตรเจนดังสมการ

$$\% \text{ Nitrogen} = \frac{(V_s - V_b) \times N \times 14 \times 100}{\text{g sample} \times 1000}$$

$$\text{ปริมาณโปรตีน} = \% \text{ Nitrogen} \times 5.27$$

โดย V_s คือ ปริมาตรของ HCl ที่ไทเทรตตัวอย่าง (มิลลิลิตร)

V_b คือ ปริมาตรของ HCl ที่ไทเทรต blank (มิลลิลิตร)

N คือ ความเข้มข้น HCl (M)

ภาคผนวก ก.3 วิเคราะห์องค์ประกอบของโปรตีนโดย SDS PAGE

เริ่มจากการเตรียมเจล ในขั้นตอนแรกล้างแผ่นกระจกสำหรับหล่อเจลด้วยน้ำกลั่นแล้วเช็ดด้วยเอทานอล ตั้งทิ้งไว้ให้แห้ง จากนั้นประกบแผ่นกระจกทั้งสองแผ่นโดยใช้ spacer คั่นที่ขอบทั้ง 2 ด้าน ประกอบแผ่นกระจกเข้ากับเครื่องโดยหันกระจกด้านที่มีรอยเว้าเข้าหาตัวเครื่อง ปิดเปิดสารละลาย separating gel ลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจก จนกระทั่งสารละลายอยู่ห่างจากขอบกระจกด้านเว้าประมาณ 1.5 เซนติเมตร แล้วหยดสารละลายบิวทานอลปิดทับผิวหน้าเจล ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเจลแข็งตัว (ใช้เวลาประมาณ 2 ชั่วโมง) เทสารละลายบิวทานอลบนผิวหน้าเจลทิ้งล้างด้วยน้ำกลั่น แล้วปิดสารละลาย stacking gel เดิมลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจกจนระดับของสารละลายถึงขอบของกระจก จากนั้นสอด comb ลงในช่องว่างระหว่างแผ่นกระจก ตั้งทิ้งไว้ที่อุณหภูมิห้องจนเจลแข็งตัว (ใช้เวลาประมาณ 1 ชั่วโมง) ถอด comb ออก จะได้เจลสำหรับวิเคราะห์ SDS-PAGE

สารเคมีที่ใช้ในการเตรียมเจลสำหรับการวิเคราะห์โดย SDS-PAGE

สารเคมี*	Separating gel	Stacking gel
Acrylamide stock solution เข้มข้น 30%	6.7 มิลลิลิตร	0.99 มิลลิลิตร
Separating gel buffer เข้มข้น 1.5 โมลาร์ (พีเอช 8.8)	5 มิลลิลิตร	-
Stacking gel buffer เข้มข้น 0.5 โมลาร์ (พีเอช 6.8)	-	1.87 มิลลิลิตร
Sodium dodecyl sulfate เข้มข้น 10%	200 ไมโครลิตร	74.25 ไมโครลิตร
น้ำกลั่น	8 มิลลิลิตร	4.57 มิลลิลิตร
TEMED	6.7 ไมโครลิตร	3.71 ไมโครลิตร
Ammonium persulfate เข้มข้น 10%	100 ไมโครลิตร	37.58 ไมโครลิตร

*สำหรับเตรียมเป็นแผ่นเจลหนา 1 มิลลิเมตร จำนวน 2 แผ่น

สำหรับขั้นตอนการทำอิเล็กโทรโฟรีซิส ต่อชุดอิเล็กโทรโฟรีซิสเข้ากับเครื่องกำเนิดไฟฟ้าเตรียม electrophoresis buffer โดยนำ Tris ปริมาณ 3.02 กรัม glycine ปริมาณ 14.4 กรัม และ SDS ปริมาณ 1 กรัม ละลายด้วยน้ำกลั่นแล้วปรับปริมาตรเป็น 1 ลิตร เติม electrophoresis buffer ลงใน chamber จนสารละลายเข้าไประหว่างแผ่นกระจกจนท่วมแผ่นเจล ปิดเตตสารละลายโปรตีนที่จะวิเคราะห์รูปแบบของแถบโปรตีนให้มีปริมาณโปรตีน 3.5 ไมโครกรัม บรรจุลงในช่องของ stacking gel ช่องละ 1 ตัวอย่าง โดยปิดโปรตีนมาตรฐาน (protein marker) ลงในช่องหนึ่งเพื่อการเปรียบเทียบ

ตั้งค่าแรงดันไฟฟ้าที่ 120 โวลต์และกระแสไฟฟ้าที่ 40 มิลลิแอมแปร์ สำหรับแผ่นเจล 2 แผ่น จากนั้นเปิดกระแสไฟฟ้าจนกระทั่งแถบสีเคลื่อนที่ลงมาจนห่างจากขอบล่างของกระจกประมาณ 0.5 เซนติเมตร (ใช้เวลาประมาณ 1.5-2 ชั่วโมง) จึงปิดเครื่องกำเนิดไฟฟ้า แล้วแกะแผ่นเจลออกจากแผ่นกระจก

เตรียม staining solution โดยผสม Coomassie brilliant blue R-250 ปริมาณ 1 กรัม กับ ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 500 มิลลิลิตร glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร

และน้ำกลั่นปริมาตร 400 มิลลิลิตร และเตรียม destaining solution โดยผสม ethanol เข้มข้น 95% ปริมาตร 250 มิลลิลิตร glacial acetic acid ปริมาตร 100 มิลลิลิตร และน้ำกลั่นปริมาตร 650 มิลลิลิตร เข้าด้วยกัน

นำแผ่นเจลที่ได้ไปแช่ใน staining solution เป็นเวลา 15 นาที จากนั้นเท staining solution ที่ทิ้ง แล้วล้างแผ่นเจลด้วยน้ำกลั่น 3 ครั้ง แล้วจึงนำไปแช่ใน destaining solution จนเห็นแถบโปรตีนปรากฏขึ้น จึงเท destaining solution ที่ทิ้ง นำเจลมาล้างด้วยน้ำกลั่นและแช่ทิ้งไว้ในน้ำกลั่น บันทึกภาพรูปแบบของแถบโปรตีน



ภาคผนวก ข
ข้อมูลการทดลองเพิ่มเติม

ภาคผนวก ข.1 ตารางแสดงค่าปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำตาลที่ได้จากการหมัก
โดยการใช้กล้าเชื้อจาก *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii*
ที่อุณหภูมิการหมัก 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส

ชนิดของกล้าเชื้อ	ปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ (°Brix) ที่อุณหภูมิการหมัก		
	30°C	37°C	40°C
<i>Aspergillus oryzae</i>	30.2±0.2 ^c	41.3±0.6 ^a	38.1±0.2 ^b
<i>Amylomyces rouxii</i>	32.5±0.3 ^c	40.6±0.3 ^a	36.3±0.1 ^b

ค่าในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± SD จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ข.2 ตารางแสดงค่าร้อยละผลได้ของน้ำตาลที่ได้จากการหมักโดยการใช้กล้า
เชื้อจาก *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii* ที่อุณหภูมิการ
หมัก 30, 37 และ 40 องศาเซลเซียส

ชนิดของกล้าเชื้อ	ร้อยละผล (%) ที่อุณหภูมิการหมัก		
	30°C	37°C	40°C
<i>Aspergillus oryzae</i>	20.66±0.76 ^c	41.46±0.14 ^a	27.30±0.12 ^b
<i>Amylomyces rouxii</i>	15.84±0.15 ^c	29.46±0.26 ^a	20.95±0.12 ^b

ค่าในตารางแสดงค่าเฉลี่ย ± SD จากการวิเคราะห์ 3 ซ้ำ

a,b... ค่าเฉลี่ยที่มีตัวอักษรต่างกันกำกับไว้ แตกต่างอย่างมีนัยสำคัญ ($p \leq 0.05$)

ภาคผนวก ข.3 ตารางแสดงน้ำหนักและปริมาตรของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรอง ณ เวลาการกรองใดๆ โดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลที่ 10 kDa โดยใช้ความดัน 3 บาร์

t (s)	Accumulated Filtrate weight (g)	v* (cm)
0	0	0
60	0.9	0.01985
120	1.7	0.037494
180	2.4	0.052933
300	4.1	0.090428
420	5.7	0.125717
600	7.9	0.174239
780	10	0.220556
960	12.2	0.269078
1140	14.2	0.313189
1320	16.1	0.355095
1500	17.9	0.394795
1680	19.6	0.432289
1860	21.2	0.467578
2040	22.8	0.502867
2220	24.3	0.535951
2400	25.7	0.566828
2580	27	0.595501
2785	28.5	0.628584
2940	29.5	0.65064
3060	30.3	0.668284
3240	31.5	0.694751
3420	32.6	0.719012
3600	33.7	0.743273

t (s)	Accumulated Filtrate weight (g)	v* (cm)
3780	34.7	0.765329
3960	35.6	0.785179
4140	36.7	0.80944
4320	37.6	0.82929
4500	38.6	0.851345
4680	39.5	0.871195
4860	40.4	0.891045
5040	41.2	0.90869
5220	42.1	0.92854
5400	42.9	0.946184
5580	43.8	0.966034
5850	45	0.992501
6000	45.7	1.00794
6180	46.5	1.025584
6360	47.3	1.043229
6540	48.1	1.060873
6720	48.9	1.078518

* คำนวณ v (cm) โดยให้ฟิลเตรต (ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรอง) มีความถ่วงจำเพาะ 1 กรัม ต่อ ลูกบาศก์ เซนติเมตร และมีพื้นที่การกรองเป็น 45.34 ตารางเซนติเมตร

ภาคผนวก ข.4 ตารางแสดงน้ำหนักและปริมาตรของไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรอง ณ เวลาการกรองใดๆ โดยใช้เยื่อแผ่นที่มีค่ากักโมเลกุลที่ 100 kDa โดยใช้ความดัน 3 บาร์

t (s)	Accumulated Filtrate weight (g)	v* (cm)
0	0	0
60	3.7	0.081606
120	6.3	0.13895
180	8.5	0.187472
300	11.7	0.25805
420	14.4	0.3176
540	16.6	0.366123
660	18.6	0.410234
780	20.3	0.447728
900	22	0.485223
1020	23.5	0.518306
1140	24.8	0.546978
1260	26	0.573445
1380	27	0.595501
1560	28.7	0.632995
1740	30.2	0.666079
1920	31.6	0.696956
2100	33	0.727834
2400	35.4	0.780768
2940	39.8	0.877812
3120	40.9	0.902073
3300	41.9	0.924129
3480	42.9	0.946184
3660	43.9	0.96824

t (s)	Accumulated Filtrate weight (g)	v* (cm)
3900	45.1	0.994707
4020	45.7	1.00794
4200	46.6	1.02779
4380	47.9	1.056462

* คำนวณ v (cm) โดยให้ฟิลเตรต (ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารหลังกรอง) มีความถ่วงจำเพาะ 1 กรัม ต่อ ลูกบาศก์ เซนติเมตร และมีพื้นที่การกรองเป็น 45.34 ตารางเซนติเมตร



ภาคผนวก ค
การวิเคราะห์ข้อมูลทางสถิติ

ตารางที่ ค.1 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำ
ได้ของมิรินทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Brix

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	10.309 ^a	2	5.154	515.444	.000
Intercept	17117.361	1	17117.361	1711736.111	.000
mirin	10.309	2	5.154	515.444	.000
Error	.060	6	.010		
Total	17127.730	9			
Corrected Total	10.369	8			

a. R Squared = .994 (Adjusted R Squared = .992)

ตารางที่ ค.2 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบค่าสีของมิรินทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Color

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.185 ^a	2	.092	17699.426	.000
Intercept	.494	1	.494	94635.766	.000
mirin	.185	2	.092	17699.426	.000
Error	3.133E-5	6	5.222E-6		
Total	.679	9			
Corrected Total	.185	8			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

ตารางที่ ค.3 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบความขุ่นของมิรินทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Turbidity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.000 ^a	2	.000	97.333	.000
Intercept	.002	1	.002	804.762	.000
mirin	.000	2	.000	97.333	.000
Error	1.400E-5	6	2.333E-6		
Total	.002	9			
Corrected Total	.000	8			

a. R Squared = .970 (Adjusted R Squared = .960)

ตารางที่ ค.4 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนของมิรินทางการค้า

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nitrogen

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.030 ^a	2	.015	64.714	.000
Intercept	.185	1	.185	792.429	.000
mirin	.030	2	.015	64.714	.000
Error	.001	6	.000		
Total	.216	9			
Corrected Total	.032	8			

a. R Squared = .956 (Adjusted R Squared = .941)

ตารางที่ ค.5 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบค่าระดับการย่อยสลายของโปรตีนของมิรินทางการค้า

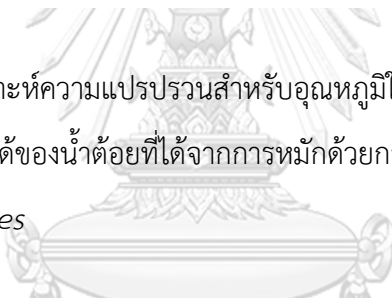
Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: DH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	4.550 ^a	2	2.275	18.929	.003
Intercept	3752.379	1	3752.379	31220.683	.000
mirin	4.550	2	2.275	18.929	.003
Error	.721	6	.120		
Total	3757.650	9			
Corrected Total	5.271	8			

a. R Squared = .863 (Adjusted R Squared = .818)

ตารางที่ ค.6 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับอุณหภูมิในการหมักที่มีผลต่อปริมาณของแข็งที่ละลายน้ำได้ของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces*



Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: TSS

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	194.287 ^a	2	97.143	753.698	.000
Intercept	12012.160	1	12012.160	93197.793	.000
Temperatre	194.287	2	97.143	753.698	.000
Error	.773	6	.129		
Total	12207.220	9			
Corrected Total	195.060	8			

a. R Squared = .996 (Adjusted R Squared = .995)

ตารางที่ ค.7 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับอุณหภูมิในการหมักที่มีผลต่อร้อยละผลได้ของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii*

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Yield

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	677.701 ^a	2	338.851	25800.816	.000
Intercept	7995.340	1	7995.340	608782.255	.000
Temperatre	677.701	2	338.851	25800.816	.000
Error	.079	6	.013		
Total	8673.121	9			
Corrected Total	677.780	8			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = 1.000)

ตารางที่ ค.8 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบสมบัติของโปรตีนของน้ำต้อยที่ได้จากการหมักด้วยกล้าเชื้อ *Aspergillus oryzae* และ *Amylomyces rouxii*

จฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย

Independent Samples Test

		Levene's Test for Equality of Variances		t-test for Equality of Means						
		F	Sig.	t	df	Sig. (2-tailed)	Mean Difference	Std. Error Difference	95% Confidence Interval of the Difference	
									Lower	Upper
Nitroden	Equal variances assumed	.235	.653	7.236	4	.002	.08000	.01106	.04931	.11069
	Equal variances not assumed			7.236	3.723	.003	.08000	.01106	.04838	.11162
DH	Equal variances assumed	.117	.750	45.466	4	.000	6.22667	.13695	5.84643	6.60690
	Equal variances not assumed			45.466	3.925	.000	6.22667	.13695	5.84353	6.60980
TSS	Equal variances assumed	.867	.404	1.976	4	.119	.7333	.3712	-.2972	1.7639
	Equal variances not assumed			1.976	3.200	.137	.7333	.3712	-.4073	1.8739
Yield	Equal variances assumed	2.378	.198	70.930	4	.000	12.00000	.16918	11.53028	12.46972
	Equal variances not assumed			70.930	3.066	.000	12.00000	.16918	11.46807	12.53193

ตารางที่ ค.9 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบปริมาณไนโตรเจนทั้งหมดของ
มิรินทางการค้า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ก่อนและหลังกรอง
ด้วยอัลตราฟิลเทรชันที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: Nitrogen

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.064 ^a	6	.011	106.524	.000
Intercept	.187	1	.187	1866.857	.000
Treatment	.064	6	.011	106.524	.000
Error	.001	14	.000		
Total	.252	21			
Corrected Total	.065	20			

a. R Squared = .979 (Adjusted R Squared = .969)

ตารางที่ ค.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบค่าระดับการย่อยสลายของ
โปรตีนของมิรินทางการค้า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ก่อน
และหลังกรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa
และ 100 kDa

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: DH

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	297.509 ^a	6	49.585	2059.086	.000
Intercept	4862.486	1	4862.486	201922.489	.000
Treatment	297.509	6	49.585	2059.086	.000
Error	.337	14	.024		
Total	5160.332	21			
Corrected Total	297.846	20			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .998)

ตารางที่ ค.10 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบความขุ่นระหว่างมีรินทางการค้า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ก่อนและหลังกรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: turbidity

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.013 ^a	3	.004	5777.185	.000
Intercept	.007	1	.007	8711.111	.000
filtration	.013	3	.004	5777.185	.000
Error	6.000E-6	8	7.500E-7		
Total	.020	12			
Corrected Total	.013	11			

a. R Squared = 1.000 (Adjusted R Squared = .999)

ตารางที่ ค.11 ผลการวิเคราะห์ความแปรปรวนสำหรับการเปรียบเทียบค่าสีระหว่างมีรินทางการค้า ไวน์ข้าวหวานปรุงอาหารจากกล้าเชื้อทั้ง 2 ชนิด ก่อนและหลังกรองด้วยอัลตราฟิลเทรชันที่ใช้เยื่อแผ่นที่มีค่าการกักโมเลกุลที่ 10 kDa และ 100 kDa

Tests of Between-Subjects Effects

Dependent Variable: color

Source	Type III Sum of Squares	df	Mean Square	F	Sig.
Corrected Model	.202 ^a	3	.067	3115.259	.000
Intercept	.197	1	.197	9132.988	.000
filtration	.202	3	.067	3115.259	.000
Error	.000	8	2.158E-5		
Total	.399	12			
Corrected Total	.202	11			

a. R Squared = .999 (Adjusted R Squared = .999)

บรรณานุกรม

- Aliyah, A., G. Alamsyah, R. Ramadhani, and H. Hermansyah. 2017. Production of α -Amylase and β -Glucosidase from *Aspergillus niger* by solid state fermentation method on biomass waste substrates from rice husk, bagasse and corn cob. Energy Procedia 136:418-423.
- Amatayakul, T., N. Somsap, and P. Rotsatchakul. 2012. Study of volatile compound in Thai rice wine (Sato) produced from wheat. KKU Research Journal 17(6):939-949.
- Ashtavinayak, P. and H. A. Elizabeth. 2016. Review: Gram Negative Bacteria in Brewing. Advances in Microbiology 06(03):195-209.
- Association of Official Analytical, C. and K. Helrich. 1990. Official methods of analysis of the Association of Official Analytical Chemists. 15th ed., 1990. ed. The Association, Arlington, VA.
- Baklouti, S., R. Ellouze-Ghorbel, A. Mokni, and u. Chaabouni. 2012. Clarification of pomegranate juice by ultrafiltration: study of juice quality and of the fouling mechanism. Fruits 67(3):215-225.
- Charalambous, G. 1993. Shelf Life Studies of Foods and Beverages: Chemical, Biological, Physical, and Nutritional Aspects. Elsevier.
- Cheryan, M. 1986. Ultrafiltration handbook. Technomic Publishing Company, Lancaster, Penn.
- Clark, S., S. Jung, and B. Lamsal. 2014. Food processing : principles and applications. 2e. ed. Wiley Blackwell, Chichester, West Sussex, UK.
- Cui, Z. F. and H. S. Muralidhara. 2010. Membrane technology : a practical guide to membrane technology and applications in food and bioprocessing. Elsevier/Butterworth-Heinemann, Oxford.
- Dung, N. T. P., F. M. Rombouts, and M. J. R. Nout. 2006. Functionality of selected strains of moulds and yeasts from Vietnamese rice wine starters. Food Microbiology 23(4):331-340.
- Dung, N. T. P., F. M. Rombouts, and M. J. R. Nout. 2007. Characteristics of some

- traditional Vietnamese starch-based rice wine fermentation starters (men).
LWT - Food Science and Technology 40(1):130-135.
- Esteruelas, M., P. Poinssaut, N. Sieczkowski, S. Manteau, M. F. Fort, J. M. Canals, and F. Zamora. 2009. Characterization of natural haze protein in sauvignon white wine. Food Chemistry 113(1):28-35.
- Hoyle, N. T. and J. H. Merritt. 1994. Quality of Fish Protein Hydrolysates from Herring (*Clupea harengus*). Journal of Food Science 59(1):76-79.
- Iritani, E. and N. Katagiri. 2016. Developments of Blocking Filtration Model in Membrane Filtration. KONA Powder and Particle Journal 2016(33):179-202.
- Kanlayakrit, W. and M. Maweng. 2006. Production of Seasoning "Mirin" from Thai Rice by Fermentation. Kasetsart Journal - Natural Science 40:39-46
- Kosikowski, F. V. and V. V. Mistry. 1990. Microfiltration, Ultrafiltration, and Centrifugation Separation and Sterilization Processes for Improving Milk and Cheese Quality. Journal of Dairy Science 73(6):1411-1419.
- Kumar, P., N. Sharma, R. Ranjan, S. Kumar, Z. F. Bhat, and D. K. Jeong. 2013. Perspective of membrane technology in dairy industry: a review. Asian-Australas J Anim Sci 26(9):1347-1358.
- Laemmli, U. K. 1970. Cleavage of Structural Proteins during the Assembly of the Head of Bacteriophage T4. Nature 227(5259):680-685.
- Laorko, A., S. Tongchitpakdee, and W. Youravong. 2013. Storage quality of pineapple juice non-thermally pasteurized and clarified by microfiltration. Journal of Food Engineering 116(2):554-561.
- Mondal, M., P. P. Biswas, and S. De. 2016. Clarification and storage study of bottle gourd (*Lagenaria siceraria*) juice by hollow fiber ultrafiltration. Food and Bioproducts Processing 100:1-15.
- Negi, S. and R. Banerjee. 2010. Optimization of culture parameters to enhance production of amylase and protease from *Aspergillus awamori* in a single fermentation. Journal of Biochemistry Research 4(3):73-80.
- Okuda, M., M. Miyamoto, M. Joyo, K. Takahashi, N. Goto-Yamamoto, S. Iida, and T. Ishii. 2016. The relationship between rice protein composition and nitrogen compounds in sake. Journal of Bioscience and Bioengineering 122(1):70-78.

- Olesen, N. and F. Jensen. 1989. Microfiltration. The influence of operation parameters on the process. Vol. 44.
- Ortega-Rivas, E. 2012. Membrane Separations. Pages 199-214 in Non-thermal Food Engineering Operations. Springer, Boston.
- Pei-Jing, Y. and C.-C. Chou. 2005. Factors Affecting the Growth and Production of Milk-Clotting Enzyme by *Amylomyces rouxii* in Rice Liquid Medium. Food Technol. Biotechnol. 43.
- Porter, M. C. 1990. Handbook of Industrial Membrane Technology. Noyes Publications.
- Shen, F., F. Li, D. Liu, H. Xu, Y. Ying, and B. Li. 2012. Ageing status characterization of Chinese rice wines using chemical descriptors combined with multivariate data analysis. Food Control 25(2):458-463.
- Shirato, M., T. Aragaki, and E. Iritani. 1979. Blocking filtration laws for filtration of power-law non-Newtonian fluids. 12:162-164.
- Steinkraus, K. H. 1983. Fermented foods, feeds and beverages. Biotechnology Advances 1(1):31-46.
- Takayama, T., H. Oyashiki, M. Uchida, A. Obayashi, and S. Oka. 1989. A new assay method and evaluation of removal of protein in mirin. Journal of Fermentation and Bioengineering 68(1):49-51.
- Uchida, M. and S. Oka. 1983. Efficiency of utilization of raw material in conventional mirin-making. Journal of Fermentation Technology 61(1):13-18.
- Van Alfen, N. K. 2015. Encyclopedia of agriculture and food systems. Second edition. [Enhanced Credo edition]. ed. Academic Press, Elsevier Science & Technology Credo Reference, [London, England] ;Boston, Massachusetts.
- Yamashita, M., N. Ohashi, and K. Maeda. 1981. Studies on the Haze Formation During Mirin Making (Part-9) Mechanism of Haze Formation. JOURNAL OF THE SOCIETY OF BREWING, JAPAN 76(12):838-842.
- Yoshizawa, K. 1999. Sake: Production and flavor. Food Reviews International 15(1):83-107.

ประวัติผู้เขียน

ชื่อ-สกุล	อรรวี คำประสงค์
วัน เดือน ปี เกิด	12 มกราคม 2536
สถานที่เกิด	กรุงเทพมหานคร
วุฒิการศึกษา	สำเร็จการศึกษาระดับปริญญาวิทยาศาสตรบัณฑิต (เกียรตินิยมอันดับสอง) จากภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย เมื่อปีการศึกษา 2557 และเข้าศึกษาต่อในหลักสูตรวิทยาศาสตรมหาบัณฑิต ภาควิชาเทคโนโลยีทางอาหาร คณะวิทยาศาสตร์จุฬาลงกรณ์มหาวิทยาลัย ในปีการศึกษา 2558
ที่อยู่ปัจจุบัน	34/19 ม.3 หมู่บ้าน ชัยพฤกษ์-ทวีวัฒนา ซ.ศาลาธรรมสพน์ 45 เขต ทวีวัฒนา แขวง ศาลาธรรมสพน์ กทม. 10170
ผลงานตีพิมพ์	นำเสนอผลงานโปสเตอร์ในหัวข้อ Studies on optimization of Koji preparations by <i>Aspergillus oryzae</i> and <i>Amylomyces rouxii</i> used for Thai-glutinous rice fermentation and their products ในงานประชุมวิชาการ Food Innovation Asia Conference (FIAC) 2019 ณ ศูนย์นิทรรศการและการประชุมไบเทค กรุงเทพมหานคร ประเทศไทย ระหว่างวันที่ 13-15 มิถุนายน พ.ศ. 2562